

# 茄子EST-SSR分子标记的鉴定及多态性分析

曾美娟<sup>1,2</sup> 刘建汀<sup>1,2</sup> 卓玲玲<sup>1,2</sup> 陈敏氩<sup>1,2</sup> 叶新如<sup>1,2</sup> 王彬<sup>1,2</sup> 朱海生<sup>1,2\*</sup> 温庆放<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>福建省蔬菜遗传育种重点实验室, 福州 350013; <sup>2</sup>福建省农业科学院作物研究所, 福建省农业科学院蔬菜研究中心, 福建省蔬菜工程技术研究中心, 福州 350013)

**摘要** 为了加快茄子(*Solanum elongata* L.)分子遗传学研究和分子标记辅助育种, 对其开展转录组测序, 采用软件MISA(MicroSATellite)对茄子转录组中的SSR位点进行搜索, 共检测出5 562个SSR位点, 分布于3 438条Unigene中, 出现频率为13.23%, 平均分布距离为9.73 Kb。三核苷酸和二核苷酸重复出现频率占优势, 分别有3 546个和1 270个, 分别占总SSR的63.75%和22.83%。利用Primer 3.0设计引物, 随机选择其中20 bp以上SSR序列的100对引物进行合成, 92对引物实现有效扩增, 占100对SSR引物的92%, 从有效扩增引物随机选取30对引物对29份茄子材料进行扩增及多态性评价, 30对均有多态性差异。通过UPGMA作图, 供试的29份不同的茄子材料被划分为2类。基于茄子转录组测序开发的EST-SSR标记具有较高的可用性, 为茄子种质鉴定、亲缘关系分析及遗传图谱构建等提供更丰富的标记来源。

**关键词** 茄子; 转录组; EST-SSR; 多态性

## Identification and Polymorphism Analysis of EST-SSR Molecular Markers in *Solanum elongata* L.

ZENG Meijuan<sup>1,2</sup>, LIU Jianting<sup>1,2</sup>, ZHUO Lingling<sup>1,2</sup>, CHEN Mindong<sup>1,2</sup>, YE Xinru<sup>1,2</sup>,  
WANG Bin<sup>1,2</sup>, ZHU Haisheng<sup>1,2\*</sup>, WEN Qingfang<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Fujian Key Laboratory of Vegetable Genetics and Breeding, Fuzhou 350013, China; <sup>2</sup>Crops Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Vegetable Research Center, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fujian Engineering Research Center for Vegetables, Fuzhou 350013, China)

**Abstract** In order to speed up the molecular genetic research and molecular marker-assisted breeding of *Solanum elongata* L., transcriptome sequencing was carried out. The software MISA (MicroSATellite) was used to search for SSR loci in *Solanum elongata* L. transcriptome. A total of 5 562 SSR loci were detected, distributed in 3 438 Unigenes, with a frequency of 13.23% and an average distribution distance of 9.73 Kb. The major repeat motifs were trinucleotide and dinucleotide, which accounted for 63.75% (3 546) and 22.83% (1 270), respectively. Primers were designed by Primer 3.0, then 100 pairs of primers with more than 20 bp SSR sequences were ran-

收稿日期: 2020-04-28

接受日期: 2020-06-01

福建省现代蔬菜产业技术体系岗位专家项目(批准号: 闽农综(2019)144)、福建省自然科学基金项目(批准号: 2019J01112)、福建省科技计划项目-省属公益类院所基本科研专项(批准号: 2018R1026-5)、中央引导地方科技发展专项(批准号: 2018L3005)、福建省农业科学院科技创新团队建设(批准号: STIT2017-1-2)、国家大宗蔬菜产业技术体系福州综合试验站(批准号: CARS-23-G-53)和福建省科技重大专项(批准号: 2018NZ0002-3)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0591-87573380, E-mail: zhs0246@163.com; fjvrc@163.com

This work was supported by Project of Post Expert of Fujian Provincial Modern Vegetable Industry System (Grant No.Fujian agricultural integration (2019) 144), Natural Science Foundation of Fujian Province (Grant No.2019J01112), Fujian Provincial Public Research Institute of Fundamental Research (Grant No.2018R1026-5), Central Guidance for Local Science and Technology Development Projects (Grant No.2018L3005), Fujian Academy of Agricultural Sciences Vegetable Science and Technology Innovation Team (Grant No.STIT2017-1-2), the Experimental Station of Fuzhou of China Commodity Vegetable Industry System (Grant No.CARS-23-G-53), and Fujian Provincial Key Science and Technology Project-Special Subject (Grant No.2018NZ0002-3)

\*Corresponding authors. Tel: +86-591-87573380, E-mail: zhs0246@163.com; fjvrc@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5309>

domly selected for synthesis, 92 pairs of primers were amplified effectively, accounting for 92% of 100 pairs of SSR primers. Thirty pairs of primers were randomly selected from effective amplification primers to amplify 29 *Solanum elongata* L. germplasms for the polymorphism analysis. 30 pairs of primers were polymorphic. Through UPGMA mapping, 29 different *Solanum elongata* L. samples were divided into two categories. The EST-SSR markers based on *Solanum elongata* L. transcriptome sequencing have high availability and can provide more abundant marker sources for *Solanum elongata* L. germplasm identification, genetic relationship analysis and genetic map construction.

**Keywords** *Solanum elongata* L.; transcriptome; EST-SSR; polymorphism

茄子(*Solanum elongata* L.), 茄属植物, 是我国主要的茄果类蔬菜之一, 具有重要的经济和营养价值, 在南北方露地和设施栽培大棚中都有广泛的种植。我国既是全球第一茄子生产国家也是消费大国<sup>[1]</sup>。近年来, 我国在茄子种质资源的分析、品种鉴定、新品种选育等方面均有较大的收获。但相较于马铃薯、黄瓜、番茄等蔬菜的研究, 茄子在遗传多样性分析、种质亲缘鉴定、分子育种等方面有很大的差距, 尤其是缺乏大量的多态性分子标记, 导致茄子分子生物学方面研究相对滞后。

目前, 分子标记是一种可靠的植物基因型种质鉴定方法。诸如扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)<sup>[2-3]</sup>、随机扩增多态性DNA(randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)<sup>[4-5]</sup>、简单序列重复区间扩增多态性(inter simple sequence repeats, ISSR)<sup>[6]</sup>以及简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)等分子标记对植物的遗传多样性开展研究。其中, SSR广泛分布于动植物基因编码区和非编码区, 其两侧的序列通常是相对保守的单拷贝序列, SSR的重复次数不同和重复程度不同, 使其呈现高度的多态性<sup>[7]</sup>。与其他分子标记技术相比, SSR标记具有多态性高、共显性、重复性好、操作便利、覆盖面广等优点, 被广泛应用于植物研究。当前, 物种的SSR引物开发方式通常有两种: 一种是基于基因组开发的SSR, 被称为基因组SSR(genomic-SSR, gSSR); 另一种是基于转录组序列开发的SSR, 被称为表达序列标签SSR(expressed sequence tag-SSR, EST-SSR)<sup>[8-9]</sup>。利用基因组开发SSR引物, 需要构建文库、筛选、测序, 步骤复杂、开发费时、费力且成本高<sup>[10]</sup>, 而利用转录组数据建立的SSR标记来源于基因的转录区, 不依赖于物种的全基因组信息, 共显性高, 重复性好, 可直接反映基因的表达信息, 且操作简便、经济实用、信息量

大<sup>[11-12]</sup>。茄子SSR标记的开发和评价一直是人们关注的焦点, 虽然已经开展了不少SSR方面相关的研究, 但已开发的茄子SSR分子标记还未能满足研究需求, 能够使用的SSR标记为数较少, SSR标记多态性低, 故大量开发可用性高的茄子SSR分子标记仍是当下迫切的任务。本研究开发茄子EST-SSR引物, 旨在为茄子遗传多样性分析、遗传图谱构建、品种鉴定与改良、功能基因挖掘、克隆及分子标记辅助选择育种等研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 转录组数据来源

本课题组于2019年对茄子成熟时期的叶片和商品果进行取样, 分别对叶片和果实进行高通量深度测序, 获得茄子转录组数据。该测序工作是委托广州基迪奥生物技术有限公司(Genedenovo Biotechnology Co., Ltd, Guangzhou)进行转录组测序的。

### 1.2 材料及其DNA提取

材料为本课题组收集保存的茄子材料, 共选取29份代表性茄子资源作为供试材料(表1)。基因组DNA提取采用CTAB法进行。

### 1.3 转录组SSR位点鉴别及SSR引物设计

采用MISA查找茄子转录组数据中的SSR位点, 其查找标准参数设置为: 重复单元长度2~6 bp, 二核苷酸重复序列 $\geq 6$ 、三核苷酸重复序列 $\geq 5$ 、四核苷酸重复序列 $\geq 4$ 、五核苷酸重复序列 $\geq 4$ 和六核苷酸重复序列 $\geq 4$ , 记为一个SSR。用Primer 3.0软件设计引物。预计产物长度在100~280 bp。引物序列长度18~25 bp, GC含量40%~60%, 退火温度为55~65 °C, 上、下游引物的 $T_m$ 值相差 $\leq 5$  °C。

### 1.4 引物筛选及PCR扩增

从引物中随机挑选20 bp以上SSR序列的100对引物。PCR反应体系(25  $\mu$ L): 10 mmol/L dNTPs 1  $\mu$ L、

表1 茄子SSR多态性分析材料基本信息

Table 1 List of accessions used in assessing the level of SSR in *Solanum elongena* L.

序号 Serial Number	编号 Number	果形 Shape	果色 Color
1	QZ1	Middle-long cylinder	Red
2	QZ2	Long cylinder	Red
3	QZ3	Line	Red
4	QZ4	Line	Carmine
5	QZ5	Line	Fuchsia
6	QZ6	Short cylinder	Carmine
7	QZ7	Short cylinder	Fuchsia
8	QZ8	Short cylinder	Dark purple
9	QZ9	Short cylinder	Red
10	QZ10	Strip	Fuchsia
11	QZ11	Strip	Fuchsia
12	QZ12	Strip	Fuchsia
13	QZ13	Strip	Bright purple
14	QZ14	Strip	Bright purple
15	QZ15	Strip	Fuchsia
16	QZ16	Strip	Fuchsia
17	QZ17	Line	Fuchsia
18	QZ18	Line	Fuchsia
19	QZ19	Strip	Bright purple
20	QZ20	Strip	Purple
21	QZ21	Long cylinder	Dark purple
22	QZ22	Long cylinder	Dark purple
23	QZ23	Short cylinder	Bright purple
24	QZ24	Middle-long cylinder	Bright purple
25	QZ25	Middle-long cylinder	Fuchsia
26	QZ26	Middle-long cylinder	Fuchsia
27	QZ27	Short cylinder	Dark purple
28	QZ28	Long cylinder	Dark purple
29	QZ29	Long cylinder	Dark purple

5U Taq酶 0.3  $\mu\text{L}$ 、50 ng DNA 1.5  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{mol/L}$ 的上下游引物各1  $\mu\text{L}$ 、10 $\times$  Buffer ( $\text{Mg}^{2+}$ ) 2.5  $\mu\text{L}$ ，加ddH<sub>2</sub>O补至25  $\mu\text{L}$ 。PCR扩增程序为：95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min；94  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s，55~59  $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s(根据不同引物相应调整)，72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min，35个循环；在72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min完成扩增。PCR扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后观察拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 转录组中EST-SSR的分布特点

茄子转录组经组装后，通过MISA软件对1 kb 以上的Unigene(42 035条，序列全长为52 121 350 bp)展开搜索，结果显示，5 562个SSR位点分布在3 438条Unigene上，含有2个或2个以上的EST-SSR位点有564条Unigene。茄子转录组中EST-SSR发生频率为

8.18%，EST-SSR出现频率为13.23%，平均分布距离为9.37 Kb，其中复合SSR有1 692个。

### 2.2 转录组中EST-SSR基序重复类型和频率特征

茄子转录组中SSR基序重复类型丰富，有5种类型，即二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸以及六核苷酸重复类型。其中三核苷酸和二核苷酸重复出现频率占优势，分别有3 546个和1 270个，分别占总SSR的63.75%和22.83%；四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸重复类型数量较少，分别有255个、69个和422个，分别占总数的4.58%、1.24%和7.59%(表2)。

从图1分布频率来看，EST-SSR的基序类型出现最多的为三核苷酸重复类型AAG/CTT，占三核苷酸重复基序总数的35.95%，占总EST-SSR的22.90%；其

表2 茄子EST-SSR的类型、数量及分布频率  
Table 2 Type, number and frequency of EST-SSRs in *Solanum elongena* L.

重复基序长度 Repeat motif length	重复次数 Repeat number												总计 Total	比例/% Ratio /%
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Di	0	0	447	244	123	107	68	40	37	23	25	156	1 270	22.83
Tri	0	1 646	729	381	187	168	71	73	58	39	41	153	3 546	63.75
Tetra	179	51	13	6	2	1	1	0	1	0	0	1	255	4.58
Penta	53	10	1	2	0	0	1	0	0	0	0	2	69	1.24
Hexa	229	94	36	23	10	9	6	6	4	0	1	4	422	7.59
Total	461	1 801	1 226	656	322	285	147	119	100	62	67	316	5 562	100
Ratio /%	8.29	32.38	22.04	11.79	5.79	5.12	2.64	2.14	1.80	1.11	1.20	5.68	100	

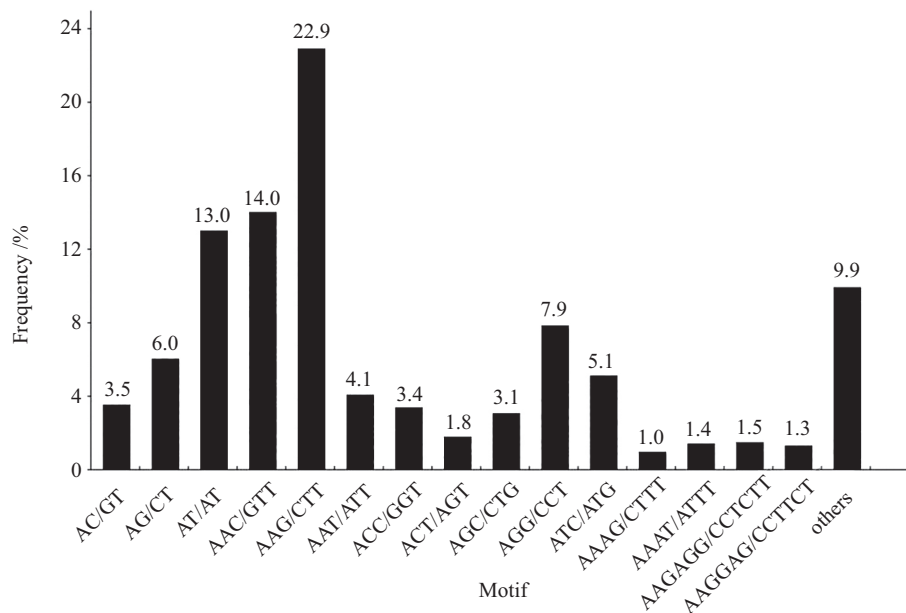


图1 茄子转录中不同微卫星重复基序(motif)出现的频率图

Fig. 1 Occurrence frequency of different microsatellites motifs of *Solanum elongena* L.

次是三核苷酸重复类型AAC/GTT, 占三核苷酸重复基序总数的22%, 占总EST-SSR的14%; 随后是二核苷酸重复类型AT/AT, 占二核苷酸重复基序总数的57%, 占总EST-SSR的13%; 四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸重复基序分布较为分散, 出现的频率较低。

### 2.3 茄子转录组EST-SSR引物设计与筛选

利用Primer 3.0对含SSR位点的3 438条Unigene序列进行引物设计, 随机选择其中20 bp以上SSR序列的100对引物进行合成, 包括二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸及六核苷酸重复基序的SSR位点, 对一个茄子品种‘QZ1’ DNA进行扩增以验证其有效性。结果显示, 在100对茄子EST-SSR引物中有92对引物实现有效扩增, 有效扩增达到92%。

### 2.4 多态性分析

从92对有效扩增引物中随机选取30对EST-SSR引物对29份茄子进行扩增及多态性评价。结果显示, 30对引物均存在多态性差异(表3), 每对引物产生的条带数在1~6, 共得到126条带, 其中多态性片段104个, 每对引物平均产生3.5个多态性片段。图2为引物Q10和Q19的扩增情况。通过UPGMA法进行聚类分析, 对供试的茄子种质资源构建亲缘关系树状聚类图(图3), 在遗传距离0.75处, 供试的29份不同的茄子材料被划分为两大类。这表明, 不同的茄子品种可能至少有一些共同的遗传基础。第一大类包含20份材料, 果形主要为长筒、中长筒、短筒、线形和长条; 颜色主要为绛红色、脂红色、黑紫色、鲜紫

表3 茄子30对EST-SSR引物信息

Table 3 Information of 30 pairs of EST-SSR primers developed from *Solanum elongena* L.

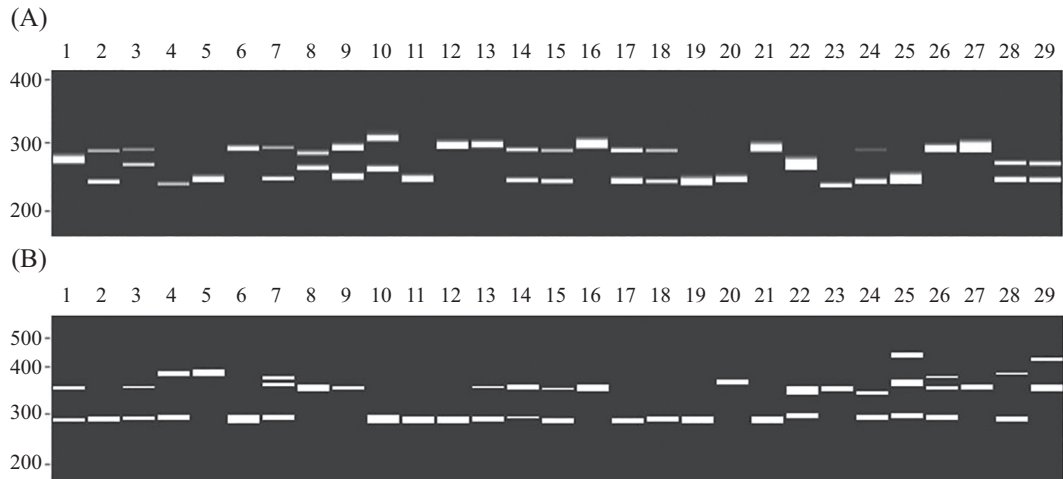
引物编号 Primer No.	引物 Primers	上游引物(5'→3') Forward primer (5'→3')	下游引物(5'→3') Reverse primer (5'→3')	SSR基序 SSR motif
1, 2	Q1	CAA GAG GGA GAT GGA GTT CG	CAA TCT GTT GTT GCT GAT GAC A	(ATA)14
3, 4	Q2	TCT TTG AAA CTC CTG CAC AAT G	TGC TGC TCG AGA TGA TTC AC	(TCT A)7
5, 6	Q3	CTC CTA GAG ACT CAT GCC CG	GCT TTT TCT TTC ATC GGT GG	(CTCCAC)5
7, 8	Q4	TGG GAA CAT TTA GAG ACA CCA	TTC CAC AAG ACA CCC CTT TC	(TTC)7
9, 10	Q5	AAA TTC TAC ACT CGA TCA AAT TAT TCA	TTT TGA AAC AAA AAT TGG AGC A	(AT)22
11, 12	Q6	GCA TGG CTG CTT TAG GAA TC	CTC GTT TAA AGG CGC TGA AG	(AT)12
13, 14	Q7	CGG TGG GTT GGA TTA TGA CT	GAA TCA TTC CAA AAA GGA AAG AAA	(ATT)17
15, 16	Q8	GGG GAA TTT TTG GAG GAT TC	GCC TTG CTT CCC ATT CAT TA	(GA)10
17, 18	Q9	GGG CGT CTT GTA TCC TTG AA	AAG CTT TGA AGG CAA AGG AA	(CTT)25
19, 20	Q10	TCT CCA GAG AGC TGA TGC AA	TTG CAG AGG TTG AAC AAT GC	(CAA)9
21, 22	Q11	TTG ACT TTT GAC CCC AGT CC	TCT CAC ACC CTA CCA AAA TAG GA	(TG)7(TA)11
23, 24	Q12	ACC GCC GTC ATC ATC TAA AG	GCC ATG AAT ACT TCC TCC GT	(TTC)9
25, 26	Q13	TCG CAT GAC GAA AAT CTC AC	GAC CGA TTC AAA TGC ACC TT	(CT)15
27, 28	Q14	GCA GAC GGA TGC ATA ATC CT	TGG ACA ATG TTG AAG AAT CCA	(TG)9AA(AG)20
29, 30	Q15	GGT ACC GCG CTA AAC AAC AT	TGA ATG GTT TCT GTA TTG GCA	(TC)16
31, 32	Q16	CTC ACT CCC ACA CAC AGT CG	ATC TGA CAT TCC GGC GTT AT	(CT)9
33, 34	Q17	GTT TTG GTT GCC CTT TGT GT	TTC AAT TTG TAA ACA CTA GTA CCA TCA	(ATA)13
35, 36	Q18	CCA TTG TAG AAC GAA ACG CA	ACC ACA GCG ACC AAA AGA TT	(AG)17
37, 38	Q19	GGT GTG TTG GCT TAG GCA GT	TCT GAT TCT TGA GCA CAA TGG	(TAT AT)7
39, 40	Q20	TGG GAA GAA GCT TCA CAA GG	CAT GCT TAG CCA ACT CAC CA	(AAG)27
41, 42	Q21	TGA TCT TTT TGG CGT ATA CAT ATT CT	TGC ATG ATT GCA TCA ATA ACA A	(AC)20(AT)25
43, 44	Q22	TGG AGG AAG AGG AGA TGT CG	TCT TGG TGG AAA ATG CAG TG	(AAT)15
45, 46	Q23	CAA CAA GGG AGA TCT TGG GA	ATG GTG GTG CAA TTG TGG TA	(CAG)8
47, 48	Q24	CCG ATG GCT CCT ATG TCA AT	GAG ACC GAA CCT CAT TTG GA	(CAG CAA)5 TGG ATG ATG CAA CCT CCT CAA GCA CAA CCA CCG CAG TTT CAA CCT CAG CCT CAA CCT ACT TGG GGT (CAG)5
49, 50	Q25	AGT GCA TAT TTG ACG CAT CG	CAG CCA TGT CCA TGC AAT AA	(AG)13
51, 52	Q26	CTC TAT GCT GCT ACC GCC TC	GCT TGA CTT CTC CCT CTC CC	(AGA)11
53, 54	Q27	AAG CGA ACT ACT TGG CCT CA	TCT GTC ATT GGC ACC ACC TA	(CAT T)7
55, 56	Q28	TGA TAC CAT CGG TTT GGG TT	GGC TTT ATG GGC TCG GTA AT	(GAA)10
57, 58	Q29	ACG AGG CCC TGT CCT ATC TT	CGT ACT AGA CCA CCC CGA GA	(TTG)5A(TGT)5
59, 60	Q30	TCC GGG AGA ATT AGA CGA TG	TTT TTA CGA GCA GCC TGG TT	(GAT GAG)12

色和紫色。第二大类包含9份材料, 果形主要为长筒、中长筒、短筒、和长条; 颜色主要为黑紫色、鲜紫色和紫色。

### 3 讨论

随着植物功能基因研究的迅速发展, 公共数

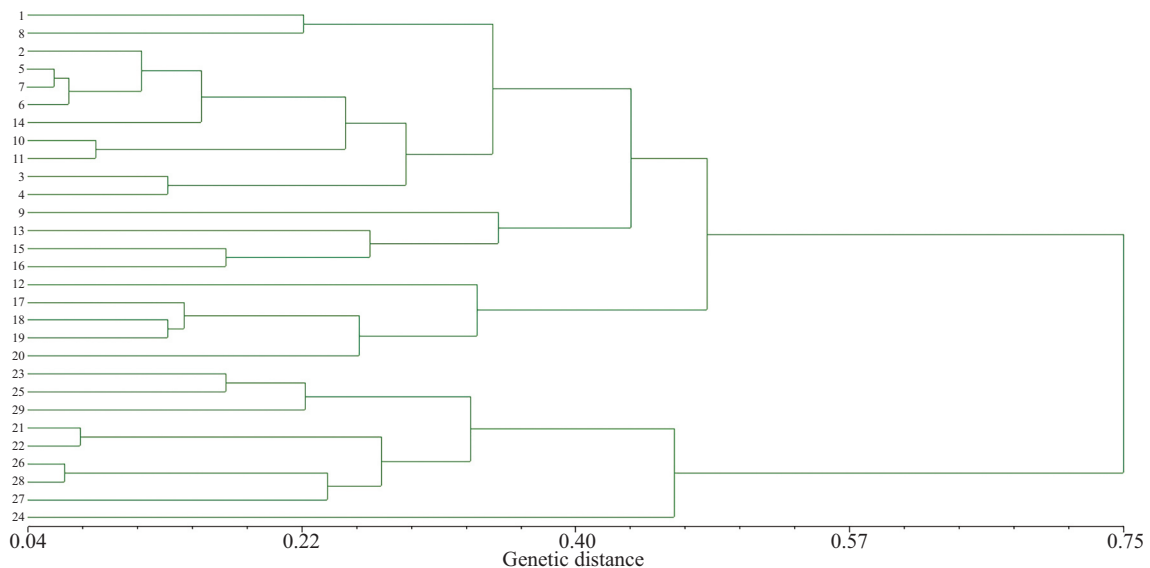
据库中的EST呈指数增长趋势。通过寻找EST序列SSR位点来开发新的EST-SSR标记已成为一个研究热点。EST-SSR标记是来自比较保守的转录区, 对比根据基因组序列设计的SSR标记种间通用性更好, 且费用低。EST-SSR标记在一些主要蔬菜作物中已有一定的开发与应用, 如秋葵<sup>[13]</sup>、萝卜<sup>[14]</sup>、番茄<sup>[15]</sup>、



A: 引物Q10在29份茄子材料中的多态性, 品种编号名称见表1; B: 引物Q19在29份茄子材料中的多态性, 品种编号名称见表1。  
 A: polymorphisms showed in 29 *Solanum elongata* L. germplasms by primer Q10. Code names are shown in Table 1; B: polymorphisms showed in 29 *Solanum elongata* L. germplasms by primer Q19. Code names are shown in Table 1.

图2 引物Q10和引物Q19在29份茄子材料中的多态性

Fig.2 Polymorphisms showed in 29 *Solanum elongata* L. germplasms by primer Q10 and Q19



品种编号名称见表1。  
 Code names are shown in Table 1.

图3 供试茄子材料的UPGMA聚类图

Fig.3 Cluster diagram for *Solanum elongata* L. tested by UPGMA method

黄瓜<sup>[16]</sup>、甘蓝<sup>[17]</sup>、南瓜<sup>[18]</sup>和辣椒<sup>[19]</sup>等。本研究在茄子转录组测序基础上, 对茄子3 438条Unigene进行搜索, 获得5 562个SSR位点, 出现频率为13.23%, 平均分布距离为9.73 Kb。本研究中茄子转录组SSR的出现频率高于印度南瓜(9.52%)<sup>[18]</sup>、辣椒(7.83%)<sup>[19]</sup>等草本蔬菜植物, 但低于美洲南瓜(48.7%)<sup>[20]</sup>。而EST-SSR的出现频率与物种、SSR搜索标准、SSR开发工具和数据库的大小密切相关<sup>[21]</sup>, 导致出现频

率差异可能是由不同物种本身存在差异、转录组测序所采取的方法不同以及数据分析方法不同等因素引起<sup>[22]</sup>。

多数植物的EST-SSR以二、三核苷酸重复类型为主, 本研究中茄子亦是以三核苷酸序列和二核苷酸序列重复出现频率占优势, 分别有3 546个和1 270个, 分别占总SSR的63.75%和22.83%, 四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸重复类型数量较少。研究发现,

二核苷酸和三核苷酸重复是常见的<sup>[23-24]</sup>。对于二核苷酸重复, AG/CT所占比例最大, 对于三核苷酸重复, AAG/CTT所占比例最大。已报道开发的茄子SSR分子标记研究中三核苷酸重复基序也是以AAG/CTT为优势重复单元<sup>[25]</sup>。在核苷酸重复类型中, A/T是最丰富的重复基序, 这可能与碱基中的能量有关。与GC键相比, AT键断裂所需的能量较少, 因此AT更容易发生波动。利用Primer 3.0对含SSR位点的3 438条Unigene序列进行引物设计, 随机选择其中20 bp以上SSR序列的100对标记进行合成, 92对引物实现有效扩增, 占100对SSR引物的92%, 从有效扩增引物随机选取30对引物就29份茄子进行扩增及多态性评价, 30对均有多态性差异。在100对SSR引物中, 有92对实现有效扩增, 说明基于转录组数据的茄子SSR标记开发具有可靠性; 在100对SSR引物中, 有8对不能有效扩增, 可能是EST片段发生变化或者退火温度过高或过低导致的<sup>[26]</sup>。通过UPGMA作图, 供试的29份不同的茄子材料被划分为2类。通过EST-SSR标记能有效地将不同茄子材料的亲缘关系加以区分。深入了解不同的茄子材料的遗传背景, 能够更有针对性地选择亲本和搭配优势亲本, 从而提高茄子遗传改良的效率。

综上所述, 本研究基于茄子转录组高通量测序结果, 开发出的EST-SSR引物在茄子中具有较明显的多态性, 可为茄子遗传多样性分析、遗传图谱构建、品种鉴定与改良、功能基因挖掘、克隆及分子标记辅助选择育种等研究奠定基础。

### 参考文献 (References)

- [1] 魏庆镇, 王五宏, 胡天华, 等. 浙茄类型茄子品种DNA指纹图谱构建[J]. 浙江农业学报(WEI Q Z, WANG W H, HU T H, et al. Construction of DNA fingerprinting of Zhejiang eggplant varieties [J]. Acta Agric Zhejiangensis), 2019, 31(11): 1863-70.
- [2] PARK Y H, WEST M A, ST CLAIR D A. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) [J]. Genome, 2004, 47(3): 510-8.
- [3] GARCAIA-LAMPASON S, ASPRELLI P, BURBA J L. Genetic analysis of a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection from Argentina [J]. Sci Hortic, 2012, 138: 183-9.
- [4] HEND B T, GHADA B, SANA B M, et al. Genetic relatedness among Tunisian plum cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis and evaluation of phenotypic characters [J]. Sci Hortic, 2009, 121(4): 440-6.
- [5] NIKOUMANESH K, EBADI A, ZEINALABEDINI M, et al. Morphological and molecular variability in some Iranian almond genotypes and related Prunus species and their potentials for rootstock breeding [J]. Sci Hortic, 2011, 121(1): 108-18.
- [6] CHRISTOPOULOS M V, ROUSKAS D, TSANTILI E, et al. Germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) cultivars and Greek local selections revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers [J]. Sci Hortic, 2010, 125(4): 584-92.
- [7] FERRAO L F V, CAIXETA E T, PENA G, et al. New EST-SSR markers of *Coffea arabica*: transferability and application to studies of molecular characterization and genetic mapping [J]. Mol Breed, 2015, 35(1): 2-5.
- [8] 邓阳川, 向丽, 苏燕燕, 等. 基于转录组测序的花椒属物种EST-SSR标记开[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)[DENG Y C, XIANG L, SU Y Y, et al. Development of EST-SSR markers of *Zanthoxylum* species based on RNA-sequencing [J]. J North-west Sci-Tech Univ Agric For (Nat Sci Ed), 2019, 47(4): 16-24.
- [9] 贺润丽, 樊杰, 平莉莉, 等. 大豆基因组SSR和EST-SSR在黄芪中的通用性分析[J]. 分子植物育种(HE R L, FAN J, PING L L, et al. Transferability of soybean genomic-SSR and EST-SSR markers in Astragalus [J]. Mol Plant Breed), 2015, 13(5): 994-8.
- [10] 李小白, 向林, 罗浩, 等. 转录组测序(RNA-seq)策略及其数据在分子标记开发上的应用[J]. 中国细胞生物学报(LI X B, XIANG L, LUO H, et al. The strategy of RNA-seq, application and development of molecular marker derived from RNA-seq [J]. Chin J Cell Biol), 2013, 35(5): 720-26,40.
- [11] 赵彤, 常圣鑫, 冷青云, 等. 基于三角梅转录组测序的SSR分子标记的开发[J]. 分子植物育种(ZHAO T, CHANG S X, LENG Q Y, et al. Development of SSR molecular markers based on transcriptome sequencing of *Bougainvillea* [J]. Mol Plant Breed), 2019, 17(13): 4331-41.
- [12] 李永平, 刘建汀, 陈敏敏, 等. 利用黄秋葵转录组信息挖掘SSR标记及用于种质分析[J]. 园艺学报(LI Y P, LIU J T, CHEN M D, et al. SSR markers excavation and germplasm analysis using the transcriptome information of *Hibiscus esculentus* [J]. Acta Hortic Sin), 2018, 45(3): 579-90.
- [13] 崔娜, 邱杨, 李锡香, 等. 萝卜EST资源的SSR信息分析及 EST-SSRs标记开发[J]. 园艺学报(CUI N, QIU Y, LI X X, et al. Data mining for SSRs in EST resources and EST-SSR markers development in *Radish* [J]. Acta Hortic Sin), 2012, 39(7): 1303-12.
- [14] 韩明利, 崔娜, 于志海, 等. 番茄果实EST资源SSR信息分析[J]. 华北农业学报(HAN M L, CUI N, YU Z H, et al. Analysis of SSR information in EST resource of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit [J]. Acta Agric Boreali-Sinica), 2011, 26(4): 213-7.
- [15] 胡建斌, 李建吾. 黄瓜EST-SSR位点信息[J]. 江西农业学报(HU J B, LI J W. Information of EST-SSR loci in *Cucumber* [J]. Acta Agric Jiangxi), 2008, 20(11): 58-60.
- [16] 陈琛, 庄木, 李康宁, 等. 甘蓝EST-SSR标记的开发与应用[J]. 园艺学报(CHEN S, ZHUANG M, LI K N, et al. Development and utility of EST-SSR marker in cabbage [J]. Acta Hortic Sin), 2010, 37(2): 221-8.
- [17] 王洋洋, 单文琪, 徐文龙, 等. 印度南瓜转录组SSR信息分析及其多态性研究[J]. 园艺学报(WANG Y Y, SHAN W Q, XU W L, et al. Analysis on SSR information in transcriptome and the polymorphism of *Cucurbita maxima* [J]. Acta Hortic Sin), 2016, 43 (3): 578-86.
- [18] 刘峰, 王运生, 田雪亮, 等. 辣椒转录组SSR挖掘及其多态性分析[J]. 园艺学报(LIU F, WANG Y S, TIAN X L, et al. SSR min-

- ing in Pepper (*Capsicum annuum L.*) transcriptome and the polymorphism analysis [J]. *Acta Horti Sin*, 2012, 39(1): 168-74.
- [19] 朱海生, 黄丽芳, 王彬, 等. 美洲南瓜转录组SSR信息分析及其分子标记开发[J]. *中国细胞生物学学报*(ZHU H S, HUANG L F, WANG B, et al. Analysis on SSR information in transcriptome and development of molecular markers in summer squash [J]. *Chin J Cell Biol*), 2018, 40(1): 99-107.
- [20] ZHAI L L, XU L, WANG Y, et al. Novel and useful genic-SSR markers from de novo transcriptome sequencing of radish (*Raphanus sativus L.*) [J]. *Mol Breed*, 2014, 33(3): 611-24.
- [21] VARSHNEY R K, GRANER A, SORRELLS M E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications [J]. *Trends Biotechnol*, 2005, 23(1): 48-55.
- [22] 李炎林, 杨星星, 张家银, 等. 南方红豆杉转录组SSR挖掘及分子标记的研究[J]. *园艺学报*(LI Y L, YANG X X, ZHANG J Y, et al. Studies on SSR molecular markers based on transcriptome of *Taxus chinensis var. Mairei* [J]. *Acta Horti Sin*), 2014, 41(4): 735-74.
- [23] JIA B G, LIN Q, TAN X F, et al. Development of EST-SSR markers and their use for genetic diversity analysis in tung tree(*vernica fordii*) [J]. *J Plant Genet Resour*, 2016, 17(4): 625-36.
- [24] XU W, YANG Q, HUAI H Y, et al. Development of EST-SSR markers and investigation of genetic relatedness in tung tree [J]. *Tree Genet & Genomes*, 2012, 8(4): 933- 40.
- [25] 魏明明, 陈钰辉, 刘富中, 等. 基于转录组测序的茄子SSR标记开发[J]. *植物遗传资源学报*(WEI M M, CHEN Y H, LIU F Z, et al. Development of SSR markers for eggplant with transcriptome sequencing [J]. *J Plant Genet Resour*), 2016, 17(6): 1082-91.
- [26] HOU B, FENG S, WU Y. Systemic identification of *Hevea brasiliensis* EST-SSR markers and primer screening[J]. *J Nucleic Acids*, 2017, 1-9.