NY

ICS ×××××

B ××

|  |
| --- |
|  |

中 华 人 民 共 和 国 农 业 行 业 标 准

 NY/T XXXX—202X

|  |
| --- |
|  |

草莓品种鉴定 SSR分子标记法

Identification of strawberry varieties SSR marker method

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX实施

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX发布

|  |
| --- |
|  |

中华人民共和国农业农村部 **发布**

目 次

前 言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 缩略语 1

5 原理 1

6 主要仪器设备及试剂 1

7 溶液配制 1

8 引物相关信息 2

9 参照品种 2

10 操作程序 2

11 等位变异数据采集 3

12 结果判定 3

附 录 A（规范性）主要仪器设备及试剂 4

附 录 B（规范性）溶液配制 6

附 录 C（规范性）引物名单及序列 7

附 录 D（资料性）引物相关信息 8

附 录 E（资料性）参照品种相关信息 8

**前 言**

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种业管理司提出并组织实施。

本文件由全国植物新品种测试标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：上海市农业科学院、上海市农业技术推广服务中心和上海科立特农产品检测技术服务有限公司。

本文件主要起草人：任丽、张余、陈海荣、姚丹青、邓姗、段可、章毅颖、赵洪、刘昆、褚云霞、李寿国、黄静艳、张靖立。

草莓品种鉴定 SSR分子标记法

1 范围

本文件给出了利用简单重复序列 (Simple sequence repeats，SSR)分子标记进行草莓（*Fragaria × ananassa* Duch.）品种鉴定的试验方法、数据记录格式和判定规则。

本文件适用于草莓品种SSR指纹数据的采集、品种测试过程中近似品种的筛选和品种鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文

件。

GB/T 3543.2 农作物种子检验规程

GB/T 19557.1 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 总则

NY/T 2594 植物品种鉴定 DNA分子标记法 总则

3 术语和定义

NY/T 2594界定的术语和定义适用于本文件。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

bp:碱基对(base pair)

CTAB:十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide)

DNA:脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid)

dNTPs:脱氧核糖核苷三磷酸(deoxy-ribonucleoside triphosphate)

EDTA:乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid)

PCR:聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)

SSR:简单重复序列(simple sequence repeat)

Taq 酶:耐热DNA聚合酶(Taq-DNA polymerase)

Tris:三羟甲基氨基甲烷(Tris(hydroxymethyl)methyl aminomethane THAM)

TE:三羟甲基氨基甲烷-乙二胺四乙酸(Tris-EDTA)

TAE:三羟甲基氨基甲烷-乙酸-乙二胺四乙酸(Tris-acetic acid-EDTA)

5 原理

草莓品种基因组中存在着大量能够稳定遗传的SSR标记，不同草莓品种在同一SSR的重复次数存在差异，这种差异可通过PCR扩增及电泳方法进行检测，进而区分不同的品种。

6 主要仪器设备及试剂

主要仪器设备及试剂见附录A。

7 溶液配制

溶液配制见附录B。

8 引物信息及使用

引物及序列见附录C，引物相关信息见附录D。利用荧光毛细管电泳检测时选择荧光标记引物，荧光标记位于正向引物５′端，推荐的荧光标记见附录D。可利用附录C中的引物序贯检测，当检测到的差异位点数能判定送检样品与对照样品不同时，停止检测。

9 参照品种及其使用

参照品种用于辅助确定送检样品在某个位点的等位变异，宜与送检样品同时检测，参照品种相关信息见附录E。

10 操作程序

10.1 样品准备

每份样品不少于20个个体，等量混合分析，必要时进行个体检测。

10.2 DNA提取

幼苗或叶片200 mg～300 mg，置于20 mL离心管，加液氮充分研磨；每管加入600 μL经65℃预热的 CTAB提取液，充分混合，65 ℃水浴45 min～60 min，其间多次轻缓颠倒混匀。每管加入与 CTAB提取液等体积的三氯甲烷和异戊醇混合液，轻缓混匀后静置10 min，在12000 r/min离心10 min。吸取上清液转移至新的离心管中，加入等体积预冷的异丙醇，轻 轻 颠 倒 混 匀，-20 ℃放置30 min，4℃、12000 r/min离心10 min。弃上清液，用体积分数为70%的乙醇溶液洗涤２遍，晾干，加入100 μL双蒸水或 TE缓冲液充分溶解，检测DNA浓度后4℃备用。

注1：以上为推荐的 DNA 提取方法，DNA 质量能够满足PCR扩增要求的其他DNA 提取方法均适用。DNA 溶液的紫外吸光度 OD260与 OD280的比值宜介于1.7～2.0。

注2：三氯甲烷和异戊醇混合液中三氯甲烷与异戊醇的体积比为24:1。

10.3 PCR扩增

10.3.1 反应体系

20 µL的反应体积，10 × *Taq* PCR Mix 10 µL， 正向引物10 μmol/L 0.5 µL（使用荧光标记的引物），反向引物10 μmol/L 0.5 µL，样品DNA 50 ng，双蒸水补充至20 µL。

注：反应体系的体积可以根据具体情况进行调整。

10.3.2 反应程序

推荐程序：94 ℃预变性3 min；94 ℃变性30 s，50 ℃~64 ℃退火30 s，72 ℃延伸30 s，共35个循环；72 ℃延伸6 min，4 ℃保存。反应程序中各反应参数可根据PCR扩增仪型号、酶、引物等不同而做适当的调整。

10.4 荧光毛细管电泳检测

10.4.1 PCR产物样品准备

按照预先确定的引物分组，分别取等体积的同一组中不同荧光引物的扩增产物，混匀稀释。从混合液中吸取1 μL，加入DNA分析仪专用96孔板中。板中各孔分别加入0.1 μL分子量内标和8.9 μL去离子甲酰胺，在PCR仪上95℃变性5 min，取出后立即置于冰上，冷却10 min以上，瞬时离心10 s后备用。

注:引物分组和稀释倍数通过荧光毛细管电泳预实验确定。

10.4.2 等位变异检测

打开DNA分析仪，检查仪器工作状态和试剂状态.将装有样品的96孔上样板放置于样品架基座上，打开数据收集软件，按照仪器使用手册,编辑样品表，执行运行程序，DNA分析仪将自动运行，并保存电泳原始数据。

11 数据分析

11.1 数据读取

每个SSR位点的等位变异参照扩增片段大小命名，见附录D。对于荧光毛细管电泳，通过参照品种消除不同批次间或者不同型号DNA分析仪间可能存在的系统误差，使用片段分析软件读取送检样品在该位点的等位变异。

11.2 数据比对

将送检样品每个位点的等位变异数据逐一比对，按照位点相同、差异、数据缺失等情形，记录每个位点的结果。

11.3 结果统计

统计比对结果为位点差异的情况，计算差异位点数。

12 结果判定

12.1 判定规则

当品种间差异位点数＞２，判定为“不同”；当品种间差异位点数≤２，判定为“疑同”；当品种间差异位点数≤２，但存在位点数据缺失或无法判定情形时，不做判定。

12.2 结果表述

送检样品 与对照样品 (或数据库中 品种)采用毛细管电泳检测平台，检测位点数为 ，差异位点数为 ，判定为 。当存在位点数据缺失或无法判定情形时，应表述具体情况。

示例1 ：送检样品，A与对照样品B采用采用荧光毛细管电泳检测平台，检测位点数为28，差异位点数为2，判定为疑同。

示例2 ：送检样品A与对照样品B采用荧光毛细管电泳检测平台，检测位点数为27，差异位点数为1，送检样品在CM026位点数据缺失。

**附 录 A**

(资料性)

**主要仪器设备及试剂**

* 1. 主要仪器设备
		1. PCR扩增仪。
		2. 移液器。
		3. 高速离心机。
		4. 螺旋震荡仪。
		5. 千分之一电子天平。
		6. 紫外分光光度计。
		7. 高压灭菌锅。
		8. pH计。
		9. 水浴锅。
		10. 制冰机。
		11. DNA分析仪：基于毛细管电泳，有片段分析功能和数据分析软件，能够分辨最少1个核苷酸的差异。
		12. 其他相关仪器和设备。
	2. 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

* + 1. 十六烷基三乙基溴化铵[CTAB，C16H33(CH3)3NBr，CAS号:57-09-0]。
		2. 三氯甲烷[CHCl3，CAS号:67-66-3]。
		3. 异戊醇[C5H12O，CAS号:123-51-3]。
		4. 异丙醇[(CH3)2CHOH，CAS号:67-63-0]。
		5. 乙二胺四乙酸二钠[EDTA-2Na，C10H14N2Na2O8,CAS号:139-33-3]。
		6. 三羟甲基氨基甲烷[Tis，C4H11NO3，CAS号:77-86-1]。
		7. 氯化钠[NaCl，CAS号:7647-14-5]。
		8. 浓盐酸[HCl，CAS号:7647-01-0]。
		9. 氢氧化钠[NaOH，CAS号:1310-73-2]。
		10. Taq PCR Mix：既用型PCR预混物，含有Taq 酶、dNTPs、PCR缓冲液。
		11. DNA Marker：DNA片段分布范围至少在 50 bp ~ 500 bp。
		12. 四种脱氧核糖核苷酸：dATP、dTTP、dGTP、dCTP。
		13. SSR引物。

A.2.14 琼脂糖（CAS号：9012-36-6）。

A.2.15 无水乙醇[C2H6O，CAS号:64-17-5]。

A.2.16 四甲基乙二胺[TEMED，C6H16N2，CAS号:110-18-9]。

A.2.17 DNA分析仪用聚丙烯酰胺胶液。

A.2.18 DNA分析仪用分子量内标。

A.2.19 DNA分析仪用电泳缓冲液。

A.2.20 DNA分析仪用光谱校准基质。

**附 录 B**

(规范性)

**溶液配制**

试剂配制用水应符合标准GB/T 6682的要求。

B.1 **DNA**提取溶液的配制

B.1.1 **0.5 mol/L HCl**溶液

量取25 mL浓盐酸（36% ~ 38%），加水定容至500 mL。

B.1.2 **1 mol/L NaOH**溶液

称取40.0 g NaOH溶于800 mL 水中，充分搅拌溶解，加水定容至1 000 mL。

B.1.3 **1 moI/L Tris-HCl**溶液

称取121.1 g Tris 碱溶于800 mL水中，充分搅拌溶解，加HCl调pH至8.0，加水定容至1 000 mL，121 ℃ 高压灭菌20 min。

B.1.4 **CTAB**提取液

称取20.0 g CTAB、81.7 g NaCl置于1 000 mL烧杯中，量取100 mL 1 mol/L Tris-HCl 溶液和40 mL 0.5 mol/L EDTA溶液倒入烧杯中，加700 mL水，充分搅拌溶解，加水定容至1 000 mL，121℃高压灭菌20 min。

B.1.5三氯甲烷异和戊醇混合液

量取480 mL三氯甲烷和20 mL异戊醇，混匀备用。

B.1.6  **TE** 缓冲液

量取5 mL 1 mol/L Tris-HCl 溶液和1 mL 0.5 mol/L EDTA溶液，加水定容至500 mL，121 ℃高压灭菌20 min ，4 ℃保存。

B.2 **PCR**扩增试剂的配制

B.2.1  **SSR**引物溶液

开盖前瞬时离心10 s，按照说明书加水分别配制正向引物和反向引物终浓度为 100 µmol/L的储存液，取10 µL储存液，加90 µL水配制成终浓度10 µmol/L的工作液。

**附 录 C**

**（规范性）**

**引物名单及序列**

**引物及序列见表C. 1。**

**表 C. 1 推荐引物**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物名称 | 参考文献 | 所在染色体 | 上游引物序列(5'→3') | 下游引物序列(5'→3') |
| CM01 |  | chr1 | ACCCAGGTCCCCTTCACT | TCGACAGGCCTCTCAGCA |
| CM02 |  | chr1 | TGGGCAATTCTAAGGAGCTCC | TGTAGCGAACTCTCTCCTCCA |
| CM03 |  | chr1 | GCAGCCAGGGGTCCAAAA | GTAGGCCACGCAGTCTCC |
| CM04 |  | chr1 | AGGTGAAGCGGAGAGAAGT | GCAAAGCCCAGTGTGTTGG |
| CM05 |  | chr1 | TCGATCTTGTGAGCATCCAGA | GGAGCCGTCCGGTAGAGA |
| CM06 |  | chr2 | TGGGCTTTGGTGGGTTCC | GGGGGAGAAGAGAGAGAGAGA |
| CM07 |  | chr2 | GTGGACGACGGGGATGTG | TCTCCCCACGCACTCAGA |
| CM08 |  | chr2 | GGGTCCTCACTAGAAGGGC | ACATCTCCCTTCCTCCAACA |
| CM09 |  | chr2 | ATGTCGGGTGGTGATGCC | TCTACCCGACTAGTGCTGCT |
| CM10 |  | chr3 | TCACAACTCTCCCTCCACCT | CTAGCCTCGTCAGCGTCG |
| CM11 |  | chr3 | TGAGAGTCCTCAGAGCGACA | CAGTCCCCGCTCTCTCCT |
| CM12 |  | chr3 | TGTCGCCAAGCAGCTGAT | TGCCCTTGTGTAACTGACAGT |
| CM13 |  | chr4 | ATTCCAGGCAGCGAGTGG | GGTACCAGCTGAATGTCGGT |
| CM14 |  | chr4 | TGAGTCCAACCCCCATCCA | GAGGATGGTATGTGCTCTGCT |
| CM15 |  | chr4 | ACGTCCAAGGCCCAGTTG | ACCGATCCAGACCCTCCC |
| CM16 |  | chr4 | GCACCCCCATTGTCCTCC | TGCAGGACCCTCTTCAGGA |
| CM17 |  | chr5 | ACGCCACAACTGTTTGTCAC | AGCTCTGTGGGTTCTCCTCA |
| CM18 |  | chr5 | CCCCACCATTGCCGTCAT | CAACTGGGGCTCCATGCA |
| CM19 |  | chr5 | ACCTCTCAGCGGACCACT | CCTTAGCAAGGGGGTTCGA |
| CM20 |  | chr5 | AGGCTCCAGAAATGTGGCC | AGCGCCCACATCAATCGT |
| CM21 |  | chr5 | TGCTCTTCCATTGATCGGGA | AGGGTCTGGAAGGGTCGG |
| CM22 |  | chr6 | CCCAAATCCCAAGCCAAACA | GGAGATCCGTCGAAGCCG |
| CM23 | [1] | chr6 | ATCGGATCAACAAGCAAAGCA | AGAGGGTTAGGGAGTGAAGAG |
| CM24 |  | chr6 | GGAGAAAGAGAAACACGTCCC | CCATCTGTTGGTGGAATGCC |
| CM25 |  | chr6 | AGCTGTTGACCGAGGCAC | GTCGGGACTCGCCACAAA |
| CM26 |  | chr7 | GCTCATGTCGAACCTGCCT | CCCTCAACTCGGAAGCCA |
| CM27 |  | chr7 | GTCGAATCCCTAGCGCCC | AGTGAACCATTCCGATTCTCA |
| CM28 |  | chr7 | GGTTCCCGTCTTCTGGCC | TCTTCTCCCGCCACCGTA |
| [1] Keniry A , Hopkins C J , Jewell E ,et al.Identification and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers from Fragaria×ananassa expressed sequences[J].Molecular Ecology Notes, 2006. |

**附 录 D**

**（资料性）**

**引物相关信息**

引物相关信息见表 D.1。

表 D.1 **引物相关信息**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
| 1 | CM01 | ROX | 203-246 | 203 | 晶玉 |
| 204 | 承德公主 |
| 206 | 京香3号 |
| 208 | 盛冈16号 |
| 210 | 黔莓2号 |
| 214 | 晶玉 |
| 216 | 达娜 |
| 218 | 晶玉 |
| 220 | 京香3号 |
| 223 | 承德公主 |
| 225 | 晶玉 |
| 227 | 京香3号 |
| 230 | 晶玉 |
| 235 | 达娜 |
| 240 | 甘露 |
| 243 | 晶玉 |
| 246 | 摩西（Moxie) |
| 2 | CM02 | ROX | 204-241 | 204 | 黔莓1号 |
| 219 | 玛利格利特 |
| 221 | 红颜 |
| 224 | 千代田 |
| 228 | 雪兔 |
| 231 | 红颜 |
| 237 | 红颜 |
| 241 | 黔莓1号 |
| 3 | CM03 | HEX | 253-261 | 253 | 雪兔 |
| 255 | 雪兔 |
| 258 | 雪兔 |
| 261 | 天使8号 |
| 4 | CM04 | HEX | 268-320 | 268 | 千代田 |
| 273 | 红颜 |
| 277 | 红颜 |
| 289 | 北之辉 |

表 D.1 (续)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
|  |  |  |  | 320 | 盛冈16号 |
| 5 | CM05 | TAMRA | 99-173 | 99 | 石莓6号 |
| 113 | 石莓6号 |
| 137 | 宝交早生 |
| 143 | 黔莓八号 |
| 145 | 玛利格利特 |
| 147 | 皇家露易丝 |
| 150 | 黔莓八号 |
| 152 | 黔莓八号 |
| 173 | 热宾达 |
| 6 | CM06 | FAM | 197-263 | 197 | 黔莓2号 |
| 229 | 香野 |
| 240 | 香野 |
| 247 | 达娜 |
| 259 | 达娜 |
| 261 | 香野 |
| 263 | 香野 |
| 7 | CM07 | FAM | 189-239 | 189 | 香野 |
| 194 | 芳玉 |
| 225 | 红颜 |
| 239 | 红颜 |
| 8 | CM08 | HEX | 245-266 | 245 | 章姬 |
| 247 | 达娜 |
| 259 | 北之辉 |
| 261 | 范连特 |
| 264 | 章姬 |
| 266 | 千代田 |
| 9 | CM09 | TAMRA | 153-175 | 153 | 石莓6号 |
| 155 | 中莓9号 |
| 157 | 中莓9号 |
| 160 | 中莓9号 |
| 163 | 宝交早生 |
| 166 | 草原红 |
| 169 | 草原红 |
| 175 | 草原红 |
| 10 | CM10 | FAM | 174-194 | 174 | 千代田 |
| 178 | 红颜 |

表 D.1 (续)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
|  |  |  |  | 180 | 黔莓2号 |
| 190 | 芳玉 |
| 194 | 红颜 |
| 11 | CM11 | ROX | 207-226 | 207 | 达娜 |
| 214 | 红嘴鸥 |
| 220 | 圣诞红 |
| 226 | 圣诞红 |
| 12 | CM12 | HEX | 273-321 | 273 | 达娜 |
| 276 | 红珍珠 |
| 282 | 达娜 |
| 284 | 红花草莓 |
| 288 | 达娜 |
| 290 | 红颜 |
| 292 | 千代田 |
| 300 | 达娜 |
| 302 | 达娜 |
| 308 | 百里菲 |
| 310 | 百里菲 |
| 317 | 建德红 |
| 319 | 建德红 |
| 321 | 建德红 |
| 13 | CM013 | HEX | 231-268 | 231 | 枥乙女 |
| 233 | 京香3号 |
| 235 | 京香4号 |
| 247 | 甘露 |
| 251 | 枥乙女 |
| 253 | 京香3号 |
| 257 | 红珍珠 |
| 259 | 京香3号 |
| 260 | 达娜 |
| 262 | 浙莓8号 |
| 264 | 京香3号 |
| 268 | 甘露 |
| 14 | CM014 | ROX | 200-222 | 219 | 章姬 |
| 222 | 章姬 |
| 15 | CM015 | ROX | 200-215 | 200 | 黔莓1号 |
| 211 | 黔莓1号 |

表 D.1 (续)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
|  |  |  |  | 215 | 黔莓1号 |
| 16 | CM016 | FAM | 206-239 | 206 | 桃熏 |
| 212 | 桃熏 |
| 215 | 桃熏 |
| 218 | 桃熏 |
| 221 | 桃熏 |
| 225 | 桃熏 |
| 228 | 桃熏 |
| 231 | 桃熏 |
| 234 | 桃熏 |
| 236 | 达娜 |
| 239 | 达娜 |
| 17 | CM017 | ROX | 212-253 | 212 | 圣诞红 |
| 221 | 石莓6号 |
| 223 | 圣诞红 |
| 227 | 红颜 |
| 229 | 石莓6号 |
| 231 | 京香3号 |
| 233 | 千代田 |
| 237 | 红嘴鸥 |
| 239 | 黔莓6号 |
| 241 | 粉佳人 |
| 243 | 黔莓6号 |
| 253 | 香野 |
| 18 | CM018 | FAM | 146-220 | 146 | 京艳1号 |
| 152 | 沪早3号 |
| 159 | 沪早3号 |
| 161 | 粉佳人 |
| 165 | 建德白露 |
| 167 | 雪兔 |
| 169 | 沪早3号 |
| 173 | 沪早3号 |
| 176 | 建德白露 |
| 179 | 红花草莓 |
| 182 | 卡麦若莎 |
| 185 | 沪早3号 |
| 191 | 红珍珠 |

表 D.1 (续)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
|  |  |  |  | 195 | 沪早3号 |
| 197 | 沪早3号 |
| 203 | 黔莓6号 |
| 220 | 香野 |
| 19 | CM019 | HEX | 247-273 | 247 | 红颜 |
| 251 | 红颜 |
| 256 | 雪兔 |
| 261 | 雪兔 |
| 273 | 建德红 |
| 20 | CM020 | FAM | 165-205 | 165 | 红颜 |
| 171 | 红颜 |
| 177 | 北之辉 |
| 184 | 达娜 |
| 187 | 红颜 |
| 189 | 秦艳 |
| 205 | 秦艳 |
| 21 | CM021 | TAMRA | 130-194 | 130 | 石莓6号 |
| 158 | 盛冈16号 |
| 164 | 盛冈16号 |
| 170 | 红花草莓 |
| 179 | 达娜 |
| 184 | 石莓6号 |
| 186 | 红花草莓 |
| 188 | 红花草莓 |
| 191 | 盛冈16号 |
| 194 | 紫金芳玉 |
| 22 | CM022 | HEX | 233-237 | 233 | 红颜 |
| 235 | 红颜 |
| 237 | 白雪小町 |
| 23 | CM023 | TAMRA | 114-164 | 114 | 圣诞红 |
| 117 | 冀九 |
| 134 | 千代田 |
| 137 | 章姬 |
| 139 | 圣诞红 |
| 141 | 红嘴鸥 |
| 144 | 石莓6号 |
| 146 | 圣诞红 |

表 D.1 (续)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
|  |  |  |  | 148 | 章姬 |
| 157 | 百里甜 |
| 162 | 盛冈16号 |
| 164 | 圣诞红 |
| 24 | CM024 | ROX | 194-240 | 194 | 达娜 |
| 196 | 枥乙女 |
| 200 | 达娜 |
| 202 | 章姬 |
| 213 | 建德白露 |
| 215 | 承德公主 |
| 218 | 红颜 |
| 221 | 红颜 |
| 223 | 天使8号 |
| 238 | 红颊 |
| 240 | 红颊 |
| 25 | CM025 | ROX | 190-222 | 190 | 墨玉 |
| 191 | 墨玉 |
| 199 | 卡麦若莎 |
| 201 | 香野 |
| 204 | 圣诞红 |
| 207 | 圣诞红 |
| 216 | 黔莓6号 |
| 219 | 香野 |
| 222 | 黔莓6号 |
| 26 | CM026 | HEX | 246-281 | 246 | 晶玉 |
| 248 | 雪兔 |
| 261 | 达娜 |
| 263 | 雪兔 |
| 265 | 香野 |
| 269 | 达娜 |
| 281 | 香野 |
| 27 | CM027 | TAMRA | 159-170 | 159 | 天使8号 |
| 162 | 圣诞红 |
| 165 | 圣诞红 |
| 168 | 圣诞红 |
| 170 | 京艳1号 |
| 28 | CM028 | FAM | 162-196 | 162 | 墨颜 |

表 D.1 (续)

| 引物编号 | 引物名称 | 荧光标记 | 等位变异范围，bp | 主要等位变异，bp | 参照品种 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  | 173 | 墨颜 |
| 176 | 墨颜 |
| 178 | 圣诞红 |
| 180 | 卡麦若莎 |
| 184 | 建德红 |
| 186 | 达娜 |
| 188 | 卡麦若莎 |
| 190 | 章姬 |
| 192 | 圣诞红 |
| 194 | 京藏香 |
| 196 | 雪兔 |

**附 录 E**

**（资料性）**

**参照品种相关信息**

参照品种相关信息见表 E.1。

表 E.1 **引物相关信息**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 品种名称/代号 | 品种来源 | 编号 | 品种名称/代号 | 品种来源 |
| 1 | 京香3号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 26 | 承德公主 | 上海市农业科学院 |
| 2 | 摩西（Moxie) | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 27 | 盛冈16号 | 上海市农业科学院 |
| 3 | 桃熏 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 28 | 黔莓2号 | 上海市农业科学院 |
| 4 | 千代田 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 29 | 达娜 | 上海市农业科学院 |
| 5 | 雪兔 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 30 | 甘露 | 上海市农业科学院 |
| 6 | 天使8号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 31 | 黔莓1号 | 上海市农业科学院 |
| 7 | 北之辉 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 32 | 玛利格利特 | 上海市农业科学院 |
| 8 | 黔莓八号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 33 | 红颜 | 上海市农业科学院 |
| 9 | 皇家露易丝 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 34 | 石莓6号 | 上海市农业科学院 |
| 10 | 香野 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 35 | 宝交早生 | 上海市农业科学院 |
| 11 | 章姬 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 36 | 热宾达 | 上海市农业科学院 |
| 12 | 范连特 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 37 | 芳玉 | 上海市农业科学院 |
| 13 | 中莓9号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 38 | 圣诞红 | 上海市农业科学院 |
| 14 | 草原红 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 39 | 红花草莓 | 上海市农业科学院 |
| 15 | 红嘴鸥 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 40 | 建德红 | 上海市农业科学院 |
| 16 | 百里菲 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 41 | 枥乙女 | 上海市农业科学院 |
| 17 | 京香4号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 42 | 粉佳人 | 上海市农业科学院 |
| 18 | 京艳1号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 43 | 建德白露 | 上海市农业科学院 |
| 19 | 黔莓6号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 44 | 卡麦若莎 | 上海市农业科学院 |
| 20 | 沪早3号 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 45 | 红珍珠 | 上海市农业科学院 |
| 21 | 秦艳 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 46 | 紫金芳玉 | 上海市农业科学院 |
| 22 | 红颊 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 47 | 白雪小町 | 上海市农业科学院 |
| 23 | 墨玉 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 48 | 京藏香 | 上海市农业科学院 |
| 24 | 墨颜 | 农业农村部植物新品种测试(上海)分中心 | 49 | 冀九 | 上海市农业科学院 |
| 25 | 晶玉 | 上海市农业科学院 | 50 | 百里甜 | 上海市农业科学院 |

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**