

中南林业科技大学学报

Journal of Central South University of Forestry & Technology

ISSN 1673-923X，CN 43-1470/S

《中南林业科技大学学报》2026年第5期

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923X.2026.05.015

论文标题： 香椿全基因组SSR位点分析及分子标记开发

作　　者： 郑名敏，刘孝伟，虞秋雨，等

收稿日期： 2025-05-30

引文格式： 郑名敏,刘孝伟,虞秋雨,等.香椿全基因组SSR位点分析及分子标记开发[J].中南林业科技大学学报,2026,46(5):149-157.

ZHENG M M, LIU X W, YU Q Y, et al. Genome-wide analysis of simple sequence repeats and development of molecular markers in *Toona sinensis*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(5):149-157.

相关论文推荐

Recommended articles

不同处理对香椿容器苗生长的影响

Effects of different treatments on the growth of *Toona sinensis* container seedlings

香椿半同胞家系在川中丘陵区生长变异及早期选择

Growth variation and early selection of *Toona sinensis* half-sib families in the hilly area of central Sichuan Province

不同间伐强度对香椿中龄林生长和干形的影响

Effects of thinning intensity on growth and stem form of middle-aged *Toona sinensis* plantation

基于SSR的四川主要香椿种源遗传多样性分析

Genetic diversity of *Toona sinensis* provenances in Sichuan province revealed by SSR markers

基于SSR标记分析浙西南香椿天然居群的遗传多样性

Genetic diversity analysis of *Toona sinensis* natural populations in southwest Zhejiang based on SSR markers

pH环境对香椿幼苗生长、光合作用和生理特性的影响

Effects of different pH environments on the growth, photosynthesis and physiological characteristics of *Toona sinensis* seedlings

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923x.2026.05.015
http: //qks.csuft.edu.cn

香椿全基因组 SSR 位点分析及分子标记开发

郑名敏[1]，刘孝伟[2]，虞秋雨[1]，李　杨[1]，曾　睿[1]，高云洪[3]，杨　敏[4]

（1. 成都师范学院 a. 特色园艺生物资源开发与利用四川省高校重点实验室；b. 化学与生命科学学院，四川 成都 611130；2. 成都农业科技职业学院 农学园艺学院，四川 成都 611130；3. 四川益仲农业开发有限公司，四川 成都 610213；4. 四川省内江市农业科学院，四川 内江 641000）

摘　要：【目的】系统分析香椿基因组中 SSR 序列的分布模式及特征，批量开发高效的分子标记，为香椿种质资源鉴定、遗传多样性分析、遗传图谱构建及分子标记辅助育种等提供理论依据和技术支持。【方法】基于已公布的香椿品种‘黑油椿’参考基因组序列，利用 MISA 软件对基因组中 1 ～ 6 核苷酸重复的 SSR 位点进行搜索，分析其分布模式及特征，结合 Primer 3.0 软件和电子 PCR 进行批量 SSR 引物设计。随机选取 20 对 SSR 引物在 6 份香椿材料中进行 PCR 扩增，通过聚丙烯酰胺凝胶电泳检验引物的有效性和多态性。【结果】在全基因组 28 条染色体上共鉴定到 308 421 个 SSR 位点，平均每 1.92 kb 出现 1 个 SSR 位点，各染色体间 SSR 分布频率差异较小。其中，单核苷酸和二核苷酸为主要重复类型，分别占 SSR 总数的 59.23% 和 31.08%。共检测到 979 种不同的 SSR 基元类型，其中 A/T、AT/TA 和 AAT/ATT 为优势基元，基因组 SSR 序列中 A、T 碱基占绝对优势。香椿基因组 SSR 序列长度为 10 ～ 1 218 bp，各核苷酸重复类型长度越长，SSR 位点数量越少。根据 SSR 位点侧翼的保守序列成功设计 104 813 对 SSR 引物，随机合成 20 对 SSR 引物，有 18 对能扩增出符合预期的条带，有效扩增率为 90.0%；其中 9 对引物的扩增产物表现出多态性，多态性比例为 50.0%。【结论】本研究揭示了香椿基因组中 SSR 的分布特征，并批量开发了一系列 SSR 引物，为后续香椿遗传育种及相关研究提供了丰富的分子标记资源。

关键词：香椿；基因组；SSR；标记开发

中图分类号：S718.43　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673-923X(2026)05-0149-09

Genome-wide analysis of simple sequence repeats and development of molecular markers in *Toona sinensis*

ZHENG Mingmin[1], LIU Xiaowei[2], YU Qiuyu[1], LI Yang[1], ZENG Rui[1], GAO Yunhong[3], YANG Min[4]

(1. a. Sichuan Provincial Key Laboratory for Development and Utilization of Characteristic Horticultural Biological Resources; b. College of Chemistry and Life Sciences, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, Sichuan, China; 2. School of Agriculture and Horticulture, Chengdu Agricultural College, Chengdu 611130, Sichuan, China; 3. Sichuan Yizhong Agricultural Development Company, Chengdu 610213, Sichuan, China; 4. Neijiang Academy of Agricultural Sciences, Neijiang 641000, Sichuan, China)

Abstract:【Objective】A systematic analysis of SSR loci in the genome and the development of efficient molecular markers was accomplished to provide a theoretical basis and technical support for further research on germplasm identification, genetic diversity analysis, linkage map construction, and molecular marker-assisted breeding in *T. sinensis*.【Method】Based on the published reference genome of the cultivar ‘Heiyouchun’, genome-wide SSR loci containing 1-6 nucleotide repeats were identified using the MISA software, and the distribution patterns and characteristics of SSR types were comprehensively analyzed. SSR primers were developed using Primer3.0 in combination with *in silico* PCR. Subsequently, 20 pairs of SSR primers were randomly selected for PCR amplification using genomic DNA from six *T. sinensis* samples. The validity and polymorphism of these primers were evaluated using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE).【Result】A total of 308 421 SSR loci were identified in the genome of *T. sinensis*, with an average of one locus per 1.92 kb. The distribution frequency of SSRs was relatively uniform across the chromosomes. Mononucleotide and dinucleotide repeats were the predominant types, accounting for 59.23% and 31.08% of the total SSRs, respectively. Across the entire genome, 979

收稿日期（Received）：2025-05-30　　**修订日期**（Revised）：2025-07-25

基金项目：中央引导地方科技发展专项（2024ZYD0040）；成都师范学院高层次人才引进项目（YJRC2020-23）；大学生创新创业训练计划项目（S202214389166）。

第一作者：郑名敏（4648442@qq.com），讲师，博士。

引文格式：郑名敏 , 刘孝伟 , 虞秋雨 , 等 . 香椿全基因组 SSR 位点分析及分子标记开发 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2026,46(5):149-157.

ZHENG M M, LIU X W, YU Q Y, et al. Genome-wide analysis of simple sequence repeats and development of molecular markers in *Toona sinensis*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(5):149-157.

* 本文为第二十八届中国科协年会学术论文成果。

Academic Papers of the 28th Annual Meeting of the China Association for Science and Technology.

distinct SSR motif types were identified. Among these, A/T, AT/TA, and AAT/ATT motifs occurred most frequently, indicating that A and T bases were predominant in the SSR sequences of the *T. sinensis* genome. The length of SSR sequences in the *T. sinensis* genome ranged from 10 to 1 218 bp, and the number of SSR loci decreased with increasing repeat length across all nucleotide repeat motifs. A total of 104 813 pairs of SSR primers were designed based on the flanking sequences of the SSR loci. Among the 20 pairs of primers synthesized, 18 pairs of primers amplified the target bands with an amplification efficiency of 90.0%. Additionally, products from nine primer pairs exhibited polymorphism, and the polymorphism rate reached 50.0%.【Conclusion】This study elucidated the distribution characteristics of SSRs in the *T. sinensis* genome and developed a large set of genome-wide SSR markers, providing valuable molecular tools for future genetic studies and breeding applications in *T. sinensis*.

Keywords: *Toona sinensis*; genome; SSR; marker development

香椿 *Toona sinensis* 属于楝科香椿属，为多年生落叶乔木，该属主要分布于亚洲和大洋洲。香椿原产于中国，具备较强的环境适应能力，在全国多地均有分布，其核心分布区域包括安徽、山东、河南、河北、湖南、四川、陕西、云南等省区 [1]。香椿具有极高的经济价值，树干作为优良的木材，具有美丽花纹和广泛用途，享有“中国桃花心木”的美誉 [2]。早在我国古代民间，香椿便是深受百姓推崇的药食同源植物，作为传统木本蔬菜，其嫩叶和嫩芽风味独特，富含蛋白质、脂肪以及大量的氨基酸、维生素和微量元素 [3-4]，营养价值极高，是森林蔬菜佳品。现代药理学研究发现，香椿中含有多糖、多酚、黄酮、皂苷、萜类等多种生物活性物质 [5-7]，在抗肿瘤 [8]、降血糖 [9]、抗病毒及抗菌 [10-12] 等方面具有一定效果。

我国香椿栽培历史悠久，至今已超过 2000 年，其野生资源丰富、居群类型多样，在长期发展历程中逐渐形成了一批性状优良的地方特色品种，如安徽太和黑油椿、河南焦作红香椿、四川达州巴山红香椿等 [13]。早期关于香椿的研究主要集中于栽培、化学成分及药理作用等方面，而针对其种质资源与遗传多样性的研究相对较少。目前，市场上香椿品种较为混乱，某些地区存在同名异物、同物异名的情况，严重阻碍了香椿种质资源的保护与开发利用 [14]。近年来，随着香椿产业的快速发展，其遗传多样性研究逐渐受到重视。Wang 等 [15] 运用 RAPD 标记和同工酶对 25 份野生香椿资源进行遗传分析，发现国内天然香椿资源遗传多样性较为丰富，将其分为南方居群和北方居群两大类。Jayusman 等 [16] 运用 RAPD 标记对印度尼西亚中爪哇省 8 个香椿居群进行遗传分析，结果表明，这些居群遗传多样性处于中等水平。Xing 等 [17] 运用 ISSR 和 SRAP 标记评估国内 4 省 5 个香椿居群的遗传多样性，将其分为两类，并指出香椿居群的遗传多样性水平低于刺槐 *Robinia pseudoacacia*、刺山柑 *Capparis spinosa*、核桃 *Juglans regia* 等林木。陈倩倩等 [18] 运用 SRAP 和 EST-SSR 标记技术对 9 省 10 个香椿居群的遗传多样性和亲缘关系进行了分析，发现国内香椿资源遗传多样性丰富，居群间遗传分化较为明显，但居群间遗传距离与地理距离不存在相关性。赵旭阳 [19] 运用 AFLP 标记对安徽省 14 个不同地区香椿居群的遗传多样性进行分析，获得了 615 个多态性位点，结果表明安徽省内香椿的遗传多样性水平较低，其遗传变异主要来源于居群内部。于鹏飞等 [20] 利用转录组测序数据设计了 8 218 对 EST-SSR 引物，随机选取 19 对引物对不同香椿种质进行 PCR 扩增，其中 6 对引物显示出稳定的多态性。刘闵豪等 [21] 运用 SSR 标记对四川省 16 个野生香椿种源群体的遗传多样性进行分析，结果表明四川省内香椿种源群体的遗传多样性非常丰富，群体间遗传分化程度较高，并且群体的遗传距离与地理距离存在明显相关性。程建慧等 [22] 运用 16 个 SSR 标记对浙西南 5 个香椿天然居群进行遗传分析，发现该区域香椿天然居群间的遗传差异总体较小，但个体水平的遗传多样性相对较高，大多数香椿种质遗传背景较为单一。

早期香椿因基因组信息尚未解析，且基因组较为复杂，分子标记开发难度大，可利用的分子标记数量较少，使其遗传多样性研究和分子育种应用相对滞后。2021 年，香椿首个基因组序列成功公布 [23]，为其基因组学研究奠定了重要基础。本研究基于公布的高质量‘黑油椿’基因组序列进行 SSR 位点检索，分析其特征信息，开发特异引物并验证有效性和多态性，以期为香椿种质资源鉴定、遗传多样性分析、遗传图谱构建以及分子标记辅助育种等提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究用于 SSR 引物验证的香椿材料包括陕西安康香椿、湖北十堰香椿、‘火烈鸟’、四川成都‘川香红 1 号’、安徽阜阳香椿、云南红河

香椿，样品采自成都师范学院化学与生命科学学院种质资源圃。

1.2　全基因组序列下载及 SSR 位点鉴定

‘黑油椿’基因组序列从数据库（https://db.cngb.org/search/project/CNP0000958/）下载，使用 Perl 语言的 MISA 软件对香椿基因组序列中的 SSR 位点进行搜索。搜索标准设置：单核苷酸重复次数在 10 次及以上，二核苷酸重复次数在 6 次及以上，三、四、五、六核苷酸重复次数在 5 次及以上。若两个 SSR 位点间距小于 100 bp，则视为一个复合位点。对筛选获得的 SSR 位点的类型、数量、基元序列组成等特征信息进行统计分析。

1.3　SSR 引物设计及电子 PCR 分析

基于 SSR 位点两侧保守 DNA 序列，利用 Primer 3.0 软件批量设计 SSR 引物，主要参数设置：引物长度为 18 ～ 24 bp，最佳长度为 20 bp；预期扩增产物片段长度为 100 ～ 300 bp；引物退火温度 55 ～ 65 ℃；G、C 碱基含量为 40% ～ 70%。在此基础上，利用电子 PCR 分析引物在‘黑油椿’基因组中扩增的准确性和特异性，以评估并去除存在非特异扩增的引物。

1.4　PCR 扩增验证及引物多态性检测

选取 6 份香椿试验材料，采用改良 CTAB 法 [24] 提取当年生嫩叶的基因组 DNA。随机选取 20 对 SSR 引物（包含单、二、三、四、五、六核苷酸重复类型）送至北京擎科生物科技股份有限公司进行引物合成。PCR 扩增体系为 ddH_2O 6 μL，2×Taq Master Mix 7.5 μL，10 μmol/L 正反向引物各 0.25 μL，50 ～ 150 ng/μL DNA 模板 1 μL。PCR 反应程序为：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 30 s，67 ℃退火 30 s（每个循环降低 1 ℃），72 ℃延伸 45 s，10 个循环；然后 94 ℃变性 30 s，57 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 45 s，30 个循环；72 ℃延伸 8 min，12 ℃保存。PCR 扩增产物经 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后，采用银染法进行染色和显影检测。

2　结果与分析

2.1　香椿全基因组 SSR 位点的总体分布特征

从网站（https://db.cngb.org/search/project/CNP0000958/）下载安徽阜阳‘黑油椿’全基因组序列，其基因组长度约为 596.35 Mb。香椿基因组共包含 28 条染色体，每条染色体长度为 12.51 ～ 32.28 Mb。利用 MISA 软件对 28 条染色体进行扫描，共检索到 308 421 个 SSR 位点（表 1，图 1），其中 46 181 个为复合型 SSR，占 SSR 位点总数的 14.97%。在全基因组中，平均每 1.92 kb 出现一个 SSR 位点。各染色体间 SSR 分布频率差异不大，其中第 12 号染色体 SSR 密度最高，为 542.23 个 /Mb；第 2 号染色体的密度最低，为 497.23 个 /Mb。

表 1　SSR 位点在香椿基因组不同染色体的数量分布
Table 1　Distribution of SSR loci across the chromosomes in *Toona sinensis*

染色体 Chromosome	染色体大小 Size of chromosome /Mb	数量 Number / 个	SSR 密度 SSR density / (个·Mb^{-1})	SSR 距离 SSR distance / (kb·个$^{-1}$)
1	12.51	6 457	516.15	1.94
2	19.11	9 502	497.23	2.01
3	16.67	8 773	526.27	1.90
4	13.75	6 945	505.09	1.98
5	19.25	10 246	532.26	1.88
6	17.56	9 172	521.14	1.91
7	20.08	10 122	504.08	1.98
8	21.61	10 884	503.66	1.99
9	18.25	9 551	523.34	1.91
10	18.29	9 413	514.65	1.94
11	18.49	9 911	536.02	1.87
12	19.56	10 606	542.23	1.84
13	20.96	11 166	532.73	1.88
14	20.07	10 457	521.03	1.92
15	21.55	11 379	528.03	1.89
16	23.13	12 478	539.47	1.85
17	23.91	12 652	529.15	1.89
18	25.72	13 358	519.36	1.93
19	23.71	12 698	535.55	1.87
20	21.85	11 468	524.85	1.91
21	23.64	12 003	507.74	1.97
22	20.11	10 250	509.70	1.96
23	32.28	16 417	508.58	1.97
24	31.02	15 852	511.03	1.96
25	22.46	11 929	531.12	1.88
26	23.49	12 486	531.55	1.88
27	22.87	11 609	507.61	1.97
28	20.42	10 637	520.91	1.92

2.2　香椿全基因组 SSR 位点重复类型、次数与长度分布特征

由表 2 可知，在检测的 6 种核苷酸重复类型中，单核苷酸和二核苷酸重复 SSR 数目分别为 155 318（59.23%）和 81 514（31.08%），合计占香椿基因组 SSR 位点总数的 90.31%，说明这两种重复类型在香椿 SSR 位点中占主导地位。其余依

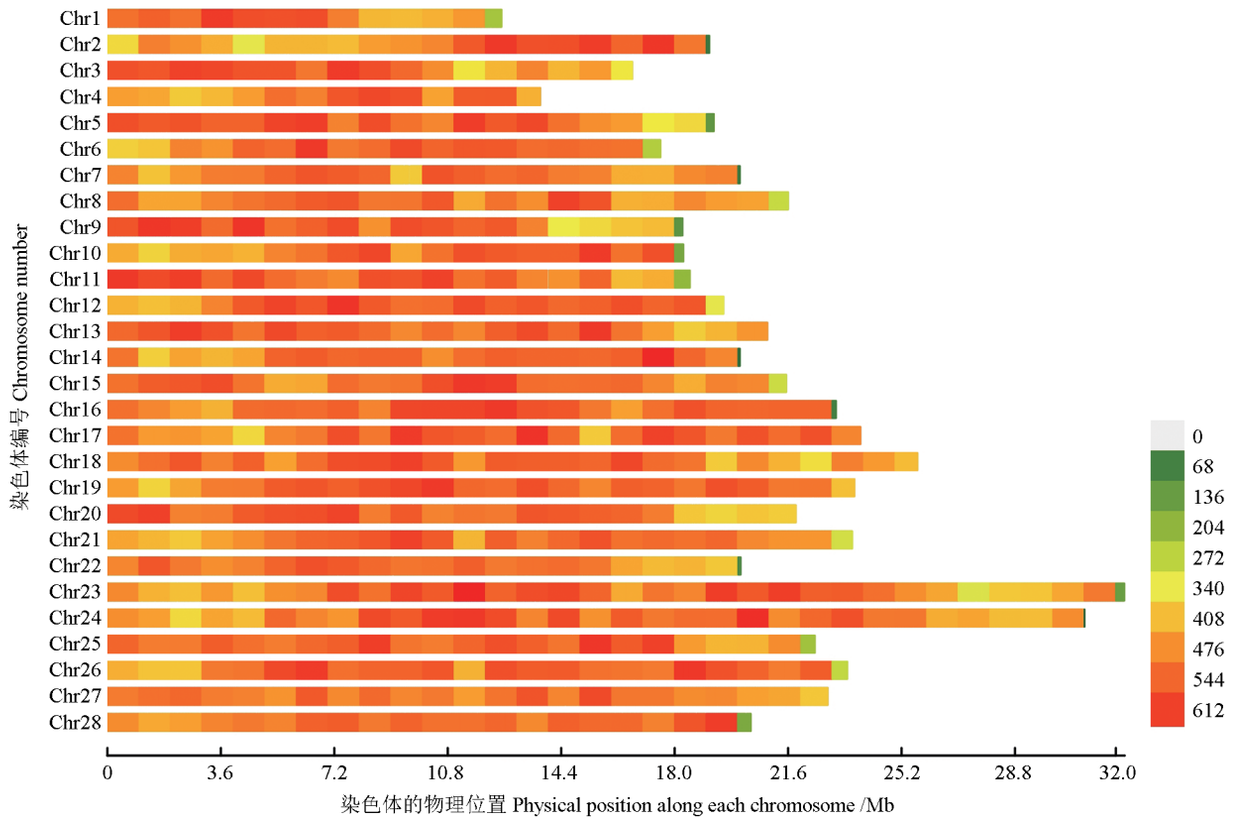


图 1 SSR 位点在香椿基因组不同染色体的分布特征

Fig. 1 Distribution patterns of SSR loci across the chromosomes in *Toona sinensis*

表 2 香椿全基因组 SSR 重复类型和次数

Table 2 Types and numbers of SSR motifs in the *Toona sinensis* genome

重复次数 Repeat times	重复类型 Repeat type						合计 Total	占比 Proportion /%
	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	六核苷酸 Hexanucleotide		
5			9 140	3 700	1 019	376	14 235	5.43
6		19 890	3 972	939	219	113	25 133	9.58
7		12 849	2 222	314	40	26	15 451	5.89
8		9 893	1 231	135	8	9	11 276	4.30
9		7 584	712	61	7	5	8 369	3.19
10	59 895	5 669	374	25	2	6	65 971	25.16
11	27 547	4 004	217	13	0	0	31 781	12.12
12	17 030	2 861	138	6	1	0	20 036	7.64
13	12 519	2 485	120	4	0	0	15 128	5.77
14	9 829	1 957	64	6	0	1	11 857	4.52
15	7 718	1 734	42	2	0	0	9 496	3.62
＞ 15	20 780	12 588	129	9	0	1	33 507	12.78
合计 Total	155 318	81 514	18 361	5 214	1 296	537	262 240	
占比 Proportion /%	59.23	31.08	7.00	1.99	0.49	0.21		100.00

次为：三核苷酸（7.00%）、四核苷酸（1.99%）、五核苷酸（0.49%）和六核苷酸（0.21%），合计占香椿基因组 SSR 位点总数的 9.69%。不同重复类型中，单核苷酸重复相对密度最高，为 262.22 个 /Mb；六核苷酸重复相对密度最低，为 0.91 个 /Mb。SSR 数量随着重复基元序列变长逐渐减少。SSR 序列长度分布范围为 10 ～ 1 218 bp，平均长度为 15.85 bp，不同重复类型平均长度为 12.37 ～ 33.11 bp。在所有 SSR 位点中，最小重复次数为 5 次，最大重复次数出现在第 26 号染色体上的一个单核苷酸（T），重复 594 次。5 ～ 15 次重复类型共有 228 733 个位点，占香椿基因组 SSR 位点总数的 87.22%。单核苷酸重复中，重复次数为 10 的数量最多（59 895），占单核苷酸重复

总数的 38.56%；二核苷酸重复中，重复次数为 6 的数量最多（19 890），占二核苷酸重复总数的 24.40%；三至六核苷酸重复中，均是重复次数为 5 的数量最多。同种重复类型 SSR 数量随着重复次数增加逐渐减少。

2.3　香椿全基因组 SSR 位点基元类型的分布特征

在香椿基因组中共鉴定出 979 种不同 SSR 基元类型（表 3），各种基元类型的数量分布不均匀，随着核苷酸重复类型基元序列变长，基元类型显著增多，六核苷酸重复基元类型最多（362 种）。从基元类型出现频率来看，单核苷酸重复基元中 A/T 占绝对优势，共计 154 965 个位点，占所有单核苷酸重复类型的 99.77%；在二核苷酸重复中，各基元类型占比差异较大，其中 AT/TA（65.52%）为优势基元，而 CG/CG（0.06%）占比最小；在三核苷酸重复中，AAT/ATT（27.23%）为优势基元；在四核苷酸重复中，AAAT/ATTT（17.05%）和 TTTA/TAAA（11.76%）为优势基元；在五核苷酸重复中，AAAAT/ATTTT（11.50%）为优势基元；在六核苷酸重复中，各基元类型的占比均未超过总数的 5%。总体来看，检出的优势基元绝大多数由 A、T 碱基组成，说明香椿基因组 SSR 位点含有大量 A、T 碱基，呈现明显的碱基偏好性。

表 3　香椿全基因组 SSR 位点基元类型的分布

Table 3　Types and distribution of SSR repeat motifs in the *Toona sinensis* genome

重复类型 Repeat type	重复类型数目 Number of motif type	重复基元 Repeat motif	数目 Number / 个	占本重复类型百分比 Proportion of the same repeat type /%
单核苷酸 Mononucleotide	4	A/T	154 965	99.77
		C/G	353	0.23
二核苷酸 Dinucleotide	12	AT/TA	53 411	65.52
		AG/CT	15 560	19.09
		GA/TC	5 444	6.68
		AC/GT	3 776	4.63
		其他	3 323	4.08
三核苷酸 Trinucleotide	60	AAT/ATT	4 999	27.23
		TAA/TTA	3 360	18.31
		ATA/TAT	2 417	13.16
		GAA/TTC	1 726	9.40
		其他	5 859	31.91
四核苷酸 Tetranucleotide	190	AAAT/ATTT	889	17.05
		TTTA/TAAA	613	11.76
		TATT/AATA	518	9.93
		ATAA/TTAT	446	8.55
		其他	2 748	52.70
五核苷酸 Pentanucleotide	351	AAAAT/ATTTT	149	11.50
		TTTAT/ATAAA	110	8.49
		TTTTA/TAAAA	83	6.40
		AAATA/TATTT	52	4.01
		其他	902	69.60
六核苷酸 Hexanucleotide	362	AAAATA/TATTTT	26	4.84
		AAAAAT/ATTTTT	21	3.91
		TTTTTA/TAAAAA	14	2.61
		TTTATT/AATAAA	9	1.68
		其他	467	86.96

2.4　香椿全基因组 SSR 标记开发

利用 Primer 3.0 软件，结合电子 PCR 对鉴定出的 308 421 个 SSR 位点进行引物设计，共成功获得 104 813 对 SSR 引物，预测扩增产物长度为 100 ～ 300 bp，引物设计成功率为 33.98%。其中，从 262 240 个单一 SSR 位点中成功设计 89 777 对引物，占引物总数的 85.65%；从 46 181 个复合

型 SSR 位点中成功设计 15 036 对引物，占引物总数的 14.35%。在成功设计的引物中，来自单核苷酸和二核苷酸重复位点的引物占比较高，分别为 44.23%（46 362 对） 和 31.03%（32 524 对）。SSR 引物在各染色体上的分布情况如表 4 所示。其中，第 1 号染色体开发的 SSR 引物最少，为 1 961 对；第 23 号染色体开发的 SSR 引物最多，为 6 177 对。在香椿基因组中，开发的 SSR 引物平均密度为 176.95 个 /Mb，第 24 号染色体的引物密度最高，为 193.13 个 /Mb；第 1 号染色体的引物密度最低，为 156.75 个 /Mb。

表 4 香椿基因组中各染色体开发的 SSR 标记数量与密度
Table 4 The number and density of SSR markers across the chromosomes in *Toona sinensis*

染色体 Chromosome	染色体大小 Size of chromosome /Mb	标记数量 Marker number / 个	标记密度 Marker density / (个·Mb^{-1})
1	12.51	1 961	156.75
2	19.11	3 111	162.79
3	16.67	3 131	187.82
4	13.75	2 278	165.67
5	19.25	3 224	167.48
6	17.6	2 992	170.00
7	20.08	3 375	168.08
8	21.61	3 653	169.04
9	18.25	3 191	174.85
10	18.29	3 158	172.66
11	18.49	3 227	174.53
12	19.56	3 463	177.04
13	20.96	4 002	190.94
14	20.07	3 462	172.50
15	21.55	4 069	188.82
16	23.13	4 337	187.51
17	23.91	4 331	181.14
18	25.72	4 648	180.72
19	23.71	4 383	184.86
20	21.85	3 933	180.00
21	23.64	3 760	159.05
22	20.11	3 426	170.36
23	32.28	6 177	191.36
24	31.02	5 991	193.13
25	22.46	4 209	187.40
26	23.49	4 276	182.03
27	22.87	3 652	159.69
28	20.42	3 393	166.16

2.5 香椿全基因组 SSR 标记验证及多态性检测

从第 1 ～ 4 号染色体各随机选取 5 对 SSR 引物（包含单、二、三、四、五、六核苷酸重复类型，表 5），对 6 份香椿材料的 DNA 样本进行 PCR 扩增验证。结果显示，18 对引物在香椿材料中成功扩增出清晰且与预期片段长度一致的条带，有效扩增率为 90.0%（图 2）。在有效扩增的引物中，9 对引物的扩增产物在 6 份香椿材料间具有多态性，多态性比例为 50.0%。PCR 扩增的特异性及产物的多态性表明，本研究基于香椿基因组开发 SSR 分子标记是有效可行的。

3 讨 论

3.1 香椿全基因组 SSR 分布特征

本研究基于已公布的‘黑油椿’基因组序列，系统分析了香椿基因组 SSR 的特征信息。从‘黑油椿’参考基因组 28 条染色体中共鉴定出 308 421 个 SSR 位点，平均每 1.92 kb 基因组序列分布 1 个 SSR 位点。与典型模式植物相比，香椿全基因组 SSR 平均密度略低于拟南芥（1/1.14 kb）[25]，高于水稻（1/3.6 kb）[26] 和玉米（1/15.48 kb）[27]，表明香椿基因组中 SSR 位点较为丰富。各染色体的 SSR 平均密度差异不大，但在局部区域呈现不均匀分布。整个基因组中，单核苷酸和二核苷酸重复类型出现频率显著高于三、四、五、六核苷酸重复类型。单核苷酸重复类型在基因组中占据绝对优势，占比达 59.23%，与香椿转录组中 SSR 位点数量随重复基元长度增加而递减的趋势相似[20]。Tóth 等 [28] 认为，SSR 序列分布以短重复基序为主的物种通常具有较高的进化水平，这意味着香椿可能具有较长的进化历史。此外，与四倍体油茶 [29]、蔗茅 [30] 等植物的研究结果一致，香椿基因组中各类核苷酸重复类型里，A 和 T 碱基的出现频率明显高于 G 和 C 碱基，整体呈现出明显的碱基偏好性。从不同核苷酸重复类型的优势基元来看，A/T 占单核苷酸重复基元类型的 99.77%，AT/TA 占二核苷酸重复基元类型的 65.52%。三至五核苷酸重复类型主要优势基序分别为 AAT/ATT、AAAT/ATTT 和 AAAAT/ATTTT，表明 A 和 T 碱基在香椿基因组 SSR 序列中占据绝对优势，这与大部分真核生物基因组 SSR 位点的碱基偏好特征一致。

3.2 基于香椿全基因组开发 SSR 标记的可行性

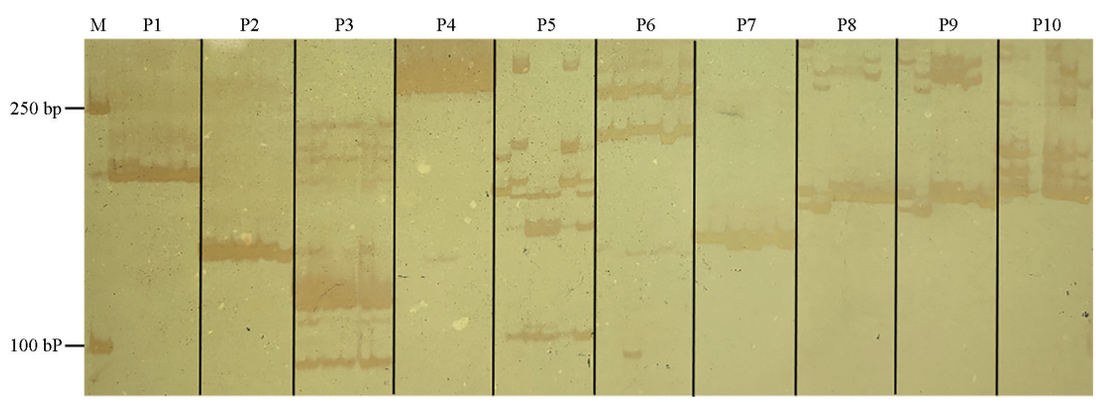
近年来，随着香椿产业的快速发展，其遗传和分子机理研究备受关注，核心任务在于开发和利用丰富的分子标记。SSR 标记因具有多态性丰富、分布广泛、共显性遗传等特点，在植物遗传研究中得到广泛应用 [31]。早期香椿研究中使用的 SSR 标记数量有限，主要来源于红椿、红毛椿等

表 5　基于香椿基因组开发的部分引物信息 †

Table 5　Information on a subset of primers designed from the *Toona sinensis* genome

引物编号 Primer No.	引物序列 Primer sequence	SSR 基元 SSR motif	产物大小 Size of product /bp	是否具有多态性 Polymorphism
Chr01_64030	F: AGAACCAATTGTGTCATACGG R: CCTTGTAGAGTCCTAACGTCAT	(AT)6	193	否
Chr01_206412	F: TCCTACAACACCAACACCTAAT R: TCGAGGTTACACATGCATAGTA	(AAT)5	141	是
Chr01_511173	F: AACCGAGAGAGAAGAGAGAGAA R: CGGTCCTTACACACACCTATAT	(TA)7	122	否
Chr01_1158872	F: CGTGTCATGTGGTTCAGAGATA R: TCGTACATGACATCACCTCAAC	(TA)13	272	否
Chr01_1526874	F: GACGACACTCATCTCAACACTT R: CCTCTTGAAGTGTGTGTGTAGA	(AT)9	180	是
Chr02_272916	F: CGTAGTAATGGCCGTGTTGTC R: CTTGCGAAGTTGGCTCCATATG	(TA)12	227	是
Chr02_396409	F: CTCTCTTCCTCAGATCGTTGAA R: ACAGCAGCAATCACCAGAA	(CT)10	133	是
Chr02_588085	F: TGCAACATGAGAGTGACAAGTG R: CCATCTCATGTCGGTCCAACA	(TAAT)5	172	是
Chr02_1137803	F: TCATCTTATGTCGGTCCAACAC R: TGCAACATGAGAGTGACAAGTG	(TTAA)5	176	是
Chr02_1817663	F: CTCACAGCTTGGAGGAGTT R: TTCACCAGCAGTCACCATTG	(AG)7	182	否
Chr03_2003704	F: TGAAGGATCATGGCTTAGCA R: AGGTCTCGTGTATCCAATAACA	(A)10	289	否
Chr03_2217286	F: AGAATGTGTAGGCATGATAGC R: ACTCTCAAGTCATGCCTTCAA	(A)14	229	否
Chr03_6063209	F: TGAAGCAAGCGACAACAAGAA R: GTACTCCTTACTCTGCCATCTT	(TATTT)5	204	—
Chr03_8355136	F: CAATTGTGACAATGGCAGACAA R: TCAGAGAGAATGCAGTGAAGAA	(TTC)5	143	否
Chr03-16027454	F: ACAGTGGCTAAGCAAGAACTT R: TTGCTTGGCTTGGCTTGG	(CCAAG)6	148	是
Chr04_2729340	F: CGTCGTCGTCCAATCACAACAA R: GCTACCGAAGTGAAGCCTCTT	(GTC)6	155	否
Chr04_4986590	F: AAGAAGTGGAGCAACTGGTGAT R: AAGAAGTCAGCACGATTGTACA	(T)10	206	是
Chr04_7934044	F: TGCAACTTCTCCATGGCTACTA R: GGATTGTGGATGCAGCTATTCA	(CTT)6	226	是
Chr04_9856519	F: GTTCTCCACCATCCATGTAAG R: GCTTGAGTGGCATCATGAT	(TTTTCA)5	175	—
Chr04_12506004	F: GCATGCTCATACCTTGGATATG R: AAGCGAGGCAATACTTCGATG	(T)11	105	否

† “—”表示没有检测到扩增产物。“—” indicates that no amplification products were observed.



P1 ～ P10 为表 5 前 10 对 SSR 引物，最左侧为 DNA Marker，竖线为不同引物 PCR 扩增产物分割线，香椿种质 DNA 排序依次为陕西安康香椿、湖北十堰香椿、‘火烈鸟’、四川成都‘川香红 1 号’、安徽阜阳香椿、云南红河香椿。

P1-P10: the first ten pairs of SSR primers as listed in Table 5. The DNA marker is shown in the leftmost lane. Vertical black lines separate PCR products amplified by different primers. DNA samples, from left to right, are from six *Toona sinensis* germplasms: Ankang (Shaanxi), Shiyan (Hubei), ‘Flamingo’, Chengdu ‘Chuanxianghong No.1’ (Sichuan), Fuyang (Anhui), and Honghe (Yunnan).

图 2　10 对 SSR 引物在 6 份香椿材料中的扩增结果

Fig. 2　Amplification results of 10 SSR primer pairs in six *Toona sinensis* germplasms

近缘种属的交叉扩增 [21]。裴宋雨等 [32] 采用 Dynal 磁珠富集法构建了香椿微卫星富集文库，为 SSR 标记的开发奠定了基础。近年来，于鹏飞等 [20]、程建慧等 [22] 基于香椿转录组测序结果开发了若干 EST-SSR 标记，但其数量有限，所包含的基因信息较少，且无法充分反映全基因组上的 SSR 特征与位置信息。随着高通量测序技术的普及和测序成本的持续降低，越来越多物种完成了全基因组测序，基于全基因组测序数据进行分子标记的开发得到了广泛应用 [31,33]。本研究采用基于全基因组序列开发 SSR 标记的方法，利用‘黑油椿’参考基因组中鉴定出的 SSR 位点成功开发了 104 813 对 SSR 引物，并随机选取位于 1 ～ 4 号染色体的 20 对引物，验证其真实性和有效性。结果显示，其中 9 对引物在供试香椿材料中表现出良好的扩增效果和多态性，占比为 45.0%。说明利用香椿基因组序列开发 SSR 标记有效可行，标记具备多态性丰富、可用性较高的优良特性，可以预期本研究开发的 SSR 标记中具有一批通用的多态性标记。后续可以根据 SSR 标记在各染色体上的分布情况，均匀选取适当的标记进行多态性筛选和验证，从而构建一套重复性稳定、多态性丰富、可信度高的核心 SSR 标记体系，为后续香椿种质资源鉴定、种群群体分析、DNA 分子指纹图谱和遗传图谱构建、基因定位克隆、分子标记辅助育种等提供技术支撑。

4 结 论

本研究从‘黑油椿’参考基因组中鉴定出 308 421 个 SSR 位点，揭示了香椿基因组 SSR 分布的丰富性和多样性特征。应用传统引物筛选结合电子 PCR 的方法，共成功设计 104 813 对 SSR 引物，并随机选取 20 对引物进行 PCR 扩增，证实基于香椿基因组序列开发 SSR 标记的策略具有良好的可行性和可靠性，为后续香椿种质资源的开发利用和遗传育种研究提供了丰富的 SSR 分子标记资源。

参考文献：

[1] 陆长旬 , 张德纯 , 王德槟 . 香椿起源和分类地位的研究 [J]. 植物研究 ,2001,21(2):195-199.
LU C X, ZHANG D C, WANG D B. Origin and taxonomic position of Chinese toon [*Toona sinesis* (A. juss.) Roem][J]. Bulletin of Botanical Research,2001,21(2):195-199.

[2] 彭方仁 , 梁有旺 . 香椿的生物学特性及开发利用前景 [J]. 林业科技开发 ,2005,19(3):3-6.
PENG F R, LIANG Y W. Current situation and prospects on exploitation and utilization of *Toona sinensis*[J]. China Forestry Science and Technology,2005,19(3):3-6.

[3] 佟海姣 , 吕军 , 林志豪 , 等 . 不同海拔种植的上方山香椿营养品质的差异性分析 [J]. 农产品质量与安全 ,2023(3):8-14.
TONG H J, LYU J, LIN Z H, et al. Analysis of the differences in nutritional quality of Shangfangshan *Toona sinensis* planted at different altitudes[J]. Quality and Safety of Agro-Products, 2023(3):8-14.

[4] 冷天凤 , 田小琴 , 杨小红 , 等 . 不同种源香椿嫩芽营养成分差异分析 [J]. 四川林业科技 ,2024,45(4):123-130.
LENG T F, TIAN X Q, YANG X H, et al. Analysis on the difference of nutritional components in tender buds of *Toona sinensis* from different provenances[J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology,2024,45(4):123-130.

[5] 王米雪 , 圣志存 , 吴萌 , 等 . 香椿叶化学成分及药理作用研究进展 [J]. 林业科技通讯 ,2020(10):44-48.
WANG M X, SHENG Z C, WU M, et al. Advances in studies on chemical components and pharmacological effects of *Toona sinensis* leaves[J]. Forest Science and Technology,2020(10): 44-48.

[6] 史冠莹 , 赵丽丽 , 王晓敏 , 等 . 红油香椿生长期主要活性物质及挥发性成分动态变化规律 [J]. 食品科学 ,2022,43(2): 276-284.
SHI G Y, ZHAO L L, WANG X M, et al. Dynamic changes in major active substances and volatile components in *Toona sinensis* leaves during growth[J]. Food Science,2022,43(2):276-284.

[7] 刘玉梅 , 张家俊 , 任楚瑶 , 等 . 香椿老叶化学成分及生物活性研究进展 [J]. 山东化工 ,2024,53(16):90-92.
LIU Y M, ZHANG J J, REN C Y, et al. Research progress on chemical constituents and biological activities of old leaves of *Toona sinensis*[J]. Shandong Chemical Industry,2024,53(16): 90-92.

[8] CHANG H L, HSU H K, SU J H, et al. The fractionated *Toona sinensis* leaf extract induces apoptosis of human ovarian cancer cells and inhibits tumor growth in a murine xenograft model[J]. Gynecologic Oncology,2006,102:309-314.

[9] LIU H W, HUANG W C, YU W J, et al. *Toona sinensis* ameliorates insulin resistance *via* AMPK and PPARγ pathways[J]. Food & Function,2015,6:1855-1864.

[10] CHEN C J, MICHAELIS M, HSU H K, et al. *Toona sinensis* Roem tender leaf extract inhibits SARS coronavirus replication[J]. Journal of Ethnopharmacology,2008,120:108-111.

[11] YOU H L, CHEN C J, ENG H L, et al. The effectiveness and mechanism of *Toona sinensis* extract inhibit attachment of pandemic influenza A (H1N1) virus[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine,2013,2013:479718.

[12] 宋怡伟 , 赵志刚 , 韩成云 . 响应面法超声辅助提取香椿叶总黄酮及抑菌效果研究 [J]. 食品研究与开发 ,2019,40(23):153-158.
SONG Y W, ZHAO Z G, HAN C Y. Ultrasound-assisted extraction

of total flavonoids from *Toona sinensis* leaves by response surface methodology and bacteriostasis effect[J]. Food Research and Development,2019,40(23):153-158.

[13] 教忠意 , 郑纪伟 , 严瑞昌 , 等 . 多功能珍贵树种香椿的主要研究概述 [J]. 江苏林业科技 ,2019,46(6):51-56.
JIAO Z Y, ZHENG J W, YAN R C, et al. Research overview of the multifunctional precious tree species *Toona sinensis*[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology,2019,46(6):51-56.

[14] 于鹏飞 . 基于形态指标和 SSR 标记的香椿品种分类研究 [D]. 天津 : 天津科技大学 ,2019.
YU P F. Cultivar classification study of *Toona sinensis* based on morphological indexes and SSR markers[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology,2019.

[15] WANG C L, CAO J W, TIAN S R, et al. Germplasm resources research of *Toona sinensis* with RAPD and isoenzyme analysis[J]. Biologia,2008,63(3):320-326.

[16] JAYUSMAN J, NA'IEM M, INDRIOKO S, et al. Assessment of genetic diversity among surian *Toona sinensis* Roem in progenies test using random amplified polymorphic DNA markers[J]. Indonesian Journal of Biotechnology,2017,22(1):22-30.

[17] XING P Y, LIU T, SONG Z Q, et al. Genetic diversity of *Toona sinensis* Roem in China revealed by ISSR and SRAP markers[J]. Genetics and Molecular Research,2016,15(3):gmr.15038387.

[18] 陈倩倩 , 荣丽媛 , 邵紫君 , 等 . 利用 SRAP 和 EST-SSR 分析香椿资源的遗传多样性 [J]. 园艺学报 ,2018,45(5):967-976.
CHEN Q Q, RONG L Y, SHAO Z J, et al. Genetic diversity analysis of *Toona sinensis* germplasms based on SRAP and EST-SSR markers[J]. Acta Horticulturae Sinica,2018,45(5):967-976.

[19] 赵旭阳 . 基于 AFLP 的安徽省香椿种质资源遗传多样性研究 [D]. 合肥 : 安徽农业大学 ,2023.
ZHAO X Y. Genetic diversity of germplasm resources of *Toona sinensis* in Anhui Province based on AFLP[D]. Hefei: Anhui Agricultural University,2023.

[20] 于鹏飞 , 孙晓健 , 李晨晨 , 等 . 香椿染色体核型分析及 SSR 分子标记开发 [J]. 园艺学报 ,2019,46(6):1172-1182.
YU P F, SUN X J, LI C C, et al. Chromosome karyotype analysis and development of SSR molecular markers in *Toona sinensis*[J]. Acta Horticulturae Sinica,2019,46(6):1172-1182.

[21] 刘闵豪 , 肖兴翠 , 张春花 , 等 . 基于 SSR 的四川主要香椿种源遗传多样性分析 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2022,42(12):60-67.
LIU M H, XIAO X C, ZHANG C H, et al. Genetic diversity of *Toona sinensis* provenances in Sichuan Province revealed by SSR markers[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2022,42(12):60-67.

[22] 程建慧 , 廖荣俊 , 宋其岩 , 等 . 基于 SSR 标记分析浙西南香椿天然居群的遗传多样性 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2024,44(2):146-156,165.
CHENG J H, LIAO R J, SONG Q Y, et al. Genetic diversity analysis of *Toona sinensis* natural populations in southwest Zhejiang based on SSR markers[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2024,44(2):146-156,165.

[23] JI Y T, XIU Z H, CHEN C H, et al. Long read sequencing of *Toona sinensis* (A. Juss) Roem: a chromosome-level reference genome for the family Meliaceae[J]. Molecular Ecology Resources,2021,21:1243-1255.

[24] POREBSKI S, BAILEY L G, BAUM B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components[J]. Plant Molecular Biology Reporter,1997,15(1):8-15.

[25] LAWSON M J, ZHANG L Q. Distinct patterns of SSR distribution in the *Arabidopsis thaliana* and rice genomes[J]. Genome Biology,2006,7:R14.

[26] ZHANG Z H, DENG Y J, TAN J, et al. A genome-wide microsatellite polymorphism database for the indica and japonica rice[J]. DNA Research,2007,14:37-45.

[27] XU J, LIU L, XU Y B, et al. Development and characterization of simple sequence repeat markers providing genome-wide coverage and high resolution in maize[J]. DNA Research,2013,20:497-509.

[28] TÓTH G, GÁSPÁRI Z, JURKA J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis[J]. Genome Research, 2000,10:967-981.

[29] 童海浪 , 张华健 , 李健 , 等 . 四倍体油茶全基因组 SSR 位点开发与特征分析 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2024,44(3):126-135.
TONG H L, ZHANG H J, LI J, et al. Development and characterization of whole genome SSR in tetraploid *Camellia oleifera*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2024,44(3):126-135.

[30] 罗正英 , 胡鑫 , 吴转娣 , 等 . 蔗茅全基因组 SSR 标记特征分析与开发 [J]. 中国农业科学 ,2025,58(5):851-863.
LUO Z Y, HU X, WU Z D, et al. Genome-wide survey and development of novel SSR markers in *Erianthus fulvus*[J]. Scientia Agricultura Sinica,2025,58(5):851-863.

[31] ZALAPA J E, CUEVAS H, ZHU H Y, et al. 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.

[32] 裴宋雨 , 任志勇 , 焦振彬 , 等 . 香椿 *Toona sinensis* 微卫星富集文库构建及特性分析 [J]. 种子 ,2015,34(2):13-16,23.
PEI S Y, REN Z Y, JIAO Z B, et al. Construction and characterization of enriched microsatellite library from *Toona sinensis*[J]. Seed,2015,34(2):13-16,23.

[33] DAVEY J W, HOHENLOHE P A, ETTER P D, et al. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing[J]. Nature Reviews Genetics,2011,12:499-510.

[本文编校：谢荣秀]