

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00933

## 香蕉 EST-SSRs 标记的开发与应用

王静毅<sup>1</sup>, 陈业渊<sup>2</sup>, 刘伟良<sup>1</sup>, 武耀廷<sup>3</sup>

1. 中国热带农业科学院热带作物生物技术研究所, 海口 571101;
2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 儋州 571737;
3. 海南大学农学院, 热带园艺植物资源与遗传改良教育部重点实验室, 海口 570228

**摘要:** 从 NCBI 搜索的 2 282 条香蕉 EST 中, 发掘出含有 SSR 的 EST 序列 110 条, 共有 122 个 SSR 位点, 检出率为 5.3%。SSR 位点可分为 37 种重复单元, 平均长度为 20 bp, 其中二、三核苷酸重复单元的 SSR 占主导地位, 分别占总 SSR 的 33.1% 和 47.6%。GA 和 GAA 是二、三核苷酸中的优势重复类型, 分别占二、三核苷酸重复类型的 75.7% 和 36.0%; 其他重复类型所占比例均不足 10%, 而四核苷酸重复类型最少, 为 4.0%。设计的 63 对 EST-SSRs 引物中, 有 41 对 EST-SSRs 引物对巴西蕉基因组 DNA 能扩增出产物, 占总引物数的 65.1%。应用进一步筛选出的重复性好、多态性高的 19 对引物对 49 个香蕉品种(系)进行 PCR 扩增。每对引物扩增的多态性带数目为 4~12 个, 平均 7.58 个; 引物多态信息量变化范围为 0.3572~0.8744, 平均 0.7324。在相似系数为 0.63 的水平可将 49 个品种聚为 2 个类群: 一类为含 B 基因组香蕉品种; 另一类为不含 B 基因组的香蕉品种, 表明 EST-SSR 引物可以应用于香蕉品种资源分类的研究。

**关键词:** 香蕉; EST; EST-SSR; 遗传多样性; 聚类分析

## Development and application of EST-derived SSR markers for bananas (*Musa nana* Lour.)

WANG Jing-Yi<sup>1</sup>, CHEN Ye-Yuan<sup>2</sup>, LIU Wei-Liang<sup>1</sup>, WU Yao-Ting<sup>3</sup>

1. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences (CATAS), Haikou 571101, China;
2. Institute of Tropical Crops Genetic Resources, CATAS, Danzhou 571737, China;
3. Ministry of Education Key Laboratory of Tropical Horticulture Plant Resources & Genetic Improvement, College of Horticulture, Agricultural College of Hainan University, Haikou 570228, China

**Abstract:** A total of 2 284 banana unigene sequences were mined, resulting in the identification of 122 SSRs in 110 sequences. Among them, there were 37 motifs the overall average length of SSRs was 20 bp. The trinucleotide repeats appeared to be the most abundant SSRs (47.6%), followed by dinucleotide repeats (33.1%), whereas the tetranucleotide repeats were less abundant. The rich repeats AG and AGG were predominant, accounting for 75.7% and 36% in di- and tri-nucleotide repeats respectively. A total of 63 primer pairs were designed and tested against genomic DNA of Brazil. Forty-one primers could be validated as usable markers. Nineteen of these primers revealed moderate to high polymorphism information content (PIC) across 49 accessions. The polymorphic bands were ranged from 4 to 12, averagely 7.58. The mean PIC value was 0.7324, ranging from 0.3572 to 0.8744. Forty-nine banana varieties were separated into two major

收稿日期: 2007-09-25; 修回日期: 2008-04-08

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30460070)、海南省自然科学基金(编号: 80436)、科技部科技基础条件平台(编号: 2005DKA21000-5-001)和农业部南亚热作专项(2007)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30460070), Natural Science Foundation of Hainan Province (No.80436), the National Facilities and Information Infrastructure for Science and Technology (No. 2005 DKA21000-5-001) and Ministry of Agricultural Special Foundation of South Asia for Tropical Plant (2007) ]

作者简介: 王静毅(1978-), 女, 博士研究生, 研究方向: 植物分子遗传学。E-mail: kiwi998@163.com

通讯作者: 武耀廷(1962-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 植物分子遗传学。E-mail: wuyaoqing@tsinghua.org.cn

clusters closely corresponding with the genome composition by UPGMA analysis. The results showed that the EST-SSR markers were of great value in evaluation of banana germplasms.

**Keywords:** banana; EST; EST-SSR; genetic diversity; cluster analysis

微卫星(Simple sequence repeat, SSR)标记由于多态性高、检测容易、数量丰富、共显性和特异性等特点,受到广泛重视,已在许多动植物和人类中进行了开发应用。开发 SSR 引物主要有基因组测序法、富集步骤法、SAM 法和生物信息学等方法<sup>[1,2]</sup>。香蕉是一种重要的果粮兼备的热带经济作物,对香蕉遗传多样性的研究是香蕉生产持续发展的基础。至今,已经用 SSR 标记对香蕉遗传多样性进行了研究<sup>[3-9]</sup>,这些已发表的 SSR 标记都是依据基因组序列进行分离测序来设计引物,称之为 Genomic-SSR。与 Genomic-SSR 相比,从数据库公布的 EST(Expressed sequence tag)序列开发 EST-SSR 引物的成本较低,可节省大量人力物力,而且由于 EST-SSR 来源于表达的基因组区域<sup>[10]</sup>,可直接反映相关基因的多样

性,已有的研究还表明其具有很好的通用性<sup>[11-13]</sup>。本研究根据从公共数据库美国国家生物信息中心 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)公布的 2 427 条香蕉 EST 序列,开发了 41 对 SSR 引物,又从中进一步筛选出 19 对 EST-SSR 引物对 49 个香蕉品种(系)进行 PCR 扩增,探讨其在香蕉遗传多样性研究中的可行性和有效性。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验材料取自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所香蕉种质圃(表 1),采取健壮植株的嫩卷筒叶,用液氮冷冻后放入-70℃冰箱保存备用。

表 1 香蕉实验材料

Table 1 Banana varieties for SSR analysis

编号 No.	品种名称 Name	基因型 Genotype	编号 No.	品种名称 Name	基因型 Genotype
M05	海口 BB Haikou BB	BB	M31	北蕉 Beijiao	AAA
M06	Gros-Michel	AAA	M34	Cachaco	ABB
M07	TBRI-106	AAA	M35	孟加拉粉大蕉 Mengjiala Fendajiao	ABB
M09	TBRI-247	AAA	M36	保亭粉蕉 Baoting Fenjiao	ABB
M10	Williams	AAA	M37	尖峰岭大蕉 Jianfengling Dajiao	ABB
M11	Valiry	AAA	M38	三亚粉蕉 Sanya Fenjiao	ABB
M12	Vallery	AAA	M39	兴隆山芭蕉 Xinglong Shanbajiao	ABB
M13	Rope	AAA	M40	广粉 Guangfen	ABB
M14	洪都拉斯(2) Honduras 2	AAA	M41	酸芭蕉 Suanbajiao	ABB
M15	洪都拉斯(4) Honduras 4	AAA	M42	巨型大蕉 Juxing Dajiao	ABB
M16	洪都拉斯(3) Honduras 3	AAA	M43	华农 15 号 Huanong 15	AAA
M17	洪都拉斯(1) Honduras 1	AAA	M44	华农芭蕉 2 号 Huanong Bajiao 2	ABB
M18	M-931	AAA	M45	东莞高把大蕉 Dongguan Gaobadajiao	ABB
M19	保亭矮香蕉 Baoting Aixiangjiao	AAA	M46	东莞中把大蕉 Dongguan Zhongbadajiao	ABB
M20	巴西 Brazil	AAA	M47	木棉蕉 Mumianjiao	ABB
M21	三亚矮香蕉 Sanya Aixiangjiao	AAA	M48	华农芭蕉 1 号 Huanong Bajiao 1	ABB
M22	齐尾 Qiwei	AAA	M49	FHIA-02	AAAA
M23	兴隆红蕉 Xinglong Hongjiao	AAA	M51	FHIA-23	AAAA
M24	泰国蕉 Thailand	AAA	M53	FHIA-01	AAAB
M25	高脚青芽蕉 Gaojiaoqingyajiao	AAA	M55	FHIA-21	AAAB
M26	高脚顿地雷 Gaojiaodundilei	AAA	M56	CRBP39	AAAB
M27	华农甜蕉 Huanongtianjiao	AAA	M58	金手指 Goldfinger	AAAB
M28	红河矮蕉 Honghe Aijiao	AAA	M59	FHIA-03	AAAB
M29	北大矮蕉 3 号 Beida Aixiangjiao 3	AAA	M60	BITA-3	ABBB
M30	台蕉 Taijiao	AAA			

1.2 EST-SSRs 引物的开发

香蕉 2 427 条 EST 序列来自于美国 NCBI 数据库。EST 序列下载后去除 145 条长度小于 150 bp 及劣质序列, 利用 GRAMENE 网站(<http://www.gramene.org/db/searches/ssrtool>)提供的 SSR 鉴定工具 SSRIT(Simple sequence repeat identification tool)结合人工搜索, 对 2 282 条序列进行 SSR 鉴定。含二、三、四、五和六核苷酸基元精确 SSR 的最小重复数分别为 8、5、4、3 和 3 次。

利用软件 Primer Premier5 设计 SSR 引物。引物设计的主要参数为: 引物长度为 17~24 bp; PCR 产物大小为 90~350 bp; 引物复性温度为 45~60 , (G+C)含量为 40%~70%, 最适为 50%。引物由北京奥科生物技术有限公司合成。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增和电泳检测

PCR 扩增反应体系的总体积为 20  $\mu$ L, 含有 2  $\mu$ L 的 10 $\times$ PCR buffer、0.25  $\mu$ L 的 10 mmol/L dNTP、0.15  $\mu$ L 的 *Taq* DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ L)、2.5  $\mu$ mol/L 的正反引物各 1  $\mu$ L 和 20 ng 模板 DNA。扩增反应程序为: 94 预变性 2 min; 94 变性 20 s, 55 复性 30 s, 72 延伸 45 s, 35 个循环; 72 延伸 7 min。采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 扩增产物。DNA 提取和银染的方法参照文献[14]。

1.4 统计分析

统计条带时, 有带用“1”表示、无带用“0”表示、缺失用“9”表示。采用 Nei 的方法计算相似系数:

$GS=2N_{ij}/(N_i+N_j)$ , 当中的  $N_i$ 、 $N_j$ 、 $N_{ij}$  分别表示第  $i$  个材料扩增带数、第  $j$  个材料的扩增带数、第  $i$  和第  $j$  个材料扩增的共有带数[15]。计算多态信息量 (Polymorphism information content *PIC*)为  $PIC=1-\sum p_i^2$ , 其中  $p_i$  表示第  $i$  个条带的频率[16]。用 UPGMA (Unweight pair group method with arithmetic averages)方法, 应用 NTSYS-pc 2.10 软件[17]进行聚类分析, 绘制树状图。

2 结果与分析

2.1 香蕉 EST-SSR 的开发

在搜索的总长为 1 322.716 kb 的 2 282 条香蕉 EST 序列中, 共检测出分布于 110 条 EST 中的 122 个 SSR, 占全部 EST 的 4.8%, 出现频率为 5.3%, 其中含 1 个 SSR 的序列有 99 条, 含 2 个 SSR 的序列有 10 条, 含 3 个 SSR 的序列有 1 条。SSR 长度在 15~36 bp 之间, 平均长度为 20 bp。在所检测含有 SSR 的 EST 序列中, 二核苷酸重复单元的有 37 条, 占所检出总数的 33.6%; 含三核苷酸重复单元的有 49 条, 占所检出总数的 45.5%(表 2), 这两种核苷酸重复单元占多数, 合计占有检出总数的 79.1%。四、五、六核苷酸的 SSR 数量较少, 三者共占有检出总数的 20.9%。在含有二核苷酸重复单元的香蕉 EST 序列中, GA/TC 重复单元最多, 约占 75.5%; 三核苷酸重复单元的香蕉 EST 序列中, 以 AAG/CTT 重复单元最多, 其次是 GCA/CGT、CCT/GGA 和 CCG/GGC(表 3)。

表 2 SSR-ESTs 序列中不同重复核苷酸数的数量及百分比  
Table 2 Number and frequency of repeat types in SSR-ESTs

重复核苷酸数 Number of repeats	SSR-ESTs 数量(条) Number of SSR-ESTs	占有所有 SSR-ESTs 的 百分比 % of SSR-ESTs with SSRs	SSR 数目 Number of SSR	占全部 SSR 比例 Proportion in all SSRs (%)	出现频率 Frequency	平均分布频率 Average dis- tance (1/kb)
二核苷酸 Dinucleotide	37	33.6	41	33.6	1.8	32.26
三核苷酸 Trinucleotide	49	45.5	57	46.7	2.5	22.42
四核苷酸 Tetranucleotide	5	4.5	5	4.1	0.2	264.54
五核苷酸 Pentanucleotide	9	8.2	9	7.4	0.4	146.97
六核苷酸 Hexanucleotide	10	8.2	10	8.2	0.4	146.97
SSR-ESTs 总数 Total numbers	110	100	122	100		10.75

表 3 SSR-ESTs 序列中不同重复类型及其数量和百分比  
Table 3 Frequency, number and type of SSRs in SSR-ESTs

重复核苷酸数 Number of repeats	重复单元 SSR motif	EST 数量(条) Number of EST	百分比 Percentage (%)
二核苷酸 Dinucleotide	GA/TC	28	75.7
	AT/TA	8	21.6
	GT/AC	1	2.7
	GC/CG	0	0
三核苷酸 Trinucleotide	CCA/TGG	3	8.0
	CCG/CGG	6	12.0
	CAA/TTG	1	2.0
	AAG/CTT	18	36.0
	CCT/AGG	7	14.0
	ATT/AAT	2	4.0
	GCA/TGC	8	16.0
	ATG/CAT	2	4.0
	TCG/CGA	1	2.0
	GAC/GTC	1	2.0

## 2.2 EST-SSR 引物的应用

本研究利用多态性好且稳定的引物 19 对(表 4), 对 49 个香蕉品种进行 PCR 扩增, 共检测出 144 个扩增条带, 其中 141 个具多态性, 每对引物扩增条带数目范围为 4~12 个, 平均 7.58, 以引物 EST-SSR20 和 EST-SSR36 最少, 为 4 个, 引物 EST-SSR23 最多, 为 12 个; SSR 引物的多态信息含量(PIC)为 0.3572~0.8744, 平均 0.7324, 最低的是引物 EST-SSR36, 最高的是引物 EST-SSR79。图 1 所示为引物 EST-SSR01 和 EST-SSR36 在 49 个品种(系)上的扩增图谱。

用筛选好的引物对香蕉品种进行聚类分析(图 2), 这些引物可以把 49 个品种在相似系数 0.63 的水平区分为两个类群: 第 1 类群香蕉品种的基因型构成为 BB、ABB、ABBB、AABB、AAAB; 第 2 类群香蕉品种的基因型构成为 AAA 和 AAAA, 分类结果与基因型的组成类型基本一致。第 1 类群品种间的相似系数范围为 0.5541 到 0.9054; 第 2 类群为 0.7162 到 1, 其中洪都拉斯(1)、洪都拉斯(2)、洪都拉斯(3)、洪都拉斯(4)和 M-931 等 5 个品种之间, 高脚芽蕉、高脚顿地雷、华农甜蕉和华农 15 号 4 个品种之间, 以及台蕉和北蕉两个品种的相似系数都为 1, 可见这些 EST-SSR 引物还不能区分这些基因型为 AAA 的香蕉品种。

## 3 讨论

### 3.1 香蕉 EST-SSR 分布频率、特点

本研究首次分析了香蕉 EST 中 SSR 分布, 并初步探讨了 EST-SSR 在香蕉品种分类与鉴定研究中的可行性。在对 2 282 条香蕉 EST 进行搜索发现了 122 个 SSR, 占 EST 序列总数的 5.3%。这个比率高于甘蔗的 2.9%<sup>[18]</sup>、水稻的 4.7%<sup>[19]</sup>、棉花的 4.64%<sup>[20]</sup>, 但远低于大白菜(10.4%)<sup>[21]</sup>、茶树(17.68%)<sup>[22]</sup>、柑橘(21.56%)<sup>[23]</sup>和咖啡(17.3%)<sup>[24]</sup>等。这种差异可能是物种间的真实 SSR 信息差异或各个物种在 GenBank 中可用来分析的 EST 数量不同, 用来搜索 SSR 的软件的不同算法及所设定的参数不同造成的。

从目前报道的结果来看, 大多数植物的 EST-SSR 都是以三核苷酸重复基元为主。甘蔗<sup>[18]</sup>、棉花<sup>[20]</sup>、大白菜<sup>[21]</sup>、小麦<sup>[25]</sup>的 EST 中三核苷酸重复在检出的所有 SSR 中所占比例最大(不计单核苷酸重复), 分别为 90%、54.8%、33.15%、78%。Cardle 等<sup>[26]</sup>在对水稻、玉米、大豆、番茄、棉花、杨树和拟南芥的 EST 序列分析后发现, 在 EST-SSR 中, 最多的是三核苷酸重复类型, 其次是二核苷酸。Varshney 等<sup>[27]</sup>在大麦、小麦、玉米、燕麦、黑麦、高粱和水稻等主要的禾谷类作物的 EST 序列分析中发现, 三核苷酸重复出现次数最多(54%~78%), 其次为二核苷酸重复(17%~40%)。本研究与前人研究结果一致, 三核苷酸重复是香蕉 EST 中的主要类型, 占 SSR 总数的 46.7%。AAG/CTT 是香蕉三核苷酸重复中出现频率最高的, 占 36%, 这与大白菜<sup>[21]</sup>、茶树<sup>[22]</sup>、柑橘<sup>[23]</sup>、咖啡<sup>[24]</sup>、拟南芥<sup>[26]</sup>、大豆<sup>[28]</sup>等中的情形相一致。而在禾谷类作物水稻、高粱、大麦和玉米中, CCG 是三核苷酸重复中的主要类型。本研究结果进一步验证了 Gao 等<sup>[28]</sup>认为在双子叶植物中 AAG/CTT 重复丰度很高的推测。研究发现, 在二核苷酸重复 SSR-ESTs 中, 含 AG/TC 重复单元的最多, 而含 GC/CG 重复单元的数量最少<sup>[19,22~25]</sup>, 实验的结果也证明了这一点。

### 3.2 香蕉 EST-SSR 引物的应用性

香蕉 EST-SSR 引物在检测香蕉栽培品种遗传关系是有效的, 可以基本反映出实验材料的遗传组成情况。本研究开发的 EST-SSR 引物能区分香蕉含 B 基因组和不含 B 基因组的品种, 并能很好地鉴定各

表 4 19 对多态引物信息表  
Table 4 Information of 19 primers

引物名称 Marker name	引物序列 Primer sequence (5 →3 )	重复类型 SSR motif	预期产物 Expected product (bp)	扩增产物 Product size range (bp)	扩增带数 No. of bands	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态信息含量 PIC
EST-SSR01	F: ATCTTGTAGACTCGGTGGTG R: GGTATGCATTCAGTCCATT	(TTC) <sub>6</sub>	152	141-353	11	11	0.8516
EST-SSR09	F: CACGAACAGACTGAGTTGAG R: GAGGATGGTGATGTAGAGGA	(AG) <sub>8</sub>	262	239-425	6	6	0.7801
EST-SSR10	F: GCAGGAATCATTACACAAGAT R: TAGCAAGGTGTCAAAGGTCT	(AGA) <sub>10</sub> ; (CAG) <sub>5</sub> ;(GGA) <sub>5</sub>	348	315-510	5	4	0.6016
EST-SSR14	F: GGAATATTACACAGCTCTCA R: GACTGGACCATGCATTACTT	(TC) <sub>9</sub>	178	163-300	12	12	0.8507
EST-SSR18	F: AATTGCAGGAAGATCAACTG R: AACATGTCTTTGACACCCTC	(TTC) <sub>7</sub>	212	203-279	6	6	0.7423
EST-SSR20	F: GCAGTGGTAGGTAGCTTGAC R: GGCAGCTCAACCATACTATT	(TCT) <sub>6</sub>	218	226-293	4	4	0.664
EST-SSR23	F: TTCCTGAATACCTCAAGGG R: GCCTTGCTCATACAATGATAC	(AG) <sub>11</sub>	117	100-306	12	12	0.807
EST-SSR24	F: ACATCTACAATGGCGATTTC R: TAATGAATCTGTAGGACCCG	(CCT) <sub>6</sub>	166	155-215	5	4	0.6661
EST-SSR26	F: AAAGCTCATTCTAAGAGGCA R: TGTCTCGTTTATCTCGGTCT	(GCA) <sub>6</sub>	215	169-299	7	7	0.7724
EST-SSR29	F: CCGTGTTACAGATTGTATTCC R: AGGTAGTCGCCATATGTCTC	(GA) <sub>16</sub>	240	214-264	5	5	0.7742
EST-SSR36	F: CTTCTCTTGCTTGAATTGCT R: GAACACCACTGAACACACAT	(GATGCT) <sub>4</sub> ; (TGC) <sub>6</sub>	125	92-125	4	4	0.3572
EST-SSR48	F: TTCCCTAGTCTCGTTCCTCT R: GCTGGACTCCTCCAAATTC	(TC) <sub>13</sub>	106	85-110	6	5	0.7917
EST-SSR52	F: CGTTAAAGGTTTGAAAGAG R: GAAGGTAACGAAGCTGACAC	(GA) <sub>16</sub>	198	170-307	8	8	0.7809
EST-SSR53	F: TCCAGGTCTTTAATAGCAGC R: TCCC GTTCAATTAGTCCTTA	(TGC) <sub>6</sub>	367	365-540	9	9	0.8589
EST-SSR57	F: GTTCCCCTTCCCTGTTC R: CAAGAACCCATCAAGAAGTC	(CCT) <sub>7</sub>	239	235-377	8	8	0.8062
EST-SSR60	F: TACTACATCCTTGCCACCTC R: CCCACAACGATAAACACAC	(AT) <sub>9</sub>	169	138-320	9	9	0.744
EST-SSR64	F: AACTGTCTGTCTGTCGCTCT R: ACTGGAATCAACATTTGGAG	(CACTG) <sub>4</sub>	241	220-400	6	6	0.4216
EST-SSR67	F: CACTCTTTGTCGTGCAAC R: GTGAAACGAATGGGATTAG	(CTT) <sub>8</sub>	138	125-183	10	10	0.7699
EST-SSR79	F: GCTCACCAAATCCATCAG R: TTAAGGACAACAGGAGGAGA	(TC) <sub>9</sub>	147	135-300	11	11	0.8744

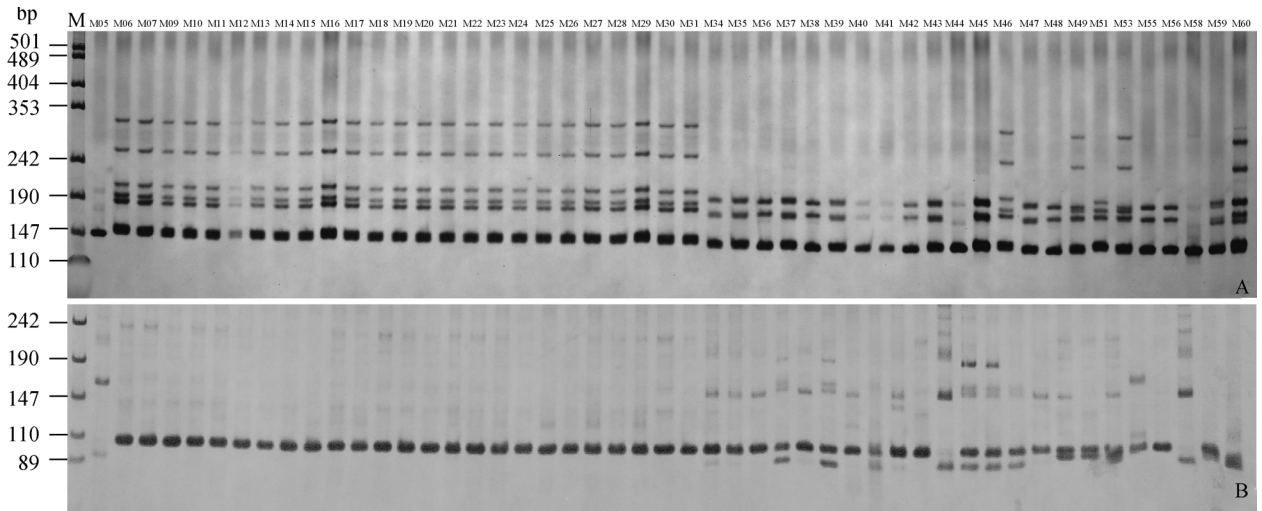


图 1 引物 EST-SSR01(A) 和 EST-SSR36(B) 在 49 个香蕉材料中的扩增结果  
Fig. 1 Amplified results of 49 accessions by using EST-SSR01(A) and EST-SSR36 (B)

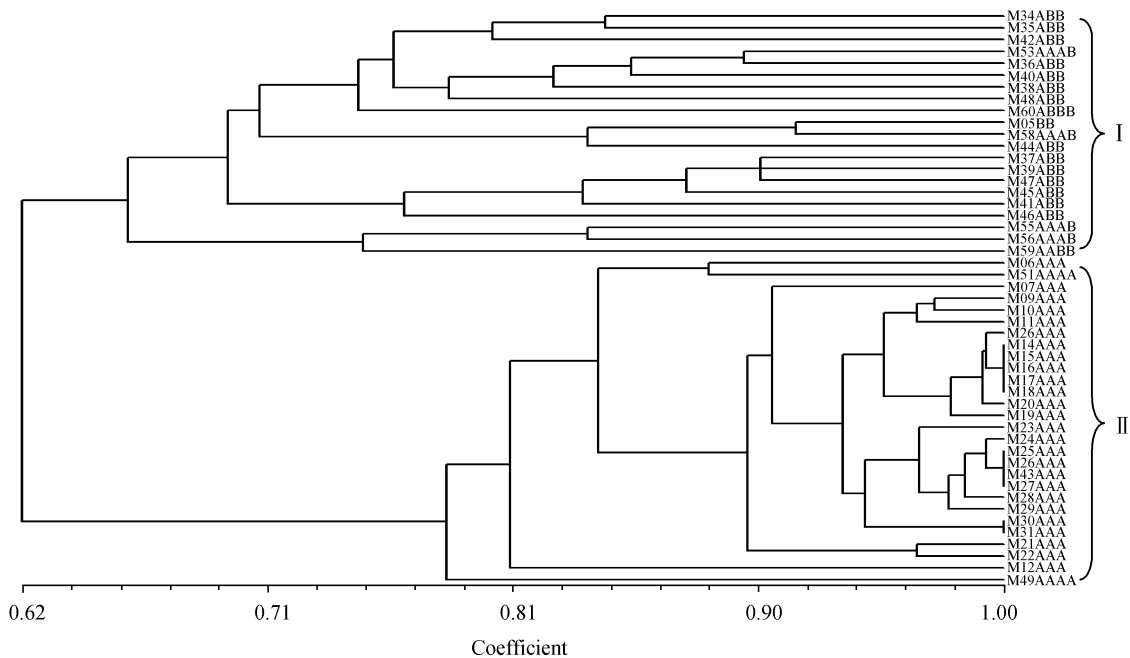


图 2 49 个香蕉品种的聚类图  
Fig. 2 Dendrogram of banana varieties based on the SSR data

种含 *B* 基因型的品种。宁淑萍等<sup>[9]</sup>利用 10 对 Genomic-SSR 引物对 14 个香蕉主栽品种和 33 个 INIBAP 引进品种进行分析, 发现不能完全区分基因型为 *AAA* 的品种, 本研究也遇到了类似的问题, 这可能是由于 *AAA* 型品种是经过体细胞突变选育而来, 其遗传组成变化非常有限的结果。

香蕉基因型是 Simmonds 等<sup>[29]</sup>根据形态特征进

行评分来划分的, 也就是采用数量分类学进行鉴定。本研究以 EST-SSR 引物进行分析的结果显示, 所有香蕉品种可以分为两大类群, 一组含 *B* 基因组, 一组不含 *B* 基因组, 这基本与 Simmonds 形态分类的结果相一致, 也说明了 EST-SSR 引物在鉴定香蕉种质亲缘关系中的有效性。但是, 我们也发现聚类分析中的第 类群中, 含 *B* 基因组的香蕉遗传多样性



丰富,特别是 *ABB* 基因型被聚类到多个组中,比 Simmonds 形态分类结果分的更清晰。

### 3.3 香蕉 EST-SSR 研究利用的展望

利用基因组开发 SSR 程序复杂和高费用是限制 SSR 开发的主要因素。用香蕉 EST 开发 SSR 引物是一种经济且实用的开发途径。EST-SSR 引物起源于表达序列,这可能会为这些表达序列标签所产生的功能基因进行精确地标记,可以鉴定出一些重要性状。目前 EST-SSR 引物已经被用于遗传多样性分析、品种鉴定、遗传作图、基因发掘等。本实验结果也证明了香蕉 EST-SSR 标记对分析香蕉资源和品种鉴定是可行的。截至 2007 年 6 月 28 日,数据库中的香蕉 EST 序列已达 9 056 条,我们正在对这些新增的香蕉 EST 序列作进一步的分析,以期从中开发出更多 EST-SSR 标记,加速和促进香蕉 EST 资源的开发利用、绘制遗传图谱、及芭蕉科植物种属间分子标记转移扩增和遗传多样性分析等方面的研究。

### 参考文献(References):

- [1] ZHANG Zeng-Cui, HOU Xi-Lin. Strategies for development of SSR molecular markers. *Hereditas (Beijing)*, 2004, 26 (5): 763–768.  
张增翠, 侯喜林. SSR 分子标记开发策略及评价. *遗传*, 2004, 26 (5): 763–768.
- [2] LI Ming-Fang, ZHENG Xue-Qin. Research progress of methods of SSR primers development. *Hereditas (Beijing)*, 2004, 26(5): 769–776.  
李明芳, 郑学勤. 开发 SSR 引物方法之研究动态. *遗传*, 2004, 26 (5): 769–776.
- [3] Oriero CE, Odunola OA, Lokko Y, Ingelbrecht I. Analysis of B-genome derived simple sequence repeat (SSR) markers in *Musa* spp. *J Biotechnol*, 2006, 5 (2): 126–128.
- [4] Creste S, Tulmann Neto A, Vencovsky R, Silva S, Figueira A. Genetic diversity of *Musa* diploid and triploid accessions from the Brazilian banana breeding program estimated by microsatellite markers. *Genet Re Crop Evolution*, 2004, 51: 723–733. [\[DOI\]](#)
- [5] Creste S, Tulmann Neto A, Silva SO, Figueira A. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Brazil using microsatellite markers. *Euphytica*, 2003, 132: 259–268. [\[DOI\]](#)
- [6] Creste S, Benatti TR, Orsi MR, Risterucci AM, Figueira A. Isolation and characterization of microsatellite loci from a commercial cultivar of *Musa acuminata*. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6: 303–306. [\[DOI\]](#)
- [7] Buhariwalla HK, Jarret RL, Jayashree B, Crouch JH, Ortiz R. Isolation and characterization of microsatellite markers from *Musa balbisiana*. *Molecular Ecology Notes*, 2005, 5: 327–330. [\[DOI\]](#)
- [8] Ge XJ, Liu MH, Wang WK, Schaal BA, Chiang TY. Population structure of wild bananas, *Musa balbisiana*, in China determined by SSR fingerprinting and cpDNA PCR-RFLP. *Mol Ecol*, 2005, 14: 933–944. [\[DOI\]](#)
- [9] Ning Shu-ping, Xu Lin-bing, Wei Ping, Ge Xue-jun. Genetic diversity of Chinese main banana cultivars (*Musa* spp.) and introduced accessions from INIBAP using simple sequence repeats (SSRs). *Journal of tropical and Subtropical Botany*, 2007, 15(1): 16–22.  
宁淑萍, 许林兵, 魏平, 葛学军. 中国主栽香蕉品种和 INIBAP 引进品种的 SSR 分析研究. *热带亚热带植物学报*, 2007, 15(1): 16–22.
- [10] Varshney RK, Graner A, Sorrells ME. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnol*, 2005, 23(1): 48–55. [\[DOI\]](#)
- [11] Saha MC, Mian MA, Eujayl I, Zwonitzer JC, Wang LJ, May GD. Tall fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 783–791. [\[DOI\]](#)
- [12] Gao LF, Jing RL, Huo NX, Li Y, Li XP, Zhou RH, Chang XP, Tang JF, Ma ZY, Jia JZ. One hundred and one new microsatellite loci derived from ESTs (EST-SSRs) in bread wheat. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 1392–1400. [\[DOI\]](#)
- [13] PANG Xiao-Ming, HU Chun-Gen, DENG Xiu-Xin. Phylogenetic relationships among Citrus and its relatives as revealed by SSR markers. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30 (1): 81–87.  
庞晓明, 胡春根, 邓秀新. 用 SSR 标记研究柑橘属及其近缘属植物的亲缘关系. *遗传学报*, 2003, 30(1): 81–87.
- [14] ZHANG Jun, WU Yao-Ting, GUO Wang-Zhen, ZHANG Tian-Zhen. Fast screening of microsatellite markers in cotton with PAGE/silver staining. *Cotton Science*, 2000, 12(5): 267–269.  
张军, 武耀廷, 郭旺珍, 张天真. 棉花微卫星标记的 PAGE 银染快速检测. *棉花学报*, 2000, 12(5): 267–269.
- [15] Nei M, Li WH. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 5269–5273. [\[DOI\]](#)
- [16] Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 1980, 32: 314–331.
- [17] ROHLF FJ. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. New York: Exeter Publications, 2000.
- [18] Cordeiro GM, Casu R, Mc Intyre CL, Manners JM, Henry RJ. Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum*

- ## 中国遗传学会第八届全国代表大会暨学术讨论会 第二轮通知

中国遗传学会  
2008年4月1日