

基于干旱胁迫下杉木转录组序列的 EST-SSR 分子标记开发¹⁾

吴夏雷 董黎 孙宇涵

胡瑞阳

郑会全 胡德活 李云

(北京林业大学 北京 100083)

(中国林业科学研究院华北林业实验中心)

(广东省林业科学研究院) (北京林业大学)

摘 要 利用干旱胁迫下杉木转录组数据进行杉木 EST-SSR 分子标记的开发。对干旱胁迫下的杉木组培材料在 Solexa mRNA-Seq 平台的二代高通量测序技术下进行了转录组测定,序列拼接后共得到 75 357 个片段,总长度 65.29 Mb,共含有 EST-SSR 位点 2 383 个,其中三核苷酸重复类型数量最多,占总数的 41.21%。随机挑选 120 个 EST-SSR,用 Primer Premier 5 软件设计引物,再以遗传距离较远的 8 份杉木 DNA 样品为模板,通过 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,从 120 对引物中初选出电泳条带较好的 24 对引物,用 24 份杉木 DNA 样品进行毛细管电泳检测。结果表明:在初选出的 24 对 EST-SSR 引物中有 23 对引物检测出特异性峰;在 24 份杉木样品中共检测到等位基因 94 个,平均每个位点 4.087 0 个,等位基因变异数范围 2~9 个;有效等位基因数范围 1.086 8~6.914 3 个,平均有效等位基因 2.089 0 个;观测杂合度范围 0.250 0~1.000 0;期望杂合度范围 0.082 4~0.896 1;多态性信息指数范围 0.173 2~2.035 3。开发得到的一组杉木 EST-SSR 分子标记为研究杉木的遗传多样性、种群结构、DNA 指纹数据库构建和遗传信息的保存提供了基础。

关键词 杉木转录组; EST-SSR 标记; 毛细管电泳; 多态性

分类号 S791.27

Development of EST-SSR Molecular Marker Based on Sequences of *Cunninghamia lanceolata* Transcripts under Drought Stress // Wu Xiaolei, Dong Li, Sun Yuhuan (Beijing Forestry University, Beijing 100083, P. R. China); Hu Ruiyang (Experimental Center of Forestry in North China, Chinese Academy of Forestry); Deng Huiquan, Hu Dehuo (Guangdong Academy of Forestry); Li Yun (Beijing Forestry University) // Journal of Northeast Forestry University 2018 46(2): 1-5.

The EST-SSR molecular markers of *Cunninghamia lanceolata* were developed by using the data of Chinese fir transcripts under drought stress. The transgenic plants under drought stress were tested on the Solexa mRNA-Seq platform with the second generation high-throughput sequencing technique. The 75 357 contigs were obtained after splicing, the total length was 65.29 Mb. And there were 2 383 EST-SSR loci, the number of trinucleotide repeats was the largest, accounting for 41.21% of the total. The 120 EST-SSRs were randomly selected and primers were designed by Primer Premier 5. Then, eight *C. lanceolata* DNA samples were randomly selected as a template and 24 pairs of primers (from 120 pairs of primers) were selected by 8% non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis. The 24 samples of *C. lanceolata* were used for capillary electrophoresis. The result showed 23 pairs of EST-SSR primers were detected with specific peaks. The 94 alleles were detected in 24 samples of *C. lanceolata*, each loci had an average of 4.087 0. The number of alleles (N_a) ranged from 2 to 9. The number of effective alleles (N_e) ranged from 1.086 8 to 6.914 3, and the number of effective allele was 2.089 0. Observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.250 0 to 1.000 0. Expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.082 4 to 0.896 1. Shannon index ranged from 0.173 2 to 2.035 3. The EST-SSR molecular marker of *C. lanceolata* provides the basis for the study on genetic diversity, population structure, DNA fingerprint database construction, and genetic information preservation of *C. lanceolata*.

Keywords *Cunninghamia lanceolata* transcripts; EST-SSR markers; Capillary electrophoresis; Polymorphism

杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook)是我国南方特有的多年生针叶用材树种,距今已有 3 000 多年的栽培历史,主要分布于我国秦岭地区、长江流域以南以及台湾山区,南北约跨 10 个纬度,东西约 15 个经度,海拔最高可达 1 800 m 以上^[1]。杉木具有生长快、材性优良的特点,是我国重要的商

品材,用途广泛^[2]。近年来对杉木的研究多集中在杂交育种、良种繁育、材性提高等方面,而杉木的分子遗传学研究基础比较薄弱,早期开发出来的分子标记,因其标记缺乏共显性、多态性不高、操作复杂等原因,很大程度上限制了杉木分子育种的发展,气候环境的变化急需集合速生、抗逆等特性的新种质。

简单重复序列(SSR),又称微卫星,是重复序列为 2~6 bp 的单元,它们均匀分布于基因组中,是重复序列中主要组成部分之一^[3-5]。简单重复序列具有高度的保守性和专一性,可以特异地定位于染色体的某一位置,扩增所得产物可以在高分辨率的 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳加以分离,可以检测出不同个体在每个 SSR 位点上遗传结构的差

1) 广东省科技计划项目(2016B020201002);国家“863”重点项目(2011AA100203);中央高校基本科研业务费专项资金项目(2015ZCQ-SW-03);国家林业局重点项目(2012-06);国家自然科学基金项目(31400562)。

第一作者简介:吴夏雷,男,1993 年 7 月生,北京林业大学生物科学与技术学院,硕士研究生。E-mail: wuxialei1993@163.com。

通信作者:李云,北京林业大学生物科学与技术学院,教授。E-mail: yunli63@163.com。

收稿日期:2017 年 9 月 25 日。

责任编辑:潘 华。