

华仁杏幼果转录组 SSR 信息分析 及其分子标记开发

赵 罕¹, 高福玲², 郭欢欢³, 乌云塔娜¹, 朱高浦¹

(¹中国林业科学研究院经济林研究开发中心, 郑州 450003; ²河南省经济林和林木种苗工作站, 郑州 450003; ³郑州植物园, 郑州 450042)

摘要: 为了解华仁杏微卫星 (SSR) 分布规律, 开发 EST-SSR 引物, 为华仁杏种质资源评价与辅助育种提供有效的鉴定标记。本研究采用生物信息学方法对华仁杏幼果转录组 SSR 位点的数量、频率、分布特征进行了统计分析; 利用转录组数据进行了 SSR 引物的筛选和开发, 并利用开发出的引物对华仁杏 29 个无性系进行了多态位点检测和鉴定。结果表明: 华仁杏幼果 EST-SSR 的分布频率为 19.21%, 重复单元的重复次数分布在 5~24 次之间, 优势重复基序为单核苷酸、2 核苷酸、3 核苷酸, 分别占总 SSR 的 19.81%、46.47%、32.49%。参试的 139 对引物中有 39 对引物可扩增出目标序列, 其中 24 对引物可检测出多态性位点, 占参试引物总数的 17.27%。24 对引物在 29 个华仁杏无性系中共检测出了 170 个等位基因位点, 多态性信息含量 (PIC) 介于 0.33~0.87 之间, 平均为 0.64, 其中高多态性引物 19 条, 占多态性引物比例的 79.2%。本研究对华仁杏转录组 SSR 信息进行了分析, 并开发出了 19 对高多态性 SSR 引物, 5 对中多态性引物, 为华仁杏种质资源评价及分子标记辅助育种提供了基础。

关键词: 华仁杏; 微卫星; 转录组

De Novo Transcriptomic Analysis and Development of EST-SSRs for Huaren Apricot

ZHAO Han¹, GAO Fu-ling², GUO Huan-huan³, WUYUN Ta-na¹, ZHU Gao-pu¹

(¹Non-timber Forestry Research and Development Center, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003;

²Henan Workstation of Non-timber Forestry and Seedling, Zhengzhou 450003; ³Zhengzhou Botanical Garden, Zhengzhou 450042)

Abstract: The objective of this study was to unlock the microsatellites (SSR) for developing EST-SSR primers, which might be useful in evaluation of apricot germplasm resource and marker-assisted breeding. In this study, by bioinformatics analysis, we explore the number, frequency and distribution of SSR loci in the transcriptome dataset of young apricot fruit. The developed SSR primer sets were tested using 29 clones of Huaren apricot. The results showed that the frequency of EST-SSR was 19.21% and the repetitive number of repeat units was between 5 and 24 times. The predominant repeat motifs included single nucleotide, dinucleotide and trinucleoside, with a proportion of 19.81%, 46.47%, 32.49%, respectively. By synthesizing and testing 139 pairs of primers, 39 pairs of primers could produce PCR fragments. Twenty-four of primer combinations were polymeric and amplified 170 alleles among 29 clones of Huaren apricot. Within this test population, the PIC ranged from 0.33 to 0.87 with an average of 0.64. Thus, this work by analyzing transcriptome datasets revealed 19 pairs of SSR primers with high polymorphism and five with moderate polymorphism. These newly-generated SSR primers might be useful resource in evaluation of the Huaren apricot germplasm resource and marker-assisted breeding.

Key words: Huaren apricot; SSR; transcriptome

修回日期: 2018-02-22 修回日期: 2018-03-26 网络出版日期: 2018-07-05

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180705.0859.001.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31500552); 中国林业科学研究院基本科研业务费专项资金项目 (CAFYBB2016QB016); 国家林木 (含竹藤花卉) 种质资源平台 (2005DKA21003)

第一作者研究方向为林木遗传育种。E-mail: zdh707@163.com

通信作者: 朱高浦, 研究方向为林木遗传育种。E-mail: zhugaopu@163.com

华仁杏 (*Armeniaca cathayana* D. L. Fu *et al.*) 是 2010 年发现的杏属新种^[1-3], 主要分布在河北省张家口市的逐鹿、宣化、蔚县等地。该种特点主要是仁大、饱满、壳薄、出仁率高, 是仁用杏的主要栽培类型, 同时华仁杏能够在土壤含水量 4% ~ 5% 的区域正常生长结实, 是我国三北地区少有的生态经济型树种; 具有较高的经济价值和开发利用前景^[4]。随着仁用杏良种培育和种质资源开发利用的不断加深, 针对华仁杏的资源评价和育种工作也在不断的受到重视, 但由于基因组信息研究的缺乏, 人们对其遗传信息了解仍较少, 目前人们所使用的分子标记多为近缘物种筛选而来, 并且很多标记开发精度有限, 导致在使用时针对性或重复性较差, 难以满足资源评价和育种工作的需求。

分子标记是以核苷酸序列变异为基础的遗传标记, 是反映生物个体或种群间基因组中某种差异的特异性 DNA 片段。通过对这些片段的检测, 可直接反映基因组间的遗传差异^[5-7]。微卫星 (SSR) 是由 1 ~ 6 个核苷酸为基本单位组成的串联重复序列, 于 1974 年首次发现于寄居蟹的基因组, 并于 1986 年用于人的指纹分析。目前, 微卫星标记已成为使用最为广泛的分子标记之一, 以其多态性高、等位基因辨别明确、重复性好、共显性遗传、检测手段简单快速等优点被广泛应用于遗传多样性研究、遗传图谱构建及种质鉴定等领域^[8-9]。

根据来源的不同, 微卫星可分为基因组微卫星 (Genomic-SSR) 和表达序列标签微卫星 (EST-SSR) 两大类。基因组微卫星的开发是基于基因组序列, 通过文库构建、文库重复序列杂交筛选、阳性克隆测序等一系列步骤而成, 开发过程复杂, 成本较高^[10-12]。表达序列标签微卫星是基于基因转录区中含有微卫星的序列开发而来; 由于转录组测序和公共数据库可以为表达序列标签微卫星的开发提供大量的可利用资源, EST-SSR 开发相对具有较低的成本和较高的效率^[13-16]。本研究以华仁杏幼果转录组测序数据为基础, 对华仁杏 EST-SSR 的分布规律和特点进行了分析, 对 EST-SSR 引物进行了批量设计和开发, 并使用毛细管荧光电泳对开发引物进行了验证和分析, 为华仁杏遗传评价标记的开发和资源评价提供了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

转录组测序样本来源于 7 年生华仁杏品种中仁

1 号, 授粉后 30d 正常生长幼果。测序时每株树采集 4 个幼果, 共对 3 株树的幼果进行了取样, RNA-Seq 转录组测序试验委托联川生物技术有限公司进行。测序结果组装采用 De Novo 的方法^[17], 组装后共得到 25692 条 Unigene, 作为微卫星标记开发的基础数据。SSR 分子标记扩增试验及位点检测分析所用的样本来自华仁杏品种 (优 1、丰仁、迟梆子、国仁、80D05、一窝峰、薄香甜、B1、B3、B5、B6、超仁、9803、79713) 及无性系 (11H17、11L23、11X01、11Y09、11Z02、11Z12、11Z15、7-6、7-7、11-1、11-6、14-1、15-7、19-17、23-5)。

1.2 试验方法

1.2.1 样本 DNA 提取 每个品种或无性系取 1 ~ 2 片嫩叶, 采用 TIANGEN 试剂盒 DP305 对叶片进行 DNA 提取, 采用琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 检测提取的 DNA 浓度和质量, DNA 提取后 -20 °C 保存备用。

1.2.2 转录组微卫星位点的鉴别和引物设计 以转录组测序数据为基础, 采用 MISA 软件进行微卫星位点查找, 查找标准为 2、3、4、5、6 核苷酸的最小重复次数分别为 6 次、5 次、5 次、5 次、5 次。用 Primer3 软件进行引物批量设计。设计标准为: 微卫星位点侧翼序列长度 ≥ 50 bp; PCR 产物大小在 100 ~ 350 bp; 引物长度在 18 ~ 26 bp; 引物 T_m 在 55 ~ 70 °C 之间; 上下游引物的 $T_m \leq 2$ °C; GC 含量在 40% ~ 60% 之间。引物设计过程中尽量避免错配和引物二聚体的出现, 引物设计完成后在数据库中对引物进行 Blast 验证。

1.2.3 引物筛选与 PCR 扩增 经过评估和筛选, 最终合成 139 条引物用于 PCR 扩增, 微卫星位点主要分布在 2 ~ 5 个核苷酸重复单元。PCR 反应体系为 20 μ L, 其中 2 \times Taq Master Mix 10 μ L; 10 μ mol/L 的正反向引物各 0.5 μ L; ddH₂O 8 μ L; 50 ng/ μ L 的 DNA 模板 1 μ L。扩增程序为 95 °C 预变性 5 min; 然后进行 33 个循环, 每个循环包括 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s (退火温度因不同引物而异), 72 °C 延伸 30 s; 最后 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物首先用 2% 琼脂糖凝胶电泳进行初步检测, 舍去没有条带的或扩增效果不好的引物, 然后将引物进行荧光标记后用毛细管电泳进行多态性筛选, 并进行多态性分析。

1.2.4 数据分析 每对引物作为 1 对等位基因位点, 统计等位基因数量并利用 Power Marker V3.25 软件^[18]计算引物多态性信息量 (PIC), 使用 POP-

GENE32 软件计算群体有效等位基因数、Shannon's 信息指数、观测杂合度、期望杂合度、Nei's 期望杂合度等多样性指数。

2 结果与分析

2.1 微卫星位点的数量与分布

从华仁杏幼果的 25692 条 Unigene 序列中共发现了 4937 个微卫星位点。微卫星序列的发生频率为 19.21%, 平均每 28.8 kb 出现一个微卫星。幼果转录组中微卫星的重复基元长度介于 1~5 个核苷酸重复类型, 主要以 2、3 核苷酸重复类型为主, 占总

量的 78.96% (表 1)。

华仁杏幼果转录组微卫星重复基元的重复次数分布在 5~24 次之间, 其中 5~12 次重复的次数最多, 占总重复次数的 95.0%。各重复基元的数量随着重复次数的增加均呈现下降趋势, 单核苷酸重复 10 次以上的位点有 542 个, 占单核苷酸重复的 55.4%; 2 核苷酸重复 10 次以上的位点有 195 个, 占 2 核苷酸重复的 8.5%; 3 核苷酸最多重复次数为 8 次, 4 核苷酸和 5 核苷酸最多重复次数分别为 6 次和 5 次 (表 1)。

表 1 华仁杏幼果转录组微卫星类型、数量及分布频率

Table 1 The types, number and distribution frequency of microsatellites explored from the transcriptome dataset in young fruit of Huaren apricot

重复类型 Repeat type	重复次数 Repeat times									总计 Total	百分比 (%) Percentage
	5	6	7	8	9	10	11	12	≥12		
单核苷酸 Single nucleotide						436	177	118	247	978	19.81
2 核苷酸 Dinucleotide		593	363	361	380	402	179	16	0	2294	46.47
3 核苷酸 Trinucleotide	884	411	273	36	0	0	0	0	0	1604	32.49
4 核苷酸 Tetranucleotide	33	18	0	0	0	0	0	0	0	51	1.03
5 核苷酸 Five nucleotides	10	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0.20
总计 Total	927	1022	636	397	380	838	356	134	247	4937	
百分比 (%) Percentage	18.78	20.70	12.88	8.04	7.70	16.97	7.21	2.71	5.00		

2.2 微卫星类型及分布特点

微卫星出现频率上, 各类型出现次数具有较大差别, 单碱基重复中 A/T 碱基重复位点出现频率较多, 占单碱基重复位点的 98.47%。2 碱基重复中 AG/CT 碱基重复位点出现频率最多, 占 2 碱基重复的 48.78%; CG/GC 碱基重复位点出现频率较少, 仅各有 1 个重复位点。3 核苷酸重复中 GAA/TTC 碱基重复位点出现频率较多, 占 3 碱基重复的 11.53%; GTA、ACT/AGT 等碱基重复位点出现较少, 仅出现 1~2 次 (图 1)。

2.3 微卫星引物的筛选与验证

通过引物批量设计, 共设计出 4140 对符合条件的微卫星引物, 从中挑选出 139 对具有较高微卫星重复次数的引物进行进一步的试验验证, 结果表明, 参试的 139 对引物中, 有 61 对引物可扩增出琼脂糖凝胶电泳条带 (图 2), 进一步用毛细管电泳检测表明, 39 对引物可扩增出目的条带 (图 3), 其中有 24 对引物可检测出多态性位点 (表 2), 多态性位点占引物总数的 17.27%。

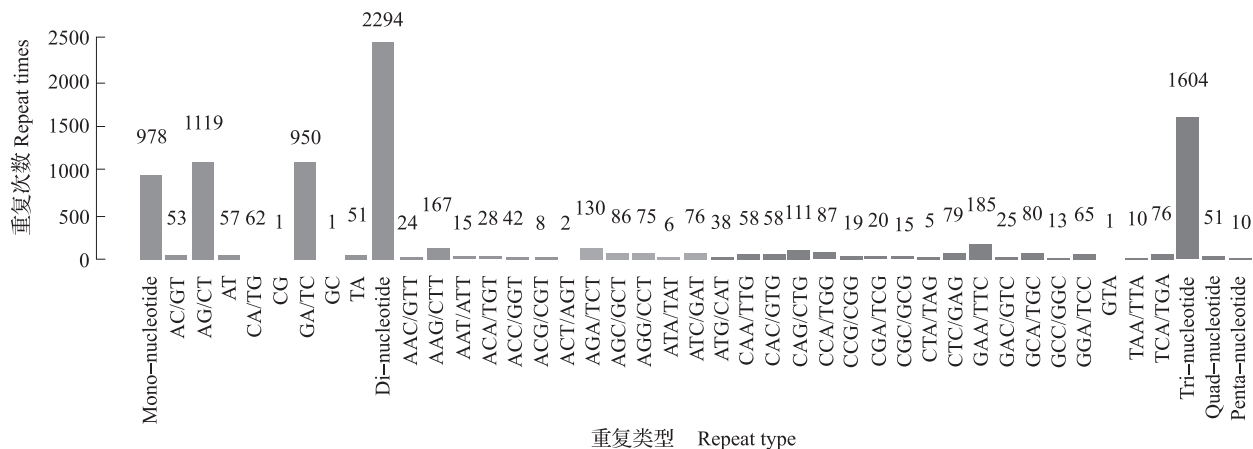


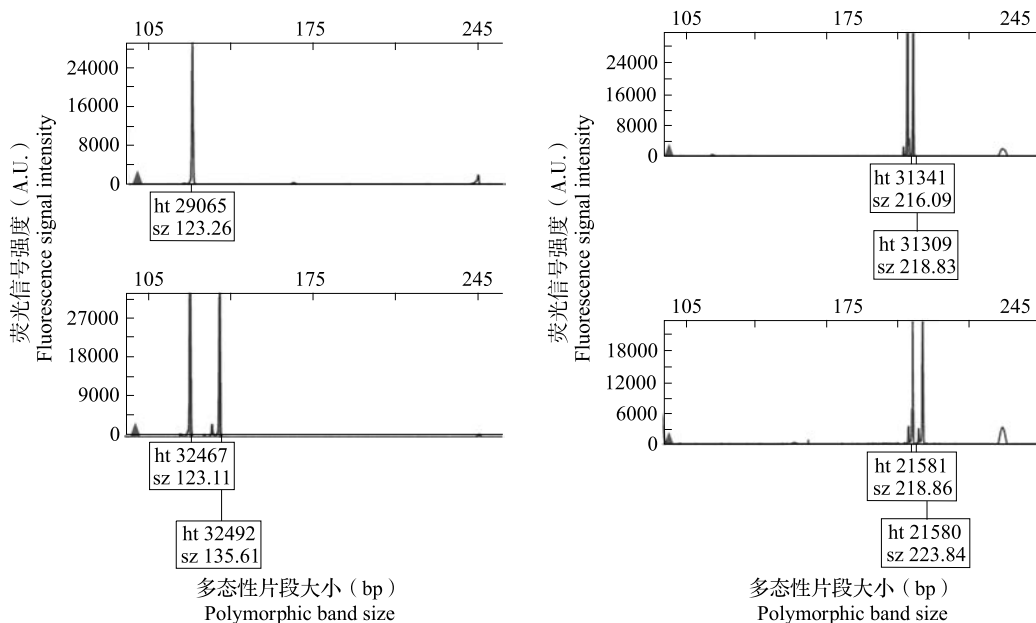
图1 微卫星类型及分布特点

Fig.1 The characteristics of microsatellites



图2 引物筛选过程中部分引物的琼脂糖凝胶电泳图(以品种丰仁为模版)

Fig.2 The subset of PCR fragments amplified using newly developed SSR primers(Template DNA from variety Fengren)



A 引物 2112 的多态性条带 B 引物 4452 的多态性条带

A primer 2112 polymorphic band B primer 4452 polymorphic bands

图3 不同引物在不同样本中的毛细管电泳条带

Fig.3 The size polymorphisms detected by capillary electrophoresis bands

表 2 多态性引物信息表

Table 2 The information of polymorphic SSR primers

引物编号	重复类型	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
Primer number	Repeat types	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')
23	(GT)12	CGCCGCTAAGCAAGTAGAGA	GGGAAGCATAGACGGTGAGA
670	(GTTC)5	CTCTGCGGAATCCATTAAA	TTTGTCTTTTCAACTCCCG
682	(GTTT)5	CGAAAGGTCTGAGAAGTCGG	ACAGCTCCCGTGAAGAAAA
944	(TCT)6	CCGTTTTCCGAGTCACAAAT	CCTCACCTCTCTCAAAACGC
968	(GAG)6	TTGATCAAGCTGTTCAAGCG	AAAGGTCAGCAGTCCGAAGA
1013	(TGA)7	CTCGAACTCTTTACCTGCCG	TCATCACGTTGAAGCACTCC
1159	(CAG)7	CTTGCGATGAAAAACCAAT	TAGGCGCAGCTGATGATATG
1201	(CTT)7	ACCCAGAAACCGTGTCAAAG	CACCTTCTTACCGAGGCTG
1217	(TGG)7	CATCCAAGCAATTGAACGTG	CAGAAGCATCCCAAGGAGAG
1624	(AG)9	TATGCTTTGCTTGCTTGGTG	AGGGTTAAGAGGAAGGCCAA
1939	(TC)9	TAATCCCCGCTCTAATCCT	GCCTTGAGGTTTTGCTTCTG
2039	(AAG)7	AAGTGGTCGAAGAGAGCGAA	TGTAAGGGTCCCAGACCTTG
2105	(AG)10	CCGGAATTGTCTCTCACACA	TTGCTCAAGGAGGAAGTGCT
2112	(AC)11	TGCCTTTCCTTTCATCCATC	CCTGTCAAAGAAGGCCACAT
2675	(AG)10	ATTGTTGCAGAACTTGCCC	GTGCAGCACCGACTCTTGTA
2903	(TCT)7	GCAGTAATTATCCGCAAGCC	TCTCCAATGGCCTCAGTACC
2941	(CAT)7	CCCTACGATCCTTCCTCCTC	GGGTAGAGAAAAGGGTTGGC
3762	(GA)9	AGTGACAGTGCTGCTGGGTT	GTGCTTGGACTGCTCATTCA
3837	(GA)10	ATCGCCAACTTCTTCCGTAG	AAATGACCAACAGCACCTCC
2920	(CGC)7	CCTTCTTCTTCGCCATCATC	ATTCGAAAAGGGTCGGACT
4452	(GCT)7	GGTCTAGTTTGCCGTTGGA	GCTGGAGTCTCGGAGTGTA
4618	(AG)9	AGAGCGATCGGTTAGTAAGCA	ATCTGGCGGATGAGTAAAC
592	(GAA)6	GAATCTGCGGATGATTTGGT	TTCATCTCGATATCCCAGC
1594	(CGG)7	TCCAGGACCAACAACAACAA	AGTCAGCGACATCTCACACG

2.4 微卫星多态性检验

以 29 个华仁杏品种和无性系为试验材料,对开发引物的质量进行毛细管荧光电泳检验,结果表明引物的多态性信息含量介于 0.33~0.87 之间;PIC 是衡量遗传变异程度的指标,根据 D. Botstein 对多态性水平的定义,开发出的 24 个标记中,有 19 个标记为高度多态性位点 ($0.5 \leq \text{PIC}$),占多态性引物比例的 79.2%,5 个标记为中度多态性位点 ($0.25 < \text{PIC} < 0.5$)。24 条微卫星引物在 29 个样本中共检测到 170 个等位基因,平均每对引物检测到 7.1 个等位基因。29 个样本有效等位基因数、Shannon's 信息指数、观测杂合度、期望杂合度、Nei's 期望杂合度分别为:2.7、1.06、0.46、0.58、0.57。表明开发引物具有较高的质量和实用性,可用于华仁杏遗传资源的评价。

3 讨论

遗传资源是良种选育的原始材料,是国家的重要战略资源,也是遗传多样性和物种多样性的基础;

因此,对遗传资源的评价、鉴定也显得尤为重要。分子标记是形态学标记的重要补充,特别是对生长周期长、杂合度高、野生资源丰富的林木树种,分子标记在性状早期鉴定及稳定性方面具有较大优势。通过人们长期的探索和试验,在众多的分子标记中,SSR 分子标记以其方便、快速、高效等特点,成为了人们进行遗传资源评价的重要标记。但由于 SSR 分子标记引物具有较强的物种特异性,针对性强并且稳定、多态的 SSR 引物的开发一直是限制其应用的障碍。随着测序技术的快速发展,大量的转录组数据为 EST-SSR 的开发提供了丰富的可利用资源和广阔的开发前景^[19-20]。分析发现,华仁杏幼果转录组中 SSR 重复类型以 2 核苷酸较多,其次是 3 核苷酸。对于以重复次数为多态性基础的分子标记来说,重复次数的增加相应的也增加了多态性的概率,这说明华仁杏转录组数据较适合 SSR 分子标记的开发;与其他树种对比发现,这一重复类型与皂荚^[21]、杜仲^[22]、蜡梅^[23]、桉木^[24]等阔叶树种的分布

类型相一致;而与红松^[25]、杉木^[26]、红豆杉^[27]等针叶树种分布类型不一致,这可能与不同树种表达程度、进化水平或突变频率等因素的差异有关。2 核苷酸及 3 核苷酸重复类型以 AG/CT 和 GAA/TTC 最多,这一结果也与杜仲、皂荚、蜡梅等研究结果相似,这说明这几种碱基组合在植物体内的突变几率较高。

通过对转录组序列的分析,本研究共设计出了 4140 对符合引物开发条件的 SSR 候选引物,为进一步对所开发引物的质量及开发效率进行检验,利用毛细管荧光电泳对其中 139 对 SSR 重复次数相对较多的引物进行了试验验证,结果表明,从筛选并合成出的 139 对引物中共开发出了 24 对多态性引物,其中 19 对为高多态性引物,5 对为中等多态性引物,与其他树种相比,利用华仁杏转录组数据开发引物具有较高的效率^[23-27]。通过对 29 个华仁杏品种和无性系的多样性分析表明,24 对引物可检测出 170 个微卫星位点,平均每对引物检测到 7.1 个位点,说明开发引物具有较高的变异位点检测能力,在种质鉴定方面具有较高的分辨率。进一步多样性分析表明,29 个华仁杏品种和无性系有效等位基因数、Shannon's 信息指数、观测杂合度、期望杂合度、Nei's 期望杂合度分别为:2.7、1.06、0.46、0.58、0.57。多样性检测结果与使用其他引物对华仁杏多样性检测的结果相似^[28-29],说明该批引物在多样性评价方面具有较好的实用性,可进行遗传多样性评价。通过分析表明,利用转录组数据进行 SSR 引物开发的效率和质量均较高,可用于华仁杏遗传资源评价、种质鉴定及分子标记辅助育种。

参考文献

- 傅大立,李炳仁,傅建敏,李建宏,杨绍彬,周道顺,刘梦培. 中国杏属一新种. 植物研究,2010,30(1):1-3
- 傅大立,刘梦培,傅建敏,田敏,马履一,何方,梁臣,魏淑贞. 华仁杏种级分类地位的 SSR 分析. 中南林业科技大学学报,2011,31(3):60-64
- 章秋平,刘威生,刘宁,张玉萍,徐铭,刘硕. 基于形态性状的仁用杏种质资源分类研究. 果树学报,2015,32(3):385-392
- Xu M S, Zhao H, Zhou X X, Wuyun T N, Fu D L. Responses of photosynthetic physiology and biomass accumulation of sweet kernel apricot (*Prunus armeniaca* × *sibirica*) seedling to soil drought stress in the ancient course of the middle Yellow River. Taiwan Journal of Forest Science, 2016, 31(4): 271-284
- 李永强,李宏伟,高丽锋,何蓓如. 基于表达序列标签的微卫星标记 (EST-SSRs) 研究进展. 植物遗传资源学报,2004,5(1):91-95
- 贾宝光,林青,谭晓风,李泽,龙洪旭,向晖,张琳. 三年桐 EST-SSR 标记的开发与种质遗传多样性分析. 植物遗传资源学报,2016,17(4):625-636
- 马庆华,李京璟,赵天田,梁丽松,王贵禧. 基于 EST-SSR 标记的平欧杂种榛品种鉴定. 植物遗传资源学报,2017,18(5):952-959
- 陈世军,张明泽,姚玉仙,谢维斌. 基于 SSR 标记的黔南茶树种质资源 DNA 指纹图谱构建. 植物遗传资源学报,2017,18(1):106-111
- Rajwant K K, Manoj K R, Sanjay K, Rohtas S, Dhawan A K. Microsatellite markers; an overview of the recent progress in plants. Euphytica, 2011, 177(3): 309-334
- 邓欣,陈信波,龙松华,王孝纯,高原,何东锋,王进,王玉富. 用磁珠富集法分离亚麻基因组微卫星分子标记. 作物学报,2008,34(12):2099-2105
- Bhatia S, Shokeen B. Isolation of microsatellites from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don using enriched libraries. Methods in Molecular Biology, 2009, 547: 289-302
- 赵罕,朱高浦,刘梦培,秦玥,乌云塔娜. 微卫星分子标记及其在林业中的应用. 世界林业研究,2013,26(6):21-25
- Lepais O, Bacles C F E. De novo discovery and multiplexed amplification of microsatellite markers for black alder (*Alnus glutinosa*) and related species using SSR enriched shotgun pyrosequencing. Journal of Heredity, 2011, 102(5): 627-632
- Hsiao Y Y, Chen Y W, Huang S C, Pan Z J, Fu C H, Chen W H, Tsai W C, Chen H H. Gene discovery using next-generation pyrosequencing to develop ESTs for *Phalaenopsis* orchids. BMC Genomics, 2011, 12: 360
- Ramasamy S A, Vasanthan J, Raja C M, Mohan A K, Sanchita A, Sreeja G, Santosh P S, Sunjay J F, Nandita M, Murugesan S, Sudha N R. Next generation sequencing and de novo transcriptome analysis of *Costus pictus* D. Don, a non-model plant with potent anti-diabetic properties. BMC Genomics, 2012, 13: 663
- Li D J, Deng Z, Qin B, Liu X H, Men Z H. De novo assembly and characterization of bark transcriptome using Illumina sequencing and development of EST-SSR markers in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). BMC Genomics, 2012, 13: 192
- Manfred G G, Brian J H, Moran Y, Joshua Z L, Dawn A T, Ido A, Xian A, Lin F, Raktima R, Qiandong Z, Zehua C, Evan M, Nir H, Andreas G, Nicholas R, Federica D P, Bruce W B, Chad N, Kerstin L T, Nir F, Aviv R. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. Nat Biotechnol, 2011, 29(7): 644-652
- Liu Kejun, Muse Spencer V. Powermarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatics, 2005, 21(9): 2121-2129
- 邓敏捷,董焱鹏,赵振利,张晓申,范国强. 基于 Illumina 高通量测序的泡桐转录组研究. 林业科学,2013,49(6):30-36
- 鄢秀芹,鲁敏,安华明. 刺梨转录组 SSR 信息分析及其分子标记开发. 园艺学报,2015,42(2):341-349
- 林富荣,邢俊连,孟艳琼,黄平,郑勇奇. 皂荚 EST-SSR 分子标记开发与评价. 植物遗传资源学报,2017,18(1):148-154
- 黄海燕,杜红岩,乌云塔娜,刘攀峰. 基于杜仲转录组序列的 SSR 分子标记的开发. 林业科学,2013,49(5):176-181
- 李响,杨楠,赵凯歌,陈玉星,唐锐君,陈龙清. 蜡梅转录组 EST-SSR 标记开发与引物筛选. 北京林业大学学报,2013,35(1):25-31
- 饶龙兵,杨汉波,郭洪英,段红平,陈益泰. 基于桉木属转录组测序的 SSR 分子标记的开发. 林业科学研究,2016,29(6):875-882
- 张振,张含国,莫迟,张磊. 红松转录组 SSR 分析及 EST-SSR 标记开发. 林业科学,2015,51(8):114-120
- 文亚峰,韩文军,周宏,徐刚标. 杉木转录组 SSR 挖掘及 EST-SSR 标记规模化开发. 林业科学,2015,51(11):40-45
- 李炎林,杨星星,张家银,黄三文,熊兴耀. 南方红豆杉转录组 SSR 挖掘及分子标记的研究. 园艺学报,2014,41(4):735-745
- 秦玥,刘梦培,傅大立,朱高浦,赵罕. 华仁杏 SSR 标记的筛选与评价. 经济林研究,2013,31(3):72-76
- 刘梦培. 华仁杏遗传多样性的 SSR 和 ISSR 分析. 北京,中国林业科学研究院,2011