



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105316329 B

(45)授权公告日 2018.09.11

(21)申请号 201510808205.7

(22)申请日 2015.11.20

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105316329 A

(43)申请公布日 2016.02.10

(73)专利权人 中国科学院昆明植物研究所
地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

(72)发明人 刘晓斌 李静 冯邦 杨祝良

(74)专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务
所(普通合伙) 53108

代理人 谢嘉

(51)Int.Cl.

C12N 15/11(2006.01)

C12Q 1/6895(2018.01)

C12Q 1/04(2006.01)

(56)对比文件

CN 104131007 A,2014.11.05,

CN 104131086 A,2014.11.05,

曾旭等人.金针菇基因组测序及萜类合成关键基因分析.《菌物学报》.2015,第34卷(第4期),670-682.

陆欢等人.金针菇种质资源5个农艺性状与SSR标记的关联分析.《农业生物技术学报》.2015,第23卷(第1期),96-106.

吴发红等人.几种真菌DNA提取方法的比较.《中国农学通报》.2009,第25卷(第8期),62-64.

审查员 李婧文

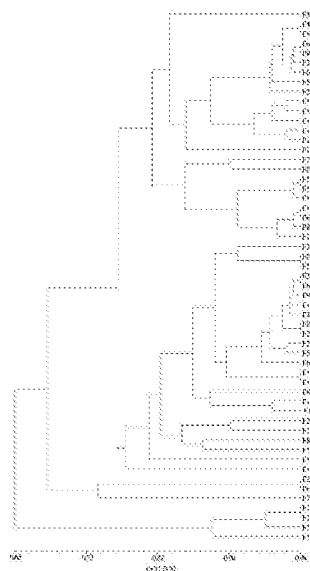
权利要求书1页 说明书18页 附图1页

(54)发明名称

金针菇SSR分子标记及其对应引物与应用

(57)摘要

本发明提供金针菇SSR分子标记及其对应引物与应用,金针菇SSR分子标记为序列表中SEQIDNO:1至SEQIDNO:13中的任意一个SSR位点;金针菇SSR分子标记位点两端的侧翼序列上开发的金针菇SSR引物具有序列表中SEQIDNO:14至SEQIDNO:39中所示的碱基序列。在已有金针菇基因组的基础上利用生物信息学方法对其基因组SSR位点进行检测并开发引物,利用不同金针菇菌株对这些SSR位点进行筛选后得到13对多态性较高的SSR分子标记,上述SSR分子标记可用于金针菇的种质资源鉴定、保护及品种选育。



1. 金针菇SSR分子标记和金针菇SSR引物在鉴别金针菇不同品种中的应用,所述的金针菇SSR分子标记为SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:13中所示的SSR位点;所述的金针菇SSR引物为SEQ ID NO:14至SEQ ID NO:39中所示的碱基序列。

金针菇SSR分子标记及其对应引物与应用

技术领域：

[0001] 本发明属于分子生物学DNA分子标记技术领域,具体涉及对金针菇不同菌株进行鉴定的SSR标记方法,金针菇SSR分子标记及其对应引物序列的开发与应用。

背景技术：

[0002] 金针菇*Flammulina velutipes*隶属于膨瑚菌科Physalacriaceae冬菇属*Flammulina*,是我国主要栽培食用菌种类之一,2012年我国金针菇年产量240 万吨,居世界第一位。然而,目前我国金针菇产业大而不强,菌种问题成为金针菇产业发展的瓶颈,具体表现为:在实际生产过程中常出现各单位引种途径不一,引种后各自取名、各自编号,出现很多同物异名现象。不合理的引种、育种往往造成品种质量低劣,损害菇农利益,侵犯品种权(张金霞等,2004;冯作山,2010)。为规范菌种开发和保护,开发一套快速有效的鉴别金针菇不同品种的方法已成为当务之急。

[0003] 目前,基于DNA序列的分子标记方法是DNA水平遗传多态性的直接反应,能有效对近缘种或种下不同个体进行准确鉴别(Freeland,2005)。相较于其它分子标记方法,SSR分子标记具有广泛分布于基因组的编码区及非编码区、共显性、多态性高、稳定性好、易于扩增等优点。随着越来越多的物种的基因组被测序,基于基因组序列,运用生物信息学的方法从基因组中直接开发SSR标记克服了基于实验手段开发SSR标记费时费力的缺点,该方法成为目前开发SSR标记的主流方法。因此,利用已有的金针菇基因组数据开发高分辨率的SSR标记对金针菇种质资源鉴定、保护及品种选育具有重要意义。

发明内容：

[0004] 本发明的目的在于提供一种对金针菇不同菌株进行准确鉴定的SSR标记方法,该方法为金针菇的种质资源鉴定、保护及品种选育提供有力工具。

[0005] 为了实现本发明的上述目的,本发明提供了如下的技术方案：

[0006] 金针菇SSR分子标记,其为序列表中SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:13中的任意一个SSR位点。

[0007] 在所述的金针菇SSR分子标记位点两端的侧翼序列上的金针菇SSR引物,其具有序列表中SEQ ID NO:14至SEQ ID NO:39中所示的碱基序列。

[0008] 如所述的金针菇SSR分子标记,其中所述金针菇SSR分子标记13个SSR 位点在55个金针菇样品中的等位基因数 N_a 为2-8个,平均4.2个,香浓多样性指数 I 平均值为0.821,观测杂合度 H_o 平均值为0.401,期望杂合度 H_e 平均值为0.455,多态性信息含量PIC平均值为0.426,13个SSR位点在金针菇样本中具有较高的多态性。

[0009] 如所述的金针菇SSR分子标记和金针菇SSR引物,其中所述的金针菇SSR 分子标记及对应SSR引物的的核苷酸序列如表1,

[0010] 表1 SSR位点及引物序列

[0011]

SSR 位点	SSR 位点序列	正向引物序列	反向引物序列
SSR2	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:15
SSR7	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:17
SSR15	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:18	SEQ ID NO:19
SSR21	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:21
SSR22	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:23
SSR23	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:24	SEQ ID NO:25
SSR32	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:27
SSR45	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:29
SSR87	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:30	SEQ ID NO:31
SSR95	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:32	SEQ ID NO:33
SSR107	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:35
SSR124	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:36	SEQ ID NO:37
SSR133	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:38	SEQ ID NO:39

[0012] 所述的金针菇SSR分子标记的开发方法,包括下述步骤:用生物信息学方法检测金针菇基因组序列中的SSR序列,选取部分SSR序列进行引物开发,运用不同金针菇菌株进行SSR位点的筛选,最终筛选出13对多态性较高的SSR分子标记,上述SSR标记及对应引物的核苷酸序列如表1。

[0013] 本发明还提供了所述的金针菇SSR分子标记和金针菇SSR引物在鉴别金针菇不同品种中的应用。

[0014] 所述应用是利用现有的金针菇基因组序列,用生物信息学方法检测其中的 SSR位点,选取部分SSR位点进行引物开发,用不同种类金针菇菌株进行SSR 位点筛选出多态性较高的SSR分子标记,通过运用不同SSR位点的荧光引物对不同种类的金针菇菌株的DNA进行PCR扩增,然后将PCR产物运用ABI3730 设备进行毛细管电泳,使用Genemapper软件分析SSR数据,通过对SSR数据比对鉴定出不同种类的金针菇菌株。

[0015] 对金针菇不同菌株进行鉴定的SSR标记及引物开发的方法,该方法包括下述步骤:运用软件MISA和Primer3设计金针菇基因组SSR位点及其引物,运用改良的CTAB法提取金针菇DNA,将所设计的SSR引物对金针菇DNA进行PCR 扩增、检测。

[0016] 如所述的 对金针菇不同菌株进行鉴定的SSR标记方法,该方法具体包括下述步骤:

[0017] 所述的金针菇基因组SSR位点开发及引物设计是从NCBI上下载金针菇基因组数据,运用软件MISA对其基因组SSR位点进行检测,运用软件Primer3 对被检测到的SSR位点在其上游及下游200bp范围内进行引物开发,引物开发条件为:引物长度在18bp-23bp之间,引物TM值在57-62之间,GC含量在 30%-70%之间。

[0018] 所述的金针菇基因组提取及检测中总DNA提取用改进的CTAB法:

[0019] (1) 用接种刀刮取培养皿中的菌丝,放于2ml离心管中,加入少量石英砂、PVP和

350 μ l在65 $^{\circ}$ C下预热的4 \times CTAB提取液,提取液内含0.2%的 β -巯基乙醇,研磨,菌丝磨匀后,再加入上述4 \times CTAB提取液400 μ l振荡混匀,在65 $^{\circ}$ C水浴锅中温浴2~4h,30min摇匀一次;

[0020] (2) 将温浴材料取出置于室温下,待其冷却到室温后加入750 μ l24:1氯仿-异戊醇,摇匀,12000r/min下离心10min;

[0021] (3) 将上清液转移到一新的2ml离心管中,加入等体积的氯仿-异戊醇,摇匀,12000r/min下离心10min;

[0022] (4) 将上清液转移到一新的2ml离心管中,加入80%体积的异丙醇,预冷至-20 $^{\circ}$ C,充分混匀,于-20 $^{\circ}$ C冰箱中放置1~2h;

[0023] (5) 自冰箱中取出,恢复到室温后,12000r/min下离心15min,弃上清液;

[0024] (6) 用500 μ l的70%的乙醇和无水乙醇各冲洗1~2次,每次12000r/min 室温离心1min后弃上清液,然后将离心管置于37 $^{\circ}$ C恒温箱中约20~30min,使乙醇充分挥发,或者开盖使其自然干燥,干燥后加入灭菌的蒸馏水;

[0025] (7) 用核酸浓度检测仪检测DNA浓度,将浓度调节至100ng/ μ l,置于-20 $^{\circ}$ C保存;

[0026] 所述的SSR位点的PCR扩增检测是从上述筛选到的SSR位点中随机选取 124个位点对8个不同来源的金针菇菌株进行初步筛选,检测扩增条带的有无, PCR反应体系为:100ng/ μ l的DNA模板1 μ l,25mg/ml BSA 1 μ l,10 \times PCRBuffer 2.5 μ l,dNTP10mm 0.5 μ l,正向引物5um 1 μ l,反向引物5um1 μ l,Taq酶0.3 μ l, ddH₂O15.7 μ l,PCR反应条件为:94 $^{\circ}$ C:4min,(94 $^{\circ}$ C30s,55 $^{\circ}$ C30s,72 $^{\circ}$ C30s) \times 35cycles,72 $^{\circ}$ C8min,PCR产物点样于1%浓度的琼脂糖胶中,放入1 \times TAE 缓冲液中进行电泳检测,经检测有109对引物在8个金针菇菌株中扩增出清晰明亮的条带,从中选取13对引物进行荧光引物合成,后将13对荧光引物及55个金针菇菌株DNA样品进行荧光引物扩增,并用ABI3730x1设备检测扩增产物,使用Genemapper软件分析、记录SSR数据;

[0027] 所述的SSR位点遗传多样性信息计算是将获得的SSR数据运用PopGene32 和PIC_CALC软件进行各位点的遗传多样性指标及多态性信息含量计算,结果如表2,13个SSR位点在55个金针菇样品中的等位基因数Na为2-8个,平均 4.2个,香浓多样性指数I平均值为0.821,观测杂合度Ho平均值为0.401,期望杂合度He平均值为0.455,多态性信息含量PIC平均值为0.426,结果表明13 个SSR位点在金针菇样本中具有较高的多态性;用软件NTsys 2.10e构建样品间的UPGMA树,结果如图1,13个SSR位点将55个金针菇菌株区分开,

[0028] 表2 13个微卫星位点的遗传多样性信息

	Locus	Na	I	Ho	He	PIC
	SSR7	4	1.088	0.745	0.610	0.564
	SSR2	4	1.05	0.564	0.591	0.544
	SSR15	2	0.632	0.400	0.440	0.359
	SSR21	7	1.461	0.436	0.691	0.713
	SSR22	8	1.357	0.455	0.681	0.649
[0029]	SSR23	3	0.599	0.418	0.359	0.364
	SSR32	8	1.294	0.236	0.592	0.567
	SSR45	3	0.835	0.455	0.491	0.432
	SSR87	3	0.752	0.400	0.481	0.399
	SSR124	4	0.815	0.436	0.507	0.437
	SSR133	6	0.856	0.200	0.409	0.434
	SSR95	3	0.752	0.600	0.481	0.415
[0030]	SSR107	6	0.629	0.309	0.277	0.374
	Mean	4.15	0.821	0.401	0.455	0.426

[0031] 与现有技术相比,本发明的有益效果在于:本发明利用现有的金针菇基因组序列,运用生物信息学方法检测其中的SSR序列,选取部分SSR序列进行引物开发,运用来自全国不同科研单位及公司的不同金针菇菌株进行SSR位点的筛选,最终筛选出13对多态性较高的SSR分子标记。提供了一种对金针菇不同菌株进行准确鉴定的SSR标记方法,开发出金针菇SSR分子标记,为金针菇的种质资源鉴定、保护及品种选育提供有力工具。

附图说明:

[0032] 图1为基于13个SSR位点对55个金针菇菌株构建的UPGMA树。

具体实施方式:

[0033] 下面结合附图,用本发明的实施例来进一步说明本发明的实质性内容,但并不以此来限定本发明。

[0034] 实施例1:

[0035] 本发明的序列表中1-13为金针菇基因组SSR位点SSR2、SSR7、SSR15、SSR21、SSR22、SSR23、SSR32、SSR45、SSR87、SSR95、SSR107、SSR124、SSR133的核苷酸序列(分别为SEQ ID NO:1-SEQ ID NO:13);

[0036] 序列表中14-40为金针菇基因组SSR位点的引物SSR2-F、SSR2-R、SSR7-F、SSR7-R、SSR15-F、SSR15-R、SSR21-F、SSR21-R、SSR22-F、SSR22-R、SSR23-F、SSR23-R、SSR32-F、SSR32-R、SSR45-F、SSR45-R、SSR87-F、SSR87-R、SSR95-F、SSR95-R、SSR107-F、SSR107-R、SSR124-F、SSR124-R、SSR133-F、SSR133-R 的核苷酸序列(分别为SEQ ID NO:14-SEQ ID NO:39)。

[0037] 1. 金针菇基因组SSR位点及引物开发:

[0038] 从NCBI上下载金针菇基因组数据,运用软件MISA对其基因组SSR位点进行检测,运用软件Primer 3对被检测到的SSR位点在其上游及下游200bp范围内进行引物开发,引物开发条件为:引物长度在18bp-23b之间,引物TM值在57-62之间,GC含量在30%-70%之间。

[0039] 2. 金针菇基因组提取及检测:

[0040] 总DNA提取采用改进的CTAB法,具体操作步骤如下:

[0041] (1) 用接种刀刮取培养皿中的菌丝,放入2ml离心管中,加入少量石英砂、PVP和350 μ l在65 $^{\circ}$ C下预热的4 \times CTAB提取液(内含0.2%的 β -巯基乙醇)研磨,菌丝磨匀后,再加入上述4 \times CTAB提取液400 μ l振荡混匀,在65 $^{\circ}$ C水浴锅中温浴2~4h(30min摇匀一次);

[0042] (2) 将温浴材料取出置于室温下,待其冷却到室温后加入750 μ l氯仿-异戊醇(24:1),摇匀,12000r/min下离心10min;

[0043] (3) 将上清液转移到一新的2ml离心管中,加入等体积的氯仿-异戊醇,摇匀,12000r/min下离心10min;

[0044] (4) 将上清液转移到一新的2ml离心管中,加入80%体积的异丙醇(预冷至-20 $^{\circ}$ C),充分混匀,于-20 $^{\circ}$ C冰箱中放置1~2h;

[0045] (5) 自冰箱中取出,恢复到室温后,12000r/min下离心15min,弃上清液;

[0046] (6) 用500 μ l的70%的乙醇和无水乙醇各冲洗1~2次,每次12000r/min 室温离心1min后弃上清液,然后将离心管置于37 $^{\circ}$ C恒温箱中约20~30min,使乙醇充分挥发(也可以开盖使其自然干燥)。干燥后加入灭菌的蒸馏水。

[0047] (7) 用核酸浓度检测仪检测DNA浓度,将浓度调节至100ng/ μ l,置于-20 $^{\circ}$ C保存。

[0048] 3. SSR位点的PCR扩增检测:

[0049] 从上述筛选到的SSR位点中随机选取124个位点对8个不同来源的金针菇菌株进行初步筛选,检测扩增条带的有无。PCR反应体系为:100ng/ μ l的DNA 模板1 μ l,25mg/ml BSA 1 μ l,10 \times PCR Buffer 2.5 μ l,dNTP(10mm)0.5 μ l,正向引物(5 μ m)1 μ l,反向引物(5 μ m)1 μ l,Taq酶0.3 μ l,ddH₂O15.7 μ l。PCR反应条件为:94 $^{\circ}$ C:4min,(94 $^{\circ}$ C30s,55 $^{\circ}$ C30s,72 $^{\circ}$ C30s) \times 35cycles,72 $^{\circ}$ C8min。PCR产物点样于1%浓度的琼脂糖胶中,放入1 \times TAE缓冲液中进行电泳检测。经检测发现有109对引物可在8个金针菇菌株中扩增出清晰明亮的条带,从中选取13对引物进行荧光引物合成,后将13对荧光引物及55个金针菇菌株DNA 样品送至昆明硕擎生物科技有限公司进行荧光引物扩增,并用ABI3730x1设备检测扩增产物,使用Genemapper软件分析、记录SSR数据。

[0050] 所述的SSR标记及对应引物的核苷酸序列如下:

[0051] SSR2,由SEQ ID NO:1所示的核苷酸序列组成:

[0052] CATGTTCTCCTCCGTCGTCGACGTTTCATCAAGGAGTTGGTGCACGCTCCTAAACCTATCGTCGAACATGAGCCCGTTTGTCTTCTCAGGCGTCTACGTCCATCGCCGAGCTGCACGCTCCTAAAACCGTGGTTCGAGCCGAGGTCAACCTTGACTTCTGCATGAACTGGTTCCAGGACAAAGAATACGAAGACGAGGACGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAGTTCGACGACGACGCCACCCTGCGCTGGATCCCCGCTGAATGGCAACAACCAGCTCACGAGCATGTCCTTCCTCGCATGGATCTTCCTCGACAAGTCGCAGTTCACAGCGTCTCATCAAGAACGCTCCAGTAGTCCCGGAATATACAGCCCTCCCGTCCCCCCTTACCATCACCTTTGCCGTTTCCTTCGCCACA

[0053] SSR7,由SEQ ID NO:2所示的核苷酸序列组成:

[0054] AAACGGAGAGTATTTTGGAGCGCCTTGGTATATGGGTGGTAAGTAGCCTAGTTCAGCCATAGGTACGCTAATCCGCTTGTTCATGTATGGTAGCGCGCTTCCCGAAGATTTTGTTCGAGAAACGATTCCACCTTTCCTTGTCTCCCGCATCCTCGTCAGATGAAAATAATTCGGAGCCACCGCCACCTCCCTTACCACGACCTCCTC

CTCCTCCTCCTCCTCCTCTACCCTTTGGTTCGGTGCCTGTGAAATATGAATCAACCTGCGATGAGCAT
GAGGGCTCGGACATATATTGACTTACACGAGTGACGCGAAGTGCGCAACCCATAACGAGGGAGACGCTA
GCGCCCAAAGCATGAAATACAGAGTCGATGTTTCGCATCCTTGTTATAGTTAATCGACCAGCGATATAG
ACGATGCAGA

[0055] SSR15,由SEQ ID NO:3所示的核苷酸序列组成:

[0056] ATCTTTGCTAGTGATGACGAGGACAGTGACGACGAGGGGGCGACTGAATCTAAGAAGGACGAGATGGAC
GTCGACGAACCCCACTAGAAAAGCCGAAGCCGATCTTCCCGGATGAACCTGTTGATATCAACACATTC
AAACCGACCTTCATACCGCGCGAAGGAAAGGCGAAGGAACGAGACTCTGAAAAGGATCCGGCGAAGAAG
AAGAAGAAGAAGAAAGACAAGGAGAAGAAGAAGGTTCTGGTTTCGTTTGCTATGGAGGAGGAAGGAGGT
GCAGACGTTGCTCCTACTCCAAAGAAGAAGAGACGGAAACAAAACAGGAGTGCAGACGATGATGACTCG
ATGTGGGTGGAGAAAGCTCCCCACCTATCGTGGCGTCTACTTTGCCATCAACCTTAGGGACCGATTTCG GCGGACG

[0057] SSR21,由SEQ ID NO:4所示的核苷酸序列组成:

[0058] ATTCAGGCCTCCGGTTCATGATACTTCTCTCAGCAGCCAACCGCGCGCAGCCTCAACGATTTT
TCCTTCATCTCGCTCCCCGAGGCCTTCAAACCGCGTTCGGTCTCGGTTCCCTGGTCCGTCGTCTGCGCT
TTCAAAGCCAAGAGTCGTTTTCTTAGATCTTCTGTTTTCGAAGCTGATCCTTGGCTTTGCGATGTTGTT
GTTGTTGTTGTTGTTGGGGTTGGAGGCTGAACGGGAAGGGGATCTTCCCTCCCCTTGCCCTTGACCTTG
AGATGGGCGTGAAGTGAAGTCCAGTGCCTGCGCGGGGACGTTTTGGGCGGTCCGGGAGAGGGAGAGGG
GGCGTGTCTGGAGGAAGAGGGCGGTGTGTCTAGGTCTAGAGGAAGAGACAGGTGCGGTGACGAGGATCTC CTGTGCC

[0059] SSR22,由SEQ ID NO:5所示的核苷酸序列组成:

[0060] CCGTCGATGGTGATCCCCTGTGCCAGCTCTTCGCCGTAGCAATATTACCAAACGCTCTGGCCGTGTTAT
ACTTCGTGTGTCAAGTTAACTTTAGCTCTCCCGTCAGCTTGACGCTTTATATGGCATAAATAAATGCT
TACATATGAGCCATTTCCACCGAACTGTGTCTCCAGTGTGCGTCGAATAACAACCTGACGGAGATGATG
ATGATGATGATGATAGGTACACAAGGACTCACGCTTACTTCACGTGAGTGCTCGCTCGCGCTGTTAAGC
GCGACTCGGAGTGCCCGCCAGTGTGCGATCCAGGGTTACCTAGGCGTCATGTACCTGAGCTTCTCCG
AGGGAACGAGGTGGCGCGATTCTACCTGCGCCACCTTTGAAAATATTGCCAGGCGACAAAGACGGTT TCACTCG

[0061] SSR23,由SEQ ID NO:6所示的核苷酸序列组成:

[0062] ACCAGAGTCGGTATATCCACCTCCGCGCAAGGTCATGTGACCTTTCGAGAAAGTATAACAAGTCATCGAC
GAGCCTAGCCCAGAGTCTGATACTGAAGAGGAAGAGCAGAACCTGACGGATACAGAGCCTAACACTGAG
GAGGAGGACATAGAAGGCGAGGAGCCTACTCACAAACCAATTCTGGTGTGAGGACAATATCGACGAC
GACGACGACGACGAAGGGGAGGAGGAACGAAGCGACAGTGCCAACGTACTAGTTAATCCTTTCACATCA
GAATCTGGTATGTCCATGTTTCCCCTGTCTACGACAATGCTAACCATTTGAGACAGACATTCCTTCGTT
CGGGTCTTTGGGACTGGAGCTGTTCCGAGGACTCTCGTTCAGCTGGCCCGTGCATGTCATGCTTCTGCA AGCCTGC

[0063] SSR32,由SEQ ID NO:7所示的核苷酸序列组成:

[0064] GGAGAAGGTGTTGAATGTTCCGTTTCTGTGGCTTCCCAATCCAAGTTCGCGAGAGAGAATATTTCCGA
GAGGCAGTCGTCGTTCAAGGTGTGATGAAGGTGGAAGGTAGTTGCATGACGCTGATGAAATGTGAGTC
AACGCACAGGAATTGAGTTGGGGGACACATACCTCGACATCGTAGAATGAAGGTAGGTGGAGTGGTGG
TGGTGGTGGTGGTGGTGGAGGTAGGAAAATGATCATATGTGTGTGGCTTTTGTATGCAAAGTGGCGTGTA
CGATCTGTTATTGTTTCAGCTCGGCAAATCAAAGTGGAAACAAACAACCGGTCTTACGGTCATTCATTCT
GAACAGCGGACTGAGCGCAATCTTCCCATTTCGCACATGACAACGAAAGAGAGCAATGTGTAGGGGTGGA

AGGGTCCCCG

[0065] SSR45,由SEQ ID NO:8所示的核苷酸序列组成:

[0066] CCCAACACCGGACATATACAATTAAGGGATGTCAAATATCTACTGCTACATATACAATATGAACAAAATCTCTACTAAGTAAATATAACACAAAATACAAAGCGCTCCAAAAAATAAAAAGCCCCATCAGGTATCACCC TCCCCGCTACCCCTTCAACAACCCACTTCATCCTCTCCACCGCACCAAGATGCCACGGCATAACCACCA CCACCACCACTCCGTCCACCCCCCATCCCCTTCAAACCCCCCAACACTGCCAACCCAAAATACGACCGC GTCACATCCCTAACCAACTCCTCATGCCCCCTCGCAGGATACACACACCCACAGACCGTATGACATGC ACAAGATGCACATGCACCATGCTCACATTCCCGCTCTCCGGCACCCGAATCAGTGTGAGCTCGCATGC G

[0067] SSR87,由SEQ ID NO:9所示的核苷酸序列组成:

[0068] CTTTGTGAATTTTCACTACATATCGTACTTACTGATTTCGCACTGAATGGTTGATTCTTCCCGCCCTCC TTTGAGTGTCTTTGACGGCTTCAGGATAGGAATGAAGTTGTTCACTTCGACACCGAAATCTGTGGAAA AGTATCAATGAGCTAGCCCGGGCCGCTTGTCCATGTCGTTCTCTGTTTCTTACCATCACTTGTCTCTCT CTCTCTCTAATATCATTTGCTAGACATGAATGGTAAGCTTATAAGACGTCTACTTCTCCTTCCAACCTCC GATTCAAAGAGGAAGGTCTCGAGGTCAATATCAACGACATACGTTAGTCTACACTTCCTTATCGAATCC TTTGCTGACATCTTCCAGCATTGTGAGATCAGTCAGCATTACTGTACATGTGAAGAATGATACCGTTC

[0069] SSR95,由SEQ ID NO:10所示的核苷酸序列组成:

[0070] TTTGTTGTTCTAAAGCTGAGCTTTGACTAGTTGGCGTTCCGACAACCTAGCGGTTGGCTTGGCTTTTG GGGCTATTTTGGATTGGGTGTAGAAATAACTTGTTAACTCTTGTTTTACGAAGAATCGACTAAGTCAAA TTTATCACCCCTCGCGGTGGGCTCCAAAATATGATGAGCAGTGCAAAGAACCACCAAATCACACAC ACACACACACTAACAAGTAGGCGTGGAAATGCAAGTCCGCTTCGATAGCGGGTCTGCTTTTTAATTGTT TAGAGTTCGATGAACTGGTCTTTGGGGTTTCGGGAAGGTATGGGGTTCGATTGCAACGGTTCAAAATG TATAACAAGTTCGAGGGTAACAGGGATCTGATCTTTAGTTGAAAACCTAGAGGCCAACAAAGAGTCACAG GC

[0071] SSR107由SEQ ID NO:11所示的核苷酸序列组成:

[0072] GCTCCTTTGTTGCGCGCTGGCAAGACGCGACGAGCTCTGATTCTACACGGACGCTTCGGTTACC TTGGCACTGGGAAGGACGATGGACATGGAATAGAGGTGTCCGAAATGCGAGCCATGTATGCGCTCTAGG TGCGTTGATCACCCTCTGCGCTCGTTTTTCTCATCCTTAGGCGATTTGCGCATAGGTGCATAGAGGAG AGAGAGAGACGCGAGTCATGTTAGCGTTCGATAGGTGTGTTTCAACGGCTCTGCGCTCTTTTTCTTTG CTCAGATAAGGTGCGATAGGTGCCAGAGCGCTGTCATTCCCCCTTCTCCATCACCTTCTACGAGCGC CAGACAGAGCTGTATAACCTGGCGGGATGCGCAAACCTCGTGCAACGAACGACCCGTCGCGGGCGAATGC AT

[0073] SSR124,由SEQ ID NO:12所示的核苷酸序列组成:

[0074] CATGATGAACAGAACAATGTACGCGAACAGAAAAGCTCGTCATAAGGCCAAAAAATTGAGAGGGTGCA TGGAGGTGGACCGGCCATTTGATTCAAATGACAGCTGTCCCGTCGACGTCATCCCCTATCCTCCACGAA AGTATAAAGGTCAACACGAACGACTGAACTTTCCCCCATCCCTCATACCTCATCATGTCATACAACAA CAACAACAACCTGATTCTACGGCTCGAACGACAACCTCGAACTCCTCCCGCAACGAGGATTTCGTCCAA CACCTACGGCGGTGGAGATCGCGAGTCTCCAACAACCTCTTCGTTCGTACGGCAATGATTCTCCGCTCG TGCTACGACCACTTCTCGTACGGGACAACGATCGTTCTTCTCCAACAACAACCTAACACCAACTC C

[0075] SSR133,由SEQ ID NO:13所示的核苷酸序列组成:

[0076] GACGTTACAGAAATGAACGTCGAGTGATTCAGGACGCTACGAGACCAATGCTATACGGATATTTAATT CTATCTAGTTTACTTACTATTCTTGCCTTATACCAACCTTATACTAAATGATGATCTACGTTGTTGAAG

TGCTTTAGCCGTCGGCCGATCGAATCCAGGCCTTCGCCTTGGTCTACGAACTAGCTCCTCTTCTCTCT
CTCTCTCATGTCGCAGTCAACAATCTCAACGACCTTTACAGAGTGCCTCCATCATCGCCTAGTGGATG
GATTGACTCGTCTCCCCATCATCACCTGGCGGAGAAGCCCCAGACATTAGCTTCGACCATCCCTATGC
TGGCTCTCAGAAGCTCACACGTAAACCGAAAGACTACGACCGGGAAGCGGTGGGTTTCAGGAAACCTCG

[0077] 上述SSR分子标记的引物序列分别为:

[0078] SSR2-F,由SEQ ID NO:14所示的核苷酸序列组成:

[0079] GCACGCTCCT AAACCTATCG

[0080] SSR2-R,由SEQ ID NO:15所示的核苷酸序列组成:

[0081] CGACTTGTCG AGGAAGATCC

[0082] SSR7-F,由SEQ ID NO:16所示的核苷酸序列组成:

[0083] ACGCTAATCC GCTTGTTTCAT

[0084] SSR7-R,由SEQ ID NO:17所示的核苷酸序列组成:

[0085] TCGCGTCACT CGTGTAAGTC

[0086] SSR15-F,由SEQ ID NO:18所示的核苷酸序列组成:

[0087] GATGACGAGG ACAGTGACGA

[0088] SSR15-R,由SEQ ID NO:19所示的核苷酸序列组成:

[0089] CCTCCTTCCT CCTCCATAGC

[0090] SSR21-F,由SEQ ID NO:20所示的核苷酸序列组成:

[0091] GAAGCTGATC CTTGGCTTTG

[0092] SSR21-R,由SEQ ID NO:21所示的核苷酸序列组成:

[0093] CTAGACACAC CGCCTCTTCC

[0094] SSR22-F,由SEQ ID NO:22所示的核苷酸序列组成:

[0095] TCTTCGGATG CTTTGGGAATC

[0096] SSR22-R,由SEQ ID NO:23所示的核苷酸序列组成:

[0097] TCGTTCTCTT TGCACACGTC

[0098] SSR23-F,由SEQ ID NO:24所示的核苷酸序列组成:

[0099] AAGTCATCGA CGAGCCTAGC

[0100] SSR23-R,由SEQ ID NO:25所示的核苷酸序列组成:

[0101] CGAACGAAGG GAATGTCTGT

[0102] SSR32-F,由SEQ ID NO:26所示的核苷酸序列组成:

[0103] CGTCGTTCAA GGTGTCGATG

[0104] SSR32-R,由SEQ ID NO:27所示的核苷酸序列组成:

[0105] GACCGTTGT TTGTTCCACT

[0106] SSR45-F,由SEQ ID NO:28所示的核苷酸序列组成:

[0107] CCCAACACCG GACATATACA

[0108] SSR45-R,由SEQ ID NO:29所示的核苷酸序列组成:

[0109] GTTGTTAGG GATGTGACGC

[0110] SSR87-F,由SEQ ID NO:30所示的核苷酸序列组成:

[0111] CGCTTGTTCCA TGTCGTTCTC

- [0112] SSR87-R,由SEQ ID NO:31所示的核苷酸序列组成:
- [0113] TGCTGACTGA TCTGACAATG C
- [0114] SSR95-F,由SEQ ID NO:32所示的核苷酸序列组成:
- [0115] ACAACTTAGC GGTTGGCTTG
- [0116] SSR95-R,由SEQ ID NO:33所示的核苷酸序列组成:
- [0117] CTATCGAAGC GGAAGTTCAT
- [0118] SSR107-F,由SEQ ID NO:34所示的核苷酸序列组成:
- [0119] ACACGGACGT CTTCGGTTAC
- [0120] SSR107-R,由SEQ ID NO:35所示的核苷酸序列组成:
- [0121] AGAGCCGTTG AAACACACCT
- [0122] SSR124-F,由SEQ ID NO:36所示的核苷酸序列组成:
- [0123] AATTGAGAGG GTGCATGGAG
- [0124] SSR124-R,由SEQ ID NO:37所示的核苷酸序列组成:
- [0125] GTGTTGGACG AATCCTCGTT
- [0126] SSR133-F,由SEQ ID NO:38所示的核苷酸序列组成:
- [0127] TGAACGTCGA GTGATTCAGG
- [0128] SSR133-R,由SEQ ID NO:39所示的核苷酸序列组成:
- [0129] GGAGACGAGT CAATCCATCC
- [0130] 4. SSR位点遗传多样性信息计算:

[0131] 将获得的SSR数据运用PopGene32和PIC_CALC软件进行各位点的遗传多样性指标及多态性信息含量(Polymorphism information content,PIC)计算,结果如表2,13个SSR位点在55个金针菇样品中的等位基因数(N_a)为2-8个,平均4.2个,香浓多样性指数(I)平均值为0.821,观测杂合度(H_o)平均值为0.401,期望杂合度(H_e)平均值为0.455,多态性信息含量(PIC)平均值为0.426,结果表明13个SSR位点在金针菇样本中具有较高的多态性。用软件NTsys 2.10e 构建样品间的UPGMA树,结果如图1,13个SSR位点可将55个金针菇菌株区分开。

[0132] 表2 13个微卫星位点的遗传多样性信息

	Locus	Na	I	Ho	He	PIC
	SSR7	4	1.088	0.745	0.610	0.564
	SSR2	4	1.05	0.564	0.591	0.544
	SSR15	2	0.632	0.400	0.440	0.359
	SSR21	7	1.461	0.436	0.691	0.713
	SSR22	8	1.357	0.455	0.681	0.649
	SSR23	3	0.599	0.418	0.359	0.364
[0133]	SSR32	8	1.294	0.236	0.592	0.567
	SSR45	3	0.835	0.455	0.491	0.432
	SSR87	3	0.752	0.400	0.481	0.399
	SSR124	4	0.815	0.436	0.507	0.437
	SSR133	6	0.856	0.200	0.409	0.434
	SSR95	3	0.752	0.600	0.481	0.415
	SSR107	6	0.629	0.309	0.277	0.374
	Mean	4.15	0.821	0.401	0.455	0.426

[0134] SEQUENCE LISTING

[0135] <110> 中国科学院昆明植物研究所

[0136] <120> 金针菇 SSR 分子标记开发

[0137] <130> 2015

[0138] <160> 39

[0139] <170> PatentIn version 3.3

[0140] <210> 1

[0141] <211> 430

[0142] <212> DNA

[0143] <213> 金针菇(*Flammulina velutipes*)

[0144] <400> 1

[0145] catgttctcc tccgctgteg acgttcatca aggagttggt gcacgctect aaacctatcg 60

[0146] tcgaacatga gcccgtttgt tcttctcagg cgtctacgtc catcgccgag ctgcacgctc 120

[0147] ctaaaaccgt ggtcgagccc gaggtcaacc ttgacttctg catgaactgg ttccaggaca 180

[0148] aagaatacga agacgaggac gaagaagaag aagaagaaga agaagaagaa gagttcgacg 240

[0149] acgacgccac cctgcgctgg atccccgctg aatggcaaca accagctcac gagcatgtcc 300

[0150] ttctctgeat ggatcttctt cgacaagteg cagttcacag cgtcgtcate aagaacgctc 360

[0151] cagtagtccc ggaatataca gccctcccgt ccccccttc accatcacct ttgcccgttc 420

[0152] cttegccaca 430

[0153] <210> 2

[0154] <211> 424

[0155] <212> DNA

[0156] <213> 金针菇(*Flammulina velutipes*)

[0157] <400> 2

[0158] aaacggagag tattttgagc gccttggtat atgggtgta agtagcctag ttccagccat 60

[0159]	aggtacgcta atccgcttgt tcatgtatgg tagcgcgctt cccgaagatt ttgtcgagaa	120
[0160]	acgattccac ctttcctttg tctcccgcac cctcgtcaga tgaaaataat teggagccac	180
[0161]	cgccacctcc cttaccaaga cctcctctc ctctcctcc tctctacecc tttggttccg	240
[0162]	gtgcctgtga aatatgaate aacctgcgat gagcatgagg gctcggacat atattgactt	300
[0163]	acacgagtga cgcgaagtgg cgaaccata acgagggaga cgctagcgcc caaaagcatg	360
[0164]	aaatacagag tcgatgttcg catccttgtt atagttaatc gaccagcgat atagacgatg	420
[0165]	caga	424
[0166]	<210> 3	
[0167]	<211> 421	
[0168]	<212> DNA	
[0169]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0170]	<400> 3	
[0171]	atctttgcta gtgatgacga ggacagtgc gacgaggggg cgactgaate taagaaggac	60
[0172]	gagatggacg tcgacgaacc cccactagaa aagccgaagc cgatcttccc ggatgaacct	120
[0173]	gttgataatca acacattcaa accgacctc ataccgcgcg aaggaaaggc gaaggaacga	180
[0174]	gactctgaaa aggatccggc gaagaagaag aagaagaaga aagacaagga gaagaagaag	240
[0175]	gttctggttt cgtttctat ggaggaggaa ggaggtgcag acgttgctcc tactccaaag	300
[0176]	aagaagagac ggaacaaaa caggagtgc gacgatgatg actcgatgtg ggtggagaaa	360
[0177]	gctccccac ctatcgtggc gtctactttg ccatcaacct tagggaccga ttcggcggac	420
[0178]	g	421
[0179]	<210> 4	
[0180]	<211> 421	
[0181]	<212> DNA	
[0182]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0183]	<400> 4	
[0184]	attcaggcct ccggttcatg atacttctc ttctcagcag ccaaccgcgc ggcgagcctc	60
[0185]	aacgattttt cttcatctc gctccccgag gccttcaaac cgcgttccgt ctcggttctc	120
[0186]	tggtccgtcg tctgcgcttt caaagccaag agtcgtttc ttagatcttc ctgtttcgaa	180
[0187]	gctgatecct ggctttgcga tgttgttgtt gttgttgtt ttggggttgg aggctgaacg	240
[0188]	ggaaggggat cttccctccc cttgcccttg acctgagat gggcgtgaag tgactccagt	300
[0189]	gcgctgcgcg ggggacgttt tgggcggtcc gggagaggga gaggggcgct gtctggagga	360
[0190]	agaggcggtg tgtctaggtc tagaggaaga gacaggtgcg gtgacgagga tctctgtgc	420
[0191]	c	421
[0192]	<210> 5	
[0193]	<211> 421	
[0194]	<212> DNA	
[0195]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0196]	<400> 5	
[0197]	ccgtcgatgg tgatcccctg tgccagctct tcgccgtage aatattacca aacgctctgg	60

[0198]	ccgtgttata cttcgtgtgt caagttaaac tttagctctc ccgtcagctt gcagctttat	120
[0199]	atggcataaa taaatgctta catatgagcc atttcaccg aactgtgtct ccagtgtgcg	180
[0200]	tcgaataaac aactgacgga gatgatgatg atgatgatga taggtacaca aggactcacg	240
[0201]	cttacttcac gtgagtgtct gctcgcgctg ttaagcgcga ctccggagtgc ccggccagtg	300
[0202]	tcgcatccag gggttaccta ggcgtcatgt acctgagctt ctccgagggga acgaggtggc	360
[0203]	gcgattccta cctgcgccac cttttgaaaa tattgccagg cgacaaagac ggtttcactc	420
[0204]	g	421
[0205]	<210> 6	
[0206]	<211> 421	
[0207]	<212> DNA	
[0208]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0209]	<400> 6	
[0210]	accagagtgc gtatatccac ctccgcgcaa ggtcatgtga cttttcgaga aagtatacaa	60
[0211]	gtcatcgacg agcctagccc agagtctgat actgaagagg aagagcagaa cctgacggat	120
[0212]	acagagccta aactgagga ggaggacata gaaggcgagg agcctactca caaaccaatt	180
[0213]	ctggtgatgg aggacaatat cgacgacgac gacgacgac aaggggagga ggaacgaagc	240
[0214]	gacagtgcc aactgactagt taatcctttc acatcagaat ctggtatgtc catgtttccc	300
[0215]	ctgtctacga caatgctaac cattgagaca gacattccct tcgttcgggt ctttgggact	360
[0216]	ggagctgttc ggaggactct cgttcagctg gccctgcat gtcattcttc tgcaagcctg	420
[0217]	c	421
[0218]	<210> 7	
[0219]	<211> 424	
[0220]	<212> DNA	
[0221]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0222]	<400> 7	
[0223]	ggagaaggtg ttgaatgttc cgtttctgtg gtttcccaa tccaagttcg cgagagagaa	60
[0224]	tatttcggag aggcagctgt cgttcaaggt gtcgatgaag gtggaaggta gttgcatgac	120
[0225]	gctgatgaaa tgtgagtcaa cgcacaggaa ttgagttggg ggacacatac ctcgacatcg	180
[0226]	tagaatgaag ggtaggtgga gtggtggtgg tgggtggtggt ggtggaggta ggaaatgatc	240
[0227]	atatgtgtgt ggcttttgta tgcaaagtgg cgtgtacgat ctgttattgt tcagctcggc	300
[0228]	aaatcaaaag tggaacaaac aaccggtctt acggtcattc attctgaaca gcggactgag	360
[0229]	cgcaatcttc ccattcgcac atgacaacga aagagagcaa tgtgtagggg tggaagggtc	420
[0230]	cccg	424
[0231]	<210> 8	
[0232]	<211> 415	
[0233]	<212> DNA	
[0234]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0235]	<400> 8	
[0236]	cccaacaccg gacatataca attaaggat gtcaaatac tactgctaca tatacaatat	60

[0237]	gaacaaaatc tctactaagt aaatataaca caaaatacaa agcgcctccaa aaaataaaaag	120
[0238]	ccccatcagg taccaccctc cccgctaccc cttcaacaa cccacttcac cctctccacc	180
[0239]	gcaccaagat gccacggcat accaccacca ccaccactcc gtccaccccc catccccttc	240
[0240]	aaacccccca acactgceaa cccaaaatac gaccgctca catccetaac caactcctca	300
[0241]	tgccccctcg caggatacac acaccccaca gaccgtatga catgcacaag atgcacatgc	360
[0242]	accatgctca cattcccgtc ctcggcacc cgaatcagtg tcgagctcgc atgcg	415
[0243]	<210> 9	
[0244]	<211> 414	
[0245]	<212> DNA	
[0246]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0247]	<400> 9	
[0248]	ctttgtgtaa ttttactac atategtact tactgattcg cactgaatgg ttgattcttc	60
[0249]	ccgcectcct ttgagtgttc tttgacggct tcaggatagg aatgaagttg ttcacttcga	120
[0250]	caccgaaatc tgtggaaaag tatcaatgag ctageccggg ccgcttgctc atgtcgttct	180
[0251]	ctgtttetta ccatcacttg tctctctctc tctetaatat catttgetag acatgaatgg	240
[0252]	taagcttata agacgtctac ttctcttcc aactccgatt caaagaggaa ggtctcgagg	300
[0253]	tcaatatcaa cgacatacgt tagtetacac ttccttatcg aatcctttcg ctgacatctt	360
[0254]	ccagcattgt cagatcagtc agcattactg tacatgtgaa gaatgatacc gttc	414
[0255]	<210> 10	
[0256]	<211> 416	
[0257]	<212> DNA	
[0258]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0259]	<400> 10	
[0260]	tttgttggtc taaagctgag ctttgactag ttggcgttc cgacaactta gcggttggtc	60
[0261]	tggcttttgg ggctattttg gattgggtgt agaaataact tgtaactct tgttttacga	120
[0262]	agaatcgact aagtc aaatt taccacct cgcggtgggc tccaaaatat gatgagcagt	180
[0263]	gcaaaagaac accacaaat cacacacaca cacactaa caagtaggagc tggaaatgca	240
[0264]	agtcgcttc gatagcgggt ctgcttttta attgtttaga gttcgatgaa ctggtctttg	300
[0265]	gggtttcggg aaggtatggg ggttcgattg caacggttca aatgtataa caagttcgag	360
[0266]	gggtaacagg gatctgatct ttagttgaaa actagaggcc aacaagagtc acaggc	416
[0267]	<210> 11	
[0268]	<211> 412	
[0269]	<212> DNA	
[0270]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0271]	<400> 11	
[0272]	gctcctttgt tgcgcgtgg caagacgca cgagctctga ttctacacgg acgtcttcgg	60
[0273]	ttaccttggc actgggaagg acgatggaca tggaatagag gtgtccgaaa tgcgagccat	120
[0274]	gtatgcgtc taggtgcgtt gatecaccact ctgcgtcgt tttctcacc cttaggcgat	180
[0275]	ttgcgcatag gtgcatagag gagagagaga gacgcgagtc atgttagcgt tcgataggtg	240

[0276]	tgtttcaacg gctctgcgct ctcttttctt tgctcagata aggtcgcata ggtgcccaga	300
[0277]	gcgctgtca ttcccccttc tccatcacct tctacgagcg ccagacagag ctgtataacc	360
[0278]	tggcgggatg cgcaaactcg tgcaacgaac gacccgctcg gggcgaatgc at	412
[0279]	<210> 12	
[0280]	<211> 415	
[0281]	<212> DNA	
[0282]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0283]	<400> 12	
[0284]	catgatgaac agaacaatgt acgcggaaca gaaaagctcg tcataaggcc caaaaattga	60
[0285]	gagggtgcat ggagggtggac cggccatttg attcaaatga cagctgtccc gtcgacgtca	120
[0286]	tcccctatcc tccacgaaag tataaaggtc aacacgaac actgaacttt cccccatcc	180
[0287]	ctcatactc atcatgtcat acaacaaca caacaactct gattcctacg gctcgaacga	240
[0288]	caactcgaac tctcccga acgaggatc gtccaacacc tacggcggtg gagatcgcga	300
[0289]	gtctccaac aactcttctg cgtacggcaa tgattctcc gctcgtgcta cgaccacttc	360
[0290]	ctcgtacggc gacaacgate gttcttctc caacaacaac tetaacacca actcc	415
[0291]	<210> 13	
[0292]	<211> 414	
[0293]	<212> DNA	
[0294]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0295]	<400> 13	
[0296]	gacgttcagg aatgaacgt cgagtgattc aggacgtcta cgagaccaat gctatacggc	60
[0297]	tatttaattc tatctagttt acttactatt cttgcctat accaacctta tactaaatga	120
[0298]	tgatctacgt tgttgaagtg ctttagccgt cggccgatcg aatccaggcc ttcgccttgg	180
[0299]	tctacgaaac tagctctctt tctctctctc tctcatgtcg cagtcaaca tctcaacgac	240
[0300]	ctttacagag tcgctccat catcgcctag tggatggatt gactcgtctc ccccatcatc	300
[0301]	acctggcgga gaagccccag acattagctt cgaccatccc tatgctggct ctcagaagct	360
[0302]	cacacgtaa cggaaagact acgaccggga agcgcgtggg ttcaggaaac ctcg	414
[0303]	<210> 14	
[0304]	<211> 20	
[0305]	<212> DNA	
[0306]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0307]	<400> 14	
[0308]	gcacgctcct aaacctatcg	20
[0309]	<210> 15	
[0310]	<211> 20	
[0311]	<212> DNA	
[0312]	<213> 金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0313]	<400> 15	
[0314]	cgacttgtcg aggaagatcc	20

[0315]	<210>	16	
[0316]	<211>	20	
[0317]	<212>	DNA	
[0318]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0319]	<400>	16	
[0320]		acgctaatacc gcttgttcat	20
[0321]	<210>	17	
[0322]	<211>	20	
[0323]	<212>	DNA	
[0324]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0325]	<400>	17	
[0326]		tcgcgtcact cgtgtaagtc	20
[0327]	<210>	18	
[0328]	<211>	20	
[0329]	<212>	DNA	
[0330]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0331]	<400>	18	
[0332]		gatgacgagg acagtgacga	20
[0333]	<210>	19	
[0334]	<211>	20	
[0335]	<212>	DNA	
[0336]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0337]	<400>	19	
[0338]		cctccttct cctccatagc	20
[0339]	<210>	20	
[0340]	<211>	20	
[0341]	<212>	DNA	
[0342]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0343]	<400>	20	
[0344]		gaagctgac cttggctttg	20
[0345]	<210>	21	
[0346]	<211>	20	
[0347]	<212>	DNA	
[0348]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0349]	<400>	21	
[0350]		ctagacacac cgcttcttc	20
[0351]	<210>	22	
[0352]	<211>	20	
[0353]	<212>	DNA	

[0354]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0355]	<400>	22	
[0356]	tcttcgatg	ctttggaatc	20
[0357]	<210>	23	
[0358]	<211>	20	
[0359]	<212>	DNA	
[0360]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0361]	<400>	23	
[0362]	tcgttctctt	tgcacacgtc	20
[0363]	<210>	24	
[0364]	<211>	20	
[0365]	<212>	DNA	
[0366]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0367]	<400>	24	
[0368]	aagtcacga	cgagcctagc	20
[0369]	<210>	25	
[0370]	<211>	20	
[0371]	<212>	DNA	
[0372]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0373]	<400>	25	
[0374]	cgaacgaagg	gaatgtctgt	20
[0375]	<210>	26	
[0376]	<211>	20	
[0377]	<212>	DNA	
[0378]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0379]	<400>	26	
[0380]	cgtcgttcaa	ggtgtcgatg	20
[0381]	<210>	27	
[0382]	<211>	20	
[0383]	<212>	DNA	
[0384]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0385]	<400>	27	
[0386]	gaccggttgt	ttgttccact	20
[0387]	<210>	28	
[0388]	<211>	20	
[0389]	<212>	DNA	
[0390]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0391]	<400>	28	
[0392]	cccaacaccg	gacatataca	20

[0393]	<210>	29	
[0394]	<211>	20	
[0395]	<212>	DNA	
[0396]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0397]	<400>	29	
[0398]		gttggtagg gatgtgacgc	20
[0399]	<210>	30	
[0400]	<211>	20	
[0401]	<212>	DNA	
[0402]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0403]	<400>	30	
[0404]		cgcttgcca tgcgttctc	20
[0405]	<210>	31	
[0406]	<211>	21	
[0407]	<212>	DNA	
[0408]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0409]	<400>	31	
[0410]		tgctgactga tctgacaatg c	21
[0411]	<210>	32	
[0412]	<211>	20	
[0413]	<212>	DNA	
[0414]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0415]	<400>	32	
[0416]		acaacttagc ggttgcttg	20
[0417]	<210>	33	
[0418]	<211>	20	
[0419]	<212>	DNA	
[0420]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0421]	<400>	33	
[0422]		ctatcgaagc ggacttgcac	20
[0423]	<210>	34	
[0424]	<211>	20	
[0425]	<212>	DNA	
[0426]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0427]	<400>	34	
[0428]		acacggacgt ctteggttac	20
[0429]	<210>	35	
[0430]	<211>	20	
[0431]	<212>	DNA	

[0432]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0433]	<400>	35	
[0434]		agagccgttg aaacacacct	20
[0435]	<210>	36	
[0436]	<211>	20	
[0437]	<212>	DNA	
[0438]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0439]	<400>	36	
[0440]		aattgagagg gtgcatggag	20
[0441]	<210>	37	
[0442]	<211>	20	
[0443]	<212>	DNA	
[0444]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0445]	<400>	37	
[0446]		gtgttgacg aatcctcggt	20
[0447]	<210>	38	
[0448]	<211>	20	
[0449]	<212>	DNA	
[0450]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0451]	<400>	38	
[0452]		tgaacgtcga gtgattcagg	20
[0453]	<210>	39	
[0454]	<211>	20	
[0455]	<212>	DNA	
[0456]	<213>	金针菇(<i>Flammulina velutipes</i>)	
[0457]	<400>	39	
[0458]		ggagacgagt caatccatcc	20

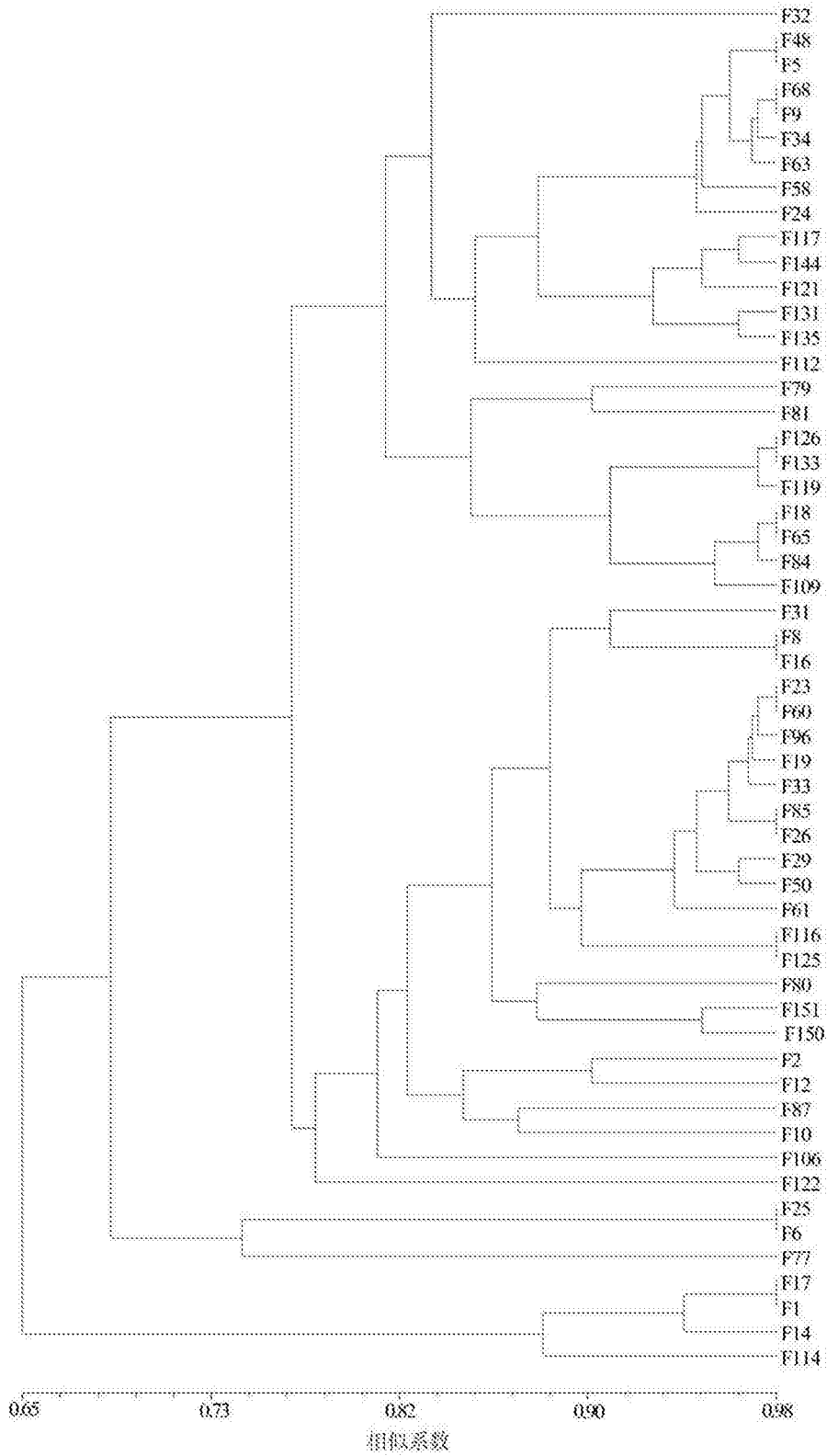


图1