

牡丹 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列的克隆及分析

侯小改^{1,*}, 郭大龙^{2,*}, 黄燕梅², 张曦¹

(¹河南科技大学农学院, 河南洛阳 471003; ²河南科技大学林学院, 河南洛阳 471003)

摘要: 根据 Ty3-gypsy 反转录转座子反转录酶的保守序列设计简并引物, 从中原牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andrews) 品种‘洛阳红’和野生种卵叶牡丹 (*Paeonia qiui* Y. L. Pei et D. Y. Hong) 中扩增出 430 bp 左右的目标片段。目的条带经回收、克隆、测序及相关生物信息学软件进行序列分析后, 获得了 13 条来自牡丹的 Ty3-gypsy 反转录转座子反转录酶序列。这些核苷酸序列具有较高的异质性, 主要表现为缺失突变, 序列长度变化范围为 412 ~ 446 bp, 同源性范围为 71.5% ~ 94.8%。翻译成氨基酸后, 有 12 条序列出现 1 ~ 9 个不同程度的终止密码子突变, 3 条序列出现移框突变。其核苷酸序列经过系统聚类后可分为 6 个家族。将其氨基酸序列与已登录的不同物种 Ty3-gypsy 反转录转座子反转录酶的氨基酸序列进行聚类分析, 结果表明与其他植物具有较高的同源性, 表明它们间可能存在着 Ty3-gypsy 反转录转座子的横向传递。

关键词: 牡丹; Ty3-gypsy 类反转录转座子; 反转录酶; 异质性

中图分类号: S 685.11

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 01-0098-09

Cloning and Analysis of Reverse Transcriptase of Ty3-gypsy-like Retrotransposons in Tree Peony (*Paeonia*)

HOU Xiao-gai^{1,*}, GUO Da-long^{2,*}, HUANG Yan-mei², and ZHANG Xi¹

(¹College of Agriculture, Henan University of Science & Technology, Luoyang, Henan 471003, China; ²College of Forestry, Henan University of Science & Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract: Using degenerate oligonucleotide primers corresponding to conserved domains of the Ty3-gypsy-like retrotransposon reverse transcriptase, a fragment of 430 bp was amplified by PCR from the genomic DNA of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andrews ‘Luoyang Hong’) and *Paeonia qiui*. The amplicons were recovered and cloned into pMD-18T vector after purification, positive clones were selected and identified by colony PCR, then sequenced and analyzed. Thirteen different sequences of reverse transcriptase from tree peony ‘Luoyang Hong’ and *Paeonia qiui* were obtained and six clusters were identified with high heterogeneity through phylogenetic analysis after alignment analyses of their nucleotide sequences. These sequences showed high heterogeneity, mainly characterized by deletion

收稿日期: 2012-07-23; **修回日期:** 2012-12-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31070620); 河南省高校科技创新人才支持计划项目 (2010HASTTT002); 河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目 (2010GGJS-072)

* 并列第一作者 (E-mail: hxg382@126.com; guodalong@mail.haust.edu.cn)

mutations. The length of the nucleotide sequences varied from 412 to 446 bp, and homology ranged from 71.5% to 94.8%. When translated into amino acids, twelve sequences presented stop codon mutation, and three sequences presented frameshift mutation. A phylogenetic tree was constructed based on the amino acid sequences from other species, indicating that horizontal transmission of retrotransposon has occurred among the plants in the past.

Key words: tree peony; Ty3-gypsy-like retrotransposons; reverse transcriptase; heterogeneity

反转录转座子是导致植物性状突变及基因组遗传和进化的重要原因, 作为一类可移动的遗传因子在真核生物中广泛存在 (Schulman et al., 2012)。植物反转录转座子是构成植物基因组的主要成分, 以多拷贝形式出现, 其转座过程是转座因子的 DNA 先被转录成 RNA, 再借助反转录酶/RNase H 反转录成 DNA, 插入到新的染色体位点。反转录酶是反转录转座子中具有转录活性的部分, 对其转座起着至关重要的作用 (Kumar & Bennetzen, 1999)。

反转录转座子根据其 5'端和 3'端是否有重复序列可分为两类: 长末端重复反转录转座子 (long terminal repeats, LTRs) 和非长末端重复反转录转座子 (non-long terminal repeats, non-LTRs)。LTR 反转录转座子按结构又可分为 Ty1-copia 与 Ty3-gypsy 两个亚类 (Kalendar et al., 2011), 它们在植物基因组中都具有存在广泛、高拷贝数、插入位点专一等特点, 在植物基因组的组成, 基因组进化和系统发育, 基因功能分析及生物多样性评价等研究中均具有重要意义 (Kumar & Bennetzen, 1999; Schulman et al., 2012)。迄今已在多种主要植物中研究分析了 Ty1-copia 类反转录转座子的序列特征 (Wang et al., 2010; 范付华 等, 2012; Woodrow et al., 2012), 但关于 Ty3-gypsy 类反转录转座子, 目前的研究还相对较少 (Suoniemi et al., 1998; Gbadegesin & Beeching, 2011; Steinbauerová et al., 2011)。

牡丹组植物种类较多, 新种类也不断被发现, 但对于牡丹不同种的形成和相互间的进化关系还不甚明了 (Zhang et al., 2009)。同时牡丹具有不同的花色, 多样的花形等丰富的遗传多样性 (Shu et al., 2012), 但这些性状是如何形成的, 目前知之不多。前人的研究表明, Ty3-gypsy 类反转录转座子在葡萄果皮颜色的变化 (Kobayashi et al., 2004; Cadle-Davidson & Owens, 2008), 菜豆花色的形成 (Erdmann et al., 2002) 和木槿基因组的进化 (Jeung et al., 2005) 等方面发挥着至关重要的作用。

那么, 牡丹组植物的进化和相关性状的形成是否也与 Ty3-gypsy 类反转录转座子有关? 首先需要了解其是否在牡丹基因组中存在, 以及其序列的变异情况等, 而其反转录酶序列是其发挥作用的重要元件 (Suoniemi et al., 1998)。所以本研究中先对 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列进行分离、克隆和相关序列特性的分析, 以期对牡丹基因组进化和种质资源研究提供新的信息。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2012 年 2 月至 6 月在河南科技大学牡丹实验室完成。

中原牡丹品种 '洛阳红' (*Paeonia suffruticosa* Andrews 'Luoyang Hong') 和野生种卵叶牡丹 (*Paeonia qiui* Y. L. Pei et D. Y. Hong) 嫩叶取自中国洛阳国家牡丹基因库。

1.2 DNA 提取及反转录酶扩增

采用磁珠富集法提取基因组 DNA (洛阳惠尔生物科技有限公司)。反转录转座子的反转录酶的引物设计参照 Kumekawa 等 (1999)。TY3-F: 5'-AGMGRATGTGYGTSGATYAT-3'; TY3-R: 5'-GTKGGKYTTTRWGTGTRAA-3'。其中 M = A + C, R = A + G, Y = C + T, S = C + G, K = G + T, W = A + T。PCR 反应体系为: DNA 50 ng, 1× PCR buffer (TaKaRa), 2.0 mmol · L⁻¹ Mg²⁺, 0.3 mmol · L⁻¹ dNTPs, 1.0 μmol · L⁻¹ 引物 (TY3-F 和 TY3-R), 1.0 U *Taq* 酶, 灭菌双蒸水补足至 20 μL。PCR 扩增程序为: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 53 °C 1 min, 72 °C 2 min; 35 个循环; 最后 72 °C 8 min。

1.3 PCR 产物的回收、克隆及转化

用 1.0% 琼脂糖凝胶检测扩增产物, BioTeke 胶回收试剂盒回收纯化 PCR 产物。回收产物连接于 pMDTM18-T 载体上并转化大肠杆菌 DH5α 感受态细胞, 涂板并摇菌培养后, 挑取经 PCR 鉴定为阳性克隆的质粒送北京三博远志生物技术技术有限公司测序。

1.4 反转录酶序列测序及序列分析

采用 BLAST 程序推导、比对获得的反转录酶基因片段的氨基酸序列, 并用 DNAMAN 和 DNASTar 软件对获得的反转录酶序列进行进一步分析, 用 MEGA5.0 软件邻接法构建系统发育进化树。

2 结果与分析

2.1 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列扩增结果

利用兼并引物扩增结果表明, 在‘洛阳红’和卵叶牡丹基因组中均检测到了 Ty3-gypsy 反转录酶序列, 长度均为 430 bp 左右 (图 1), 表明 Ty3-gypsy 反转录转座子在牡丹基因组中的存在具有一定的普遍性。

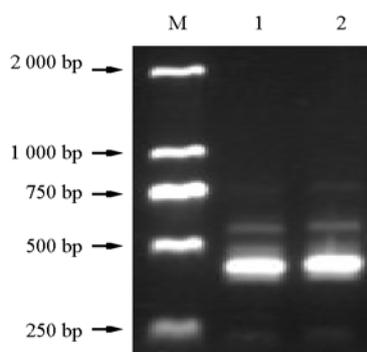


图 1 牡丹反转录转座子反转录酶序列的 PCR 扩增

M: DL 2000 marker; 1: 中原牡丹‘洛阳红’; 2: 卵叶牡丹。

Fig. 1 PCR amplification of reverse transcriptase sequence from tree peony

M: DL 2000 marker; 1: *Paeonia suffruticosa* ‘Luoyang Hong’; 2: *P. qiui*.

将扩增得到的 430 bp 左右的片段回收纯化, 克隆测序后, 共得到 33 条序列。经 Blast 比对和 DNASTar 分析后, 去除重复与过短序列, 成功获得 13 条不同序列, 依次命名为 PART1 ~ PART13, 其中 PART1 ~ PART10 来自中原牡丹品种‘洛阳红’, PART11 ~ PART13 来自野生种卵叶牡丹, GenBank 登录号依次为 JX213641 ~ JX213653 (表 1)。

2.2 Ty3-gypsy 类反转录酶序列的同源性与异质性

将获得的 13 条序列与 NCBI 数据库进行序列比对, 结果显示它们与已报道的其他植物的 Ty3-gypsy 类反转录转座子的反转录酶序列有很高的同源性, 说明本研究中克隆到了牡丹 Ty3-gypsy 类反转录转座子的反转录酶序列。

经 DNAMAN 软件分析这些序列, 其富含碱基 AT, AT 与 GC 的比例范围为 1.45 ~ 1.87, 核苷酸序列变化范围为 412 ~ 446 bp (表 1), 其中序列 PART6 长度为 412 bp, PART7 和 PART8 长度为 430 bp, PART4 长度为 446 bp, 其余序列均为 431 bp。

表 1 牡丹 Ty3-gypsy 类反转录酶序列的组成

Table 1 The nucleotide composition of reverse transcriptase of Ty3-gypsy retrotransposons in tree peony

序列编号 Sequence No.	大小/bp Size	AT/GC	登录号 GenBank No.
PART1	431	1.49	JX213641
PART2	431	1.55	JX213642
PART3	431	1.73	JX213643
PART4	446	1.67	JX213644
PART5	431	1.45	JX213645
PART6	412	1.82	JX213646
PART7	430	1.87	JX213647
PART8	430	1.59	JX213648
PART9	431	1.55	JX213649
PART10	431	1.62	JX213650
PART11	431	1.68	JX213651
PART12	431	1.69	JX213652
PART13	431	1.66	JX213653

从表 2 可以看出牡丹反转录酶序列间同源性范围为 71.5% ~ 94.8%, 其中序列 PART1 与 PART5 的同源性最高, 为 94.8%, 序列 PART4 与 PART6 的同源性最低, 仅为 71.5%。由此得出, 同一简并引物获得的反转录转座子反转录酶序列并不相同, 其在序列长度、碱基同源性、碱基变化上存在多

表 2 牡丹中反转录酶的序列差异百分率 (左下方) 和同源性 (右上方)

Table 2 The divergence (below the diagonal) and percent identity (above the diagonal) of reverse transcriptase in tree peony

	PART1	PART2	PART3	PART4	PART5	PART6	PART7	PART8	PART9	PART10	PART11	PART12	PART13
PART1		93.3	85.9	83.2	94.8	77.8	80.7	89.9	83.4	81.8	84.1	80.3	85.7
PART2	7.4		85.7	84.1	93.5	78.0	79.4	89.5	84.3	83.6	84.5	80.0	85.2
PART3	16.6	17.1		84.5	86.3	76.2	81.2	86.5	83.2	83.6	85.0	79.4	88.1
PART4	15.9	14.8	14.0		83.9	71.5	79.8	83.4	80.5	81.8	83.2	75.6	84.8
PART5	5.6	7.1	16.1	15.1		77.6	80.3	90.6	84.8	82.3	83.6	81.4	85.9
PART6	23.4	23.2	25.7	28.6	24.0		74.2	76.9	78.5	73.5	75.3	76.9	76.5
PART7	23.6	25.9	22.9	20.0	24.4	28.7		80.9	81.6	79.6	81.6	72.4	80.5
PART8	11.1	11.7	15.4	15.2	10.3	25.0	23.0		83.4	82.3	84.1	79.6	85.2
PART9	20.3	19.2	20.5	19.8	18.5	22.6	22.3	19.8		81.2	82.7	82.3	84.8
PART10	22.4	20.0	19.7	17.7	21.9	30.5	25.2	21.2	23.6		83.0	75.6	83.2
PART11	19.0	18.5	17.8	15.8	19.8	27.3	22.2	18.7	21.1	20.6		78.3	84.1
PART12	24.7	25.3	26.1	27.2	23.1	25.0	37.8	25.3	22.1	32.6	27.8		81.4
PART13	17.0	17.8	13.7	13.8	16.8	25.0	23.9	17.2	18.4	20.5	19.1	23.2	

态性。在杏等植物中的研究也表明即使来自同一物种的同一类反转录转座子均具有高度异质性的特点 (Ungerer et al., 2009; Wang et al., 2010)。来自中原牡丹品种‘洛阳红’和野生种卵叶牡丹的序列在组成上差异不大。

2.3 反转录酶的核苷酸序列分析

为了明确所获得的牡丹中 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶 DNA 序列间的相互关系, 利用 DNASTar 对分离得到的 13 条反转录酶序列进行聚类分析, 构建牡丹中该类反转录转座子的系统发育进化树 (图 2)。

根据进化树 Branch 的长度将这 13 条反转录酶序列分成了 6 组 (即 I ~ VI), 每组代表同一祖先而来的遗传家族。其中 III、IV、V、VI 家族只含有一条序列, 把它们各自单独列为一组, 与其余家族的遗传距离较大, 这可能与核苷酸序列间碱基的突变有关。家族 I 和家族 II 分别包括 7 条和 2 条序列, 这 2 个家族约占克隆总数的 70%, 说明这 2 个家族是构成牡丹反转录转座子的主要成分。家族 I 的 7 条序列的相似性在 89% 以上, 但核苷酸序列间存在一定程度上碱基替换产生的差异。可见碱基取代、缺失或插入突变可能是同一家族的反转录转座子产生异质性的原因之一 (杜晓云 等, 2008; Wang et al., 2010; 范付华 等, 2012)。来自野生种卵叶牡丹的 PART10 ~ PART13 序列与来自中原牡丹品种‘洛阳红’的序列在聚类图上混在一起, 不能明显分开。

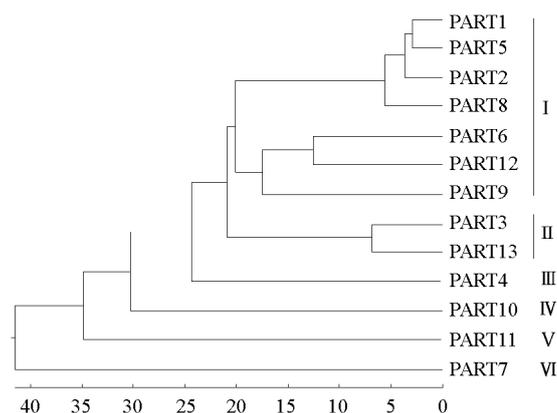


图 2 牡丹反转录酶序列进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of sequences of reverse transcriptase in tree peony

2.4 反转录酶的氨基酸序列分析

将这 13 条反转录酶翻译成氨基酸, 对比 Ty3-gypsy 类反转录酶基因的氨基酸保守序列, 发现有 3 条序列发生了移码突变, 分别是 PART6 (第 96 个氨基酸处)、PART7 (第 84 个氨基酸处) 和 PART8 (第 112 个氨基酸处); 13 条序列有 12 条发生 1 ~ 9 个终止密码子突变, 其中发生突变最少的是 PART1, 在第 104 个氨基酸处发生 1 个终止密码子突变, 最多的分别是 PART6, 在第 14、31、44、59、85、95、108、111 和 146 个氨基酸处发生了 9 个终止密码子突变, PART13 在第 35、44、49、51、96、113、117、124 和 149 个氨基酸处发生了 9 个终止密码子突变 (图 3)。因此推断, 移码突变和终止密码子突变可能是导致牡丹 Ty3-gypsy 类反转录转座子异质性的主要原因。

基酸序列与水稻 (*Oryza sativa*) 中的 AG266800, 烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中的 AB033261 和荸荠 (*Eleocharis carniolica*) 中的 GU976752 有较高的同源性。因反转录转座子在植物界广泛分布, 作为基因组的重要组成部分, 它不仅可以纵向传递, 而且可以横向传递 (Kumar & Bennetzen, 1999), 可能历史上这几个物种间的 Ty3-gypsy 类反转录转座子存在这横向传递的现象。

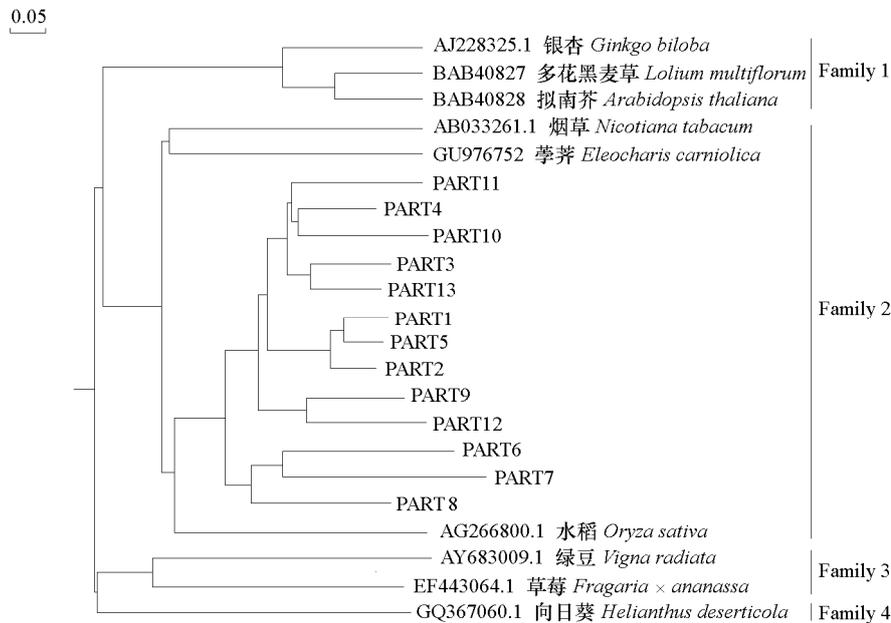


图 4 牡丹与其他植物部分反转录酶的氨基酸序列进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of amino acid sequences of reverse transcriptase among tree peony and some other plants

3 讨论

近些年来对牡丹的分子生物学研究主要集中在分子标记和基因克隆方面 (Guo et al., 2009; Hou et al., 2011; 周琳 等, 2011; Gai et al., 2012; Zhang et al., 2012), 而对于构成基因组重要部分的反转录转座子的研究几乎没有涉及。本研究中首次利用 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶的兼并引物采用 PCR 技术从中原牡丹品种‘洛阳红’和野生种卵叶牡丹中扩增分离出了牡丹相应的 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列, 两者中均有扩增结果, 初步说明该类反转录转座子在牡丹中普遍存在。前人研究结果表明 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列为 420 bp 左右 (Kumekawa et al., 1999; Ungerer et al., 2009; Steinbauerová et al., 2011)。本研究获得的牡丹反转录酶序列长度变化范围是 412 ~ 446 bp, 大部分序列长度是 431 bp, 与前人的研究结果一致, 说明本研究中分离的牡丹 Ty3-gypsy 类反转录转座子真实可靠, 并且进一步验证了 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列在不同物种中的序列长度比较相似, 具有一定的保守性, 证实采用兼并引物的方法分离 Ty3-gypsy 类反转录转座子的方法是可行的。

本研究中选用牡丹栽培种 (*Paeonia suffruticosa*) 的代表品种‘洛阳红’和野生牡丹种卵叶牡丹 (*Paeonia qiui*) 为材料, 考察 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列在两者中是否有差异。从‘洛阳红’和卵叶牡丹中起始获得 33 条序列, 但经相关软件分析后, 序列重复较多, 去掉重复和较短的序列后, 最终分别得到 10 条和 3 条 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列, 从核苷酸和氨基酸序

列的分析及聚类树所反映的结果来看, 两者间无明显的差异, 相似程度较高, 这从另一个方面反映了两者可能具有较近的遗传关系。所分离出的 13 条反转录酶序列在长度、碱基同源性、碱基变化上存在较大的异质性, 经过对序列特征的深入分析表明缺失突变、移码突变以及终止密码子突变可能是造成牡丹反转录转座子异质性的重要原因, 这与杜晓云等 (2008) 和 Woodrow 等 (2012) 在其他植物中的研究结果一致。

对牡丹中所获得的 13 条反转录酶序列的系统聚类分析可将它们分为 6 个家族, 不同家族里含有的反转录酶序列数量不同, 反映了不同家族反转录转座子的转录过程存在差异, 其存在的历史地位也可能不同 (江彪 等, 2008), 对牡丹基因组进化的作用也可能各异。将 13 条反转录酶序列翻译为氨基酸后, 与 GenBank 中已登录的来源于不同生物的其他 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶的氨基酸序列比较分析后, 发现牡丹与烟草, 水稻和荸荠的相关序列同源性较高, 这种相似性可能是该 Ty3-gypsy 类反转录酶对应的反转录转座子在它们之间历史上横向传递的结果 (范付华 等, 2012; Woodrow et al., 2012), 这在一定程度上为研究牡丹的起源提供了依据。

本研究中成功从牡丹基因组中分离出了 Ty3-gypsy 类反转录转座子反转录酶序列, 并对其序列特征及其多样性进行了分析, 为牡丹的种质资源遗传变异和进化研究提供了新信息。

References

- Cadle-Davidson M M, Owens C L. 2008. Genomic amplification of the *Gret1* retroelement in white-fruited accessions of wild *Vitis* and interspecific hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 116 (8): 1079 - 1094.
- Du Xiao-yun, Zhang Qing-lin, Luo Zheng-rong. 2008. Isolation and characterization of RNaseH-LTR sequences of Ty1-*copia* like retrotransposons in oriental persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. 'Luotian-tianshi'). *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (4): 501 - 508. (in Chinese)
- 杜晓云, 张青林, 罗正荣. 2008. 罗田甜柿 Ty1-*copia* 类逆座子 RNaseH-LTR 序列的分离和特性分析. *园艺学报*, 35 (4): 501 - 508.
- Erdmann P M, Lee R K, Bassett M J, McClean P E. 2002. A molecular marker tightly linked to P, a gene required for flower and seed coat color in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), contains the Ty3-gypsy retrotransposon *Tpv3g*. *Genome*, 45 (4): 728 - 736.
- Fan Fu-hua, Qiao Guang, Zheng Si-cheng, Wen Xiao-peng. 2012. cloning and analysis of reverse transcriptase of Ty1-*copia* retrotransposons in *Hylocereus undatus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (2): 265 - 272. (in Chinese)
- 范付华, 乔光, 郑思成, 文晓鹏. 2012. 火龙果 Ty1-*copia* 类反转录转座子反转录酶序列的克隆及分析. *园艺学报*, 39 (2): 265 - 272.
- Gai S, Zhang Y, Mu P, Liu C, Liu S, Dong L, Zheng G. 2012. Transcriptome analysis of tree peony during chilling requirement fulfillment: Assembling, annotation and markers discovering. *Gene*, 497 (2): 256 - 262.
- Gbadegesin M A, Beeching J R. 2011. Highly heterogeneous Ty3/Gypsy-like retrotransposon sequences in the genome of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *African Journal of Biotechnology*, 10 (20): 3951 - 3963.
- Guo D L, Hou X G, Zhang J. 2009. Sequence-related amplified polymorphism analysis of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andrews) cultivars with different flower colours. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84 (2): 131 - 136.
- Hou X G, Guo D L, Wang J. 2011. Development and characterization of EST-SSR markers in *Paeonia suffruticosa* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, 98 (11): e303 - e305.
- Jeung A U, Cho S K, Lee S J, Shin J S. 2005. Characterization of Ty3-gypsy-like elements in *Hibiscus syriacus*. *Molecules Cells*, 19: 318 - 327.
- Jiang Biao, Lou Qun-feng, Diao Wei-ping, Chen Long-zheng, Zhang Wan-ping, Chen Jin-feng. 2008. The cloning and analysis of reverse transcriptase of Ty1-*copia*-like retrotransposons in *Cucumis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (8): 1147 - 1154. (in Chinese)
- 江彪, 娄群峰, 刁卫平, 陈龙正, 张万萍, 陈劲枫. 2008. 黄瓜属 Ty1-*copia* 类逆座子逆录酶序列的克隆及分析. *园艺学报*, 35 (8): 1147 - 1154.
- Kalendar R, Flavell A J, Ellis T H, Sjakste T, Moisy C, Schulman A H. 2011. Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular

- markers. *Heredity*, 106 (4): 520 - 530.
- Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H. 2004. Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science*, 304 (5673): 982.
- Kumar A, Bennetzen J L. 1999. Plant retrotransposons. *Annual Review of Genetics*, 33 (1): 479 - 532.
- Kumekawa N, Ohtsubo E, Ohtsubo H. 1999. Identification and phylogenetic analysis of *gypsy*-type retrotransposons in the plant kingdom. *Genes & Genetic Systems*, 74 (6): 299 - 307.
- Schulman A H, Flavell A J, Paux E, Ellis T H. 2012. The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. *Methods Mol Biol*, 859: 115 - 153.
- Shu Q, Wang L, Wu J, Du H, Liu Z, Ren H, Zhang J. 2012. Analysis of the formation of flower shapes in wild species and cultivars of tree peony using the MADS-box subfamily gene. *Gene*, 493 (1): 113 - 123.
- Steinbauerová V, Neumann P, Novák P, Macas J. 2011. A widespread occurrence of extra open reading frames in plant Ty3/*gypsy* retrotransposons. *Genetica*, 139 (11 - 12): 1543 - 1555.
- Suoniemi A, Tanskanen J, Schulman A H. 1998. Gypsy-like retrotransposons are widespread in the plant kingdom. *The Plant Journal*, 13 (5): 699 - 705.
- Ungerer M C, Strakosh S C, Stimpson K M. 2009. Proliferation of Ty3/*gypsy*-like retrotransposons in hybrid sunflower taxa inferred from phylogenetic data. *BMC Biology*, 7: 40.
- Wang F, Tong Z, Sun J, Shen Y, Zhou J, Gao Z, Zhang Z. 2010. Genome-wide detection of Ty1-*copia* and Ty3-*gypsy* group retrotransposons in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *African Journal of Biotechnology*, 9 (50): 8583 - 8596.
- Woodrow P, Pontecorvo G, Ciarmiello L F. 2012. Isolation of Ty1-*copia* retrotransposon in myrtle genome and development of S-SAP molecular marker. *Molecular Biology Reports*, 39 (4): 3409 - 3418.
- Zhang J J, Shu Q Y, Liu Z A, Ren H X, Wang L S, de Keyser E. 2012. Two EST-derived marker systems for cultivar identification in tree peony. *Plant Cell Reports*, 31 (2): 299 - 310.
- Zhang J M, Wang J X, Xia T, Zhou S L. 2009. DNA barcoding: Species delimitation in tree peonies. *Science in China Series C: Life Sciences*, 52 (6): 568 - 578.
- Zhou Lin, Wang Yan, Ren Lei, Peng Zhen-hua. 2011. Cloning and expression analysis of dihydroflavonol 4-reductase gene *PsDFR1* from tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.). *Plant Physiology Journal*, 47 (9): 885 - 892. (in Chinese)
- 周琳, 王雁, 任磊, 彭镇华. 2011. 牡丹二氢黄酮醇4-还原酶基因 *PsDFR1* 的克隆及表达分析. *植物生理学报*, 47 (9): 885 - 892.

征 订

《新编拉汉英植物名称》

本书收集具有经济价值和学术价值或通俗常见的种子植物、蕨类植物、苔藓植物、藻类植物、真菌、地衣名称 55 800 条。每种植物名称有拉、汉、英，3 种文字对照，按拉丁文字母顺序排列。书后附有英文俗名和汉名索引。本书可供农、林、医药、环境保护等学科的管理机构、科研单位、大学中的科技人员以及生物工程、植物检疫、花卉园艺、新闻出版、旅游、外贸等专业的技术人员使用，也是各类图书馆典藏的重要工具书。

定价：185 元（含邮费）。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部，邮编 100081。