园艺学报 » 2014, Vol. 41 » Issue (4) :735-745 DOI:

观赏植物

南方红豆杉转录组SSR挖掘及分子标记的研究

李炎林1，杨星星1，张家银3，黄三文2，熊兴耀1,2,*

（1湖南农业大学园艺园林学院，长沙 410128；2中国农业科学研究院蔬菜花卉研究所，北京 100081；3国家中医药管理局亚健康干预技术实验室，长沙 410128）

Studies on SSR Molecular Markers Based on Transcriptome of Taxus chinensis var. mairei

LI Yan-lin1, YANG Xing-xing1, ZHANG Jia-yin3, HUANG San-wen2, and XIONG Xing-yao1,2,*

（1College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2 The Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3 State Key Laboratory of Subhealth Intervention Technology, Changsha 410128, China）

- 摘要
- 参考文献
- 相关文章

摘要 利用Trinity软件对NCBI公共数据库中公布的南方红豆杉（*Taxus chinensis* var. *mairei*）根、茎和叶的转录数据进行转录组的重新拼接。通过对13 737 528条序列组装得到96 279条Unigenes（38 Mb），通过SSR检测程序从96 279条Unigenes中得到2 160个SSR位点（2.24%），其平均发生率为1/18.01 kb，基序长度为14 ~ 25 bp之间。优势重复基序为六核苷酸和三核苷酸，分别占总SSR位点的38.56%和37.08%。2 160个SSR位点由703种重复基序构成，其中六核苷酸占60.96%，主要分布在3 ~ 4重复；二、三核苷酸占总SSR位点的44.81%，其中以（AG/CT）$_n$、（AT/AT）$_n$、（AAG/CTT）$_n$、（AGC/CTG）$_n$、（AGG/ CCT）$_n$和（ATC/ATG）$_n$重复基序最为丰富，合占总SSR重复类型的34.73%，并出现少量的（CG/CG）$_n$和（CCG/CGG）$_n$重复。通过L_9（3^4）正交试验得到最优的SSR-PCR体系，10 μL PCR体系中含DNA 20 ng，1 × PCR缓冲液，$MgCl_2$ 20 mmol，dNTPs 0.35 mmol，引物0.25 μmol，*Taq*酶0.45 U。随机挑选62对SSR引物进行8个南方红豆杉株系的SSR扩增，有效扩增率为53.23%，多态性比率为38.71%。这些多态性转录组SSR引物的开发为红豆杉遗传多样性的分析、分子标记辅助育种、遗传图谱构建和功能基因的挖掘提供了更丰富的标记。

关键词： 红豆杉 转录本 引物 SSR

Abstract： To study the genetic diversity and genetic linkage mapping of *Taxus chinensis* var. *mairei* without information of the whole genome, the SSR primers were designed based on the transcriptome data （from NCBI）from roots, stems and leaves of 13 737 528 reads were assembled into 96 279 unique sequences with 38 Mb total nucleotides, in which 2 160 SSRs（2.24%）were identified, with the average frequency of 1/18.01 kb and the motifs length of 14 to 25 bp, by using SSR finding soft. Hexunucleotides （38.56%）and trinucleotides（37.08%）appeared to be the most abundant repeated motifs. Seven hundred and three repeat motifs were composed of 2 160 SSRs, in which hexunucleotides were accounted for 60.96%, with the repeat frequency of 3 to 4 times. Among the dinucleotide and trinucleotides SSR motifs（44.81%）, the most abundant was（AG/CT）$_n$, （AT/AT）$_n$, （AAG/CTT）$_n$, （AGC/CTG）$_n$, （AGG/CCT）$_n$ and（ATC/ATG）$_n$ accounting for 34.73% of the total SSRs. A small amount of repeats were（CG/CG）$_n$ and（CCG/ CGG）$_n$ the optical amplifications were performed in 10 μL final volume containing 20 ng DNA, 1× PCR buffer（Tiangen）, 20 mmol $MgCl_2$, 0.35 mmol each of dNTPs, 0.25 μmol each of primers, 0.45 U polymerase *Taq*（Tiangen）, according to the orthogonal test of L_9（3^4）. Sixty-two potential markers sites were randomly selected to validate the assembly quality and develop SSR markers. Among 8 *Taxus* germplasms, effective PCR success rate and polymorphism rate of 62 markers were separately 53.23% and 38.71%. This study is important for analyzing genetic diversity, marker assisted selection, genetic linkage mapping and functional gene mining of *Taxus chinensis* var. *mairei* by using SSR molecular markers.

Keywords： Taxus chinensis var. mairei, transcriptome, primer, SSR

收稿日期: 2013-12-25; 出版日期: 2014-03-18

引用本文:

.南方红豆杉转录组SSR挖掘及分子标记的研究[J] 园艺学报, 2014,V41(4): 735-745

.Studies on SSR Molecular Markers Based on Transcriptome of Taxus chinensis var. mairei[J] ACTA HORTICULTURAE SINICA, 2014,V41(4): 735-745

链接本文:

http://www.ahs.ac.cn//CN/ 或 http://www.ahs.ac.cn//CN/Y2014/V41/I4/735

[1] 解凯东 王晓培 王惠芹 梁武军 谢宗周 郭大勇 伊华林 邓秀新 Grosser Jude W. 郭文武.以柑橘多胚性二倍体母本倍性杂交培育三倍体[J]. 园艺学报, 2014,41(4): 613-620

[2] 吕 晶, 刘 凡, 宗 梅, 韩 硕, 王幼平, 王桂香.花椰菜—黑芥渐渗系和异附加系的获得与分析[J]. 园艺学报, 2014,41(3): 456-468

[3] 梁武军, 解凯东, 郭大勇, 谢宗周, 徐 强, 伊华林, 郭文武.柑橘10 个品种实生后代多倍体的发掘及SSR 鉴定[J]. 园艺学报, 2014,41(3): 409-416

[4] 刘书林1, 顾兴芳1, 苗, 晗1, 王, 敏1, 王, 烨1, Todd C. Wehner2, 张圣平1, *.成熟黄瓜果皮红色性状的遗传分析及其基因定位[J]. 园艺学报, 2014,41(2): 259-267

[5] 董海燕1,*，季孔庶2，侯伯鑫3，赵宏波1.基于ISSR标记的红花檵木品种亲缘关系分析[J]. 园艺学报, 2014,41(2): 365-374

[6] 任国良, 杨绪勤, 何欢乐, 蔡 润, 潘俊松.黄瓜无侧枝基因*nlb* 的初步定位[J]. 园艺学报, 2013,40(7): 1375-1381

[7] 易官美, 黎建辉, 王冬梅, 童再康, 卢泳全.南方红豆杉SSR 分布特征分析及分子标记的开发[J]. 园艺学报, 2013,40(3): 571-578

[8] 董邵云, 苗 晗, 张圣平, 王 烨, 王 敏, 刘书林, 顾兴芳.黄瓜果皮光泽性状的遗传分析及基因定位研究[J]. 园艺学报, 2013,40(2): 247-254

[9] 魏兵强, 刘飞云, 马宗桓, 陈灵芝, 张 茹, 王兰兰, 侯 栋.辣椒EST-SSRs 的分布特征及在品种多样性研究中的应用[J]. 园艺学报, 2013,40(2): 265-274

[10] 陈 娇, 王小蓉, 汤浩茹, 陈 涛, 黄晓姣, 梁勤彪.基于SSR 标记的四川野生中国樱桃遗传多样性和居群遗传结构分析[J]. 园艺学报, 2013,40(2): 333-340

[11] 廖芳蕾, 陈民管, 桑 丹, 陈文荣, 郭卫东.佛手种质资源遗传多样性的ISSR 分析[J]. 园艺学报, 2013,40(11): 2222-2228

[12] 周坤华, 陈学军, 方 荣, 陈丽珍, 宗洪霞, 缪南生.辣椒种间（*Capsicum annuum* × *C. frutescens*）遗传图谱的构建与分析[J]. 园艺学报, 2013,40(11): 2171-2179

[13] 高源, 田路明, 刘凤之, 曹玉芬*.利用SSR荧光标记构建92个梨品种指纹图谱[J]. 园艺学报, 2012,39(8): 1437-

[14] 林立, 胡仲义, 李纪元, 祝志勇, 倪穗.10 个山茶岛屿天然居群的遗传多样性分析[J]. 园艺学报, 2012,39(8): 1531-

[15] 孟金贵, 张卿哲, 王硕, 张应华.涮辣与辣椒属5 个栽培种亲缘关系的研究[J]. 园艺学报, 2012,39(8): 1589-