

杨梅EST-SSR序列的特征

谢小波, 求盈盈, 郑锡良, 梁森苗, 周鑫, 项康华, 戚行江*

(浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州 310012)

杨梅 (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) 的品种数量少、类型相对单一, 育种进展缓慢。杨梅的遗传育种研究中可供利用的 SSR 分子标记很少, 目前已发表的仅有 36 个, 严重制约了相关研究的开展。本研究旨在通过开发一定数量的 EST-SSR 分子标记, 为杨梅的遗传育种研究提供更多可用的分子标记工具, 以促进杨梅研究的深入。

本试验材料为杨梅的当家品种之一 ‘东魁’ (*Myrica rubra* var. ‘Dongkui’)。从其花序组织中进行总mRNA的提取, 并进行cDNA的合成, 建立文库并用高通量的测序方法Illumina HiSeq™ 2000 进行测序。SSR序列的分析采用在线的分析工具SSRIT (<http://www.gramene.org/db/markers/ssrtool>), 二碱基、三碱基的SSR序列设置最少重复数为 5, 四碱基至六碱基的SSR序列最少重复数为 4。

本研究中分析了 5 379 条 EST 序列, 139 条序列中含有 SSR, 占 2.6%, 其中 13 条序列含有 2 个或 2 个以上 SSR, 共有 SSR 序列 154 处。按平均序列长度 302 bp 计算 (据测序结果统计数值), 每 10.5 kb 长度的 EST 序列含有 1 个 SSR。根据 SSR 在序列中所处的位置不同, 这 139 条 EST 序列中可设计 SSR 引物的 EST 序列有 104 条, 占 1.9%。采用 Primer3 为二碱基至六碱基重复数在 5 次以上的 96 条 EST-SSR 序列设计了引物, 根据 “杨梅” 两字的拼音首字母, 以 “YM” 命名 SSR 标记, 后跟阿拉伯数字, 连同以前分离的基因组 SSR 分子标记, 目前已编号到 YM117。

根据前人对 SSR 分子标记类型的分类, 这 139 条 EST-SSR 中, 单一的 SSR 序列有 126 条, 占 90.7%; 连续的组合 SSR 序列 1 条, 占 0.7%; 非连续的组合 SSR 序列 13 条, 占 8.6%。154 个 SSR 序列中, 二碱基重复序列有 104 个, 占 67.5%; 三碱基重复序列有 40 个, 占 26.0%; 四碱基重复序列有 4 个, 占 2.6%; 五碱基重复序列有 4 个, 占 2.6%; 六碱基重复序列有 2 个, 占 1.3%。二碱基的重复序列中, 最大碱基重复数是 18, 重复数为 5 的序列数量最多, 49 个; 重复数为 6 的 14 个, 重复数为 7 的 15 个, 重复数为 8 以上的共 26 个。统计表明, 二碱基的重复序列中以低重复 (重复数为 5 ~ 7) 数的 SSR 序列为主。三碱基的重复序列中, 最大重复数为 11, 重复数为 5 的最多, 26 个; 其次是重复数为 6 的有 9 个; 重复数为 7 至 11 的共 5 个。四碱至六碱基的重复序列共有 10 个, 最大重复数为 8。

比较分析表明, 杨梅的 EST-SSR 特征与其它植物有着类似的趋势。

关键词: 杨梅; EST-SSR 特征

中图分类号: S 667.6

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2510-01

收稿日期: 2011 - 09 - 16

基金项目: 浙江省重大科技专项农业项目 (2008C12013-1); 浙江省自然科学基金项目 (Y3080537, Y3100434)

* 通信作者 (E-mail: qixj@sohu.com; xiexiaobo@yahoo.com; Tel: 0571-86417311)