

doi:10.11937/bfyy.20222346

# 蒙古韭叶绿体微卫星特征分析

王宏霞<sup>1,2,3</sup>, 李文麒<sup>1</sup>

(1. 青海民族大学 生态环境与资源学院, 青海 西宁 810000; 2. 青海省特色经济植物高值化利用重点实验室, 青海 西宁 810000; 3. 生物技术与分析测试实验室, 青海 西宁 810000)

**摘 要:**以蒙古韭为试材,采用 Illumina NovaSeq 高通量测序技术对叶绿体基因组进行测序,MISA v1.0 软件对叶绿体基因组微卫星进行搜索,研究了蒙古韭叶绿体微卫星特征,以期为蒙古韭的鉴定、居群遗传学研究和系统发育研究提供参考依据。结果表明:在蒙古韭 153 376 bp 的叶绿体全基因组序列上共识别出 260 个 SSR 位点,平均每 590 bp 出现一个,主要分布于大拷贝区。cpSSR 重复序列共有 5 种类型,其中单碱基重复序列最多,为 181 个,约占重复序列总量的 66.79%,其次是三碱基重复序列,共 65 个,约占重复序列总量的 23.99%,五碱基最少,仅占 0.37%。cpSSR 长度区间为 8~29 bp,从整体来看,主要集中在 8~10 bp,在该范围内共有 197 个,占 SSR 总数的 75.77%;长度 $\geq 20$  bp 的有 9 个,结果表明蒙古韭叶绿体基因组上的微卫星位点大多数具有多态性的潜能。

**关键词:**蒙古韭;叶绿体;微卫星

**中图分类号:**S 633.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2023)03-0001-07

蒙古韭(*Allium mongolicum*)属百合科葱属多年生鳞茎丛生草本植物<sup>[1]</sup>,别名沙葱。蒙古韭在中国的分布区约在北纬 36°28'~46°14',东经 88°39'~116°05',包括陕西、甘肃、宁夏、内蒙古、新疆、青海 6 省(区)<sup>[2]</sup>,主要分布在荒漠草原及沙漠地区的砂地、低山丘陵地、沙漠边缘、干旱的山坡和河床上<sup>[3]</sup>。蒙古韭地上部入蒙药能开胃、消食、杀虫等,所以蒙古韭作为一种山野菜具有极高的营养价值和药用价值<sup>[4]</sup>,同时也是荒漠区马、牛、羊等抓膘促肥的优质牧草,此外蒙古韭极强的适应性对于荒漠区生态系统植被恢复与重建具有重要意义,因而还有较高的生态价值<sup>[5]</sup>。目前国内外关于蒙古韭的研究主要为营养成分<sup>[6]</sup>,解剖结构<sup>[7]</sup>,遗传多样性<sup>[8]</sup>,不同条件对蒙古韭种子萌发的影响<sup>[9]</sup>,但对叶绿体微卫星研究尚鲜见相关

报道。

叶绿体微卫星(chloroplast microsatellite, cpSSR),是研究叶绿体 DNA 的一种分子标记,其既具有微卫星标记的优点又兼顾到叶绿体基因组的特点<sup>[10]</sup>,目前主要用于植物群体遗传多样性和遗传结构分析、系统发育研究等方面<sup>[11]</sup>。王越<sup>[12]</sup>利用叶绿体 ITS 序列和 rps16 内含子基因对 10 种葱属植物与几种外类群萱草属植物进行了亲缘关系的分析表明,葱属与外类群系统树明显分开,进一步支持葱属植物为单系起源这一观点。郭元元等<sup>[13]</sup>利用转录组序列对香葱进行 SSR 标记开发,为香葱遗传多样性分析、种质资源鉴定提供充足可靠的标记来源。田保华等<sup>[14]</sup>利用叶绿体 ITS 序列对 14 种葱属植物进行系统发育分析结果表明,洋葱、分蘖洋葱和胡葱亲缘关系最近,大葱、鸡腿葱和阿尔泰葱之间也非常近。但是,至今对蒙古韭叶绿体微卫星的研究还鲜有相关报道。基于此,该研究通过获取蒙古韭的叶绿体基因组的完整序列,并对蒙古韭叶绿体微卫星的序列组成、分布等特征进行分析,以期为蒙古

**第一作者简介:**王宏霞(1986-),女,博士,副教授,现主要从事蔬菜分子植物育种等研究工作。E-mail:zj511102365@163.com.

**基金项目:**青海省自然科学基金资助项目(2019-ZJ-984Q)。

**收稿日期:**2022-06-07

### 1.2.2 叶绿体微卫星分析方法

使用软件 MISA v1.0 对微卫星序列进行识别和定位,设置标准如下:单核苷酸的重复次数在 8 次以上,二核苷酸的重复在 5 次以上,3~6 个核苷酸的重复次数在 3 次以上。

### 1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 软件统计微卫星分布区域,形成微卫星特征表格;基于微卫星碱基类型,分别统计不同重复类型的微卫星序列长度和个数,采用 WPS Office 2010 设计其数量、比例、丰度等信息,形成不同重复碱基类型表格。

## 2 结果与分析

## 2.1 蒙古韭叶绿体基因组特征

蒙古韭叶绿体基因组序列总长度为 153 376 bp, 是典型的环状四分体结构, 这与大多数高等植物一致。其中包含一个大单拷贝区 (large single copy, LSC), 长度为 82 912 bp; 一个小单拷贝区 (small single copy, SSC), 长度为 18 054 bp; 以及 1 对反向重复区 (inverted repeat sequence, IRa+IRb), 长度为 26 205 bp (图 1)。CG 含量为



Fig. 1 Chloroplast genome map of *A. mongolicum*

36.06%，其中 LSC 区、SSC 区和 IR 区的 CG 含量分别为 34.63%、29.4%和 42.72%。蒙古韭叶绿体基因组共编码 131 个基因，包括 38 个 tRNA 基因、8 个 rRNA 基因以及 85 个编码蛋白基因，其长度和结构与葱属的其它物种相近(表 1)。蒙古韭基因组数据已上传至 GenBank，登录号为 MN519208。

2.2 蒙古韭 cpSSR 分布

利用 MISA v1.0 软件对蒙古韭叶绿体基因组进行简单重复序列(SSR)位点检索，在总长为

153 376 bp 的基因组中共检测到 260 个 cpSSR (含复合型 SSR)，若不考虑复合型 SSR 的存在，则 SSR 位点共有 271 个，占总基因组的 1.72%，序列的总长度为 2 633 bp；SSR 位点的平均分布距离为 590 bp。SSR 序列在蒙古韭叶绿体基因组的 1 595~153 324 bp 均有分布，分布范围较广，其中有 165 个 SSR 分布于大拷贝区，数量占比最高(63.5%)，在小拷贝区和 2 个反向重复序列上分别有 49 个和 46 个 SSR 位点(表 2)。

表 1 4 种葱属植物叶绿体基因组的基本特征比较

Table 1 Comparative essential features of the chloroplast genomes of four types of *Allium*

| 基因特征<br>Genome features        | 蒙古韭<br><i>A. mongolicum</i> | 蒜头<br><i>A. chinense</i> | 大花韭<br><i>A. macranthum</i> | 粗根韭<br><i>A. fasciculatum</i> |
|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 基因组长度 Genome size/bp           | 153 376                     | 152 525                  | 152 148                     | 152 931                       |
| 大单拷贝区 LSC length/bp            | 82 912                      | 81 323                   | 82 374                      | 82 167                        |
| 小单拷贝区 SSC length/bp            | 18 054                      | 18 206                   | 17 242                      | 17 838                        |
| 反向重复区 IR length/bp             | 26 205                      | 26 498                   | 26 266                      | 26 464                        |
| 基因数量 Number of genes           | 131                         | 116                      | 131                         | 131                           |
| mRNA 数量 Number of mRNA genes   | 85                          | 81                       | 85                          | 85                            |
| tRNA 基因数量 Number of tRNA genes | 38                          | 31                       | 38                          | 38                            |
| rRNA 基因数量 Number of rRNA genes | 8                           | 4                        | 8                           | 8                             |

表 2 蒙古韭 cpSSR 分布特征

Table 2 Distribution characteristics of the *A. mongolicum* cpSSR

| 分布区域<br>Region of distribution | SSR 位点数量<br>Number of SSR loci | 占比<br>Percentage/% |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| 反向重复区 IR                       | 46                             | 17.7               |
| 大拷贝区 LSC                       | 165                            | 63.5               |
| 小拷贝区 SSC                       | 49                             | 18.8               |

2.3 cpSSR 重复碱基组成与丰度分析

蒙古韭 cpSSR 中，重复类型共 5 种，其中单碱基重复序列最多，为 181 个，约占重复序列总量的 66.79%。在单碱基重复序列中以 A/T 数量最多，为 179 个，类型内百分比为 98.9%。其次是三碱基重复序列，共 65 个，约占重复序列总量的 23.99%，其中三碱基重复序列中以 AAG/CTT 数量最多，共有 20 个，类型内百分比为 30.77%。再次是二碱基重复序列共 15 个，约占 5.53%，其中有 3 个重复序列为 AG/CT，其它的为 AT 或 TA 重复。四碱基重复序列有 9 个，AAAT/ATTT 数量最多，共 5 个，类型内百分比

为 55.56%，其它类型各有 1 个。五碱基重复序列仅有 1 种，出现 1 次，类型内百分比为 100%。各类型重复序列中，单碱基重复序列的丰度最高，为 1 223.76 个·Mb<sup>-1</sup>(表 3)。

2.4 蒙古韭 cpSSR 长度与基序拷贝数分布

蒙古韭叶绿体基因组的 cpSSR 重复长度区间为 8~29 bp，平均长度为 10 bp，从整体来看，SSR 的重复长度绝大部分分布在 8~10 bp，共有 197 个(占总 SSR 的 75.77%)；长度大于 20 bp (包括 20 bp)的有 9 个，占 3.46%。在所有的 SSR 中，长度为 9 bp 的 SSR 共有 94 个，数量最多，占 36.15%；数量次之的长度为 8、10、11、12 bp，它们的分布情况分别为 60 个(23.08%)、43 个(16.54%)、20 个(7.69%)、20 个(7.69%)(图 2)。

在蒙古韭叶绿体基因组序列中，cpSSR 的基序拷贝数集中在 3~15，其中拷贝数为 8 的 cpSSR 数量最多，占 26.57%；在单碱基重复序列中，拷贝数为 14 的重复序列占总数的 1.66%，仅有

表 3 不同重复类型的分布特征

Table 3 Distribution characteristics of the different repetition types

| 重复类型<br>Repeat type    | cpSSR 基序<br>cpSSR motif | 含该基序的 cpSSR 数量<br>No. of cpSSR with the motif | 类型内百分比<br>Intra class percentage/% | 丰度<br>Frequency/(个·Mb <sup>-1</sup> ) |
|------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| 单碱基<br>Mononucleotide  | A/T                     | 179                                           | 98.90                              | 1 223.76                              |
|                        | C/G                     | 2                                             | 1.10                               | 13.67                                 |
| 二碱基<br>Dinucleotide    | AG/CT                   | 3                                             | 20.00                              | 20.51                                 |
|                        | AT/TA                   | 12                                            | 80.00                              | 80.04                                 |
|                        | AAC/GTT                 | 11                                            | 16.92                              | 75.20                                 |
|                        | AAG/CTT                 | 20                                            | 30.77                              | 136.73                                |
|                        | AAT/ATT                 | 18                                            | 27.69                              | 123.06                                |
| 三碱基<br>Trinucleotide   | ACC/GGT                 | 3                                             | 4.62                               | 20.51                                 |
|                        | ACT/AGT                 | 1                                             | 1.54                               | 6.84                                  |
|                        | AGC/CTG                 | 5                                             | 7.69                               | 34.18                                 |
|                        | ATC/ATG                 | 7                                             | 10.77                              | 47.86                                 |
|                        | AAAG/CTTT               | 1                                             | 11.11                              | 6.84                                  |
|                        | AAAT/ATTT               | 5                                             | 55.56                              | 34.18                                 |
| 四碱基<br>Tetranucleotide | AATC/ATTG               | 1                                             | 11.11                              | 6.84                                  |
|                        | AATG/ATTC               | 1                                             | 11.11                              | 6.84                                  |
|                        | ATCC/ATGG               | 1                                             | 11.11                              | 6.84                                  |
|                        | AATTC/AATTG             | 1                                             | 100.00                             | 6.84                                  |

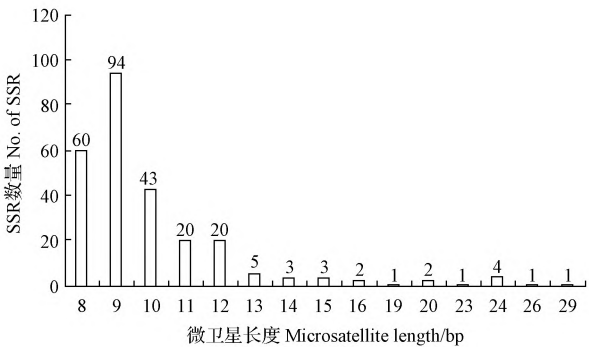


图 2 微卫星长度分布

Fig. 2 The length distribution of microsatellite

3 个;在三碱基重复序列中拷贝数为 4 的序列占总数的 7.69%,有 5 个。单碱基重复序列的基序拷贝数分布范围最广,分布在 8~15,集中于 8~11。单至五碱基重复序列的拷贝数各不相同,分别为 8~15 次(单碱基重复序列),5~8 次(二碱基重复序列),3~4 次(三碱基重复序列),3 次(四碱基重复序列),3 次(五碱基重复序列)。总体而言,在各重复单元中拷贝数越小,碱基重复序列数量就越大(图 3)。

3 讨论与结论

叶绿体基因组以母系遗传,基因含量和顺序高度保守,分子进化缓慢,重组率低<sup>[17]</sup>,因此叶绿体基因组结构和序列的信息在揭示物种起源、进化演变及其不同物种之间的亲缘关系等方面具有重要价值<sup>[18]</sup>。在葱属植物中,莫冰棋等<sup>[19]</sup>对宽叶韭与峨眉韭叶绿体全基因组序列进行了系统发育分析与密码子使用特征的探究,为宽叶韭和峨眉韭的品种改良、遗传育种与叶绿体基因组工程等提供参考依据。但整体而言,在分子水平上对葱属植物进行的研究相对较少,所以,对蒙古韭叶绿体微卫星的研究,一方面可以弥补葱属植物在分子层面上的不足,另一方面也可以为其进一步进行 cpSSR 引物筛选、物种鉴定和遗传多样性研究提供理论基础。

该研究将从野外采集到的蒙古韭样本进行叶绿体基因组测序,所得序列全长为 153 376 bp,并利用 MISA v1.0 软件进行 SSR 位点检索,共识别出 260 个,平均每个位点之间的分布距离为 590 bp,占总基因组的大小为 1.72%,各类型重

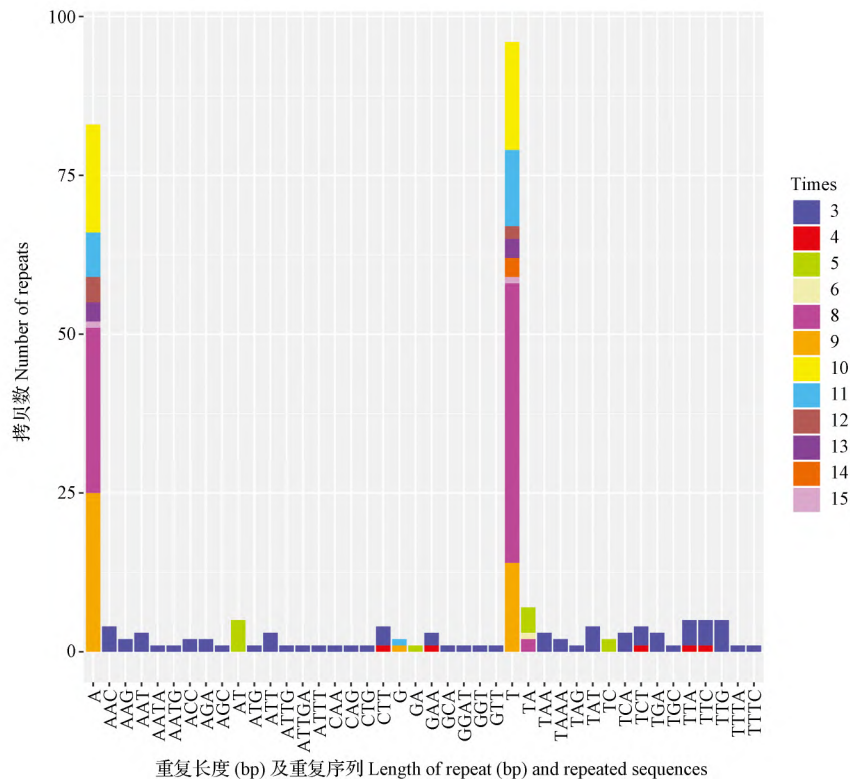


图 3 不同基序类型的拷贝数分布

Fig. 3 The distribution of copy numbers for different motif types

复序列中,单碱基重复序列最多,约占重复序列总量的 66.79%。在基本相同的检索方式和准则下,和其它植物相比,双荚决明(*Senna bicapsularis*)<sup>[20]</sup>叶绿体基因组中平均每 2 556 bp 出现一个 SSR 位点,红砂(*Reaumuria songarica*)<sup>[21]</sup>中每 3 740 bp 出现一个 SSR 位点,龙船花(*Ixora chinensis*)<sup>[22]</sup>中每 5 528 bp 出现一个 SSR 位点,紫花苜蓿(*Medicago sativa*)<sup>[23]</sup>中每 1 091 bp 出现一个 SSR 位点,女贞(*Ligustrum lucidum*)<sup>[24]</sup>中每 3 119 bp 出现一个 SSR 位点。相较而言,蒙古韭叶绿体微卫星位点分布密度更大,数量更为丰富。已有研究表明,AT 含量与 SSR 的丰富程度相关,而碱基含量对叶绿体微卫星的分布也有一定的影响<sup>[25]</sup>。

对测得的蒙古韭叶绿体基因组进行分析后发现,其分布特征具有显著的单碱基偏倚性,出现频率高达 66.79%,其中以 A/T 占绝大多数(98.9%),明显高于 C/G 含量,在其它重复类型中也有类似情况的出现。这与已报道的其它物种一致,例如,在羊躑躅(*Rhododendron molle*)叶绿

体基因组的简单重复序列中,A/T 和 AT/AT 占位点总数的 64.71%<sup>[26]</sup>;芜菁(*Brassica rapa*)中叶绿体基因组 A/T 单核苷酸重复是最多的一类,占总 SSR 的 96.90%<sup>[27]</sup>;在姜(*Zingiber officinale*)的叶绿体基因组中观察到 A/T 单核苷酸重复(34.6%)最常见,其次是 AT/TA 二核苷酸重复(26.9%)<sup>[28]</sup>。DNA 中的 CpG 甲基化容易产生突变,很可能是叶绿体 SSR 对 AT 碱基具有偏好性的原因,而较少含量的 GC 能够维持热力学稳定性<sup>[29]</sup>。C/G 含量偏低,可能是 AT 碱基比 GC 之间所含能量更弱的原因,即 AT 出现变异的情况比 CG 更多,因而增加多态性<sup>[30-31]</sup>。该研究在蒙古韭叶绿体微卫星中发现了 2 个 C/G 重复基序,其在大多数植物的微卫星中很难见到或出现频率较低<sup>[32]</sup>,有研究表明,SSR 序列中 GC 含量的增加会使得某些氨基酸序列增加从而获得某些特定功能,例如胁迫抗性、信号转导、转录调控等<sup>[33]</sup>,推测原因为,蒙古韭是一种在荒漠、砂地或干旱山坡等恶劣气候条件下生长的地被植物,其特征可能与 GC 重复基序相关。

SSR 位点的多态性主要表现为其序列长度的多态性,而能够影响 SSR 长度多态性的主要因素除了碱基数,还有基元重复次数<sup>[34]</sup>。CHO 等<sup>[35]</sup>认为,SSR 的重复次数越多,其变异频率越高。在蒙古韭叶绿体 SSR 中,单碱基重复基序的重复次数类型最多,共 8 种重复次数类型,跨度范围在重复 8~15 次;二至五碱基重复基序重复次数类型较少。研究表明,SSR 的长度<12 bp 为低多态性,长度在 12~19 bp 为中等多态性,长度≥20 bp 为高多态性<sup>[36]</sup>。蒙古韭 cpSSR 长度区间为 8~29 bp,从整体来看,SSR 长度主要集中在 8~10 bp,在该范围内共有 197 个,占 SSR 总数的 75.77%;长度>20 bp(包括 20 bp)的有 9 个,高多态性分子标记可以优先从这些候选标记中进行筛选。

SSR 具有高度多态,共显性和易复制等优点,因此在遗传多样性分析和分子标记辅助育种等方面被广泛应用<sup>[37]</sup>。传统的 SSR 标记对于引物的开发往往需要一系列复杂的基因组文库、重复片段富集、杂交、多个克隆筛选和桑格测序等操作步骤<sup>[38]</sup>,但由于其效率低成本高,因此 SSR 标记只能用于具有高经济价值的模式植物上<sup>[39]</sup>。随着近年来新一代测序技术带来的高通量优势,使测序工作的效率得到了极大的提升,同时,对物种的基因组及转录组进行大规模测序和精细分析也成为了一种简便的手段,极大地方便了 SSR 标记的开发<sup>[40]</sup>。但在已发表的报道中还鲜见对蒙古韭进行 SSR 引物开发,该研究通过对蒙古韭叶绿体 SSR 特征进行分析,有助于蒙古韭的叶绿体微卫星引物开发,为蒙古韭进一步进行遗传标记开发、系统发育关系研究、种质资源利用等方面提供参考。

## 参考文献

- [1] 王媛媛,杨美青. 蒙古韭叶绿体基因组密码子使用偏好性分析[J]. 分子植物育种,2021,19(4):1084-1092.
- [2] 张莹花,刘世增,尉秋实,等. 蒙古韭(*Allium mongolicum*)的分布和结实特性[J]. 中国沙漠,2014,34(2):391-395.
- [3] 侯燕茹. 不同居群蒙古韭遗传多样性及其风味品质分析研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2021.
- [4] 张美莉,高聚林. 蒙古韭生物学特性及营养价值初探[J]. 内蒙古农业科技,1997(5):26-27.
- [5] 唐式敏. 蒙古韭主要生物学特性及生理基础的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2010.
- [6] 斯琴巴特尔,刘新民. 蒙古韭的营养成分及民族植物学[J]. 中国草地,2002(3):53-55.
- [7] 郝丽珍,杨忠仁,王六英,等. 三种葱属植物花形态及花药解剖结构观察[J]. 植物研究,2005(3):277-280.
- [8] 秦丽丽. 蒙古韭(*Allium mongolicum* Regel)遗传多样性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古师范大学,2008.
- [9] 王国庆,聂莹莹,杜广明. 蒙古韭种子萌发特性研究[J]. 当代畜牧,2016(33):69-72.
- [10] 向倩. 叶绿体微卫星分析麻疯树的遗传多样性[D]. 成都:四川农业大学,2010.
- [11] PROVAN J, POWELL W, HOLLINGSWORTH PM. Chloroplast microsatellites: New tools for studies in plant ecology and evolution[J]. Trends Ecol Evol, 2001, 16(3):142-147.
- [12] 王越. 内蒙古 10 种葱属植物分子系统学研究[D]. 呼和浩特:内蒙古师范大学,2014.
- [13] 郭元元,陈振东,张力,等. 基于 NCBI 香葱转录组数据库的 SSR 标记开发[J]. 分子植物育种,2021,19(20):6767-6781.
- [14] 田保华,王永勤,裴雁曦. 应用 ITS 序列分析葱属植物发育关系[J]. 山西大学学报(自然科学版),2013,36(2):261-266.
- [15] BANKEVICH A, NURK S, ANTIPOV D, et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing[J]. Computational Biol, 2012, 19(5):455-477.
- [16] TILICH M, LEHWARK P, PELLIZZER T, et al. GeSeq: versatile and accurate annotation of organelle genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45:6-11.
- [17] 张闻婷,焦萌,王继华. 药用植物基因组学研究进展[J]. 广东农业科学,2021,48(12):138-150.
- [18] 邢少辰,CLARKE J, LIU H. 叶绿体基因组研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展,2008(1):21-28.
- [19] 莫冰棋,李艺,张骏骁,等. 宽叶韭与峨眉韭系统发育及叶绿体基因组密码子偏好分析[J/OL]. 分子植物育种, (2022-05-21) [2022-02-11], <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220210.1602.004.html>.
- [20] 杨新雨,严贤春,侯哲. 双荚决明(*Senna bicapsularis* (L.) Roxb)叶绿体基因组序列分析[J/OL]. 分子植物育种, (2022-05-21) [2022-03-29], <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20220328.1052.006.html>.
- [21] 白慧慧,张凯,杜忠毓,等. 红砂(*Reaumuria songarica*)叶绿体基因组解析及系统发育分析[J/OL]. 分子植物育种, (2022-05-21) [2022-03-07], <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220303.1345.012.html>.
- [22] 王仕奇,王倩倩,许晓晨,等. 龙船花叶绿体基因组结构与特征分析[J/OL]. 分子植物育种, (2022-05-21) [2022-02-25], <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220223.1836.019.html>.
- [23] 孙志轩,敖平星,毕玉芬,等. ‘德钦’紫花苜蓿叶绿体基因组序列及特征分析[J]. 草地学报,2022,30(2):320-328.
- [24] 靳媛茜,王钰双,高永巍,等. 中药女贞子的叶绿体基因组及高变分子标记开发[J]. 中国中药杂志,2022,47(7):10.

- [25] 石汝杰,张元媛,蒋雪梅,等.铁皮石斛转录组微卫星序列统计分析[J].浙江农业科学,2020,61(11):2241-2244.
- [26] 吴林世,廖菊阳,刘艳,等.基于高通量测序的羊蹄躅叶绿体基因组及SSR序列分析[J].经济林研究,2022(1):123-131.
- [27] 任延靖,邵登魁.茼蒿叶绿体基因组结构与进化关系分析[J].种子,2022,41(2):59-64,75.
- [28] CUI Y X. Comparative and phylogenetic analyses of Ginger (*Zingiber officinale*) in the family zingiberaceae based on the complete chloroplast genome[J]. Plants, 2019, 8(8): 283-283.
- [29] 吴东洋,业宁,徐逸卿,等.狗枣猕猴桃叶绿体基因组微卫星特征分析[J].北方园艺,2018(9):30-35.
- [30] TOTH G, GASPARI Z, JURKA J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis[J]. Genome Res, 2000, 10(7): 967-981.
- [31] 童治军,焦芳婵,肖炳光.普通烟草及其祖先种基因组 SSR 位点分析[J].中国农业科学,2015,48(11):2108-2117.
- [32] 宋琳琳,王豆豆,周晓君.基于高通量测序的大叶铁线莲基因组微卫星特征分析[J].分子植物育种,2022,20(4):1087-1094.
- [33] LI S X, YIN T M. Map and analysis of microsatellites in the genome of *Populus*: The first sequenced perennial plant[J]. Science in China Series C: Life Sciences, 2007, 50(5): 690-699.
- [34] 乔雨. EMS 诱导蒙农红豆草优良突变体筛选及花色变异机理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- [35] CHO Y G, LSHII T, TEMNYKHS, et al. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 713-722.
- [36] TEMNYKH S, DECLERCK G, LUKASHOVA A, et al. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.) frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential [J]. Genome Res, 2001, 11(8): 1441-1452.
- [37] YANG Y, JING Z B, RUAN X. F, et al. Development of simple sequence repeat markers in persimmon (*Diospyros* L.) and their potential use in related species [J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(1): 609-618.
- [38] 陈怀琼,隋春,魏建和.植物 SSR 引物开发策略简述[J].分子植物育种,2009,7(4):845-851.
- [39] 张利达,唐克轩.植物 EST-SSR 标记开发及其应用[J].基因组学与应用生物学,2010,29(3):534-541.
- [40] ZALAPA J E. Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) loci in the plant sciences [J]. American Journal of Botany, 2012, 99(2): 193-208.

## Characterization Analysis of Microsatellite in Chloroplast of *Allium mongolicum*

WANG Hongxia<sup>1,2,3</sup>, LI Wenqi<sup>1</sup>

(1. College of Ecological Environment and Resources, Qinghai University for Nationalities, Xining, Qinghai 810000; 2. Qinghai Provincial Key Laboratory of High Value Utilization of Characteristic Economic Plants, Xining, Qinghai 810000; 3. Laboratory of Biotechnology and Analytical Testing, Xining, Qinghai 810000)

**Abstract:** Taking *Allium mongolicum* as test material, the chloroplast genome was sequenced by Illumina NovaSep high-throughput sequencing technology, and the chloroplast genome microsatellites were searched and analyzed by using MISA v1.0 software, in order to provide reference for the species identification, population genetics and phylogenetic studies of *A. mongolicum*. The results showed that a total of 260 SSR sites were detected on the 153 376 bp chloroplast genome sequence of *A. mongolicum*. One SSR locus occurred per 590 bp on average, mainly distributed in the large copy region. There were 5 repeat types, of which the largest number of single nucleotide repeat type accounted for 66.79%, followed by trinucleotide (23.99%) and the least number of pentanucleotide, accounting for only 0.37%. The cpSSR was 8–29 bp, mainly in the range of 8–10 bp (75.77%), of which 9 cpSSR were 20 bp and above in length, indicating that the cpSSR on the chloroplast genome of *A. mongolicum* have a high polymorphic potential.

**Keywords:** *Allium mongolicum*; chloroplast; microsatellite