

肖婉钰, 周贤玉, 任海龙, 等. 紫菜薹线粒体基因组 SSR 分布特征的比较分析 [J]. 福建农业学报, 2024, 39 (1): 49–56.

XIAO W Y, ZHOU X Y, REN H L, et al. Characteristics of SSRs in Zicaitai Mitochondrial Genome [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 39 (1): 49–56.

紫菜薹线粒体基因组 SSR 分布特征的比较分析

肖婉钰¹, 周贤玉¹, 任海龙^{1,2*}, 黄红弟³, 郑岩松¹, 张 晶¹, 许东林¹

(1. 广州市农业科学研究院, 广东 广州 510308; 2. 广东省农业科学院作物研究所/广东省农作物遗传改良重点实验室, 广东 广州 510640; 3. 广东省良种引进服务公司, 广东 广州 510091)

摘要:【目的】分析紫菜薹 (*Brassica rapa* var. *purpuraria*) 线粒体基因组 SSR 序列的分布特征, 并与芸薹属主要物种进行比较, 为紫菜薹 SSR 分子标记的开发及遗传进化研究提供参考。【方法】利用 MISA 软件对紫菜薹及芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 的线粒体基因组进行搜索, 并对搜索到的 SSR 序列分布特征进行比较分析。【结果】在紫菜薹及芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 的线粒体基因组中, 分别筛选到 168、170、167、168、180、280、185、165、179 个完整的 SSR 序列, 相对密度分别为 764、774、760、764、775、777、721、744、771 个·Mb⁻¹, SSR 序列的总长度分别为 1562、1577、1547、1562、1664、2564、1722、1524、1646 bp, 占各自线粒体基因组序列总长度的比例分别为 0.71%、0.72%、0.70%、0.71%、0.72%、0.71%、0.67%、0.69% 和 0.71%。在 1~6 个不同核苷酸重复单元中, 紫菜薹及芸薹属 6 个基本种的 SSR 序列均是单核苷酸重复单元最多, 然后依次是二核苷酸、四核苷酸、三核苷酸、五核苷酸, 均未发现六核苷酸重复单元。其中, A/T、AG/CT、AT/AT 和 C/G 是芸薹属线粒体基因组共有的常见重复单元类型。【结论】紫菜薹线粒体基因组大小为 219 779 bp, 共筛选出 168 个 SSR 分子标记, 相对密度为 764 个·Mb⁻¹, 平均长度为 9 bp, 以单核苷酸重复单元的数量最多, 其次为二、四核苷酸重复单元类型, 具有较大的多态性标记开发潜力。

关键词: 紫菜薹; 芸薹属; 线粒体; SSR

中图分类号: S634.6

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2024) 01-0049-08

Characteristics of SSRs in Zicaitai Mitochondrial Genome

XIAO Wanyu¹, ZHOU Xianyu¹, REN Hailong^{1,2*}, HUANG Hongdi³, ZHENG Yansong¹, ZHANG Jing¹, XU Donglin¹

(1. Guangzhou Institute of Agriculture Science, Guangzhou, Guangdong 510308, China; 2. Crop Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Guangdong Key Laboratory of Crops Genetics and Improvement, Guangzhou, Guangdong 510640, China; 3. Guangdong Provincial Improved Variety Introduce Service Corp., Guangzhou, Guangdong 510091, China)

Abstract: 【Objective】The simple sequence repeats (SSRs) in the mitochondrial genome of zicaitai (*Brassica rapa* var. *Purpuraria*) were compared with those of other species in the genus. 【Method】MISA software was used to search the mitochondrial genomes of zicaitai as well as 5 other major species and 3 mutants of *Brassica rapa*. The SSR sequence distributions of the specimens were compared and analyzed. 【Result】In the mitochondrial genomes, 168, 170, 167, 168, 180, 280, 185, 165, and 179 complete SSRs were screened. The sequences showed relative densities of 764, 774, 760, 764, 775, 777, 721, 744, and 771 per Mb with total lengths of 1562, 1577, 1547, 1562, 1664, 2564, 1722, 1524, and 1646 bp that accounted for 0.71%, 0.72%, 0.70%, 0.71%, 0.72%, 0.71%, 0.67%, 0.69%, and 0.71% of the total sequence length of each specimen, respectively. Among the 1-6 different nucleotide repeat units in zicaitai and the other major *Brassica* species, most SSRs were mononucleotide, which was followed by dinucleotide, tetranucleotide, trinucleotide, and pentanucleotide, but no hexonucleotide. A/T, AG/CT, AT/AT, and C/G were the common repeat unit types in them. 【Conclusion】The mitochondrial genome of zicaitai was 219 779 bp with 168 SSRs at the relative density of 764 markers/Mb and 9 bp in length. Mono-, di-, and

收稿日期: 2023-05-10 修回日期: 2024-01-04

作者简介: 肖婉钰 (1991—), 女, 硕士, 农艺师, 主要从事蔬菜遗传育种研究, E-mail: yuwanxiao22@126.com

* 通信作者: 任海龙 (1985—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事作物遗传育种研究, E-mail: renhailong_2006@163.com

基金项目: 2022 年省级乡村振兴战略专项资金种业振兴项目 (2022-NPY-03-001); 广东省农业科技创新及推广项目 (2023KJ133)

tetra-nucleotides were the most abundant repeat units, which could potentially be developed as highly polymorphic markers for species differentiation.

Key words: Zicaitai; *Brassica*; mitochondrion; SSR

0 引言

【研究意义】紫菜薹 (*Brassica rapa* var. *purpuraria*), 又名红菜薹, 是白菜经过长期栽培驯化而形成的变种^[1]。研究表明, 紫菜薹茎叶中含有丰富的花色苷类物质, 具有抗氧化及清除自由基、抗炎、抗癌、抗突变及抗病毒等多种生物活性^[2-4]。目前, 紫菜薹以长江流域和华南诸省种植较多, 在蔬菜生产和消费中有重要地位^[2,5]。线粒体是细胞的重要组成部分, 主要功能包括: 能量转化、三羧酸循环、氧化磷酸化、储存钙离子以及细胞增殖与细胞代谢等其他生理功能, 现已被广泛应用于物种鉴定、种间系统发育、种内母系演化、种群系统进化及遗传多样性分析等方面的研究^[6]。本研究利用紫菜薹线粒体基因组测序数据, 分析线粒体基因组中简单重复序列的分布特征及与芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 的异同, 以期为紫菜薹的遗传多样性分析、种质资源评价及分子标记辅助育种等研究奠定基础。【前人研究进展】紫菜薹的研究主要集中在花青素合成^[7,8]、栽培技术^[9,10], 品种选育^[11,12]等方面。截至目前, 紫菜薹分子标记开发的报道较少, 白占兵等^[13]对紫菜薹提取 DNA 的方法进行简化处理, 并用 SSR 分子标记进行验证, 丁苗萸等^[14]利用从大白菜中筛选出的 23 对引物, 对收集到的 45 份紫菜薹地方资源进行 SSR 分析, 周晓波等^[15]利用 63 对 SSR 引物检测来自全国的 45 份红菜薹种质资源的遗传多样性, 戴希刚等^[16]通过 10 条 ISSR 标记, 分析 47 个红菜薹种质资源相互之间的亲缘关系, Li 等^[4]通过简化测序, 构建了一个由 4253 个 SLAF (Specific length amplified fragmen) 标记组成的紫菜薹和菜心的高密度遗传连锁图谱, 用于薹色相关性状的基因定位。简单重复序列 (Simple sequence repeats, SSR) 又称微卫星, 为共显性标记, 具有多态性高、数量丰富、特异性强及扩增稳定等优势, 已广泛应用于指纹图谱构建^[17]、遗传多样性评价^[18]、遗传连锁图谱^[19]及 QTLs 定位等研究^[20]。利用高通量测序数据开发 SSR 标记被认为是一种快速、高效、低成本的策略。【本研究切入点】由于缺少基因组信息, 紫菜薹 SSR 标记的开发只能借鉴其近缘物种的基因组进行, 严重制约着紫菜薹相关工作的有效开展。【拟解决的关键问题】在 perl 语言环境下, 运行微卫星筛选软件 MISA (MicroSAteellite

identification tool) 的脚本, 分别对紫菜薹及芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 的线粒体基因组 FASTA 文件进行扫描, 并对筛选出的简单重复序列进行统计分析。

1 材料与方法

1.1 线粒体基因组测序及数据来源

紫菜薹线粒体基因组测序材料为优选洪山, 是提纯后的常规品系, 由广州市农业科学研究院提供。紫菜薹样品经质量检测合格后, 由 Oxford Nanopore 和 Illumina 测序平台进行测序, 序列登录号为 OP729396.1。芜菁 (*Brassica rapa* ssp. *rapa*)、芸薹 (*Brassica rapa* subsp. *campestris*)、大白菜 (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)、黑芥 (*Brassica nigra*)、甘蓝 (*Brassica oleracea*)、芥菜 (*Brassica juncea*)、甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 和埃塞俄比亚芥 (*Brassica carinata*) 的线粒体基因组从美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information) 数据库下载, 其 GenBank 登录号分别为 NC_049892.1^[21]、NC_016125.1^[22]、MN910310.1^[23]、NC_029182.1、NC_016118.1^[22]、MG872829.1、NC_008285.1^[24]和 NC_016120.1^[22], 线粒体基因组所有序列均以 FASTA 文件格式保存 (表 1)。

1.2 简单重复序列的搜索及分析

使用微卫星检索工具 MISA^[25] (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/>) 执行命令 perl misa.pl genome.fasta, 对紫菜薹及芸薹属 6 个基本种的线粒体基因组进行扫描, 筛选符合条件的简单重复序列。筛选标准为 MISA 软件的默认值: 单核苷酸重复次数在 8 次及以上, 二、三核苷酸重复次数在 4 次及以上, 四、五、六核苷酸重复次数在 3 次及以上, 复合型 SSR 的检索条件是 2 个 SSR 片段间的距离低于 100 bp。将生成的数据用 Excel 软件进行整理, 对序列特征进行分析并绘制图表。

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组 SSR 总体分布特征的比较分析

使用 MISA 软件分析鉴定紫菜薹及芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 线粒体基因组中出现的 SSR, 详见表 2。紫菜薹、芜菁、芸薹和大白菜同为白菜的变种, 同源二倍体, 染色体数目均为 AA = 20 条, 线粒体基因组大小分别为 219 779、219 736、

表 1 紫菜薹及芸薹属线粒体基因组信息
Table 1 Mitochondrial genome sequences of zicaitai and other Brassica species

物种 Species	染色体数 Number of chromosomes	GenBank 登录号 GenBank accession	线粒体 基因组大小 Genome size/bp
紫菜薹 <i>Brassica rapa</i> var. <i>purpuraria</i>	AA, 2n = 2x = 20	OP729396.1	219 779
芜菁 <i>Brassica rapa</i> ssp. <i>rapa</i>	AA, 2n = 2x = 20	NC_049892.1	219 736
芸薹 <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Campestris</i>	AA, 2n = 2x = 20	NC_016125.1	219 747
大白菜 <i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i>	AA, 2n = 2x = 20	MN910310	219 778
黑芥 <i>Brassica nigra</i>	BB, 2n = 2x = 16	NC_029182.1	232 407
甘蓝 <i>Brassica oleracea</i>	CC, 2n = 2x = 18	NC_016118.1	360 271
芥菜 <i>Brassica juncea</i>	AABB, 2n = 4x = 36	MG872829.1	256 592
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i>	AACC, 2n = 4x = 38	NC_008285.1	221 853
埃塞俄比亚芥 <i>Brassica carinata</i>	BBCC, 2n = 4x = 34	NC_016120.1	232 241

219 747、219 778 bp，分别筛选出 168、170、167、168 个 SSR，相对密度分别为 764、774、760、764

个·Mb⁻¹。黑芥为同源二倍体，染色体数目为 BB = 16 条，线粒体基因组大小为 232 407 bp，共筛选出 180 个 SSR，相对密度为 775 个·Mb⁻¹；甘蓝为同源二倍体，染色体数目为 CC = 18 条，线粒体基因组大小为 360 271 bp，共筛选出 280 个 SSR，相对密度为 777 个·Mb⁻¹；芥菜为异源四倍体，染色体数目为 AABB = 36 条，线粒体基因组大小为 256 592 bp，共筛选出 185 个 SSR，相对密度为 721 个·Mb⁻¹；甘蓝型油菜为异源四倍体，染色体数目为 AACC = 38 条，线粒体基因组大小为 221 853 bp，共筛选出 165 个 SSR，相对密度为 744 个·Mb⁻¹；埃塞俄比亚芥为异源四倍体，染色体数目为 BBCC = 34 条，线粒体基因组大小为 232 241 bp，共筛选出 179 个 SSR，相对密度为 771 个·Mb⁻¹。

在紫菜薹及芸薹属 6 个基本种中，甘蓝线粒体基因组中检索到的 SSR 最多，甘蓝型油菜检索到的 SSR 最少；甘蓝线粒体基因组中的 SSR 分布密度最高，芥菜中的 SSR 分布密度最低；芸薹属线粒体基因组中 SSR 的平均长度均为 9 bp。

2.2 线粒体基因组 SSR 不同核苷酸重复单元特征

紫菜薹线粒体基因组 SSR 类型较丰富，其中又以单核苷酸重复单元的数量最多，占线粒体基因组 SSR 数量的 49.40%（83 个 SSR 位点），其次为二、四核苷酸重复单元类型，分别占线粒体基因组

表 2 紫菜薹及芸薹属线粒体基因组中 SSR 的分布概况
Table 2 Distribution of SSRs in mitochondrial genomes of zicaitai and other Brassica species

物种 Species	SSR总长度 Total length of SSR/bp	SSR数量 SSR number	SSR分布密度 SSR density/(个·Mb ⁻¹)	SSR平均长度 Average length of SSR/bp	SSR长度占比 Length ratio of SSR/%
紫菜薹 <i>Brassica rapa</i> var. <i>purpuraria</i>	1 562	168	764	9	0.71
芜菁 <i>Brassica rapa</i> ssp. <i>rapa</i>	1 577	170	774	9	0.72
芸薹 <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Campestris</i>	1 547	167	760	9	0.70
大白菜 <i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i>	1 562	168	764	9	0.71
黑芥 <i>Brassica nigra</i>	1 664	180	775	9	0.72
甘蓝 <i>Brassica oleracea</i>	2 564	280	777	9	0.71
芥菜 <i>Brassica juncea</i>	1 722	185	721	9	0.67
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i>	1 524	165	744	9	0.69
埃塞俄比亚芥 <i>Brassica carinata</i>	1 646	179	771	9	0.71

SSR 数量的 36.31% (61 个 SSR 位点) 和 10.71% (18 个 SSR 位点); 三、五核苷酸重复单元类型数量相对较低, 分别只有 5 个和 1 个; 未发现六核苷酸重复单元类型。芸薹属 6 个基本种中, SSR 均是单核苷酸重复单元数目最多, 然后依次是二核苷酸、四

核苷酸、三核苷酸、五核苷酸, 均未发现六核苷酸重复单元类型。除芥菜的单核苷酸重复单元比例略低, 四核苷酸重复单元比例略高外, 其余基本种中核苷酸重复单元数目的变化趋势均与紫菜薹相一致, 白菜变种间尤为相似 (表 3)。

表 3 紫菜薹及芸薹属线粒体基因组 SSR 重复单元的数目和占比
Table 3 Number and proportion of SSR repeat types in mitochondrial genomes of zicaitai and other Brassica species

物种 Species	单核苷酸 Mononucleotide	二核苷酸 Dinucleotide	三核苷酸 Trinucleotide	四核苷酸 Tetranucleotide	五核苷酸 Pentanucleotide
紫菜薹 <i>Brassica rapa</i> var. <i>purpuraria</i>	83 (49.40%)	61 (36.31%)	5 (2.98%)	18 (10.71%)	1 (0.60%)
芜菁 <i>Brassica rapa</i> ssp. <i>rapa</i>	84 (49.41%)	61 (35.88%)	5 (2.94%)	19 (11.18%)	1 (0.59%)
芸薹 <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Campestris</i>	82 (49.10%)	61 (36.53%)	5 (2.99%)	18 (10.78%)	1 (0.60%)
大白菜 <i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i>	82 (48.81%)	62 (36.90%)	5 (2.98%)	18 (10.71%)	1 (0.60%)
黑芥 <i>Brassica nigra</i>	85 (47.22%)	69 (38.33%)	6 (3.33%)	19 (10.56%)	1 (0.56%)
甘蓝 <i>Brassica oleracea</i>	137 (48.93%)	106 (37.86%)	6 (2.14%)	29 (10.36%)	2 (0.71%)
芥菜 <i>Brassica juncea</i>	78 (42.16%)	71 (38.38%)	7 (3.78%)	28 (15.14%)	1 (0.54%)
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i>	84 (50.91%)	58 (35.15%)	4 (2.42%)	18 (10.91%)	1 (0.61%)
埃塞俄比亚芥 <i>Brassica carinata</i>	85 (47.49%)	68 (37.99%)	6 (3.35%)	19 (10.61%)	1 (0.56%)

紫菜薹及芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 线粒体基因组中单核苷酸重复单元拷贝数主要集中在 8~10 次, 分别占单核苷酸类型 SSR 总数的 99.77%, 94.05%, 93.90%, 93.90%, 91.76%, 90.51%, 91.03%, 91.67% 和 91.76%。此外, 二核苷酸重复单元拷贝数 4~6 次, 三核苷酸重复单元拷贝数 4~8 次, 四核苷酸中重复单元拷贝数 3~4 次, 五核苷酸重复单元拷贝数均为 3 次。总体来看, 芸薹属线粒体基因组中单核苷酸重复单元拷贝数最多, 且主要集中在 8~10 次, 平均超过了 90%, 紫菜薹尤为集中, 二、三、四、五核苷酸重复单元拷贝数分布较为保守, 芸薹属各种间差异不大。

2.3 线粒体基因组 SSR 重复单元核苷酸构成的比较分析

对紫菜薹及芸薹属 6 个基本种 (包括白菜 3 个变种) 线粒体基因组中 SSR 进一步分析 (表 4), 共发现 18 种重复单元类型, 比例最高的前 4 种类型 (A/T、AG/CT、AT/AT 和 C/G), 分别占各自 SSR 总数的 82.14% (138 个)、81.76% (139 个)、82.04%

(137 个)、82.14% (138 个)、80.56% (145 个)、83.21% (233 个)、76.76% (142 个)、82.42% (136 个) 和 80.45% (144 个)。在这些核苷酸重复单元中, 单核苷酸重复单元中以 A/T 占绝对优势, 分别为 67 个 (占 39.88%)、68 个 (占 40.00%)、66 个 (占 39.52%)、67 个 (占 39.88%)、71 个 (占 39.44%)、112 个 (占 40.00%)、65 个 (占 35.14%)、68 个 (占 41.21%) 和 70 个 (占 39.11%), 其次为 C/G, 分别为 16 个 (9.52%)、16 个 (9.41%)、16 个 (9.58%)、15 个 (8.93%)、14 个 (7.78%)、25 个 (8.93%)、13 个 (7.03%)、16 个 (9.70%) 和 15 个 (8.38%); 二核苷酸重复单元中以 AG/CT 占绝对优势, 分别为 36 个 (21.43%)、36 个 (21.18%)、36 个 (21.56%)、37 个 (22.02%)、41 个 (22.78%)、62 个 (22.14%)、45 个 (24.32%)、34 个 (20.61%) 和 41 个 (22.91%), 其次为 AT/AT, 分别为 19 个 (11.31%)、19 个 (11.18%)、19 个 (11.38%)、19 个 (11.31%)、19 个 (10.56%)、34 个 (12.14%)、19 个 (10.27%)、18 个 (10.91%) 和 18 个 (10.06%); 三、四、五核苷酸重复单元相对

较少，仅占 SSR 总数的 14.29%（24 个）、14.71%（26 个）、13.21%（37 个）、19.46%（36 个）、13.94%（25 个）、14.37%（24 个）、14.29%（24 个）、14.44%（23 个）和 14.53%（26 个）。

表 4 紫菜薹及芸薹属线粒体基因组 SSR 的重复基元类型及数量
Table 4 Number of SSRs of mitochondrial genomes in zicaitai and other *Brassica* species

重复基元类型 Motif types	紫菜薹 <i>Brassica rapa</i> var. <i>purpuraria</i>	芜菁 <i>Brassica rapa</i> ssp. <i>rapa</i>	芸薹 <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Campestris</i>	大白菜 <i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i>	黑芥 <i>Brassica</i> <i>nigra</i>	甘蓝 <i>Brassica</i> <i>oleracea</i>	芥菜 <i>Brassica</i> <i>juncea</i>	甘蓝型油菜 <i>Brassica</i> <i>napus</i>	埃塞俄比亚芥 <i>Brassica</i> <i>carinata</i>
A/T	67	68	66	67	71	112	65	68	70
AG/CT	36	36	36	37	41	62	45	34	41
AT/AT	19	19	19	19	19	34	19	18	18
C/G	16	16	16	15	14	25	13	16	15
AATG/ATTC	5	5	5	5	5	8	5	5	5
AC/GT	4	4	4	4	7	7	5	4	7
AAG/CTT	4	4	4	4	4	5	5	3	4
AAAG/CTTT	4	4	4	4	3	6	10	5	3
AAAC/GTTT	3	4	3	3	4	5	4	3	4
AAAT/ATTT	3	3	3	3	3	4	3	3	3
CG/CG	2	2	2	2	2	3	2	2	2
AAC/GTT	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AACG/CGTT	1	1	1	1	2	2	2	1	2
ACTC/AGTG	1	1	1	1	1	2	2	—	1
CCGG/CCGG	1	1	1	1	1	2	1	1	1
ACTAG/AGTCT	1	1	1	1	1	2	1	1	1
AGC/CTG	—	—	—	—	1	—	1	—	1
ACTG/AGTC	—	—	—	—	—	—	1	—	—

紫菜薹及芸薹属 6 个基本种中，芥菜线粒体基因组中 SSR 重复单元类型最多，其次是黑芥和埃塞俄比亚芥。重复单元类型中，A/T、AG/CT、AT/AT 和 C/G 是芸薹属线粒体基因组中共有的常见核心 SSR 类型。其中，ACTG/AGTC 类型是芥菜中特有的，仅甘蓝型油菜缺少 ACTC/AGTG 类型，黑芥、芥菜和埃塞俄比亚芥具有其他种中未检测到 AGC/CTG 类型。

2.4 线粒体基因组 SSR 片段长度的比较分析

一般认为，SSR 序列长度<12 bp 时 SSR 标记的多态性表现极低；序列长度在 12~20 bp 时标记多态性适中；≥20 bp 时具有较高多态性，是理想的标记位点^[26]。本研究发现，紫菜薹线粒体基因组 SSR 序列长度主要集中在 12 bp 以内，为 139 个，占 SSR 总

数的 82.74%；分布于 12~20 bp 的 SSR 数量为 28 个，占 SSR 总数的 16.67%；≥20 bp 以上的 SSR 数量为 1 个，占 SSR 总数的 0.60%（图 1）。相较于其他物种，紫菜薹和白菜变种的 SSR 片段长度最为相似，符合实际情况。甘蓝和芥菜线粒体基因组中等多态性和较高多态性长度的 SSR 数量更多，埃塞俄比亚芥线粒体基因组中未发现≥20 bp 的 SSR。

3 讨论

从进化角度看，物种间重复序列的差异是自然选择的结果^[27]，紫菜薹是白菜长期选择驯化形成的一个变种，研究紫菜薹基因组重复序列的特征，对于芸薹属作物的进化具有重要意义。丁苗萸等^[14]利

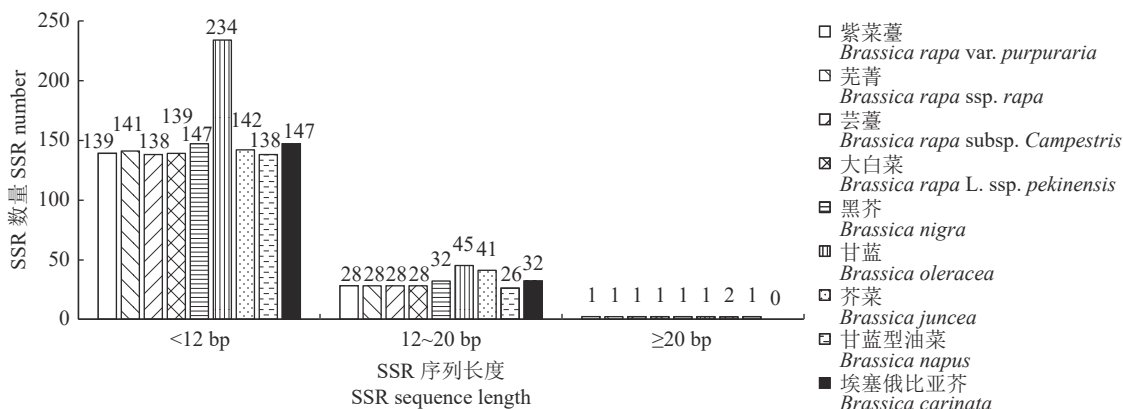


图 1 紫菜薹及芸薹属线粒体基因组不同片段长度 SSR 数量

Fig. 1 Number in SSR fragment lengths of mitochondrial genomes of zicaitai and other *Brassica* species

用从大白菜中筛选出的 23 对引物, 对收集到的 45 份紫菜薹地方资源进行了 SSR 分析, 认为紫菜薹各品种间亲缘关系较近, 遗传基础较为狭窄。周晓波等^[15]利用 63 对 SSR 引物检测 45 份红菜薹种质资源的遗传多样性, 则认为红菜薹具有丰富的遗传多样性。戴希刚等^[16]通过 10 条 ISSR 标记, 分析了 47 个红菜薹种质资源相互之间的亲缘关系, 同样认为红菜薹具有丰富的遗传多样性。上述对紫菜薹研究的不同结果, 可能与选用标记的类型和数量不同有关。本研究发现 ACTG/AGTC 类型是芥菜中特有的, 甘蓝型油菜缺少 ACTC/AGTG 类型, 黑芥、芥菜和埃塞俄比亚芥具有其他种中未检测到 AGC/CTG 类型, 可为芸薹属种间杂交材料的追根溯源提供帮助。

线粒体基因组 SSR 是指线粒体基因组中短 (1~6 bp) 的重复单元序列, 与核基因组中的 SSR 相比, 线粒体基因组 SSR 的单位长度更为短小, 并且数量和分布也更为有限^[28, 29], 尚未见芸薹属线粒体 SSR 的报道。本研究发现, 紫菜薹线粒体基因组 SSR 的分布特征与白菜的其他亚种非常相近, 其 SSR 的分布密度为 764 个·Mb⁻¹, 略低于茼蒿的分布密度 (774 个·Mb⁻¹), 在紫菜薹驯化的过程中可能存在选择清除作用。Varshney 等^[30]研究认为, SSR 分布密度之所以出现差异, 除了物种间差异因素外, 还与序列拼接数据质量、测序数据深度及 SSR 位点查找软件以及 SSR 搜索标准不同有关。本研究选用主流的微卫星筛选软件 MISA (MicroSatellite identification tool), 在相同设置条件下分析了紫菜薹及芸薹属 6 个基本种间的差异, 结果能比较真实反映出物种间的差异, 这些简单重复序列究竟是如何影响紫菜薹进化的仍需进一步研究。

单核苷酸、二核苷酸和三核苷酸重复单元是绝大多植物基因组 SSR 序列中优势重复单元^[31~34]。奚丹丹等^[35]利用普通绿叶紫菜薹、紫叶紫菜薹和绿叶

绿菜薹不同组织的 Illumina 高通量转录组测序数据, 分析了 unigene 序列中 SSR 的组成、分布频率和特性, 同样发现单核苷酸重复 (31.23%)、二核苷酸重复 (17.69%) 和三核苷酸重复 (19.74%) 为主要的重复类型, A/T、AG/TC、TC/GA、GAA/TTC 和 TCT/AGA 分别为单核苷酸、二核苷酸和三核苷酸类型中主导的重复基序。本研究发现, 紫菜薹线粒体基因组 SSR 中, 单核苷酸、二核苷酸和四核苷酸重复单元类型分别占基因组 SSR 数量的 49.40%、36.31% 和 10.71%, 未发现六核苷酸重复单元, A/T、AT/AT 和 AATG/ATTC 分别为单核苷酸、二核苷酸和四核苷酸类型中主要的重复基序, 本研究结果与奚丹丹等^[35]报到的 unigene 序列中 SSR 标记的分布情况明显不同, 可能与线粒体基因组的特点及序列长度较短的有关。本研究中芸薹属物种的线粒体基因组 SSR 的重复单元类型较为一致, 说明芸薹属线粒体基因组序列比较保守, 与 Zhao 等在苔藓植物的研究结果类似^[28]。此外, 本研究还发现 29 个片段长度 ≥12 bp 的简单重复序列, 这些简单重复序列具有较高的多态性, 可为今后紫菜薹遗传多样性分析、种质资源评价及分子标记辅助育种等研究提供依据。

参考文献:

- [1] 聂启军, 李金泉, 董斌峰, 等. 紫菜薹名优品种: 洪山菜薹 [J]. 湖北农业科学, 2020, 59 (22): 133-135.
NIE Q J, LI J Q, DONG B F, et al. A famous variety of purple Caitai—Hongshan Caitai [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2020, 59(22): 133-135. (in Chinese)
- [2] 邝敏杰, 齐敏玉, 何静仁, 等. 紫菜薹花色苷组分鉴定及其稳定性和抗氧化性 [J]. 中国农业科学, 2014, 47 (20): 4067-4077.
KUANG M J, QI M Y, HE J R, et al. Identification of anthocyanins in *Brassica campestris* L. and their stability and antioxidant activity [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(20): 4067-4077. (in Chinese)

- [3] ZHANG X, ZHANG K, WU J, et al. QTL-seq and sequence assembly rapidly mapped the gene BrMYBL2.1 for the purple trait in *Brassica rapa* [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 2328.
- [4] LI G H, CHEN H C, LIU J L, et al. A high-density genetic map developed by specific-locus amplified fragment (SLAF) sequencing and identification of a locus controlling anthocyanin pigmentation in stalk of Zicaitai (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* var. *purpurea*) [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 343.
- [5] 吴朝林, 陈文超. 中国紫菜薹地方品种初步研究 [J]. 作物品种资源, 1997, (3): 8–10.
WU (C /Z)L, CHEN W C. Preliminary study on local varieties of Chinese purple flowering Chinese cabbage [J]. *China Seed Industry*, 1997(3): 8–10. (in Chinese)
- [6] 唐向民, 杨守臻, 陈怀珠, 等. 栽培大豆和野生大豆线粒体基因组密码子使用偏性的比较分析 [J]. 广西植物, 2020, 40 (7): 926–934.
TANG X M, YANG S Z, CHEN H Z, et al. Comparative analysis on codon usage bias in mitogenome of two species in genus *Glycine* [J]. *Guihaia*, 2020, 40(7): 926–934. (in Chinese)
- [7] 王建军, 徐园园, 刘同坤, 等. 紫菜薹 BrbHLH49 基因克隆与功能分析 [J]. 南京农业大学学报, 2021, 44 (3): 421–427.
WANG J J, XU Y Y, LIU T K, et al. Cloning and function analysis of BrbHLH49 gene in purple tsai-Tai [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2021, 44(3): 421–427. (in Chinese)
- [8] 郭宁, 郑妹宁, 武剑, 等. 紫菜薹、紫色茼蒿和紫色白菜花青苷分析 [J]. 园艺学报, 2014, 41 (8): 1707–1715.
GUO N, ZHENG S N, WU J, et al. The anthocyanin metabolic profiling analysis of three purple *Brassica rapa* vegetables [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(8): 1707–1715. (in Chinese)
- [9] 姚满昌. 紫菜薹: 小青菜: 水稻高效栽培模式 [J]. 长江蔬菜, 2017, (23): 32–33.
YAO M C. Efficient cultivation model of purple flowering cabbage-small vegetables-rice [J]. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2017(23): 32–33. (in Chinese)
- [10] 郑海涛, 吴平安, 邓正春, 等. 富硒紫菜薹高产栽培关键技术 [J]. 湖南农业科学, 2012, (24): 29–30.
ZHENG H T, WU P A, DENG Z C, et al. Key techniques for high-yield cultivation of selenium-enriched purple flowering cabbage [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2012(24): 29–30. (in Chinese)
- [11] 朱红芳, 李晓峰, 奚丹丹, 等. 优质紫菜薹新品系“申薹紫仙”的选育 [J]. 上海农业学报, 2021, 37 (5): 35–38.
ZHU H F, LI X F, XI D D, et al. Breeding of a new high quality purple-Caitai “Shentaizixian” [J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2021, 37(5): 35–38. (in Chinese)
- [12] 曹艳会. 紫菜薹雄性不育杂交制种技术 [J]. 种子科技, 2011, 29 (10): 30–31.
CAO Y H. Hybrid seed production techniques of male sterility in purple flowering Chinese flowering Chinese cabbage [J]. *Seed Science & Technology*, 2011, 29(10): 30–31. (in Chinese)
- [13] 白占兵, 丁苗莠, 李雪峰, 等. 紫菜薹总 DNA 的快速提取与 SSR 分子标记鉴定 [J]. 中国农学通报, 2009, 25 (14): 63–66.
BAI Z B, DING Z Y, LI X F, et al. Rapid extraction total DNA from purple tsai-Tai and characterization with SSR molecular marker [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(14): 63–66. (in Chinese)
- [14] DING Z Y, BAI Z B, WU Y F, et al. Study on genetic relationship of purple tsai-Tai germplasms with SSR markers [J]. *Agricultural Science & Technology*, 2012, 13(8): 1664–1669.
- [15] 周晓波, 白占兵, 丁苗莠, 等. 利用 SSR 分析红菜苔的遗传多样性 [J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13 (6): 1088–1092.
ZHOU X B, BAI Z B, DING Z Y, et al. Genetic diversity of tsai-Tai germplasm revealed by SSR markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13(6): 1088–1092. (in Chinese)
- [16] 戴希刚, 郭瑞, 陶敏, 等. 红菜薹种质资源遗传多样性 ISSR 分析 [J]. 江西农业大学学报, 2019, 41 (1): 154–162.
DAI X G, GUO R, TAO M, et al. ISSR analysis of genetic diversity of germplasm resources in purple flowering stalk [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2019, 41(1): 154–162. (in Chinese)
- [17] 张婉, 崔继哲, 于拴仓, 等. 白菜品种的 SSR 指纹图谱数据库的构建 [J]. 分子植物育种, 2013, 11 (6): 843–857.
ZHANG W, CUI J Z, YU S C, et al. Construction of SSR fingerprint database of Chinese cabbage varieties (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2013, 11(6): 843–857. (in Chinese)
- [18] 李光光, 黄红弟, 张华, 等. 利用 SSR 分子标记研究白菜类亚种资源的遗传多样性 [J]. 热带作物学报, 2017, 38 (7): 1316–1322.
LI G G, HUANG H D, ZHANG H, et al. Genetic diversity analysis in Chinese cabbage [ssp. *chinensis* (L.) makino] resources based on SSR molecular markers [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2017, 38(7): 1316–1322. (in Chinese)
- [19] 王晶, 闫国华, 张晓明, 等. 甜樱桃高密度连锁图谱的构建 [J]. 果树学报, 2014, 31 (S1): 29–35.
WANG J, YAN G H, ZHANG X M, et al. Construction of high density linkage map of sweet cherry [J]. *Journal of Fruit Science*, 2014, 31(S1): 29–35. (in Chinese)
- [20] 马猛, 闫会, 高闰飞, 等. 紫甘薯 SSR 标记遗传图谱构建与重要农艺性状 QTL 定位 [J]. 作物学报, 2021, 47 (11): 2147–2162.
MA M, YAN H, GAO R F, et al. Construction linkage maps and identification of quantitative trait loci associated with important agronomic traits in purple-fleshed sweetpotato [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47(11): 2147–2162. (in Chinese)
- [21] REN Y J. The complete mitochondrial genome of turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2021, 6(4): 1566–1567.
- [22] CHANG S X, YANG T T, DU T Q, et al. Mitochondrial genome sequencing helps show the evolutionary mechanism of mitochondrial genome formation in *Brassica* [J]. *BMC Genomics*, 2011, 12: 497.
- [23] LI P R, ZHANG D S, SU T B, et al. Genome-wide analysis of mRNA and lncRNA expression and mitochondrial genome sequencing provide insights into the mechanisms underlying a novel cytoplasmic male sterility system, BVRC-CMS96, in *Brassicarapa* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(7): 2157–2170.
- [24] HANDA H. The complete nucleotide sequence and RNA editing

- content of the mitochondrial genome of rapeseed (*Brassica napus* L.): Comparative analysis of the mitochondrial genomes of rapeseed and *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(20): 5907–5916.
- [25] BEIER S, THIEL T, MÜNCH T, et al. MISA-web: A web server for microsatellite prediction [J]. *Bioinformatics*, 2017, 33(16): 2583–2585.
- [26] 邱炳发, 梁馨元, 王建忠, 等. 大花序桉基因组 SSR 的分布特征及序列分析 [J]. *南方农业学报*, 2021, 52 (10): 2744–2750.
- QIU B F, LIANG X Y, WANG J Z, et al. Characteristics and analysis of simple sequence repeats(SSR) in *Eucalyptus cloeziana* genome [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(10): 2744–2750. (in Chinese)
- [27] 李新玉, 王希胤. 重复序列对植物基因组大小进化的影响 [J]. *华北理工大学学报 (自然科学版)*, 2021, 43 (4): 98–107.
- LI X Y, WANG X Y. Effects of repetitive sequences to evolution of plant genome size [J]. *Journal of North China University of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 2021, 43(4): 98–107. (in Chinese)
- [28] ZHAO C X, ZHU R L, LIU Y. Simple sequence repeats in bryophyte mitochondrial genomes [J]. *Mitochondrial DNA Part A, DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 2016, 27(1): 191–197.
- [29] SHEN J S, LI X Q, LI M Z, et al. Characterization, comparative phylogenetic, and gene transfer analyses of organelle genomes of *Rhododendron × pulchrum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 969765.
- [30] VARSHNEY R K, GRANER A, SORRELLS M E. Genic microsatellite markers in plants: Features and applications [J]. *Trends in Biotechnology*, 2005, 23(1): 48–55.
- [31] BIET E, SUN J, DUTREIX M. Conserved sequence preference in DNA binding among recombination proteins: An effect of ssDNA secondary structure [J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(2): 596–600.
- [32] 周勃, 任海龙, 张龔, 等. 金花菜与苜蓿属主要物种基因组 SSR 分布特征的比较分析 [J]. *新疆农业科学*, 2022, 59 (9): 2217–2223.
- ZHOU B, REN H L, ZHANG Y, et al. Characteristics and analysis of simple sequence repeats(SSR) in *Medicago polymorpha* and main medicagosppecies genome [J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2022, 59(9): 2217–2223. (in Chinese)
- [33] LIU G, XIE Y J, ZHANG D Q, et al. Analysis of SSR loci and development of SSR primers in *Eucalyptus* [J]. *Journal of Forestry Research*, 2018, 29(2): 273–282.
- [34] 严佳文, 解璞, 袁启凤, 等. 紫果西番莲基因组调查及 SSR 特征分析 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18 (24): 8171–8177.
- YAN J W, XIE P, YUAN Q F, et al. Genome survey and characteristic analysis of SSR in *Passiflora edulis* Sims [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18(24): 8171–8177. (in Chinese)
- [35] 奚丹丹, 高璐, 李晓锋, 等. 基于转录组测序的菜薹 SSR 分子标记开发及初步验证 [J/OL]. *分子植物育种*, 1–8[2024-01-16] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220916.1333.050.html>.
- XI D D, GAO L, LI X F, et al. Development and Identification of SSR Molecular Markers Based on Transcriptome Sequencing of Caitai[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 1–8[2024-01-16] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220916.1333.050.html>. (in Chinese)

(责任编辑: 于洪杰)