

不同基因型毛白杨同源重组变异研究

耿喜宁^{1,2,3,4}, 芦特^{1,2,3}, 杜康^{1,2,3}, 杨珺^{1,2,3}, 康向阳^{1,2,3}

1. 北京林业大学, 北京市林木分子设计育种高精尖创新中心, 北京 100083
2. 北京林业大学, 林木育种国家工程实验室, 北京 100083
3. 北京林业大学, 城乡生态环境北京实验室, 北京 100083
4. 平顶山学院, 河南省生态经济型木本植物种质创新与利用重点实验室, 平顶山 467000

摘要: 同源重组是生物遗传变异的重要来源。受检测方法限制, 高等植物同源重组发生及其产物——异源双链 DNA(heteroduplex DNA, hDNA)鲜有报道。本研究采用构建抑制减数后分离群体检测同源重组产物 hDNA 的方法, 以 2 个母本来源的基于抑制减数后分离获得的毛白杨(*Populus tomentosa*)杂种三倍体群体为研究材料, 利用筛选出的 110 个简单序列重复(Simple sequence repeat, SSR)分子标记开展毛白杨不同基因型个体间 9 条染色体上 hDNA 发生及其遗传变异研究。结果表明, 2 个毛白杨雌株 hDNA 发生频率介于 8.5%~87.2%之间, 且 hDNA 发生频率与距着丝粒距离呈正相关关系, 但同一染色体平均 hDNA 发生频率与染色体长度无相关关系; 绝大多数的染色体检测出 1~3 次重组事件, 少数检测出 4 次重组事件, 极少数检测到 5 次重组事件; 不同毛白杨基因型个体间同一染色体上 hDNA 发生频率总体相差不大, 而在一些特定 SSR 位点间 hDNA 发生频率存在较大差异; 与青杨杂种‘哲引 3 号’杨(*P. pseudo-simonii* × *P. nigra* ‘Zheyin3#’)相比, 检测到的同源重组次数及 hDNA 发生频率和发生位置均存在较大差异。本研究首次对 2 个基因型毛白杨同源重组发生特征及其变异进行了研究, 为揭示高等植物同源重组特点、种间和种内同源重组差异等提供了重要见解。

关键词: 毛白杨; 基因型; 异源双链 DNA; 三倍体; 同源重组

Variation of homologous recombination in *Populus tomentosa* with different genotypes

Xining Geng^{1,2,3,4}, Te Lu^{1,2,3}, Kang Du^{1,2,3}, Jun Yang^{1,2,3}, Xiangyang Kang^{1,2,3}

1. Beijing Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China
2. National Engineering Laboratory for Tree Breeding, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China
3. Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China
4. Henan Province Key Laboratory of Germplasm Innovation and Utilization of Eco-economic Woody Plant, Pingdingshan University, Pingdingshan 467000, China

Abstract: Homologous recombination is an important source of biological genetic variation. Limited by detection

收稿日期: 2020-07-06; 修回日期: 2021-01-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31470667)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31470667)]

作者简介: 耿喜宁, 博士, 讲师, 研究方向: 林木遗传育种。E-mail: geng_xn@yeah.net

通讯作者: 康向阳, 教授, 博士生导师, 研究方向: 林木遗传育种。E-mail: kangxy@bjfu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.20-205

网络出版时间: 2021/1/22 11:04:58

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20210122.0900.004.html>

methods, there are only a few reports on the homologous recombination in high plants and its product - heteroduplex DNA (hDNA). In the present study, applying the strategy of detecting hDNA by constructing populations from inhibited post-meiotic segregation, two hybrid triploid populations were constructed from two maternal parents in *Populus tomentosa* by inhibiting post-meiotic segregation. One hundred and ten simple sequence repeat (SSR) markers were used to study the occurrence and variation of hDNA on nine chromosomes in *P. tomentosa* with different genotypes. The results showed that the frequencies of hDNA between two female parents in *P. tomentosa* ranged from 8.5% to 87.2%. The hDNA frequency was positively correlated to the distance from the centromere, but the average hDNA frequency on a chromosome had no correlation with the chromosome length. One to 3 times recombination events were detected on most chromosomes, and only a few four- or five-times recombination events were detected. The overall frequencies of hDNA on the same chromosome in two genotypic individuals were roughly similar, while the hDNA frequencies varied greatly at specific SSR loci. Compared with *Tacamahaca* poplar hybrid, *P. pseudo-simonii* × *P. nigra* ‘Zheyin3#’, detection of homologous recombination times and the frequency and location of hDNA were largely different. This study is the first to describe the characteristics and variations of homologous recombination in *P. tomentosa* with two different genotypes, which will provide valuable insights for exploring the characteristics and variations of homologous recombination among interspecies and intraspecies in higher plant.

Keywords: *Populus tomentosa*; genotype; heteroduplex DNA; triploid; homologous recombination

在减数分裂期间, 同源重组通过形成交叉互换(crossovers, COs)确保同源染色体的正确分离^[1], 同时, 使同源染色体间 DNA 双链发生交换和基因转换, 形成异源双链 DNA(heteroduplex DNA, hDNA)而导致等位基因的重组, 因此同源重组对于遗传多样性形成及物种进化等具有重要影响^[2]。

作为一次减数分裂完成的产物——四分体是研究减数重组的理想型材料。酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)在完成减数分裂后形成的四核子囊, 保留了减数分裂后同源重组的完整信息, 使得在酵母中进行同源重组研究^[3,4]具有不可比拟的优势。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)*qrt1* 突变体使花粉母细胞减数分裂发育而来的 4 个成熟花粉互不分离^[5], 再结合荧光标记技术, 可实现植物同源重组的研究^[6~9]。借助于单细胞分离和单细胞基因组扩增技术, 研究人员对分离后的玉米(*Zea mays*)、大麦(*Hordeum vulgare*)四分体进行了减数重组的研究^[10,11]。Dong 等^[12]提出了一种通过阻止同源重组产物——hDNA 减数后分离, 进而采用共显性简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)分子标记从 DNA 水平直接鉴定高等植物同源重组的新方法, 首次对杨属(*Populus*)植物同

源重组模式及其特点进行了研究, 结果表明同源重组产物 hDNA 发生频率在青杨杂种‘哲引 3 号’杨(*P. pseudo-simonii* × *P. nigra* ‘Zheyin3#’)中 介于 5.3%~76.6%之间。基于高通量测序构建的高密度遗传图谱的方法, 研究人员发现同源重组发生在玉米不同基因型间具有一定差异^[13]。而 Dong 等^[12]研究仅涉及 1 个青杨杂种‘哲引 3 号’杨的同源重组特征, 迄今未见有关杨属植物种间及种内不同基因型之间同源重组变异的研究报道。

本研究基于抑制减数后分离并结合共显性 SSR 分子标记实现同源重组产生的 hDNA 检测策略^[12], 以 2 个源于胚囊染色体加倍的毛白杨×银腺杨(*P. tomentosa*)×(*P. alba* × *P. glandulosa*)全同胞杂种三倍体群体为材料, 选择与 Dong 等^[12]开展青杨杂种‘哲引 3 号’杨 hDNA 发生规律研究中同样的 1~8 号染色体以及可能为性染色体的杨树 19 号染色体(chromosome 19, Chr.19)^[14,15]为对象, 筛选与青杨杂种‘哲引 3 号’杨同源重组研究^[12]相近数量的 SSR 标记对开展 2 个不同基因型毛白杨同源重组特征研究, 探讨植物种内不同基因型之间同源重组变异特点, 为揭示植物同源重组发生机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

采用的实验材料为本实验室前期以毛白杨雌株 3532($2n=2x=38$)和 3119($2n=2x=38$)为母本,以银腺杨 YX1 为父本,通过高温处理诱导胚囊染色体加倍获得的 2 个三倍体群体^[16]。随机选取 2 个三倍体群体的部分株系为研究材料,其中 3532×YX1 杂交组合包括 45 个三倍体子代,3119×YX1 杂交组合包括 47 个三倍体子代。

1.2 同源重组产物 hDNA 检测方法

杨属植物属蓼型胚囊植物,在胚囊发育期,功能大孢子需要经历 3 次有丝分裂,形成 7-细胞 8 核的成熟配子体。施加高温处理诱导胚囊染色体加倍,即抑制减数后分离的结果(post-meiotic segregation restitution, PMR)^[17,18],使获得的杨树三倍体细胞中的两套来源于母本的染色体保存了减数分裂期间发生的同源重组信息,即同源重组产物 hDNA。

根据 Dong 等^[12]提出的 hDNA 检测策略,即在已经完成减数分裂的胚囊发育期,施加理化处理,使携带同源重组产物 hDNA 的姊妹染色单体不能进行正常的有丝分裂而共存于一个 $2n$ 配子中,再授以单倍型异性配子,获得异源三倍体子代;筛选母本处于杂合状态且与父本有差异的多态性共显性 SSR 分子标记对三倍体进行遗传信息分析,根据 $2n$ 配子是否保留母本的杂合遗传信息即可判断在该检测位点上是否有同源重组产物 hDNA 的产生。

1.3 DNA 提取与 SSR 分子标记

利用植物基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司),进行父母本和三倍体子代叶片基因组 DNA 的提取。TP-M13-SSR PCR 技术^[19]通过在上游引物引入一段通用的 M13 接头序列,可以使用荧光修饰的 M13 引物令扩增出的特异的 PCR 产物带上荧光,从而通过毛细管电泳进行检测。这种方法在较大程度上解决了分析通量较低、扩增产物检测流程繁琐、数据记录工作量过大等一系列问题。本研究根据该方法共需要 3 种引物,包括 5'端接有 M13 序列(5'-TGTAACGACGCGCCAGT-3')的上游

引物,普通下游引物以及标有荧光(ROX、FAM、TAMRA、HEX)的 M13 引物。PCR 体系如下: ddH₂O 7.2 μ L, 20 ng/ μ L 模板 DNA 2 μ L, PCR Mix 10 μ L(天根生化科技(北京)有限公司), 10 μ mol/L 上游引物(5'端接有 M13 序列) 0.08 μ L, 10 μ mol/L 下游引物 0.32 μ L, 10 μ mol/L M13 荧光引物 0.4 μ L。PCR 扩增程序如下: 94℃ 5 min; 94℃ 30 s, 待测引物的最适退火温度 30 s, 72℃ 30 s, 25 个循环; 94℃ 30 s, 53℃ 30 s, 72℃ 30 s, 8 个循环; 72℃ 8 min, 4℃ 保存。父母本以及三倍体子代的 PCR 产物委托北京睿博兴科生物科技有限公司在 ABI-3730XL 基因分析仪上进行测试,其结果应用 GeneMarker 1.75 软件^[20]进行读取及分析。

1.4 多态性引物筛选

本研究中的 SSR 引物有 3 种来源: (1)国际杨树基因组协会(International Populus Genome Consortium)公布的杨树 SSR 数据库(IPGC; http://www.ornl.gov/sci/ipgc/ssr_resource.htm)中所有 SSR 引物(以 GCPM、ORPM、PMGC 开头); (2)毛果杨(*P. trichocarpa*)基因组开发的部分 SSR 引物^[21](以 LG 开头); (3)实验室毛白杨 mRNA-sequence 开发的部分 SSR 引物(以 PTSSR、MB 开头),将 3 种来源的 SSR 引物与毛果杨基因组 *P. trichocarpa* v3.0 (<http://www.phytozome.net/poplar>)进行比对,对 SSR 引物属于 Chr.01~08 和 Chr.19 上游引物 5'端加以 M13 磷荧光染料标记,所有引物(上游引物、下游引物和 M13 荧光标记引物)委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行合成。应用上述引物,以毛白杨雌株 3532、3119 与银腺杨 YX1 的 DNA 为模板进行 TP-M13-SSR PCR (方法见 1.3),筛选在母本中处于杂合状态且与父本有差异的 SSR 多态性引物。

1.5 重组事件的计数与统计

以位于一条染色体上的所有 SSR 检测位点处 hDNA 的产生与否为依据,对该条染色体上发生同源重组事件的次数进行统计分析。以相邻 SSR 位点间 hDNA 形成与否来确定同源重组事件是否发生,当在一条染色体上 hDNA 在相邻两 SSR 位点都产生时,判定在这 2 个检测位点区间发生了一次同源重组事件。此外,由于着丝粒附近发生 hDNA 的频率

低, 以着丝粒附近为区分, 单独统计重组事件, 即分布在着丝粒两侧的 2 个 SSR 位点均产生 hDNA 时, 记为 2 次同源重组两次事件。

1.6 统计与分析

根据异源三倍体的等位基因配置(abc、abd、aac、bbc、aad 和 bbd 共 6 种等位基因配置), hDNA 频率计算如下:

$$HF = \frac{N_{ab}}{N_{ab} + N_{aa} + N_{bb}} \quad (1)$$

其中, HF 表示 hDNA 频率; N_{ab} 表示在某一位点上传递母本杂合性基因型信息的三倍体数量; N_{aa} 和 N_{bb} 表示在该位点上传递母本纯合基因型信息的三倍体数量。

为了描述一条染色体上在不同标记处的 hDNA 频率, 利用 Origin 2018 (OriginLab Cor., Northampton, MA, USA) 绘制 hDNA 发生频率曲线、频率分布图和相关线性回归分析。

2 结果与分析

2.1 同源重组检测适宜引物筛选

通过对上述 3 种来源的 SSR 引物与毛果杨基因组 *P. trichocarpa* v3.0 (Phytozome v3.0; <http://www.phytozome.net>) 进行比对, 确定每对 SSR 引物所在的染色体信息。剔除掉产物片段过小(<110 bp)的引物, 在杨树 Chr.01~08 和 Chr.19 上共获得 SSR 引物 1849 对。

进一步对这 1849 对 SSR 引物进行筛选, 获得母本毛白杨处于杂合状态且与父本银腺杨有差异的多态性 SSR 引物 110 对(每条引物的名称、所在染色体的具体位置及其在父母本中分别获得产物片段的大小等具体信息见附表 1)。每条染色体上获得的多态性 SSR 引物为 8~16 对, 其中 Chr.07 上获得的多态性引物最少, 为 8 对; Chr.01 和 Chr.04 上获得的

多态性引物最多, 为 16 对(表 1)。这些标记数量与青杨杂种‘哲引 3 号’杨 hDNA 发生频率研究^[12]中所用的数量相差不大, 便于之后的杨树不同种间的同源重组对比研究。

对筛选出的多态性 SSR 引物进一步分析, 可以将这些引物分为两种类型: 第一种为父母本无共同等位基因, 以引物 GCPM_3971-1 (图 1A) 为例, 在母本 3119 和 3532 中, 等位基因的配置是杂合的, 具有 193 bp 和 211 bp 2 个位点(分别以“a”、“b”表示), 而父本 YX1 的等位基因配置也是杂合的, 有 202 bp 和 218 bp 2 个位点(分别以“c”、“d”表示)。PMR 型三倍体子代 T1、T2 中遗传了母本的杂合位点, 其遗传配置分别为“abc”和“abd”; PMR 型三倍体子代 T3、T4、T5、T6 中遗传了母本的纯合位点, 且在子代中表现出剂量效应(母本的峰高, 即扩增量, 约为父本的 2 倍), 其遗传配置分别为“aac”、“bbc”、“aad”和“bbd”。第二种为母本检测到多态性的杂合基因型, 但母本、父本有一共同等位基因, 以引物 GCPM_124 (图 1B) 为例, 在母本 3119 和 3532 中, 等位基因的配置是杂合的, 具有 207 bp 和 210 bp 2 个位点(分别以“a”、“b”表示), 而父本 YX1 的等位基因配置也是杂合的, 具有 201 bp 和 210 bp 2 个位点(以“c”、“b”表示)。PMR 型三倍体子代 T1、T2 中遗传了母本的杂合位点, 其遗传配置分别为“abc”和“abb”; PMR 型三倍体子代 T3、T4、T5、T6 中遗传了母本的纯合位点, 且在子代中表现出剂量效应(母本的峰高约为父本的 2 倍或子代只有一个条带), 其遗传配置分别为“aab”、“bbb”、“aac”和“bbc”。而 ab 型 2n 雌配子(三倍体子代 T1 和 T2)检测到了母本毛白杨雌株 3119 和 3532 的所有杂合性信息, 则表明毛白杨雌株 3119 和 3532 大孢子母细胞减数分裂时在该 SSR 位点处通过同源重组形成了 hDNA。

2.2 不同基因型毛白杨同源重组特点

进一步利用筛选出的 SSR 标记, 在来源于 PMR

表 1 多态性 SSR 引物与杨树基因组的 BLAST 分析

Table 1 BLAST analysis of the polymorphic SSR markers in the genome sequence of *P. trichocarpa* v3.0

| 项目 | Chr.01 | Chr.02 | Chr.03 | Chr.04 | Chr.05 | Chr.06 | Chr.07 | Chr.08 | Chr.19 |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 染色体长度(Mb) | 50.5 | 25.3 | 21.8 | 24.3 | 25.9 | 27.9 | 15.6 | 19.5 | 15.9 |
| 标记数量 | 16 | 12 | 9 | 16 | 13 | 14 | 8 | 9 | 13 |

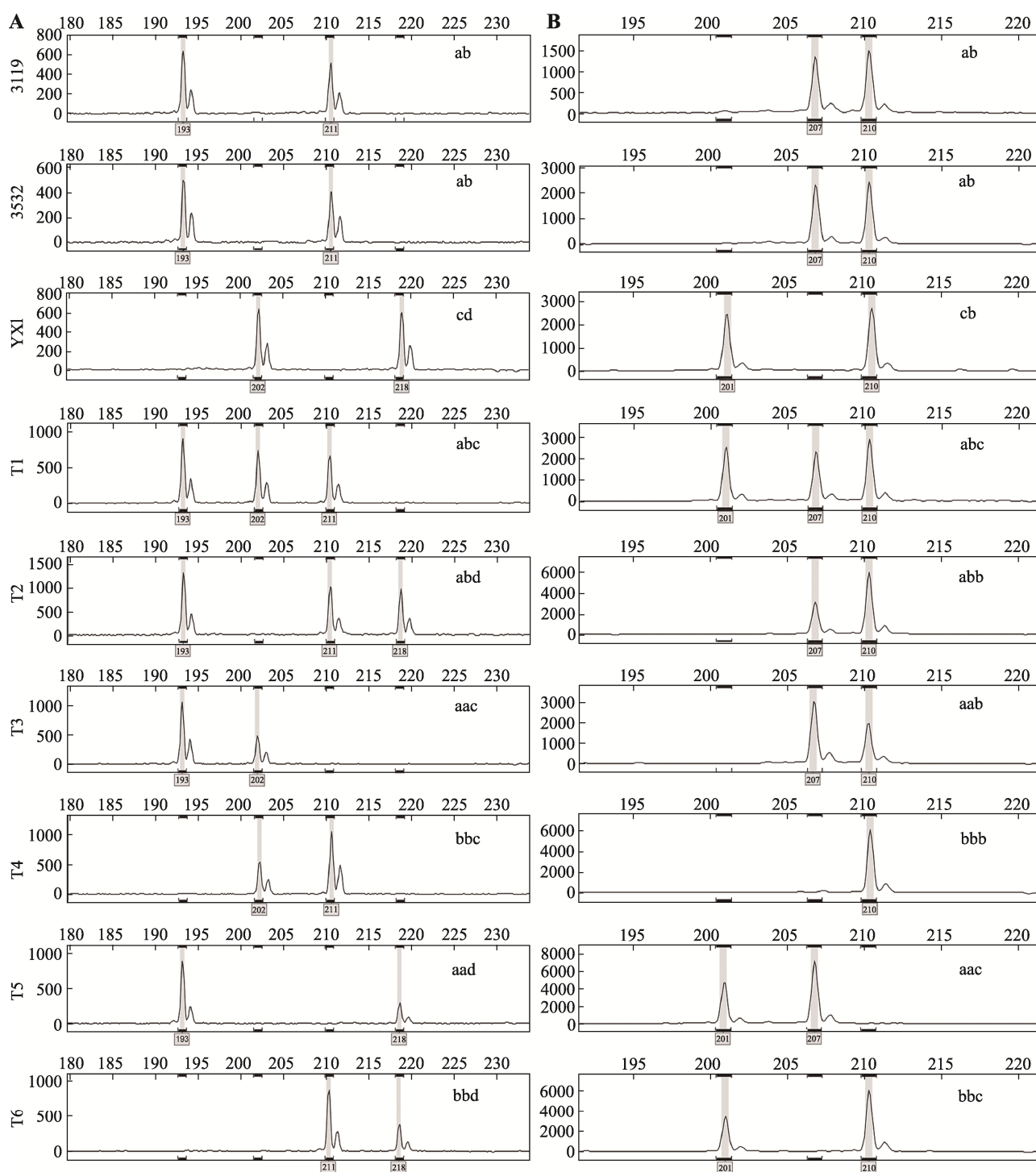


图 1 鉴定毛白杨 hDNA 的 SSR 位点毛细管电泳图

Fig. 1 Capillary electrophoresis for the SSR markers used to identify hDNA in *Populus tomentosa*

A: 引物 GCPM_3971-1 在亲本和 6 个三倍体子代中的扩增结果; B: 引物 GCPM_124 在亲本和 6 个三倍体子代中的扩增结果。

型 $2n$ 配子的三倍体群体中, 利用公式(1)计算在 Chr.01~08 和 Chr.19 不同位置上发生同源重组而产生的 hDNA 频率(图 2)。

2.2.1 不同基因型毛白杨 hDNA 发生频率

在检测的 9 条染色体上, 不同基因型毛白杨

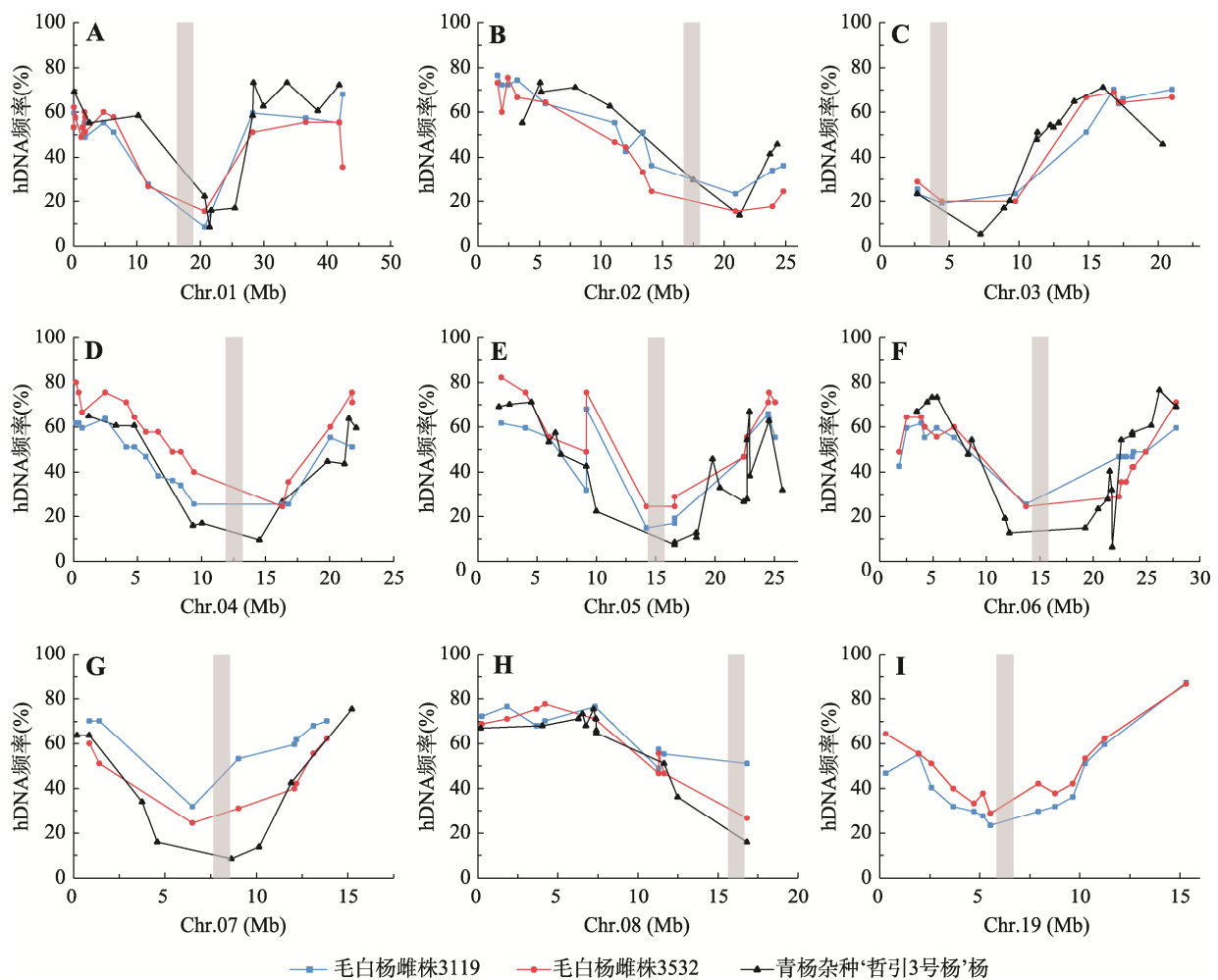


图2 在9条染色体不同位置上检测到的hDNA频率(%)

Fig. 2 The hDNA frequency (%) detected at different locations on the nine chromosomes

A~I 分别表示 Chr.01~08 和 Chr.19 上的 hDNA 发生频率(%). 灰色区域为假定着丝粒区, 前 8 条染色体的着丝粒位置由毛果杨不同组织的甲基化程度推测得到^[22], Chr.19 的着丝粒位置在 5.3~6.7 Mb^[23].

hDNA 发生频率的结果如图 2 所示, 不同 SSR 位点处发生的 hDNA 频率不同。其中, 在毛白杨雌株 3119 中, GCPM_3408 (处于 Chr.01 上 20.668 Mb) 与 GCPM_2453-1 SSR 标记位点间的 hDNA 频率最小, 在 47 株 PMR 三倍体中检测到只有 4 株源自 ab 型 $2n$ 雌配子, 即 8.5% 的大孢子母细胞在 GCPM_3408 与 GCPM_2453-1 SSR 标记位点间发生了重组事件并产生 hDNA。而在 MB70130 (处于 Chr.19 上 15.319 Mb) 与 MB125779 SSR 标记位点间却有 41 株 PMR 型异源三倍体检测到源自 ab 型 $2n$ 雌配子, 即 87.2% 的大孢子母细胞在这个位点发生了重组事件并产生 hDNA。这 2 个 SSR 位点处产生的 hDNA 频率相差 10.0 倍以上。

在毛白杨雌株 3532 中, GCPM_3408 (处于 Chr.01 上 20.668 Mb) 与 GCPM_2453-1 SSR 标记位点间、GCPM_2768 (处于 Chr.02 上 20.942 Mb) 与 PTSSR2445 SSR 标记位点间的 hDNA 发生频率最小, 在 45 株 PMR 三倍体中检测到只有 7 株源自 ab 型 $2n$ 雌配子 (图 2), 即 15.6% 的大孢子母细胞在这 2 个位点发生了重组事件并产生 hDNA。而在 MB70130 (处于 Chr.19 上 15.319 Mb) 与 MB125779 引物位点间却有 39 株 PMR 型异源三倍体被检测到源自 ab 型 $2n$ 雌配子, 即 86.7% 的大孢子母细胞在该位点发生了重组事件并产生 hDNA。这 2 个 SSR 位点处产生的 hDNA 频率相差 5.6 倍。

在大多数 SSR 位点间, 在 2 个基因型毛白杨雌

株 hDNA 发生频率相差不大。但是在一些特定 SSR 位点间, 2 个基因型毛白杨雌株 hDNA 频率发生频率差异较大, 如在 Chr.01 的 PTSSR1686 (42.469 Mb) 与 GCPM_1263-1 的 SSR 标记位点间, 雌株 3119 产生的 hDNA 频率为 68.1%, 而雌株 3532 为 35.6%。

在 Chr.01~08 上, 毛白杨 2 个基因型雌株 hDNA 最大发生频率分别为 76.6%、82.2%, 最小发生频率分别为 8.5%、15.6%, 与青杨杂种‘哲引 3 号’杨最大、最小 hDNA 发生频率(76.6%、5.3%)相比^[12], 毛白杨表现出了更高的 hDNA 发生频率。

2.2.2 hDNA 发生频率与标记距着丝粒距离相关分析

由图 2 可知, 在不同染色体上, 2 个基因型雌株的 hDNA 发生频率表现出了不同的发生模式。虽

然在相同的 SSR 位点上, hDNA 发生频率在 2 个基因型雌株上具有差异, 但 2 个基因型雌株 hDNA 发生频率在同一条染色体上具有相近的趋势, 即在近着丝粒区域, 两种基因型雌株的 hDNA 发生频率均呈现出最低, 随着位点与着丝粒距离增加, hDNA 的发生频率也增大。

对 2 个基因型雌株的 SSR 位点距着丝粒距离与 hDNA 发生频率进行线性回归分析(图 3), 结果表明在两种基因型中的 9 条染色体上, 位点距着丝粒距离与 hDNA 发生频率之间存在显著的正相关关系, 即 hDNA 发生频率随位点与着丝粒距离增大而增加。

2.2.3 hDNA 发生频率与染色体长度相关分析

对 9 条染色体上平均 hDNA 发生频率与染色体长度之间进行相关分析, 结果发现, 在这 9 条染色

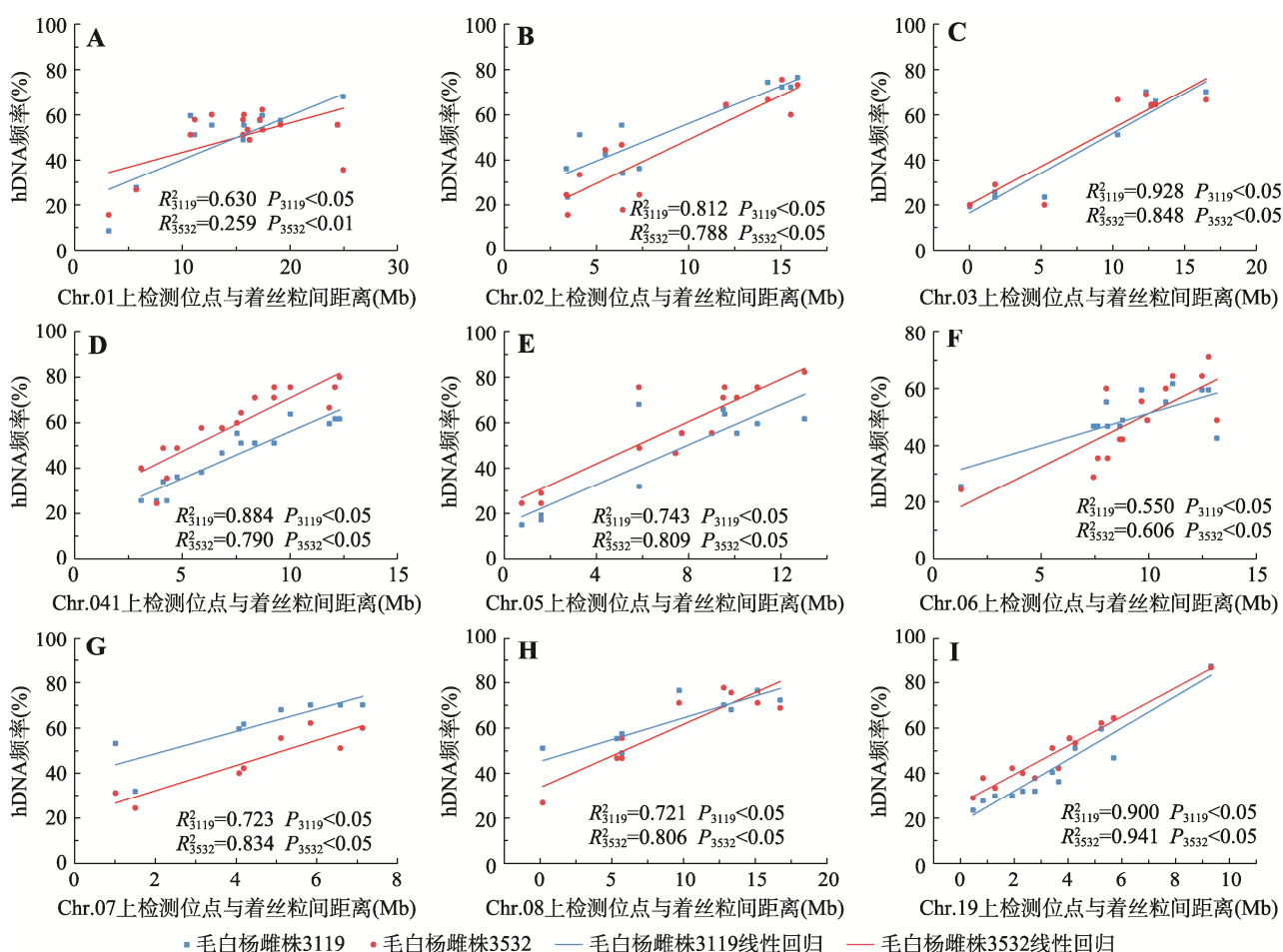


图 3 hDNA 频率(%)及检测位点距着丝粒间距离的相关分析

Fig. 3 Correlation analysis between the frequency of hDNA (%) and locus-centromere distance

A~I 分别表示 Chr.01~08 和 Chr.19 上的 hDNA 发生频率(%)与检测位点距着丝粒间距离的线性回归。

体上, 两种基因型雌株均不存在显著正相关(图 4), 这说明染色体长度与平均 hDNA 发生频率无关。

2.3 不同基因型毛白杨重组发生次数分析

根据本研究 1.5 描述的统计方法, 以 Chr.04 为例, 5 株 PMR 型三倍体上检测位点的 hDNA 发生情况如图 5 所示, A~E 分别表示 Chr.04 上发生了 0~4 次。

依据检测位点上的 hDNA 发生与否得出 9 条染色体上的重组事件发生次数, 在毛白杨雌株 3119 中,

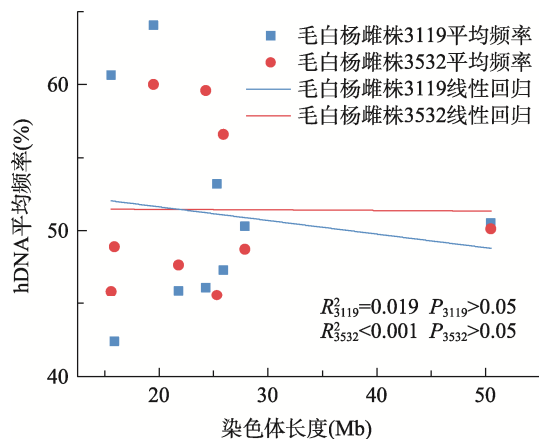


图 4 染色体长度与 hDNA 平均频率(%)间关系

Fig. 4 Correlation analysis between the average frequency of hDNA (%) and physical length of the chromosome

Chr.03、06、08 发生 0~3 次重组事件, Chr.01、02、04、05、07、19 上发生 0~4 次重组事件(图 6)。在毛白杨雌株 3532 中, Chr.02、03、08 上发生 0~3 次重组事件, Chr.04、05、06、07 和 19 上发生 0~4 次重组事件, 只有 Chr.01 发生 0~5 次(图 6)。

另一方面, 对毛白杨雌株 3119 为母本的 47 株 PMR 型杂种三倍体在检测的 9 条染色体(共计 423 条染色体)进行统计分析, 结果表明 1~3 次重组事件在检测的 9 条染色体上发生比例最高, 共计 94.8% (计 401 条染色体); 而检测到的最大重组事件次数是 4 次, 发生了 11 次, 占比 2.6% (计 11 条染色体), 分别发生在 Chr.01、Chr.02、Chr.04、Chr.05、Chr.07 和 Chr.19 上; 未检测到重组事件的染色体占比 2.6% (计 11 条染色体) (图 6)。

对毛白杨雌株 3532 为母本的 45 株 PMR 型杂种三倍体在检测的 9 条染色体(共计 405 条染色体)进行统计分析, 结果表明 1~3 次重组事件在检测的 9 条染色体上发生比例最高, 占比总计 94.1% (计 381 条染色体)上; 而 4 次重组事件发生在总计 3.0% 的染色体(计 12 条染色体); 而检测到的最大重组事件次数是 5 次, 占比 0.2%, 仅在 Chr.01 上发生 1 次; 未检测到重组事件的染色体占比 2.7% (计 11 条染色体) (图 6)。在两种基因型雌株中, 未检测到重组事件可能与 SSR 引物的覆盖密度不足有关。

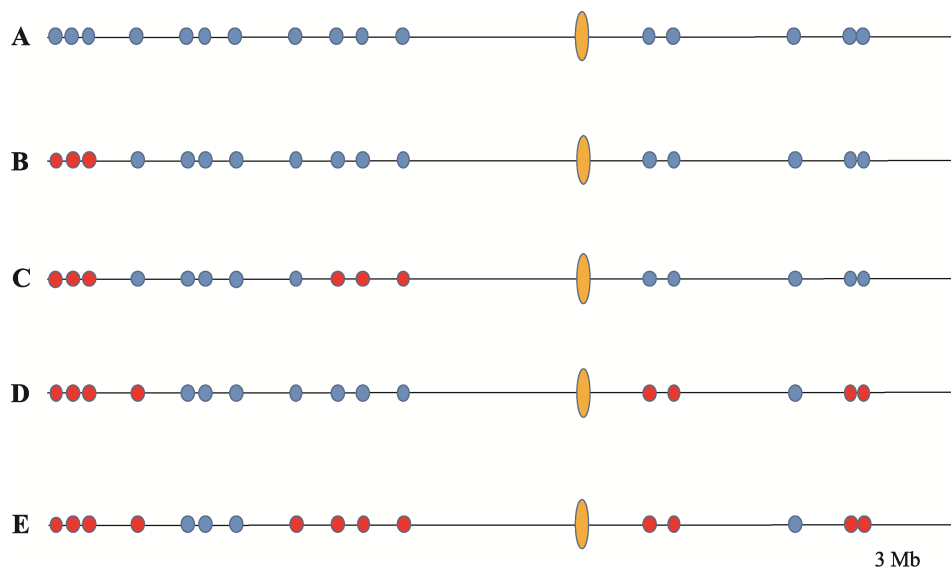


图 5 重组次数统计模型示意图

Fig. 5 Model for statistics of recombination events

A~E 分别表示 Chr.04 上发生了 0~4 次重组事件。蓝色点表示该位点未产生 hDNA, 红色表示产生 hDNA, 黄色椭圆为着丝粒。

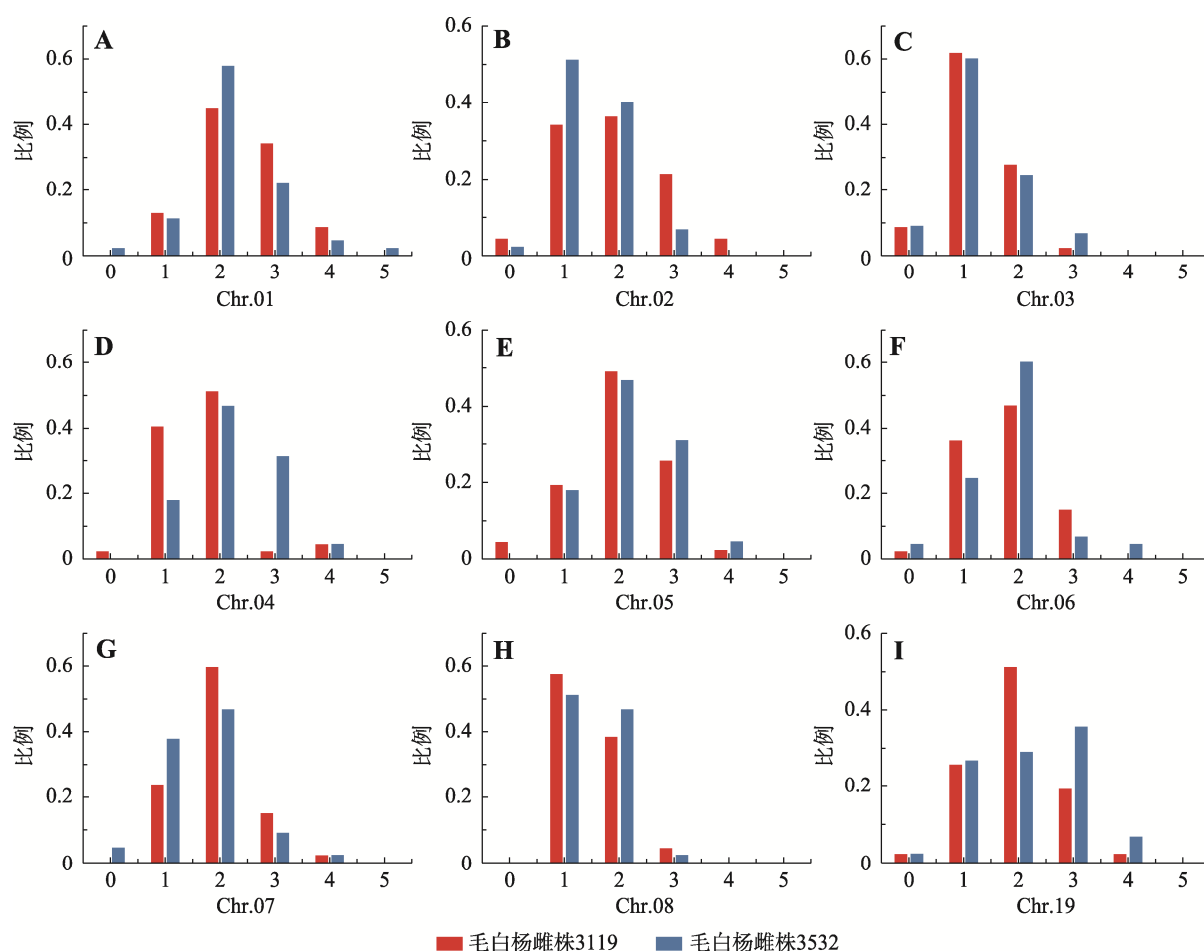


图 6 Chr.01~08 和 Chr.19 上 2 个基因型毛白杨个体重组事件的比例

Fig. 6 Ratio of recombination events on Chr.1~8 and Chr.19 in two genotypic individuals in *P. tomentosa*

A~I 分别表示 Chr.01~08 和 Chr.19 上的重组事件比例。

3 讨论

在毛白杨 Chr.01~08 和 Chr.19 的所有检测 SSR 位点中, 两种基因型个体雌配子形成过程中同源重组导致 hDNA 发生频率不同, 分别介于 8.5%~87.2%、15.6%~86.7% 之间。hDNA 发生频率与 SSR 位点所处的染色体位置有关。此外, 从 2 个群体的 92 株三倍体所代表的雌配子中 9 条染色体上的同源重组事件分析上看, 大多数的染色体至少经历了 1~3 次重组事件, 少部分染色体经历了 4~5 次重组事件。

3.1 杨树同源重组频率变异

从 hDNA 发生频率来看, Dong 等^[12]利用 SSR 标记检测 PMR 型青杨杂种‘哲引 3 号’杨的 hDNA 发

生频率介于 5.3%~76.6% 之间。利用与上述研究相当数量的 SSR 标记, 本研究发现毛白杨的 hDNA 发生频率在 8.5%~87.2% 之间, 略高于青杨杂种‘哲引 3 号’的 hDNA 发生频率, 这可能与物种间的差异有关。毛白杨的 2 个基因型个体在 GCPM_3408 与 GCPM_2453-1 SSR 标记位点间(Chr.01)上均表现出最低 hDNA 发生频率, 分别为 8.5%、15.6%。且 hDNA 最高发生频率的 SSR 位点在 2 个基因型个体中相同。另一方面, 从 hDNA 发生的染色体水平上看, 在毛白杨 2 个基因型个体中, 9 条染色体上 hDNA 平均发生频率基本一致, 分别为 51.2%、51.4%, 其中最高分别为 64.1%、60.0%; 最低分别为 42.4%、45.6%。这些可能与种内的重组发生的保守性有关。

在毛白杨 2 个基因型个体中, hDNA 发生频率与 SSR 所在染色体位置有关, 即检测位点距着丝粒

距离越近, hDNA 发生频率越低, 与‘哲引 3 号’杨以及其他植物的相关研究结果一致^[12,24,25]。这应该是近着丝粒区域富集转座子和短序列重复, 其甲基化程度较高, 使得重组在近着丝粒区受到抑制的缘故^[26]。杨树种内不同基因型个体之间也存在一定的变异, 2 个基因型个体在 Chr.04 上的平均 hDNA 发生频率为 46.1%、59.6%, 在 Chr.07 上分别为 60.6%、45.8%; 甚至在特定检测位点上 hDNA 发生频率存在较大差异, 如在 Chr.01 的 PTSSR1686 与 GCPM_1263-1 SSR 标记位点间, 毛白杨雌株 3119 产生的 hDNA 发生频率为 68.1%, 而毛白杨雌株 3532 为 35.6%。造成杨树种间以及同种内不同基因型个体间在染色体相同区域 hDNA 发生频率差异的重要原因与染色体结(knob)、易染色质区、高度重复序列等一些抑制同源重组发生的染色体结构分布区分布等有关^[13,27]。

有研究表明, 联会复合体长度与染色体交换频率有关^[28-31]。在高等植物中, 联会复合体长度与基因组大小^[32]、染色体物理长度^[10,33]存在正相关关系。本研究对染色体物理长度与 hDNA 频率进行了相关分析, 但结果表明其相关性并未达到显著水平(图 4), 与水稻(*Oryza sativa*)中的相关研究结果类似^[24], 与青杨杂种‘哲引 3 号’杨的研究结果相一致^[12]。此外, 以往的研究结果表明只有染色体的长度较大时, 联会复合体的长度与染色体物理长度才可能存在相关, 而较短的染色体并未表现出类似规律^[34,35]。而在杨树染色体中, 只有 Chr.01 长度约为 50.5 Mb, 相对较大, 其他 18 条染色体长度介于 12.9~27.9 Mb 之间。因此, 本研究中大多数染色体较短, 也可能是导致 hDNA 频率与染色体长度不相关的主要原因。

3.2 杨树同源重组事件

在减数分裂过程中, 同源染色体间发生的联会对减数分裂 I 的正确分离具有重要作用, 同源重组事件在该过程中至少发生一次^[36-38]。其中在拟南芥^[39]中, Chr.04 上 COs 发生次数均不超过 3 次。水稻中, 12 条染色体的 COs 平均在 1.9~3.8 次^[24]。玉米的单细胞测序结果表明在 Chr.01~10 上发生了 0~4 次 COs^[10,40], 同样, 对大麦的四分体单细胞及双单倍体群体测序的结果表明在 Mb 分辨率下重组事件发生了 0~4 次^[11]。董春波^[41]利用 SSR 标记在青杨杂种三倍体群体 Chr.01~08 上检测到最高发生 6 次重组

事件, 但大部分染色体仅检测到 1~3 次的同源重组事件, 占 89.89%。本研究发现绝大多数的染色体至少经历了 1~3 次重组事件, 与上述研究结果相似。少数的染色体至少经历了 4~5 次同源重组事件, 其中 5 次同源重组事件只发生在毛白杨雌株 3532 中的 Chr.01 上, 毛白杨雌株 3119 最多发生了 4 次重组事件, 这可能与重组事件的发生在种内具有差异有关^[42]。毛白杨同源重组事件发生次数略低于青杨杂种‘哲引 3 号’, 检测到的同源重组事件发生次数最多的所在染色体与青杨杂种‘哲引 3 号’(Chr.06)的并不相同。这种结果可能与影响同源重组的基因组修饰在不同物种中存在差异有关^[2]。

本研究结果表明毛白杨减数分裂中具有较高的 DNA 重组频率发生, 给予代带来更多的遗传变异, 从而有利于物种加快进化以适应多变的环境; 另一方面, 不同基因型个体间重组频率存在着差异, 这种差异对育种中亲本选配具有重要意义^[43]。然而, 影响毛白杨不同基因型间同源重组频率差异的遗传机制仍需进一步深入研究和解析。

附录:

附加材料详见文章电子版 www.chinagene.cn。

参考文献(References):

- [1] Cromie GA, Smith GR. Branching out: meiotic recombination and its regulation. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(9): 448-455.
- [2] Melamed-Bessudo C, Shilo S, Levy AA. Meiotic recombination and genome evolution in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2016, 30: 82-87.
- [3] Mancera E, Bourgon R, Huber W, Steinmetz LM. Genome-wide survey of post-meiotic segregation during yeast recombination. *Genome Biol*, 2011, 12(4): R36.
- [4] Martini E, Borde V, Legendre M, Audic S, Regnault B, Soubigou G, Dujon B, Llorente B. Genome-wide analysis of heteroduplex DNA in mismatch repair-deficient yeast cells reveals novel properties of meiotic recombination pathways. *PLoS Genet*, 2011, 7(9): e1002305.
- [5] Preuss D, Rhee SY, Davis RW. Tetrad analysis possible in *Arabidopsis* with mutation of the quartet (*qrt*) genes. *Science*, 1994, 264(5164): 1458-1460.

- [6] Francis KE, Lam SY, Harrison BD, Bey AL, Berchowitz LE, Copenhaver GP. Pollen tetrad-based visual assay for meiotic recombination in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(10): 3913–3918.
- [7] Sun YJ, Ambrose JH, Haughey BS, Webster TD, Pierrie SN, Muñoz DF, Wellman EC, Cherian S, Lewis SM, Berchowitz LE, Copenhaver GP. Deep genome-wide measurement of meiotic gene conversion using tetrad analysis in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2012, 8(10): e1002968.
- [8] Berchowitz LE, Copenhaver GP. Fluorescent *Arabidopsis* tetrads: a visual assay for quickly developing large crossover and crossover interference data sets. *Nat Protoc*, 2008, 3(1): 41–50.
- [9] Yelina NE, Ziolkowski PA, Miller N, Zhao XH, Kelly KA, Muñoz DF, Mann DJ, Copenhaver GP, Henderson IR. High-throughput analysis of meiotic crossover frequency and interference via flow cytometry of fluorescent pollen in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Protoc*, 2013, 8(11): 2119–2134.
- [10] Li X, Li L, Yan JB. Dissecting meiotic recombination based on tetrad analysis by single-microspore sequencing in maize. *Nat Commun*, 2015, 6: 6648.
- [11] Dreissig S, Fuchs J, Himmelbach A, Mascher M, Houben A. Sequencing of single pollen nuclei reveals meiotic recombination events at megabase resolution and circumvents segregation distortion caused by postmeiotic processes. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1620.
- [12] Dong CB, Mao JF, Suo YJ, Shi L, Wang J, Zhang PD, Kang XY. A strategy for characterization of persistent heteroduplex DNA in higher plants. *Plant J*, 2014, 80(2): 282–291.
- [13] Bauer E, Falque M, Walter H, Bauland C, Camisan C, Campo L, Meyer N, Ranc N, Rincen R, Schipprack W, Altmann T, Flament P, Melchinger AE, Menz M, Moreno-González J, Ouzunova M, Revilla P, Charcosset A, Martin OC, Schön CC. Intraspecific variation of recombination rate in maize. *Genome Biol*, 2013, 14(9): R103.
- [14] Yin TM, Difazio SP, Gunter LE, Zhang XY, Sewell MM, Woolbright SA, Allan GJ, Kelleher CT, Douglas CJ, Wang MX, Tuskan GA. Genome structure and emerging evidence of an incipient sex chromosome in *Populus*. *Genome Res*, 2008, 18(3): 422–430.
- [15] Kersten B, Pakull B, Fladung M. Genomics of sex determination in dioecious trees and woody plants. *Trees*, 2017, 31(4): 1113–1125.
- [16] Kang N, Bai FY, Zhang PD, Kang XY. Inducing chromosome doubling of embryo sac in *Populus tomentosa* with high temperature exposure for hybrid triploids. *J Beijing Fore Univ*, 2015, 37(2): 79–86.
- 康宁, 白凤莹, 张平冬, 康向阳. 高温诱导胚囊染色体加倍获得毛白杨杂种三倍体. 北京林业大学学报, 2015, 37(2): 79–86.
- [17] Li YH. Chromosome doubling of female gametes in white poplars [Dissertation]. Beijing Forestry University, 2007.
- 李艳华. 白杨雌配子染色体加倍技术研究 [学位论文]. 北京林业大学, 2007.
- [18] Wang J. Techniques of polyploid induction in *Populus* spp. (Section *Tacamahaca*) [Dissertation]. Beijing Forestry University, 2009.
- 王君. 青杨派树种多倍体诱导技术研究 [学位论文]. 北京林业大学, 2009.
- [19] Schuelke M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(2): 233–234.
- [20] Hulce D, Li X, Snyder-Leiby T, Johathan LC. GeneMarker® Genotyping Software: Tools to increase the statistical power of dna fragment analysis. *J Biomol Tech*, 2011, 22(Suppl.): S35–S36.
- [21] Yin TM, Zhang XY, Gunter LE, Li SX, Wulschleger SD, Huang MR, Tuskan GA. Microsatellite primer resource for *Populus* developed from the mapped sequence scaffolds of the Nisqually-1 genome. *New Phytol*, 2009, 181(2): 498–503.
- [22] Vining KJ, Pomraning KR, Wilhelm LJ, Priest HD, Pellegrini M, Mockler TC, Freitag M, Strauss SH. Dynamic DNA cytosine methylation in the *Populus trichocarpa* genome: tissue-level variation and relationship to gene expression. *BMC Genomics*, 2012, 13: 27.
- [23] Xin HY, Zhang T, Han YH, Wu YF, Shi JS, Xi ML, Jiang JM. Chromosome painting and comparative physical mapping of the sex chromosomes in *Populus tomentosa* and *Populus deltoides*. *Chromosoma*, 2018, 127(3): 313–321.
- [24] Si WN, Yuan Y, Huang J, Zhang XH, Zhang YC, Zhang YD, Tian DC, Wang CL, Yang YH, Yang SH. Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F₂ plants. *New Phytol*, 2015, 206(4): 1491–1502.
- [25] Wijnker E, Velikkakam James G, Ding J, Becker F, Klasen JR, Rawat V, Rowan BA, de Jong DF, de Snoo CB, Zapata L, Huettel B, de Jong H, Ossowski S, Weigel D, Koornneef M, Keurentjes JJ, Schneeberger K. The genomic landscape of meiotic crossovers and gene conversions in *Arabidopsis*

- thaliana*. *eLife*, 2013, 2: e01426.
- [26] Henderson IR. Control of meiotic recombination frequency in plant genomes. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15(5): 556–561.
- [27] Yelina N, Diaz P, Lambing C, Henderson IR. Epigenetic control of meiotic recombination in plants. *Sci China Life Sci*, 2015, 58(3): 223–231.
- [28] Kleckner N, Storlazzi A, Zickler D. Coordinate variation in meiotic pachytene SC length and total crossover/chiasma frequency under conditions of constant DNA length. *Trends Genet*, 2003, 19(11): 623–628.
- [29] Ruiz-Herrera A, Vozdova M, Fernández J, Sebestova H, Capilla L, Frohlich J, Vara C, Hernández-Marsal A, Sipek J, Robinson TJ, Rubes J. Recombination correlates with synaptonemal complex length and chromatin loop size in bovids—insights into mammalian meiotic chromosomal organization. *Chromosoma*, 2017, 126(5): 615–631.
- [30] Quevedo C, Del Cerro AL, Santos JL, Jones GH. Correlated variation of chiasma frequency and synaptonemal complex length in *Locusta migratoria*. *Heredity*, 1997, 78(5): 515–519.
- [31] Lynn A, Koehler KE, Judis L, Chan ER, Cherry JP, Schwartz S, Seftel A, Hunt PA, Hassold TJ. Covariation of synaptonemal complex length and mammalian meiotic exchange rates. *Science*, 2002, 296(5576): 2222–2225.
- [32] Anderson LK, Stack SM, Fox MH, Zhang CS. The relationship between genome size and synaptonemal complex length in higher plants. *Exp Cell Res*, 1985, 156(2): 367–378.
- [33] Giraut L, Falque M, Drouaud J, Pereira L, Martin OC, Mézard C. Genome-wide crossover distribution in *Arabidopsis thaliana* meiosis reveals sex-specific patterns along chromosomes. *PLoS Genet*, 2011, 7(11): e1002354.
- [34] Basheva EA, Bidau CJ, Borodin PM. General pattern of meiotic recombination in male dogs estimated by MLH1 and RAD51 immunolocalization. *Chromosome Res*, 2008, 16(5): 709–719.
- [35] Mancera E, Bourgon R, Brozzi A, Huber W, Steinmetz LM. High-resolution mapping of meiotic crossovers and non-crossovers in yeast. *Nature*, 2008, 454(7203): 479–485.
- [36] Page SL, Hawley RS. Chromosome choreography: the meiotic ballet. *Science*, 2003, 301(5634): 785–789.
- [37] Jones GH. The control of chiasma distribution. *Symp Soc Exp Biol*, 1984, 38: 293–320.
- [38] Ritz KR, Noor MAF, Singh ND. Variation in recombination rate: adaptive or not?. *Trends Genet*, 2017, 33(5): 364–374.
- [39] Drouaud J, Mercier R, Chelysheva L, Bérard A, Falque M, Martin O, Zanni V, Brunel D, Mézard C. Sex-specific crossover distributions and variations in interference level along *Arabidopsis thaliana* chromosome 4. *PLoS Genet*, 2007, 3(6): e106.
- [40] Luo C, Li X, Zhang QH, Yan JB. Single gametophyte sequencing reveals that crossover events differ between sexes in maize. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 785.
- [41] Dong CB. Analysis of homologous recombination characteristics and 2n gamete heterozygosity in *Populus* [Dissertation]. Beijing Forestry University, 2015. 董春波. 杨树同源重组特点及 2n 配子杂合性分析[学位论文]. 北京林业大学, 2015.
- [42] Yang SH, Yuan Y, Wang L, Li J, Wang W, Liu HX, Chen JQ, Hurst LD, Tian DC. Great majority of recombination events in *Arabidopsis* are gene conversion events. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(51): 20992–20997.
- [43] Hadad RG, Pfeiffer TW, Poneleit CG. Repeatability and heritability of divergent recombination frequencies in the Iowa Stiff Stalk Synthetic (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet*, 1996, 93(5–6): 990–996.

(责任编辑: 黄勋)

附表 1 鉴定 hDNA 的 110 对 SSR 引物信息

Supplemental Table 1 The information of 110 pairs of SSR primers applied for detection of hDNA

| 标记名称 | 染色体 | 位置 (Mb) | 重复单元 | 引物序列(5'→3') | T _m (°C) | GC 含量(%) | 3532 中的等位基因(bp) | 3119 中的等位基因(bp) | YX1 中的等位基因(bp) |
|-------------|-----|---------|-------|-------------------------|---------------------|----------|-----------------|-----------------|----------------|
| LG_I -18 | 1 | 0.047 | atta | F: CACGCTAAGATTGTCTCACA | 53.35 | 45.00 | 320/332 | 320/332 | 320/328 |
| | | | | R: TCACTGCATCAAGAAGATTG | 51.30 | 40.00 | | | |
| LG_I -22 | 1 | 0.059 | agcag | F: AGATAAGCATGGCTTGTGT | 51.30 | 40.00 | 309/314 | 309/314 | 309 |
| | | | | R: CGTTACCATTTCATCCAAAT | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_2935-2 | 1 | 0.275 | ttc | F: TCAGCTTCAGCTTCTTCTTC | 53.35 | 45.00 | 192/204 | 192/204 | 198 |
| | | | | R: AATTGAAAAAGGAAAAACCC | 47.20 | 30.00 | | | |
| LG_I -1223 | 1 | 1.241 | gca | F: ATATCACTCGCCAAGTCAAC | 53.35 | 45.00 | 190/193 | 190/193 | 196/199 |
| | | | | R: ATCACGCACAAGTTAGGTTT | 51.30 | 40.00 | | | |
| LG_I -1114 | 1 | 1.424 | ta | F: AAGTGGATCAGGTGATGAAG | 53.35 | 45.00 | 156/166 | 156/166 | 165 |
| | | | | R: CAATGTCTTTCGGTTCTTTC | 51.30 | 40.00 | | | |
| LG_I -1065 | 1 | 1.753 | agc | F: AATGGAGGTCCCTAGCTTAC | 55.40 | 50.00 | 383/386 | 383/386 | 386 |
| | | | | R: TGATATTGCTGGGCTATCTT | 51.30 | 40.00 | | | |
| LG_I -1027 | 1 | 1.834 | ta | F: TGAGCTTAGGAACGAAGAAG | 53.35 | 45.00 | 188/198 | 188/198 | 184/186 |
| | | | | R: CATCAATATGACTCCTCGGT | 53.35 | 45.00 | | | |
| LG_I -1125 | 1 | 1.835 | tca | F: GATGCTTACCCTTTGCTCTA | 53.35 | 45.00 | 400/409 | 400/409 | 400 |
| | | | | R: CATAATGGGCAAAGAATACC | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_3979-1 | 1 | 4.749 | ga | F: TATCAATTTCCGTGGATTTC | 49.25 | 35.00 | 192/196 | 192/196 | 193 |
| | | | | R: GAAACTGAGAGGACTTGCTG | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_124 | 1 | 6.328 | cac | F: TTTGAGCACTTCAACTACCA | 51.30 | 40.00 | 207/210 | 207/210 | 201/210 |
| | | | | R: TGTCTTCCCTTAGTCACCAC | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_1960-1 | 1 | 11.783 | gaaa | F: TATCGAATCACAATGGCATA | 49.25 | 35.00 | 220/224 | 220/224 | 220 |
| | | | | R: TGCTCAGGTCATCTTTCTT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_3408 | 1 | 20.668 | gt | F: ATGGAAGTTTGAGTCCACTG | 53.35 | 45.00 | 202/212 | 202/212 | 200/202 |
| | | | | R: CATGCATTACTTCAACCCTT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_2453-1 | 1 | 28.263 | ggg | F: ACACCAAGAGCTGTAGCATT | 53.35 | 45.00 | 216/222 | 216/222 | 216/219 |
| | | | | R: ACAACATGGCCTAACTCATC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_1719 | 1 | 36.636 | aaag | F: AAGTGCTCATAACATCACCC | 53.35 | 45.00 | 216/228 | 216/228 | 227/234 |
| | | | | R: CTTTCCTCATTCTGTTCTG | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_1263-1 | 1 | 41.934 | ct | F: TGCATTAAGACATCACTTGC | 51.30 | 40.00 | 235/243 | 235/243 | 230/232 |
| | | | | R: TTCGCTTCTGTATTCCTGT | 51.30 | 40.00 | | | |
| PTSSR1686 | 1 | 42.469 | ttc | F: TCAGGATCGGAGTCGGAGTT | 57.45 | 55.00 | 165/168 | 165/168 | 165 |
| | | | | R: TGAGCAGAAACGACACCACT | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_734 | 2 | 1.595 | cttt | F: GGCAATTTAGGTACAACAGC | 53.35 | 45.00 | 177/181 | 177/181 | 181 |
| | | | | R: ACAAGCGAATGCTAATTGAT | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_2085-1 | 2 | 1.957 | ctt | F: GCAGGAACTAACAAGGTGAG | 55.40 | 50.00 | 154/157 | 154/157 | 154 |
| | | | | R: TCGGTAGCAATTGTCTGAAT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_3588-1 | 2 | 2.443 | aaca | F: TCGACCAACTATGTTTGACA | 51.30 | 40.00 | 184/184 | 184/184 | 191/195 |
| | | | | R: AGTTGTAACCTTGGCCTGAA | 51.30 | 40.00 | | | |

续附表

| 标记名称 | 染色体 | 位置 (Mb) | 重复单元 | 引物序列(5'→3') | Tm (°C) | GC 含量(%) | 3532 中的等位基因(bp) | 3119 中的等位基因(bp) | YX1 中的等位基因(bp) |
|-------------|-----|---------|------|----------------------------|---------|----------|-----------------|-----------------|----------------|
| GCPM_1857-1 | 2 | 3.205 | tat | F: TGCCAGGGTAAGAAATAAAA | 49.25 | 35.00 | 196/212 | 196/212 | 196/200 |
| | | | | R: GAACTGAACTGATCTTGTGTC | 53.66 | 42.86 | | | |
| ORPM_222 | 2 | 5.481 | ag | F: TGCGAACATTTTCTTGTGG | 51.30 | 40.00 | 201/205 | 201/205 | 205 |
| | | | | R: CGCAATAGAGCCTTTGGATG | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_2637 | 2 | 11.126 | tta | F: GACACCGTTTCTTTCTGAG | 53.35 | 45.00 | 213/216 | 213/216 | 217 |
| | | | | R: ACCAGATCTTCATCTTCCAA | 51.30 | 40.00 | | | |
| PMGC_2709 | 2 | 12.013 | ga | F: ATTGTAATTATTGAACACATGCC | 50.64 | 30.43 | 234/236 | 234/236 | 200/214 |
| | | | | R: GTGCAGTTCAGAGTATTGTTG | 53.66 | 42.86 | | | |
| ORPM_161 | 2 | 13.406 | ta | F: CGGGCTAGCTCAATTAGGAG | 57.45 | 55.00 | 205/219 | 205/219 | 205/207 |
| | | | | R: ATCACCGCGAGATTCTTGTC | 55.40 | 50.00 | | | |
| ORPM_459 | 2 | 14.121 | att | F: TTGTGGCTGTGACCAGAAAG | 55.40 | 50.00 | 227/230 | 227/230 | 233/246 |
| | | | | R: CGAGCCTCAGAAAATTGCTT | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_2768 | 2 | 20.942 | ga | F: TTATTTGGATCCTGAAATGG | 49.25 | 35.00 | 196/206 | 186/206 | 168/200 |
| | | | | R: GATGGTTCGGTATGTGAGTT | 53.35 | 45.00 | | | |
| PTSSR2445 | 2 | 23.932 | ag | F: CTTTGATCCCACCAACCCCA | 57.45 | 55.00 | 230/244 | 230/244 | 240/242 |
| | | | | R: TAGGCAGCTCTTTGACTGCA | 55.40 | 50.00 | | | |
| PTSSR774 | 2 | 24.833 | tga | F: TAAGGGCAAACATGGGAGGG | 57.45 | 55.00 | 239/242 | 239/242 | 236/239 |
| | | | | R: TAGGCAGAAGTAGCAGCAGC | 57.45 | 55.00 | | | |
| GCPM_2840-1 | 3 | 2.708 | ta | F: GAATCCAAAACAAAACATCC | 49.25 | 35.00 | 227/231 | 227/231 | 225/231 |
| | | | | R: AGGCATCAAACTAATTGGA | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_134-1 | 3 | 2.708 | ta | F: AGGCATCAAACTAATTGGA | 49.25 | 35.00 | 227/230 | 227/230 | 225/231 |
| | | | | R: GAATCCAAAACAAAACATCC | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_2628-1 | 3 | 4.469 | agc | F: TAGGCCATGTTTTTGCTTAT | 49.25 | 35.00 | 211/214 | 211/214 | 211 |
| | | | | R: GTGCCTCATTTATTGGTAGG | 53.35 | 45.00 | | | |
| ORPM_230 | 3 | 9.739 | ga | F: CTTCCCACCCCAACATAAC | 57.45 | 55.00 | 213/219 | 213/219 | 211/215 |
| | | | | R: TGTCATTCCACAGAGAGTCTGG | 57.67 | 50.00 | | | |
| GCPM_1184-1 | 3 | 14.831 | ct | F: TCTTGGCGAGAGAAGTAGAG | 55.40 | 50.00 | 156/158 | 156/158 | 154/164 |
| | | | | R: GGATTTGGTGAAAATTGAAG | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_768-1 | 3 | 16.826 | cac | F: ATTGCTTCTTCTTCCTCTT | 51.30 | 40.00 | 208/211 | 208/211 | 211 |
| | | | | R: TATGAATTCTCTGTTGAACC | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_2434-2 | 3 | 17.172 | tct | F: AGAGAGAGAGGTATGAGGGC | 57.45 | 55.00 | 221/224 | 221/224 | 221 |
| | | | | R: GTTCGGTAAAGGTGATGGA | 53.01 | 47.37 | | | |
| GCPM_1468-2 | 3 | 17.480 | gac | F: CAAGTCATGGCTTCTCAAAC | 53.35 | 45.00 | 192/195 | 192/195 | 195/198 |
| | | | | R: CTATTGATCCTTGAAGACGC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_3465 | 3 | 20.996 | gt | F: TCAATGATTGGTCTTGTGTA | 49.25 | 35.00 | 128/134 | 128/134 | 134/146 |
| | | | | R: CAGAATTCAGAATAGAACCCA | 51.71 | 38.10 | | | |
| GCPM_2625-1 | 4 | 0.188 | gt | F: GATTTCTATTGTGGCAAAGG | 51.30 | 40.00 | 187/193 | 187/193 | 187 |
| | | | | R: TGTATTCCTCCACTCCACTC | 55.40 | 50.00 | | | |

续附表

| 标记名称 | 染色体 | 位置 (Mb) | 重复单元 | 引物序列(5'→3') | Tm (°C) | GC 含量(%) | 3532 中的等位基因(bp) | 3119 中的等位基因(bp) | YX1 中的等位基因(bp) |
|-------------|-----|---------|--------|---------------------------|---------|----------|-----------------|-----------------|----------------|
| GCPM_1116-1 | 4 | 0.401 | tca | F: GGGGCTAATATCAGTTTCCT | 53.35 | 45.00 | 195/201 | 195/201 | 195 |
| | | | | R: TGAGAAAACCCTGGAAAATA | 49.25 | 35.00 | | | |
| ORPM_394 | 4 | 0.667 | tgc | F: AAAAAGCCCCACAATTATTC | 49.76 | 33.33 | 222/225 | 222/225 | 222/231 |
| | | | | R: GCAAGTTGCAATTGATGTCC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_3437 | 4 | 2.481 | ag | F: AAGATCTGGTGTGTTTGG | 51.30 | 40.00 | 234/236 | 234/236 | 236/242 |
| | | | | R: TTCTTAACAGAAGCCAGGAG | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_3971-1 | 4 | 4.122 | taaa | F: CAGCCAGCCTCTTTAAGATA | 53.35 | 45.00 | 193/211 | 193/211 | 202/220 |
| | | | | R: ACAGCAATTCTGTACCTCGT | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_1297-1 | 4 | 4.758 | tct | F: GGGATGAATCAGGAGATGTA | 53.35 | 45.00 | 135/141 | 135/141 | 140 |
| | | | | R: GAAGAAACCTGTGGGTGATA | 53.35 | 45.00 | | | |
| ORPM_421 | 4 | 5.650 | ta | F: AAATGATGTTGCGATTCCA | 49.25 | 35.00 | 213/221 | 213/221 | 219 |
| | | | | R: TCCCATCTCAACTACTCCAACA | 55.81 | 45.45 | | | |
| PTSSR1738 | 4 | 6.603 | ctcttc | F: CTCCTCGTTTGGCCCCTAA | 57.45 | 55.00 | 277/295 | 277/295 | 289/301 |
| | | | | R: ACCAGCTAGTTCGGGCTTTC | 57.45 | 55.00 | | | |
| ORPM_201 | 4 | 7.736 | tc | F: GACTCCACCCAGTTCTGCTC | 59.50 | 60.00 | 214/226 | 214/226 | 224/226 |
| | | | | R: AACTTCCCATCGAATGATCG | 53.35 | 45.00 | | | |
| PTSSR1873 | 4 | 8.381 | GA | F: GCGTGAGATGAGGGAGAGTG | 59.50 | 60.00 | 184/198 | 184/198 | 186/202 |
| | | | | R: CGTCAGGCGACAATTCCAAC | 57.45 | 55.00 | | | |
| PTSSR1932 | 4 | 9.402 | TAC | F: CGGCAGGTCTGATGTCTTCA | 57.45 | 55.00 | 120/123 | 120/123 | 117/123 |
| | | | | R: CCATGGAGTCTAAAGGTGGCA | 57.57 | 52.38 | | | |
| GCPM_3819-1 | 4 | 16.315 | gaa | F: ATCATCAAGTTCACGAAAGC | 51.30 | 40.00 | 240/243 | 240/243 | 237 |
| | | | | R: ACTGACCTACCACCATTTTG | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_295-1 | 4 | 16.784 | aag | F: TAAGAGGATTACCAGGCAGA | 53.35 | 45.00 | 136/145 | 136/145 | 142/148 |
| | | | | R: CCCACTAACAATAAGCTTGG | 53.35 | 45.00 | | | |
| PTSSR1623 | 4 | 20.046 | tga | F: CATCTCCCACCACCACAACA | 57.45 | 55.00 | 238/248 | 238/248 | 238 |
| | | | | R: CTCTGCGTAAACAACCTGCGG | 57.45 | 55.00 | | | |
| PTSSR2267 | 4 | 21.767 | tca | F: TGGAAGGCAAATCGTCGTCA | 55.40 | 50.00 | 182/197 | 182/197 | 190 |
| | | | | R: AAGTGGAGCAGACAGACACT | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_3234-1 | 4 | 21.772 | agc | F: TCTCAATGTGCACACCATTA | 51.30 | 40.00 | 195/198 | 195/198 | 195 |
| | | | | R: TGCAAGAACTGCTATCACTG | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_1255 | 5 | 1.974 | ag | F: GAACCTTAAAACCAGAACCC | 53.35 | 45.00 | 191/193 | 191/193 | 189/193 |
| | | | | R: GAGCCACAGAAATACTGCTC | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_379-1 | 5 | 4.025 | tat | F: GGCCATTTCATTAGATGTAGC | 53.35 | 45.00 | 153/156 | 153/156 | 153 |
| | | | | R: AAATCAAGATCCAAAGCAAA | 47.20 | 30.00 | | | |
| GCPM_1063 | 5 | 5.996 | ca | F: AGTTAATTGCGCATGTTCTT | 49.25 | 35.00 | 168/188 | 168/188 | 170/176 |
| | | | | R: AAACAACTCCAGCAAACAT | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_3536-2 | 5 | 9.139 | ttg | F: AGATTCTTTTTCGGCTTCTT | 49.25 | 35.00 | 137/146 | 137/146 | 141/144 |
| | | | | R: AGAAGATGCTGGAGTTCAGA | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_1838 | 5 | 9.156 | ga | F: GTTCAGCGAAAGCTAAAGAG | 53.35 | 45.00 | 142/146 | 142/146 | 138/168 |
| | | | | R: CACAGAATTACAGCTGATGC | 53.35 | 45.00 | | | |

续附表

| 标记名称 | 染色体 | 位置 (Mb) | 重复单元 | 引物序列(5'→3') | Tm (°C) | GC 含量(%) | 3532 中的等位基因(bp) | 3119 中的等位基因(bp) | YX1 中的等位基因(bp) |
|-------------|-----|---------|------|---------------------------|---------|----------|-----------------|-----------------|----------------|
| GCPM_2013-1 | 5 | 14.238 | At | F: TTTAGGGTCGTAGTGAAAAA | 51.30 | 40.00 | 238/240 | 238/240 | 250/254 |
| | | | | R: AAACCTGGAGGAGAATTAGAA | 51.71 | 38.10 | | | |
| ORPM_136 | 5 | 16.608 | ct | F: TTAAAGCCTCCGAAAACCAA | 51.30 | 40.00 | 228/240 | 228/240 | 232 |
| | | | | R: CTGCAAGGCGAGGTTATTCT | 55.40 | 50.00 | | | |
| ORPM_442 | 5 | 16.608 | ct | F: TGGTTTTCGGAGGCTTAAAA | 51.30 | 40.00 | 244/254 | 244/254 | 236 |
| | | | | R: CCTGCAGCGAGTATTAATTGG | 55.61 | 47.62 | | | |
| GCPM_3151 | 5 | 22.434 | ag | F: ACCATCATTAACCCACATA | 51.30 | 40.00 | 144/156 | 144/156 | 135/155 |
| | | | | R: AAAGAAACCAGACCACACAC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_2858-1 | 5 | 22.702 | tg | F: TGCAAGTCTTTTATAGGAACC | 51.30 | 40.00 | 254/256 | 254/256 | 254/260 |
| | | | | R: TTCAAAATGCATCAAAGTGT | 47.20 | 30.00 | | | |
| GCPM_540-1 | 5 | 24.498 | taa | F: GATGGGGAGGTTATTTCTT | 51.30 | 40.00 | 154/160 | 154/160 | 154 |
| | | | | R: CAATATTGAGGAAAATCAAAGG | 50.22 | 31.82 | | | |
| GCPM_4008-1 | 5 | 24.561 | acc | F: AGAGAGAAGCTTGTGTCCAG | 55.40 | 50.00 | 161/170 | 161/170 | 170 |
| | | | | R: TGAGGAAGCAGAAGTAGAGC | 55.40 | 50.00 | | | |
| ORPM_25 | 5 | 25.091 | ta | F: AAGAGTTGAAGGCTGGACGA | 55.40 | 50.00 | 236/240 | 236/240 | 236 |
| | | | | R: AGACATGCATGAAGCCATGA | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_547-1 | 6 | 1.831 | at | F: CCTCTTGAAAAGAAGCAAAA | 49.25 | 35.00 | 217/231 | 217/231 | 213 |
| | | | | R: ATCAAAAATGCCGATTAATAA | 45.15 | 25.00 | | | |
| GCPM_139 | 6 | 2.516 | gt | F: ATGACATGACATGATTGGAA | 49.25 | 35.00 | 220/228 | 220/228 | 200/226 |
| | | | | R: CTTCTGCTGGAAGAAGAAAA | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_2126 | 6 | 3.888 | ag | F: CACGTAAACAGCTTCCAAGT | 53.35 | 45.00 | 178/194 | 178/194 | 160/176 |
| | | | | R: TAATGATTCCAGCTATGGGT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_1072-2 | 6 | 4.204 | ttta | F: AGGAAAACAAAGGAGAGGAG | 53.35 | 45.00 | 150/154 | 150/154 | 142/154 |
| | | | | R: ATGCTTAAAGGGGATCTCT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_3539-2 | 6 | 5.331 | aat | F: TATTCGGTACAAGACTTGGG | 53.35 | 45.00 | 215/218 | 215/218 | 212/215 |
| | | | | R: TAATTGTAAAGCGGCTATCG | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_2642-2 | 6 | 6.965 | cca | F: GCTTAGCTGGATGAGAAGAA | 53.35 | 45.00 | 239/241 | 239/241 | 239 |
| | | | | R: ATAGTTACAGGCCACCATTG | 53.35 | 45.00 | | | |
| PTSSR580 | 6 | 13.716 | atg | F: AATGCATCCTCAGCTCCAGG | 57.45 | 55.00 | 281/284 | 281/284 | 281 |
| | | | | R: CGGCGGCTGCAACATTAAT | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_1017-1 | 6 | 22.438 | ataa | F: GTTAAATCCACGTCGTTA | 51.30 | 40.00 | 171/175 | 171/175 | 175/177 |
| | | | | R: CGAATGAAGAAAAACCATTC | 49.25 | 35.00 | | | |
| GCPM_2705-1 | 6 | 22.633 | ac | F: TTTGCACAGGTAAGTTGATG | 51.30 | 40.00 | 146/150 | 146/150 | 148/152 |
| | | | | R: ATTGACCATAGCAGACAACC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_2034 | 6 | 23.087 | ag | F: ACAAAGTCTTTGTTTGTT | 49.25 | 35.00 | 176/190 | 176/190 | 186/196 |
| | | | | R: CTCCATTCATAAAATCGAGC | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_1632-1 | 6 | 23.663 | ct | F: TTTCTCTCTCTGAAACCCCT | 53.35 | 45.00 | 211/225 | 211/225 | 203/221 |
| | | | | R: AGCGACTCACTGAGCTTTAG | 55.40 | 50.00 | | | |
| ORPM_365 | 6 | 23.788 | tg | F: GGGTTGGACCTGCTCAAATA | 55.40 | 50.00 | 226/228 | 226/228 | 226/238 |
| | | | | R: CAGCTGCTTTTTCATGGCTA | 53.35 | 45.00 | | | |

续附表

| 标记名称 | 染色体 | 位置 (Mb) | 重复单元 | 引物序列(5'→3') | Tm (°C) | GC 含量(%) | 3532 中的等位基因(bp) | 3119 中的等位基因(bp) | YX1 中的等位基因(bp) |
|-------------|-----|---------|--------------------------|-----------------------------|---------|----------|-----------------|-----------------|----------------|
| GCPM_2627-1 | 6 | 24.930 | cac | F: TAAGTCCCACTACACCCAAC | 55.40 | 50.00 | 234/254 | 234/254 | 240/255 |
| | | | | R: GAGTTCGAGAGAGGGAATCT | 55.40 | 50.00 | | | |
| GCPM_2615-1 | 6 | 27.782 | cttt | F: ATGTCAACGTCACCTGACAAA | 51.30 | 40.00 | 231/237 | 231/237 | 229/236 |
| | | | | R: ATTAGGCAATGCAGAACACT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_1054-1 | 7 | 0.863 | ct | F: AGGTCTGTGCAAGGAATAAA | 51.30 | 40.00 | 159/165 | 159/165 | 154/165 |
| | | | | R: GTCTGTAATCAAGCCAAAGC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_741-1 | 7 | 1.416 | at | F: CCGTTTGATTAAAAAGATGC | 49.25 | 35.00 | 212/214 | 212/214 | 214 |
| | | | | R: TTATTGAGCTGATGATCCCT | 51.30 | 40.00 | | | |
| WPMS_17 | 7 | 6.495 | cac | F: ACATCCGCCAATGCTTCGGTGTTT | 59.57 | 50.00 | 137/146 | 137/146 | 137/140 |
| | | | | R: GTGACGGTGGTGGCGGATTTCTT | 61.28 | 54.17 | | | |
| GCPM_3738-1 | 7 | 9.014 | ac | F: TGAACAAGACACCAAAATGA | 49.25 | 35.00 | 133/139 | 133/139 | 133 |
| | | | | R: TCTCGACTTTACCATCTCGT | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_2741-1 | 7 | 12.076 | at | F: CAAGCAGTATCTTCCACTGA | 53.35 | 45.00 | 142/146 | 142/148 | 134 |
| | | | | R: TAGCCAACCACTCTAAAGGA | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_3476-1 | 7 | 12.189 | ggt | F: GGGAATGTAAGGATGTGTTG | 53.35 | 45.00 | 202/220 | 202/220 | 205/211 |
| | | | | R: AACCAGAAAACGACAGTCAC | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_3332-1 | 7 | 13.116 | ag | F: TCCACTGCCTATGAACCTTTT | 51.30 | 40.00 | 138/154 | 138/154 | 138 |
| | | | | R: CACCCAATAGCTTCCATATT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_3727-1 | 7 | 13.848 | ct | F: TTGGGGTTAGTGACTAGTGG | 55.40 | 50.00 | 152/158 | 152/158 | 152/154 |
| | | | | R: CAAGCTGTGTAAAGACACCA | 53.35 | 45.00 | | | |
| LG_VIII-50 | 8 | 0.255 | ga | F: AACAACAGATCGCTGAAACT | 51.30 | 40.00 | 265/281 | 265/281 | 265/271 |
| | | | | R: CCATGTACTTAGGCATGGAT | 53.35 | 45.00 | | | |
| GCPM_2992 | 8 | 1.833 | TA | F: GATCATAACCCAGGAAACAA | 51.30 | 40.00 | 237/241 | 237/241 | 241 |
| | | | | R: CGTGAATTTTTGGGATTTTA | 47.20 | 30.00 | | | |
| GCPM_1344-2 | 8 | 3.669 | tat | F: GAGACCTGAGAAACAGAGGA | 55.40 | 50.00 | 227/230 | 227/230 | 230 |
| | | | | R: CAAATGCAACGCAATAATAA | 47.20 | 30.00 | | | |
| GCPM_33-1 | 8 | 4.192 | tta | F: TTTGGCCTTAACTCTCCATA | 51.30 | 40.00 | 171/174 | 171/174 | 167/179 |
| | | | | R: AGTTGCTCTCAAAGAAGGTT | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_13-1 | 8 | 7.309 | taa | F: ATTGTTCTTGTGAAGGACG | 51.30 | 40.00 | 207/213 | 207/213 | 204/210 |
| | | | | R: AGAGCAAACAAATTGATGGT | 49.25 | 35.00 | | | |
| ORPM_126 | 8 | 11.293 | [ct] ^{4c} ct | F: GCCGAAGTTGACGATAGCTC | 57.45 | 55.00 | 215/222 | 215/222 | 215 |
| | | | | R: GAGTTAAACCCACCCTGCAA | 55.40 | 50.00 | | | |
| ORPM_455 | 8 | 11.293 | ga | F: GAGTTAAACCCACCCTGCAA | 55.40 | 50.00 | 215/225 | 215/225 | 215 |
| | | | | R: GCCGAAGTTGACGATAGCTC | 57.45 | 55.00 | | | |
| GCPM_2958-1 | 8 | 11.639 | ct | F: AAAGAGGATTACTTAGGCGG | 53.35 | 45.00 | 201/215 | 201/215 | 217/219 |
| | | | | R: ACGAGAACATTCATCAATCC | 51.30 | 40.00 | | | |
| GCPM_3474-1 | 8 | 16.814 | agc | F: GATCCGAAAAACAACAACAT | 49.25 | 35.00 | 123/135 | 123/135 | 123 |
| | | | | R: ACCCCTTTCTCTTCTCAATC | 53.35 | 45.00 | | | |

续附表

| 标记名称 | 染色 体 | 位置 (Mb) | 重复 单元 | 引物序列(5'→3') | Tm (°C) | GC 含 量(%) | 3532 中的 等位基因(bp) | 3119 中的 等位基因(bp) | YX1 中的 等位基因(bp) |
|-----------|---------|------------|----------|-----------------------------|------------|--------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| MB50065 | 19 | 0.301 | A | F: CACCAAAATTAAAGGGCCAA | | | 204/218 | 204/218 | 201 |
| | | | | R: GCATGCTAGTGCCTTTTCCT | | | | | |
| MB41376 | 19 | 1.940 | at | F: GAGCAGGTGACTCGTGAACA | | | 251/255 | 251/255 | 251 |
| | | | | R: GGAGAGTGATAAAACCAACAATCC | | | | | |
| MB41583 | 19 | 2.580 | gcg | F: CAAGTTGGCTTGGATGGATT | | | 144/162 | 144/162 | 146/149 |
| | | | | R: AACCAGCCCAACAAATCAAG | | | | | |
| MB55349 | 19 | 3.680 | tc | F: GGACACGTGATGTCATGGAG | | | 264/268 | 264/268 | 258/260 |
| | | | | R: TCAAATGCAAAGCCCTTTT | | | | | |
| MB54907 | 19 | 4.713 | ga | F: TAGCAAAAGCAGCAGCAGAG | | | 262/300 | 262/300 | 262/378 |
| | | | | R: CAAGTGCGTGAAAAACATGG | | | | | |
| MB54763 | 19 | 5.159 | tta | F: AGTTGAATTTGCGCTTCGAT | | | 128/134 | 128/134 | 128 |
| | | | | R: TAGGGTGTGGCCAACATACA | | | | | |
| MB84322 | 19 | 5.526 | tta | F: GCATGCTGTTTGCATCTAAAG | | | 234/248 | 234/248 | 234 |
| | | | | R: ATTAAACCTCGGGTCCTGGT | | | | | |
| MB120414 | 19 | 7.927 | tg | F: GTGGCGAAGCTTTATTCCTG | | | 297/311 | 297/311 | 307/311 |
| | | | | R: TAAAGCCCAAAGCAGTCACC | | | | | |
| LG_XIX-11 | 19 | 8.770 | atca | F: CAACATGAAATGAGCTGCTA | | | 398/404 | 398/404 | 404/408 |
| | | | | R: TCCACATGATGTCTGATTTG | | | | | |
| MB125350 | 19 | 9.649 | tc | F: AAAGAGTCAACGGGCAAAAA | | | 284/290 | 284/290 | 292/300 |
| | | | | R: AGTGGCAGCTGAATGGAAAT | | | | | |
| MB37553 | 19 | 10.266 | ta | F: TGACCAAGAGATTGCCACAG | | | 298/306 | 298/306 | 317/343 |
| | | | | R: GAAAGTTTCATGTGCCGGAT | | | | | |
| MB125779 | 19 | 11.237 | t | F: TTGAAGTATGATTAGCATCCTCG | | | 112/115 | 112/115 | 115/123 |
| | | | | R: TCCCTCTGGTTACCATTTGC | | | | | |
| MB70130 | 19 | 15.319 | a | F: TGCTCCAGAGGTTACTCCGT | | | 233/239 | 233/239 | 233 |
| | | | | R: TCCAATGATGGATCTGGTGA | | | | | |