

基于转录组测序的阔柄杜鹃 EST-SSR 引物开发

马立辉¹ 谢英赞¹ 王朝英²

(1 重庆市林业科学研究院 重庆沙坪坝 400036; 2 重庆城市管理职业学院 重庆沙坪坝 400036)

摘要:【目的】为了开发阔柄杜鹃 SSR 分子标记,并验证开发的分子标记的多态性。【方法】本研究从重庆市白马山(BM)、赵云山(ZY)以及金佛山(JF)等3个采样点采样,利用第二代测序技术对阔柄杜鹃转录组进行测序,对测序得到的原始数据进行质量控制,在测序之后截除序列读长中的测序接头(Adapter)和引物序列,并且过滤1kb以下的数据,得到Clean Data。对9个样品进行转录组测序,共获得55.04Gb Clean Data,各样品Clean Data可以达5.74Gb, Q30 碱基百分比在90.80%及以上。获取Clean Data之后,对高质量测序数据进行序列组装。序列组装完成后,利用MISA软件检测阔柄杜鹃潜在SSR位点。基于转录组测序数据开发SSR分子标记。【结果】(1)利用阔柄杜鹃转录组数据拼接组装得到99809条Unigene, MISA软件检测到19983个SSR位点,共鉴定出六种类型的SSR,有复合型重复SSR共1376个,单、二、三个核苷酸重复为主要的SSR位点类型,其中数目最多的重复类型是双碱基重复SSR,共8599个占43.03%;(2)阔柄杜鹃转录组有6种核苷酸重复类型,其中AG/CT是出现最多的重复基元,占SSR总数的38.67%,其次是A/T重复,占SSR总数的38.11%。单核苷酸和二核苷酸重复较多,三核苷酸及以上重复出现频率较低。(3)分别从三个种群的特有SSR位点中选取30对设计引物,共获得90对引物,对三个种群的8个个体进行SSR多态性检验,结果显示有27对引物显示出了多态性引物多态性比率为30%,多态性位点的等位基因介于2~8个,平均等位基因数5.25个。(4)在多态性引物中有2对(JF-21和B-28)在三个不同种群的阔柄杜鹃DNA扩增中表现出明显的条带差异性,可能在区分种群上具有一定的价值。【结论】阔柄杜鹃SSR位点出现频率和分布密度相对较高,基元类型也较为丰富,但多态性较为一般。基于转录组序列设计筛选的26对SSR引物具有多态性,进一步丰富了杜鹃属植物的SSR分子标记资源,可以为阔柄杜鹃及其近缘物种的保护生物学研究提供参考。