

## 甘蓝 EST 资源的 SSR 信息分析

李建斌 王神云 王红 万雁玲 丁万霞

(江苏省农业科学院 蔬菜研究所,南京 210014)

**摘要** 为了开发甘蓝 EST-SSR 功能性标记,从 NCBI 公共数据库检索到 63 201 条甘蓝 ESTs,通过前处理和聚类去冗余后得到全长为 14 828.60 kb 的无冗余 ESTs 23 306 条。在这些序列中搜索出 3 085 个 SSRs,分布于 2 616 条 ESTs 中,出现频率是 13.24%,与甘蓝开花过程中相关的 EST-SSRs 出现的频率为 6.97%。这些 EST-SSRs 的平均长度为 23.11 bp,平均分布频率是 1/4.81 kb。在 1~6 核苷酸重复的基元中,二核苷酸重复和三核苷酸重复是主要类型,二者出现的频率基本相近,占总 SSR 的 79.09%。AG/CT 和 AAG/CTT 是二、三核苷酸中的优势重复类型,分别占二、三核苷酸重复的 79% 和 34%,对这些含 SSR 的 ESTs 进行 BLASTx 同源比较分析,发现 2 616 条 EST-SSRs 中 1 981 条在数据库中可以找到同源物,占 EST-SSRs 总数的 75.73%,功能已知的蛋白质中拟南芥来源的 EST-SSRs 所占比例最大,为 66.02%,同时针对与甘蓝开花相关的 EST-SSRs 进行功能分析。找到同源物的 1 981 条 EST 通过 GOA 进行功能分类,有 987 条可划分为生物过程、分子功能和细胞成分 3 大功能类群,其中与生物代谢相关的 EST-SSRs 数量最多,为 263 条,994 条未被功能注释。

**关键词** 甘蓝; EST; SSR; 功能分析

中图分类号 S 635.1

文章编号 1007-4333(2010)06-0034-08

文献标志码 A

## Analysis of SSR information in EST resource of cabbage

LI Jian-bin, WANG Shen-yun, WANG Hong, WAN Yan-ling, DING Wan-xia

(Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract** 63 201 ESTs of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) in the database of NCBI were downloaded and analysed, resulting in 23 306 non-redundant ESTs with total length about 14 828.60 kb. Totally 3 085 SSRs distributed in 2 616 ESTs were detected, which accounting for 13.24% of the non-redundant ESTs. The average length and distribution distance of the EST-SSRs were about 23.11 bp and 4.81 kb respectively. Dinucleotide and trinucleotide repeats with similar frequency are the main types, accounting for 79.09% of all the SSRs. AG/CT and AAG/CTT are the most frequent motifs, accounting for 79% and 34% in dinucleotide and trinucleotide repeats, respectively. In the 2 616 EST-SSRs, 1 981 EST-SSRs can be found in the database through BLASTx homology analysis, accounting for 75.73%. Most of the homologous with known functions were from *Arabidopsis thaliana*, and accounts for 66.02%. Functional classification by GOA, 1 981 ESTs can be divided into three major functional categories, biological processes, molecular functions and cellular components. It was found that 263 EST-SSRs were relevant to biological metabolism, and 994 of EST-SSRs were not functional annotated.

**Key words** cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*); express sequence tags (EST); simple sequence repeat (SSR); functional analysis

表达序列标签(expression sequence tag, EST)是通过大规模 cDNA 随机测序产生的,1 个 EST 代表生物体某种组织某一时期的 1 个表达基因,可以

说 EST 是基因的窗口,它能反映 mRNA 的信息,可代表生物体某种组织或细胞某一时间的 1 个表达基因,可间接获取基因功能信息<sup>[1]</sup>,且 EST 是开发遗

收稿日期:2010-06-28

基金项目:江苏省科技支撑计划项目(BE2008378);国家“863”计划项目(2006AA100108)

第一作者:李建斌,副研究员,主要从事甘蓝类蔬菜的遗传育种研究,E-mail:jbli0518@163.com

传标记 SSR (simple sequence repeat) 和 SNP (single nucleotide polymorphism) 潜在的资源。SSR 遗传位点广泛分布于所有原核生物和真核生物基因组中,具有分布丰富性、遗传共显性和技术简单性等特点,而且多态性十分丰富,已广泛用于遗传和物理图谱的构建、品种鉴定、基因定位、遗传多样性、植物分类和进化及比较基因组等方面的研究<sup>[2-3]</sup>。随着 EST 计划在不同物种间的扩展和深入研究,来源于不同物种、不同组织、不同细胞类型和不同发育阶段的 EST 数目急剧上升<sup>[4]</sup>,利用计算机程序对公共的 EST 数据库进行处理获得 SSRs 的成本显著降低,而且快速、简单。目前,许多作物如大麦、玉米、葡萄和油菜等<sup>[5-8]</sup>已经开发了大量的 EST-SSRs,并应用于遗传作图<sup>[9]</sup>和遗传多样性<sup>[10]</sup>等研究上。

甘蓝 (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) 属十字花科芸薹属,在世界各地普遍种植,在蔬菜周年供应以及出口贸易中占有重要地位。目前,我国甘蓝的年栽培面积达到 90 万  $\text{hm}^2$  左右,而且甘蓝公共数据库中的 EST 已经积累了很多,所以本文利用 MISA 软件分析甘蓝 EST-SSRs 的发生频率及特点,并进行功能信息分析,为甘蓝种质资源鉴定和改良提供信息资源,并为甘蓝分子标记辅助育种提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 甘蓝 EST 来源

甘蓝 EST 来自 NCBI(美国国家生物技术信息中心)数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>),共获得 63 201 条(截止 2010-05-15),同时进行与开花相关的 EST 搜索。

### 1.2 EST 前处理

采用 EST-trimmer 软件 ([http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/download/est\\_trimmer.pl](http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/download/est_trimmer.pl)) 除去 5' 端或 3' 端 50 bp 内存在重复 5 次和 5 次以上的 polyT 或 polyA,以及长度小于 100 的 EST 序列,对于长度大于 700 bp 的 EST 则保留其 5' 端 700 bp。

### 1.3 聚类去冗余

前处理后的 ESTs 通过 DANStar 软件中的 SeqMan II (版本 5.0, LASERGENE, DNASTAR, Inc.) 进行片段重叠群分析和聚类。装配

(Assembling) 时设定的参数设为: 最小序列长度 (minimum sequence length) 为 20 bp, 最小匹配百分比 (minimum match percentage) 为 95%。即在至少 20 个核苷酸的重复区域内, 最小匹配百分比大于 95% 的 EST 序列可得到拼接与延伸。对错误拼接序列设置比较高的装配参数再次进行拼接、判别, 共进行 3 次。

### 1.4 SSR 筛选

用 MISA 软件 (MicroSatellite) (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa>) 对聚类后的 ESTs 进行 SSR 搜索。筛选标准为: 单核苷酸和二核苷酸重复的次数分别大于或等于 16 次和 6 次; 三至六核苷酸的重复次数在 5 次或 5 次以上。同时, 也筛选中间被少数碱基 (间隔小于 10 或等于 10 bp) 打断的 (interrupted) 不完全重复的 SSR。

### 1.5 含 SSR 的 EST (SSR-ESTs) 功能分析

用 BLASTx (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) 对所获得的 SSR-ESTs 进行同源性比较, 序列比分值 (score) 大于等于 80 且序列同一性 (identity) 大于等于 35%,  $E$ -value 值要小于  $10^{-7}$ 。

通过基于 Uniprot 的基因功能分类体系数据库注释系统 (Gene Ontology Annotation, 简称 GOA) 进行功能分类。

## 2 结果与分析

### 2.1 甘蓝 EST 中出现 SSR 的频率

在无冗余的 ESTs 序列中共得到 3 085 个甘蓝 EST-SSRs, 其中完全重复的 SSRs 为 2 841 个, 不完全重复 SSRs 有 244 个, 这些 EST-SSRs 的平均长度是 23.11 bp, 出现频率 (检出的 EST-SSRs 个数与 EST 数目之比值) 是 13.24%。从分布情况看, 甘蓝 EST 中平均每 4.81 kb 就出现 1 个 SSR, 即平均距离 (EST 长度与 EST-SSRs 数目之比值), 但不同重复类型间有很大差异, 二核苷酸重复的平均距离最小, 为 11.72 bp (表 1)。搜索到与开花相关的 ESTs 有 287 条, 其中 20 条含有 SSR, 出现频率为 6.97%, 比总的 EST-SSRs 出现频率低。

从搜索到的甘蓝 EST-SSRs 中, 发现基元 5 次重复的出现频率最多, 有 754 个 SSRs; 6 次重复的出现 682 个 SSRs, 数目次之; 基元重复 7 次的有 383 个, 数目急剧减少; 直到基元 15 次重复的为止,

随着重复次数的增加 SSRs 出现的数目越来越少。但是基元大于或等于 16 次重复的又骤然增多到 653 个(图 1)。

表 1 SSRs 在甘蓝无冗余 EST 的出现频率

Table 1 Occurrence of SSRs in non-redundant cabbage ESTs

重复类型	数目	各类型比例/%	频率/%	平均距离/kb
单核苷酸	595	19.29	2.55	24.99
二核苷酸	1 265	41.00	5.43	11.72
三核苷酸	1 175	38.09	5.04	12.62
四核苷酸	25	0.81	0.11	45.63
五核苷酸	9	0.29	0.04	1 647.62
六核苷酸	16	0.52	0.07	926.79
总计	3 085	100.00	13.24	4.81

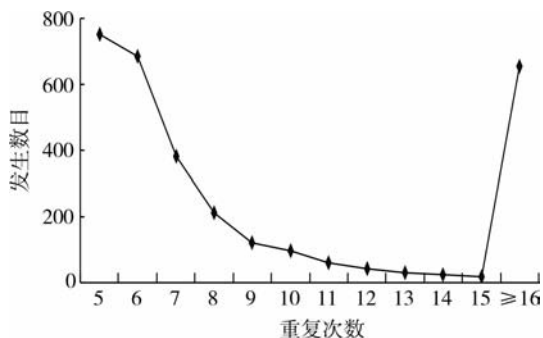


图 1 不同重复次数的 SSRs 的分布频率

Fig. 1 Frequency of SSRs different repeat times

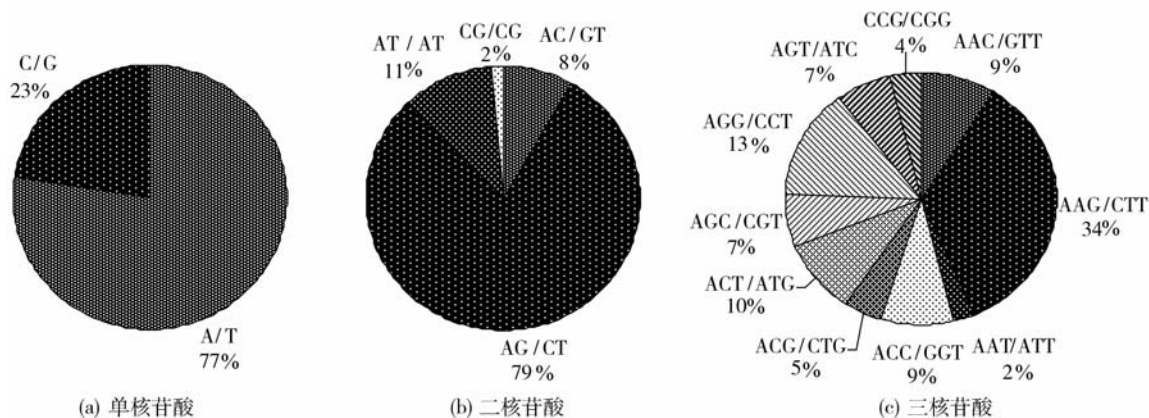


图 2 部分 SSRs 不同重复基元比例

Fig. 2 Percentage of different motifs in Partial SSRs

甘蓝的 EST-SSRs 种类较为丰富,一至六核苷酸重复类型都能检出,但各种类型出现的频率迥异。主要集中在一至三核苷酸重复上,占总 EST-SSRs 的 98.38%,其中二、三核苷酸最为常见,占总 SSRs 的 79.09%,且两者比例相近,各为 41% 和 38.09%,四至六核苷酸占比例很小,总计不足 2%,五核苷酸重复类型最少,为 0.29%(表 1)。

## 2.2 甘蓝 EST-SSR 的特性

在搜索出的甘蓝 EST-SSRs 中,共观察到 50 种基元,单核苷酸有 2 种,二核苷酸重复基元有 4 种,三、四、五、六核苷酸重复基元分别有 10、14、6 和 14 种(表 2)。

从出现频率来看,各种不同重复基元中出现最多的是 AG/CT,有 1 005 次,占总 SSRs 的 32.58%,接近 1/3;其次是 A/T 和 AAG/CTT 重复基元。二核苷酸重复基元中,AG/CT 出现的次数最多,占二核苷酸 SSRs 的 79.0%;在三核苷酸重复基元中 AAG/CTT 出现最多,占三核苷酸 SSRs 的 34%,其他 9 种重复基元所占比例接近 2/3;单核苷酸中 A/T 出现的次数明显比 C/G 多,两者比例为 3.44 : 1;五核苷酸重复基元出现的 6 个种类中,3 个各出现 2 次,其他 3 个各出现 1 次;六核苷酸重复基元比较多,但出现的次数很少,仅 1 ~ 2 次,五、六核苷酸重复基元中重复次数没有大于 7 的,四核苷酸重复基元中重复 8 次和 9 次的各有 1 个,大于 9 次的没有发生(图 2,表 2)。



续表

重复基元	重复次数												合计
	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	>16	
AATCG/AGCTT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AAAAAC/GTTTTT	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
AAACCG/CTTTGG	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AAAGAG/CTCTTT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AACATG/ACTTGT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AAGACG/CTGCTT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AAGAGG/CCTTCT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AAGATG/ACTTCT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AATCGT/AGCATT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ACCACG/CTGGTG	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ACCGCC/CGGTGG	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ACCTGC/ACGTGG	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
ACTCTC/AGAGTG	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AGGAGT/ATCCTC	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
AGGCGT/ATCCGC	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
合计	754	682	383	212	124	97	62	43	32	24	19	653	3 085

## 2.3 EST序列同源性比较分析及其推测编码产物的功能分类

### 2.3.1 EST序列翻译后同源性比较分析

利用BLASTx程序,将所有无冗余EST-SSRs以可能的6个开放阅读框进行翻译后与登录在NCBI非冗余蛋白数据库(nr)中的序列进行比对后发现,2 616条EST-SSRs中1 981条可以找到同源物,占EST-SSRs总数的75.73%。其中19.49%的EST-SSRs翻译的蛋白与推测的、假定的或功能未知的蛋白质序列有相似性。比对分值小于80及没有同源物的序列,与不包含人类和小鼠EST序列的est\_others数据库进行比对后,有635条(24.27%)EST-SSRs没有找到同源物(图3)。经统计BLASTx比对后的结果,还发现有少量EST-SSRs的比对产物为同一蛋白质产物的现象。

从物种来源看,在2 616条EST-SSRs中,功能已知蛋白质中拟南芥来源的有1727条,所占比例最大(66.02%);其次是油菜的58条(2.22%);再次是白菜和甘蓝的50条(1.91%);来源芥菜和盐芥的数量一样,均为15条(0.57%);其他植物的66条(2.52%)。24.27%的EST-SSRs没有找到相似的

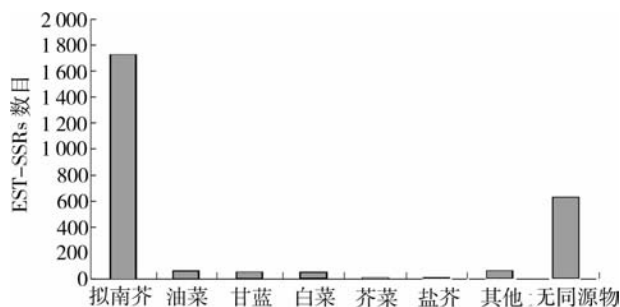


图3 EST-SSRs BLASTx 比对已知蛋白质植物来源

Fig. 3 Result of EST-SSRs BLASTx known protein of different

蛋白,来自甘蓝的蛋白质仅有50个(图3)。

从与某一性状相关来看,20条与甘蓝开花过程相关的EST-SSRs中,3条ESTs翻译蛋白没有找到与其相似的产物,占15%;4条与肌动蛋白同源性高;9条与蔗糖转运蛋白(Sucrose Transporter SUT)属同源物;1条与乙烯反应感应子(Ethylene Response Sensor,ERS)属同源物;1条与类囊体相连的抗坏血酸氧化酶(Thylakoid-bound Ascorbate Peroxidase)属同源物;1条与短营养期蛋白属同源

物(Short Vegetative Phase, SVP),另外 1 条属假定蛋白。

### 2.3.2 SSR-ESTs 的 GOA 功能注释

来源于基因转录部分的 EST-SSRs 中,其最大特点是可能具有某些特定功能。为了探讨所开发的 EST-SSRs 在甘蓝功能基因组中的作用,运用 BLASTX( $E$ -value 值要小于  $10^{-7}$ ) 在 Uniprot 数据库中对 2 616 条 SSR-EST 进行同源比对。基于 Uniprot 的基因功能分类体系数据库注释系统(GOA)进行功能分类,2 616 条含 SSR 位点的 ESTs 中有 1 981 条 ESTs 可划分为 3 大功能类,18

个功能亚类,涉及 987 项功能。其中 994 条未能在 Uniprot 数据库中找到与之匹配的序列,未被划分到 3 大功能类群中)。从表 3 看出,在与生物过程相关的 378 条 EST-SSRs 中,263 条(69.58%)是与代谢过程有关,其次是与细胞过程、生物调节、区域定位和应激反应有关。与分子功能相关的 306 条 EST-SSRs 中,55.56%与结合因子有关,32.35%与催化反应相关,与其他功能相关的占 12.09%。与细胞组分相关的 203 条 EST-SSRs 中,与细胞相关的占了 93.60%,与大分子复合物相关的占 5.42%,与细胞外区域相关的占 0.99%。

表 3 SSR-EST 的 GO 功能注释

Table 3 GO functional categories of SSR-EST

功能大类	GO 功能亚类	GO ID	GO 功能项	含 SSR 的 ESTs
生物过程	生物调节	0000075	2	6
	细胞过程	0000045	4	106
	区域定位	0006810	6	2
	代谢过程	0008152	13	263
	应激反应	0006950	20	1
分子功能	抗氧化	0016209	1	5
	结合因子	0005488	3	170
	催化反应	0003824	4	99
	酶调节因子	0004857	8	2
	分子传导因子	0003774	11	2
	结构分子	0005198	15	14
	转录调节因子	0003711	16	2
	翻译调节因子	0003746	17	5
	转运因子	0005215	18	7
细胞组分	细胞	0005622	1	190
	细胞外区域	0005576	6	2
	大分子复合物	0000786	8	11

## 3 讨论

### 3.1 甘蓝 EST-SSRs 分布频率和特征

从 23 306 条无冗余甘蓝 ESTs 条中搜索出 3 085 个 SSRs,分布于 2 616 条 EST 中,出现频率是 13.24%,高于 EST 文库中大约高达 2%~11%的 EST 序列中含有 SSR 的推测<sup>[11]</sup>,平均分布频率是

1/4.81 kb,密度大、频率高,高于拟南芥(1/14.9 kb)、大白菜(1/10.3 kb)、小麦(1/15.6 kb)、大豆(1/23.8 kb)<sup>[12]</sup>、但低于油菜(1/4.34 kb)<sup>[7]</sup>,可能是与甘蓝 ESTs 数目积累越来越多有关、或者与物种有关,再或者与搜索 SSR 的算法(如参数设定)等多种因素有关。

大多数植物的 EST-SSRs 以三核苷酸和二核苷

酸重复类型为主,但主要的重复基元类型有所差异。多数单子叶和双子叶植物以三核苷酸重复为主,但一些木本植物如茶树和猕猴桃则以二核苷酸为主<sup>[13-14]</sup>。甘蓝 EST-SSRs 在 1~6 核苷酸重复基元中,二、三核苷酸重复是主要类型,二者出现的频率基本相近,占总 SSR 的 79.09%,与大白菜(二、三核苷酸各约占 1/3)、油菜(二、三核苷酸重复出现的频率基本接近,占总 SSR 的 89.05%)和花生(三核苷酸重复基元的 SSRs 出现频率最高 49.23%,其次是二核苷酸 32.83%) EST-SSRs 特征相似<sup>[15-17]</sup>,但与小麦(二、三核苷酸重复单元的 EST-SSR 分别为 7.7%和 78.0%)的却不同<sup>[18]</sup>。甘蓝二、三核苷酸重复类型中主要重复基元 AG/CT 和 AAG/CTT 分别占二、三核苷酸重复的 79%和 34%,油菜 AG/CT 和 AAG/CTT 分别也是二、三核苷酸中的优势重复类型,分别占二、三核苷酸重复的 84.04%和 35.71%,大白菜则以 AAG/CTT 三核苷酸重复基元含量最高<sup>[15-16]</sup>,EST-SSRs 特征如此相似,可能与 3 种作物都属十字花科芸薹属有关。

从搜索到的甘蓝 EST-SSRs 中,发现重复基元以重复 5 次出现的频率最高,其次为 6 次,然后随着重复次数的增加 SSRs 的数目就越来越少,反倒大于或等于 16 次又骤然增多,可能与单核苷酸重复次数较多有关。

### 3.2 甘蓝 EST-SSR 功能分析

为了从所获得的大量 EST 数据中获取甘蓝的基因表达信息,本研究采用国际上比较通用的分析程序,在蛋白质水平上对 EST 进行 BLASTx 分析,挑选同源性最高的蛋白质作为 EST 最有可能的编码产物。BLASTx 分析是目前推测所得序列编码产物功能的最为快捷、准确的一种方法<sup>[19]</sup>。

利用 BLASTx 程序比对后发现 2 616 条 EST-SSRs 中 1 981 条在国际数据库中找到了同源物,占 EST-SSRs 总数的 75.73%,其中 19.49%的 EST-SSRs 翻译的蛋白与推测的、假定的或功能未知的蛋白质序列有相似性,这些蛋白的功能还没有进行更加透彻的分析,需要进一步试验;还有少量 EST-SSRs 的比对产物为同一蛋白质产物的现象出现,可能与 EST 数据属于不同的拷贝有关,或可能是 cDNA 序列稍有不同,但翻译蛋白却相似;发现其中的 635 条(24.27%)EST-SSRs 没有找到同源物,可以认为是首次报道的新基因片段,这些片段信息可以通过获得基因全长进行进一步的生物学功能

研究。

功能已知蛋白质中拟南芥来源的 EST-SSRs 所占比例最大 66.02%(1727/2616),虽然甘蓝与拟南芥的基因组存在着很大的相似性,但两者在基因表达水平上存在不同;油菜的占 2.22%、白菜和甘蓝的占 1.91%,芥菜和盐芥数量相同,占 0.57%。他们同属十字花科作物但却有很大差异,可能与不同作物得到的基因数量有很大关系;其他植物总共是 66 条 ESTs,占 2.52%,可能是甘蓝与其他植物的基因序列和表达方式上存在较大差异。来自甘蓝的蛋白质仅有 50 个,可能与甘蓝数据库中的数据有限有关;24.27%的 EST-SSRs 没有找到相似的蛋白,这部分序列对于研究甘蓝独特的发育和代谢途径以及进行遗传作图值得进一步研究。

搜索并处理后得到的 20 条 EST-SSRs 的序列中,有 9 条 ESTs 翻译蛋白与蔗糖转运蛋白属同源物,在甘蓝开花过程中的作用可能与烟草和番茄蔗糖转运蛋白作用相同,当 SUT 受到抑制时,功能叶输出蔗糖的能力减弱,花期推迟,开花数量减少,或者 SUT 直接参与花粉发育及花粉管形成的营养供给<sup>[20]</sup>;3 条 ESTs 翻译蛋白没有找到与其相似产物,可能是首次测序得到的 ESTs 序列;4 条 ESTs 翻译蛋白与肌动蛋白同源性高。搜索到与某一性状相关的 EST-SSRs 后可以进一步进行分子标记研究,有助于辅助育种,或者进行进一步的生物功能研究。

避免重复通过分析大量 EST 数据虽然可以预测和比较特定时期特定材料的基因表达情况,但只能停留在功能预测的水平上,要想真正搞清甘蓝某个特定时期或特定部位的特异基因的表达网络,还必须开展大量的分子生物学实验工作。

### 参 考 文 献

- [1] 于凤池. EST 技术及其应用综述[J]. 中国农学通报, 2005,21(2):54-58
- [2] Powell W, Machray G C, Provan J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. Trends Plant Sci,1996,7:215-222
- [3] Morgante M, Olivieri A M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics [J]. Plant J,1993,3: 175-182
- [4] 姜春芽,廖娇,徐小彪,等. 植物 EST-SSR 技术及其应用[J]. 分子植物育种,2009,7(1):125-129
- [5] Yu J, Lu H, Bernardo R. Inconsistency between SSR

- groupings and genetic backgrounds of white corn inbreds [J]. *Maydica*, 2001, 46: 133-139
- [6] 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: 1441-1452
- [7] 李小白, 张明龙, 崔海瑞. 油菜 EST 资源的 SSR 信息分析 [J]. *中国油料作物学报*, 2007, 29(1): 20-25
- [8] Scott K D, Egger P, Seaton G, et al. Analysis of SSRs derived from grape ESTs [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 723-726
- [9] Thiel T, Michalek W, Varshney R K, et al. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley *Hordeum vulgare* L. [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106(3): 411-422
- [10] 陈俊意, 徐莉. 玉米自交系遗传多样性的 SSR 分析 [J]. *西南农业学报*, 2009, 22(1): 29-33
- [11] Cordeiro G M, Casu R, McIntyre C L, et al. Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* spp.) ESTs cross transferable to erianthus and sorghum [J]. *Plant Sci*, 2001, 160: 1115-1123
- [12] Gao Li-feng, Tang Ji-feng, Li Hong-wei, et al. Analysis of microsatellites in major crops assessed by computational and experimental approaches [J]. *Mol Breed*, 2003, 12: 245-261
- [13] Varshney R K, Graner A, Sorrells M E. Genomic microsatellite markers in plants: Features and applications [J]. *Trends Bio Technol*, 2005, 23: 48-55
- [14] Eujayl I, Sledge M K, Wang L. *Medicago truncatula* EST-SSRs reveals cross-species genetic markers for *Medicago* spp [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 414-422
- [15] 葛佳, 谢华, 崔崇士, 等. 大白菜表达序列标签 SSR 标记分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2005, 13(4): 423-428
- [16] 李小白, 张明龙, 崔海瑞. 油菜 EST 资源的 SSR 信息分析 [J]. *中国油料作物学报*, 2007, 29(1): 22-25
- [17] 柳展基, 孙萍, 步迅. 花生 EST 资源的 SSR 信息分析 [J]. *花生学报*, 2008, 37(4): 6-11
- [18] 陈军方, 任正隆, 高丽峰, 等. 从小麦 EST 序列中开发新的 SSR 引物 [J]. *作物学报*, 2005, 31(2): 154-158
- [19] Shen B, Carneiro N, Torres J I, et al. Partial sequencing and mapping of clones from two maize cDNA libraries [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 26: 1085-1101
- [20] 张立军, 李晓宇, 阮燕晔. 双子叶与单子叶植物蔗糖转运蛋白的研究进展 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2008, 39(3): 259-264