

金铁锁转录组 SSR 的分布及其序列特征*

叶 鹏¹, 李显煌¹, 陈 杰², 瞿绍宏¹, 董章宏¹, 雷 瀚¹,
刘 成¹, 辛培尧^{1**}, 杨生超^{3**}

(1. 西南林业大学, 西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南 昆明 650224;

2. 毕节市中药研究所, 贵州 毕节 551700;

3. 云南农业大学, 西南中药材种质创新与利用国家地方联合工程研究中心, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】分析云贵地区金铁锁转录组中 SSR 位点信息的分布及其序列特征, 为 SSR 引物的大量开发奠定基础。【方法】以金铁锁嫩叶为材料, 经转录组测序后, 利用 MISA 软件进行 de novo 组装; 使用 Excel 软件进行分析并用 Primer 3 软件设计引物。【结果】从 77 942 条 Unigenes 序列中共检测到 6 660 个微卫星位点, 出现频率为 8.54%, 平均分布距离为 401.64 kb。检测到的 SSR 位点中以三核苷酸和二核苷酸出现频率最高, 分别占 58.69% 和 35.77%, 而以五核苷酸最少 (1.24%)。AG/TC 与 GA/CT 是二核苷酸的优势重复基元, 分别占总基元的 12.66% 和 10.45%。CTT/GAA 和 AAC/TTG 在三核苷酸中出现频率最高, 占总基元的 3.71% 和 3.60%。根据转录组的测序结果, 金铁锁转录组的 SSR 位点出现的频率较高, 具有丰富的基元类型, 并且有较高的重复次数, 具有较高的多态性潜力。根据转录组的测序结果, 随机选出 82 对引物用于检测, 其中有 20 对引物能扩增出清晰且单一的谱带。【结论】金铁锁转录组所产生的 Unigene 是开发 SSR 的有效来源, 而获得的 SSR 引物可以为金铁锁种质资源的遗传变异研究提供更多的标记。

关键词: 金铁锁; SSR; 转录组

中图分类号: Q 943.2; S 567.239

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2019) 05-0808-07

The Distribution and Characteristics of SSR in Transcriptome of *Psammosilene tunicoides*

YE Peng¹, LI Xianhuang¹, CHEN Jie², QU Shaohong¹, DONG Zhanghong¹, LEI Han¹,
LIU Cheng¹, XIN Peiyao¹, YANG Shengchao³

(1. Southwest Forestry University, Key Laboratory of Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of Ministry of Education, Kunming 650224, China; 2. Bijie Institute of Traditional Chinese Medicine, Bijie 551700, China; 3. National-Local Joint Engineering Research Center on Gempiasm Innovation & Utilization of Chinese Medicinal Materials in Southwest China, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] The distribution and sequence characteristics of SSR loci information in *Psammosilene tunicoides* in Yunnan-Guizhou region were analyzed, which laid a foundation for the

收稿日期: 2018-11-30

修回日期: 2019-01-03

网络首发时间: 2019-09-30 10:28:23

*基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合 SY 字 [2015]3027); 云南省教育厅科学研究基金项目 (2016ZZX52); 西南林业大学科研基金项目 (XL21611)。

作者简介: 叶鹏 (1995—), 男, 内蒙古满洲里人, 在读硕士研究生, 主要从事植物遗传育种及繁育研究。E-mail: 1484438673@qq.com

**通信作者 Corresponding authors: 辛培尧 (1975—), 男, 甘肃临洮人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事林木遗传育种与良种繁育研究。E-mail: xpytgyx@163.com; 杨生超 (1972—), 男, 云南腾冲人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事药用植物资源评价与利用研究。

E-mail: shengchaoyang@126.com

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20190930.0910.007.html>



development of SSR primers. [Method] De novo assembly was carried out by MISA software after transcriptome sequencing with the young leaves of *P. tunicoides* as material. Excel software was used to analyze and Primer 3 software was used to design primers. [Results] A total of 6 660 microsatellite loci were detected from 77 942 Unigenes sequences, with a frequency of 8.54% and an average distribution distance of 401.64 kb. Trinucleotide and dinucleotide were major repeat types, accounting for 58.69% and 35.77%, respectively. Pentanucleotide was minimum (1.24%). AG/TC, GA/CT, CTT/GAA and ACC/TGG were respectively most frequent repeated motifs in di-nucleotide and trinucleotide repeated types, and accounting for 12.66%, 10.45%, 3.71% and 3.60%. SSR primers were designed based on these Unigenes. The SSR loci in the *P. tunicoides* transcriptome showed moderate frequency of distribution, close distribution distance, rich repeated types, high repeated times and significant potentiation of polymorphism. 20 primers were successfully amplified which were selected randomly from 82 primers. [Conclusion] The results indicated that the Unigenes obtained from transcriptome sequence in *P. tunicoides* can be used as an effective way for the development of SSR loci. The SSR primers will provide more markers for the research of genetic variation of *P. tunicoides*.

Keywords: *Psammosilene tunicoides*; SSR; transcriptome

金铁锁 (*Psammosilene tunicoides*) 属于石竹科 (Caryophyllaceae) 金铁锁属 (*Psammosilene*) 单属种植物, 主要分布在中国云、贵、川等地区^[1], 是中国西南地区特有的传统中草药。金铁锁以根入药, 有较好的镇痛和抗炎作用^[2]。近年来, 由于金铁锁自然居群所在的自然环境变迁和人为因素的影响, 导致金铁锁自然资源数量大幅下降^[3-5]。金铁锁作为稀有濒危物种被列入《中国植物红皮书》, 是国家重点保护植物之一^[6-7]。另外, 在保护的基础上, 加快选育高产及高药效的新品种也是解决当前资源紧张的有效措施之一。目前, 对于金铁锁的生物学特性、人工繁殖栽培技术方面的研究较多^[8], 而有关其分子生物学方面的报道相对较少。因此, 有必要进行金铁锁的相关遗传标记及遗传信息的研究, 以了解其分布区内不同种群间及种群内的遗传结构及多样性状况, 以对其进行遗传保护和改良。

简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR) 是一类由几个 (多数为 1 至 6 个) 碱基串联而成的重复 DNA 序列, 也称微卫星标记^[9]。SSR 标记具有标记数量多、多态性高、重复性好且共显性遗传等特点, 通常应用于遗传多样性分析、分子标记辅助育种和遗传图谱的绘制^[10-14]。SSR 按来源可分为基因组 SSR 和 EST-SSR, 前者通过 cDNA 文库构建和克隆测序的方法获得, 但是步骤复杂工作量大^[15]; 后者通过搜索公共数据库中的表达

序列标签和转录组测序的结果进行开发^[16]。目前, SSR 标记技术在药用植物的遗传分析中得到了广泛利用^[17], 如对人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey)^[18] 和番红花 (*Crocus sativus* L.)^[19] 进行了 SSR 信息的分析, 对银杏 (*Ginkgo biloba* L.)^[20] 进行了 SSR 引物的开发等。而相关金铁锁 SSR 标记技术的开发研究报道较少。因此, 本研究采用 Illumina HiSeq™ 2000 高通量测序技术对金铁锁转录组进行测序, 建立其转录组数据库, 并对 SSR 的分布及其序列特征进行分析, 研究结果可为 EST-SSR 引物的大量开发提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料采自云南省昆明市倘甸乡, 采集地点位于 E 102°49', N 25°55', 海拔 2 467 m 的山上, 金铁锁资源较少, 受人为破坏较为严重。采集 2 年生的野生金铁锁幼嫩叶片, 迅速放入干冰中保存。

1.2 转录组测序

将采集的金铁锁幼嫩叶片送至北京华诺时代科技公司, 提取总 RNA, 利用 Illumina HiSeq™ 2000 平台进行转录组测序。

1.3 序列的拼接

对转录组测序结果使用 Trinity 软件进行 de novo 组装, 将具有一定长度的 reads 通过序列间

的 overlap 延伸至不能延伸的片段，得到的片段为 Conting；根据 Conting 双末端的信息对 Conting 进行连接至不能再向两端延伸，得到的序列为 Unigene。为得到最终的 Unigene 需对其进行去冗余和进一步的拼接，并对这些序列进行聚类^[21]。

1.4 SSR 位点的搜索

使用微卫星识别工具 MISA Perl 脚本对得到的 Unigene 进行 SSR 位点搜索，搜索 1~6 bp 的微卫星，搜索的标准为二核苷酸最少重复 6 次，三核苷酸到六核苷酸的最少重复次数均为 5 次。由于单核苷酸重复基元的 SSR 位点的实际应用较少并且会发生错配现象，所以不进行筛选。设计引物时的主要参数为：退火温度 52~62 ℃；引物长 18~26 bp；GC 含量在 40%~60% 之间；PCR 产物在 100~400 bp 之间；尽量避免如发卡结构、错配、二聚体、引物二聚体等引物二级结构的出现。

1.5 数据分析

以金铁锁转录组中 SSR 位点的重复单元的类型、出现频率、SSR 分布的平均距离及其基元组成来分析金铁锁转录组 SSR 的分布及其序列特征。其中，SSR 位点分布的平均距离为检测到的微卫星的总数 (二至六核苷酸) 与总 Unigene 的长度之比；SSR 的出现频率为二核苷酸到六核苷酸的总数与 Unigene 的总序列数量之比^[22]。

2 结果与分析

2.1 金铁锁转录组中 SSR 位点的出现频率及其分布距离

组装金铁锁转录组，获得去冗余的 Unigene 共 77 942 条，总长度是 2.55 GB，G+C 含量为 43%。在其中发现了 6 660 个 SSR 位点，出现频率为 8.54%。其中有 3 385 条 Unigene 序列含有 1 个以上的 SSR 位点，而 SSR 的出现频率为 47.08%。在金铁锁转录组中平均 401.64 kb 就可以发现 1 个 SSR 位点 (表 1)。

表 1 金铁锁转录组各 SSR 的分布特征

Tab. 1 The distribution characteristics of various SSR in *P. tunicoides*

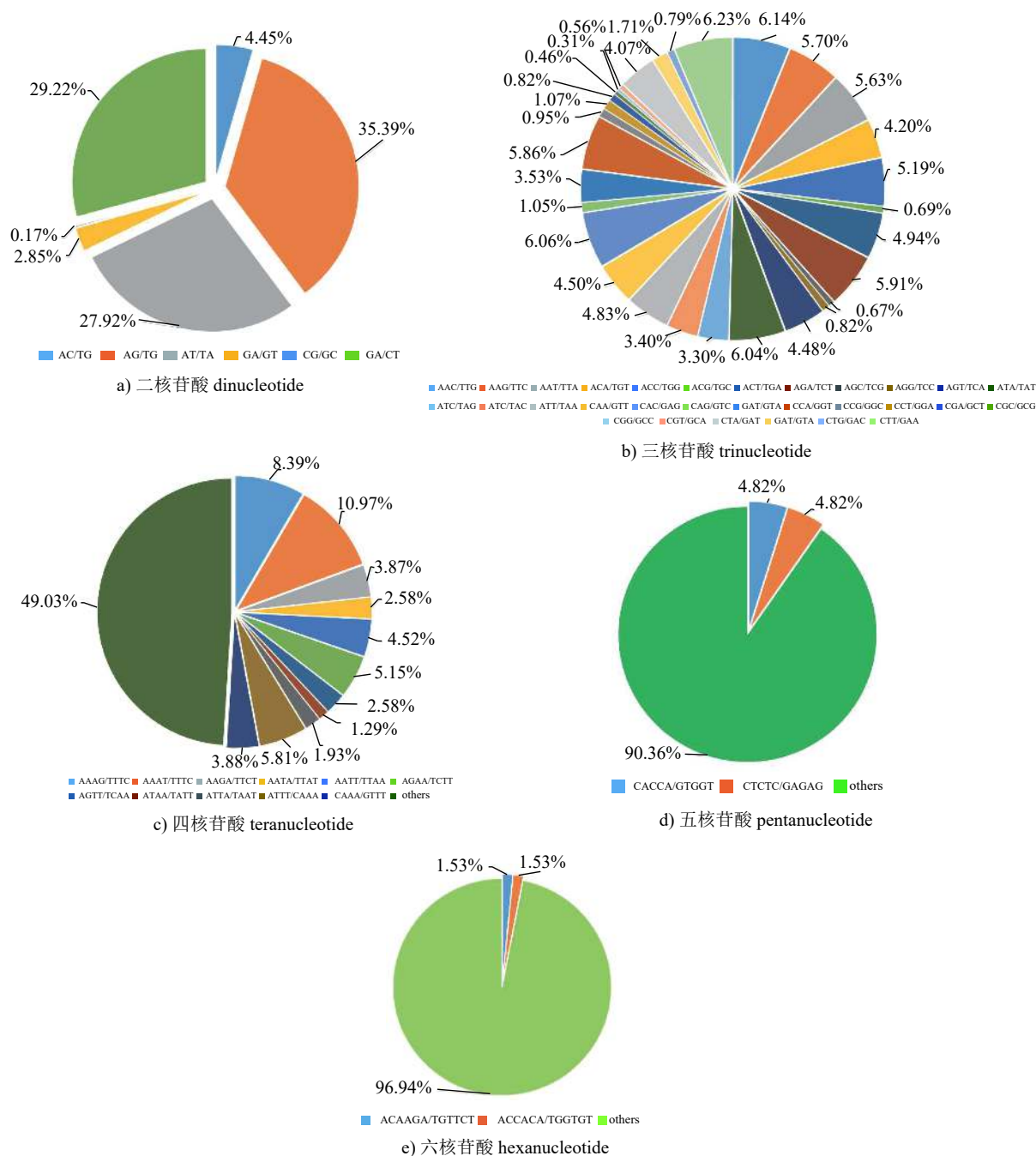
基元类型 primitive types	数量 quantity	占总 SSR 比例/% proportion of total SSR	出现频率/% frequency of occurrence	分布平均距离/kb the average distance of distribution	平均长度/bp average length	基元数量 number of primitive
二核苷酸 dinucleotide	2 382	35.77	3.06	1 122.97	17.07	6
三核苷酸 trinucleotide	3 909	58.69	5.01	684.29	20.22	30
四核苷酸 tetranucleotide	155	2.33	0.20	17 257.53	24.59	36
五核苷酸 pentanucleotide	83	1.24	0.11	32 227.92	26.08	31
六核苷酸 hexanucleotide	131	1.97	0.16	20 419.21	34.90	83
总计 total	6 660	100	8.54	401.64	19.56	186

2.2 金铁锁转录组中 SSR 位点的重复基元类型

金铁锁转录组中 SSR 的类型较为丰富，通过对金铁锁转录组 SSR 各重复基元类型进行统计可知 (表 1)：重复率最高的基元类型是三核苷酸，占总数的 58.69%，其次是二核苷酸，占 35.77%，四核苷酸、五核苷酸及六核苷酸重复基元相对较低。其中，五、六核苷酸重复基元类型又低于四核苷酸。各重复基元类型的 SSR 分布的平均距离和出现频率有差别，以三核苷酸重复基元类型的出现频率最高 (5.01%)，六核苷酸重复基元类型的出现频率最低，仅为 0.16%；SSR 分布的平均距离以五核苷酸最高，为 32 227.92 kb，即每 32 227.92 kb 出现 1 个五核苷酸 SSR。

2.3 金铁锁转录组中 SSR 重复单元碱基组成

在金铁锁转录组中，二核苷酸到六核苷酸分别出现的基元数为 6、30、36、31 和 83 种，共有 186 种基元。各基元分布的频率如图 1 所示。二核苷酸中各基元所占比例依次为：AG/TC (843 个，12.66%) > GA/CT (696 个，10.45%) > AT/TA (665 个，9.98%) > AC/TG (106 个，1.59%) > CA/GT (68 个，1.02%) > CG/GC (4 个，0.06%)。而三核苷酸中出现频率最高的是 CTT/GAA (247 个，3.71%)，其次是 AAC/TTG (240 个，3.60%)，而以 CGG/GCC (12 个，0.18%) 频率较低。四核苷酸中出现频率最高的是 AAAT/TTTA (17 个，0.26%)；五核苷酸中出现频率最高的是 CACCA/



注: “others”为其余未列出的基元总称。

Note: “others” represents the motifs for not being listed in the bar.

图 1 金铁锁转录组不同 SSR 基元的比例

Fig. 1 Motif proportions of different SSR in *P. tunicoides*

GTGGT 与 CTCTC/GAGAG (均为 4 个, 4.82%); 六核苷酸中出现频率最高的是 ACAAGA/TGTTCT 与 ACCACA/TGGTGT (均为 2 个, 1.53%)。

2.4 金铁锁转录组中不同基元 SSR 重复次数

由表 2 可知: 各个重复类型的重复次数主要在 5~12 次之间波动, 并且随着次数的增加 SSR 数量的出现频率开始降低。除二核苷酸外,

三核苷酸到六核苷酸的 SSR 位点重复 5 次的数量最多, 占总数的 28.95%, 其次为 6 次, 占总数的 26.68%。而二核苷酸的重复次数为 5 次的 SSR 数量为 0, 6 次重复是二核苷酸重复次数最高的, 并且所有 SSR 的重复次数主要集中在 5~8 次, 占总数的 81.49%。

表 2 金铁锁转录组 SSR 各重复类型不同重复次数

Tab. 2 Different repeat types with different repetitions in *P. tunicoides*

基序长度/bp length of motif	重复次数 repetitions								
	5	6	7	8	9	10	11	12	>12
2	0	803	467	307	230	129	129	99	218
3	1 699	886	447	466	55	88	43	53	172
4	90	35	12	7	2	0	6	0	3
5	69	13	0	0	0	1	0	0	0
6	70	40	11	5	0	2	1	2	0
总计 total	1 928	1 777	937	785	287	220	179	154	393
比例/% proportion	28.95	26.68	14.07	11.79	4.31	3.30	2.69	2.31	5.90

2.5 金铁锁转录组中 SSR 重复片段长度

如图 2 所示：大部分的基序长度集中在 12~20 bp，共有 4 611 个，占总数的 69.23%；其次是在 21~30 bp 的基序，共有 1 570 个，占总数的 23.57%；而在 30 bp 以上的基序较少，共有 479 个，占总数的 7.2%。5 种类型的 SSR 平均长度是 19.56 bp，二核苷酸到六核苷酸的平均长度分别是 17.07、20.22、24.59、26.08 和 34.90 bp (表 1)。从图 2 中可以看出：随着 SSR 基序长度的增加，SSR 片段的长度也在逐渐增加。

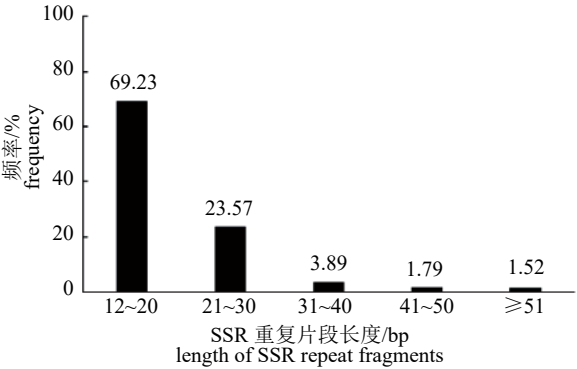


图 2 金铁锁转录组 SSR 重复序列长度的分布频率

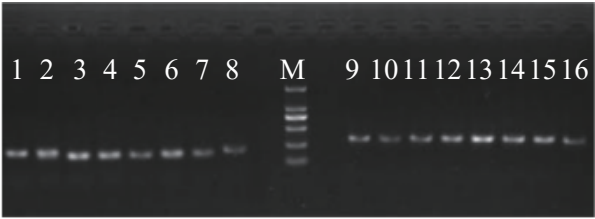
Fig. 2 Frequency of repeat sequence length in *P. tunicoides*

2.6 金铁锁转录组 SSR 引物的设计

根据金铁锁转录组测序结果，设计、筛选并合成 SSR 引物 82 对，并进行琼脂糖凝胶电泳扩增检测，其中有 20 对引物能扩增出清晰且单一的条带，部分结果见图 3。

3 讨论

通过对云南金铁锁的转录组测序，组装后共获得 77 942 条 Unigene，经 SSR 位点搜索后，获得二核苷酸到六核苷酸共 6 660 个 SSR 位点，出



注：2 对引物，左右各 8 个样，M 为 Marker。

Note: It showed 2 pair primers, 8 samples in left and right, M. Marker.

图 3 金铁锁 SSR 引物的 PCR 扩增结果

Fig. 3 The amplification result of SSR in *P. tunicoides*

现频率为 8.54%，平均分布距离 401.64 kb。查阅已有的药用植物中检索出的二核苷酸到六核苷酸 SSR 的平均分布距离发现：半夏[*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit] 为 4.33 kb^[23]，灯盏花[*Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz.] 为 22.32 kb^[24]，党参[*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf] 为 5.25 kb^[25]，金银花 (*Lonicera japonica* Thunb.) 为 4.05 kb^[26]，鱼腥草 (*Houttuynia cordata* Thunb.) 为 9.04 kb^[27]，夏枯草 (*Prunella vulgaris* L.) 为 5.59 kb^[28]。相比之下，金铁锁的 SSR 平均分布距离均高于上述药用植物，说明本研究的金铁锁转录组中的 SSR 明显偏低。上述差异可能与不同的物种、SSR 各重复基元类型的最少搜索次数、搜索得到的序列的来源不同有关。

基元重复次数与碱基数量的不同所形成的序列长度多态性是 SSR 位点多态性的主要成因，而 SSR 长度则是影响多态性高低的主要因素^[29-30]。XU 等^[31]认为重复序列的长度存在 1 个阈值，SSR 的长度小于阈值的倾向于扩张，而 SSR 长度大于阈值的倾向于收缩。金铁锁转录组中，7.2% 的 SSR 位点长度在 30 bp 以上，这些位点倾向于收缩；而 69.23% 的 SSR 位点长度在 12~20 bp 之

间, 这些位点则会倾向于扩张。因此, 金铁锁转录组测序所发掘的 6 660 个 SSR 位点大部分具有多态性潜能, 可用于进行分子标记技术引物的开发。

根据目前已有报道, 大多数植物的 SSR 位点主要重复类型属于二核苷酸与三核苷酸, 只是主导重复基元有所差异。金铁锁转录组序列 SSR 主要以三核苷酸重复为主, 占 58.69%, 其次是二核苷酸, 占 38.77%。在金铁锁转录组的 SSR 位点中, 二核苷酸基元以 AG/TC 类型最多, 占 12.66%, 三核苷酸基元以 CTT/GAA 最多, 占 3.71%, 这与野三七 (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* K. Komatsu, S. Zhu & S. Q. Cai)^[32]、党参^[25]、金银花^[26]、丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge)^[33]等植物的重复类型相同。而在藏茵陈川西獐牙菜 (*Swertia musotii* Franch)^[34]、灯盏花^[24]、西洋参 (*Panax quinquefolius* L.)^[35]等植物中二核苷酸基元以 AT/TA 类型最多, 三核苷酸基元以 AAT/TTA 最多, 这可能是物种的不同而造成的。

总体上, 本研究中金铁锁转录组中 SSR 的出现频率较高在 8.54%; 平均分布距离在 401.64 kb, 密度较大; 有 69.23% 的 SSR 位点长度在 12~20 bp 之间, 说明其多态性的潜能较高; 金铁锁转录组中的主要重复类型是三核苷酸重复, 主要重复基元是 CTT/GAA, 这与大多数植物中的研究结果相同。这些结果将为金铁锁的遗传图谱绘制、遗传多样性及遗传育种等研究提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 刘春丽, 刘智敏, 沈丽萍. 金铁锁植物的地理分布和区域分布特征[J]. 生物技术世界, 2015(4): 45.
- [2] 王特文, 师晶丽, 王用平, 等. 西南特有药用植物—金铁锁[J]. 重庆中草药研究, 1999, 40(2): 32.
- [3] 李景滨, 易继财, 张宗申. 金铁锁组培苗快繁技术研究[J]. 广东农业科学, 2011, 38(2): 29. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874x.2011.02.037.
- [4] 朱常成, 徐士奎, 钱子刚, 等. 金铁锁的地理分布及分布区的初步分析[J]. 中国现代应用药学, 2007, 24(1): 28. DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2007.01.011.
- [5] 杨丽云, 陈翠, 赵菊, 等. 金铁锁生态学初步研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(18): 367.
- [6] 傅立国. 中国植物红皮书—稀有濒危植物: 第一册[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [7] 张庆滢, 刘小烛, 毛常丽. 药用植物金铁锁的研究进展[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2009, 24(1): 139. DOI: 10.16211/j.issn.1004-390x(n).2009.01.018.
- [8] 金虹, 谭克勤. 西南民族药金铁锁的研究现状及展望[J]. 中医药导报, 2005, 11(12): 66. DOI: 10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2005.12.035.
- [9] TAUTZ D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers[J]. Nucleic Acids Research, 1989, 17(16): 6463. DOI: 10.1093/nar/17.16.6463.
- [10] 许玉兰, 蔡年辉, 白青松, 等. 基于微卫星分子标记的云南松及其近缘种遗传关系分析[J]. 西南林业大学学报, 2017, 37(1): 1. DOI: 10.11929/j.issn.2095-1914.2017.01.001.
- [11] SANCHEZ M, INGROUILLE M J, COWAN R S, et al. Spatial structure and genetic diversity of natural populations of the Caribbean pine, *Pinus caribaea* var. *bahamensis* (Pinaceae), in the Bahaman archipelago[J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2014, 174(3): 359. DOI: 10.1111/boj.12146.
- [12] BAI T D, XU L A, XU M, et al. Characterization of masson pine (*Pinus massoniana* Lamb) microsatellite DNA by 454 genome shotgun sequencing[J]. Tree Genetics & Genomes, 2014, 10(2): 429. DOI: 10.1007/s11295-013-0684-y.
- [13] 马金星, 剡转转, 张吉宇, 等. 20 份新疆紫花苜蓿种质 SSR 遗传多样性分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2018, 33(3): 397. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).201801020.
- [14] 张金旺, 李代丽, 尚峰男, 等. 15 个北方杨树栽培品种倍性检测与 SSR 遗传分析[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2018, 38(5): 27. DOI: 10.11929/j.issn.2090-1914.2018.02.005.
- [15] 程小毛, 黄晓霞. SSR 标记开发及其在植物中的应用[J]. 中国农学通报, 2011, 27(5): 304.
- [16] 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. DOI: 10.3969/mpb.007.000845.
- [17] 苏伟敏, 靳雅惠, 杨妮, 等. 植物形态学及 SSR 标记在药用植物遗传分析中的应用[J]. 河北农业科学, 2016, 20(2): 48. DOI: 10.16318/j.cnki.hbnykx.2016.02.012.
- [18] 杨维泽, 金航, 崔秀明, 等. 三种人参属植物的 EST-SSR 信息分析及其在三七中的应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(1): 62. DOI: 10.3969/gab.030.000062.
- [19] 陈国庆. 番红花 EST 资源的 SSR 信息分析[J]. 广西植物, 2011, 31(1): 43. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2011.01.010.
- [20] 李广平, 曹福亮. 银杏 EST-SSR 引物开发[J]. 西北农业学报, 2012, 21(12): 149. DOI: 10.7606/j.issn.1004-1389.2012.12.029.
- [21] GRABHERR M G, HAAS B J, YASSOUR M, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome[J]. Nature Biotechnology, 2011, 29(7): 644. DOI: 10.1038/nbt.1883.
- [22] 黄海燕, 杜红岩, 乌云塔娜, 等. 基于杜仲转录组序列的 SSR 分子标记的开发[J]. 林业科学, 2013, 49(5): 176. DOI: 10.11707/j.1001-7488.20130523.
- [23] 王森, 张震, 姜倪皓, 等. 半夏转录组中的 SSR 位点信息分析[J]. 中药材, 2014, 37(9): 1566. DOI: 10.13863/j.

- issn1001-4454.2014.09.015.
- [24] 陈茵, 李翠婷, 姜倪皓, 等. 灯盏花转录组中 SSR 位点信息分析及其多态性研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1220. DOI: [10.4268/cjcmm20140714](#).
- [25] 王东, 曹玲亚, 高建平. 党参转录组中 SSR 位点信息分析[J]. 中草药, 2014, 45(16): 2390. DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2014.16.021](#).
- [26] 蒋超, 袁媛, 刘贵明, 等. 基于 EST-SSR 的金银花分子鉴别方法研究[J]. 药学学报, 2012, 47(6): 803. DOI: [10.16438/j.0513-4870.2012.06.005](#).
- [27] 黎晓英, 刘胜贵, 王丹, 等. 鱼腥草转录组 SSR 位点信息分析及其多态性研究[J]. 中草药, 2016, 47(10): 1762. DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2016.10.022](#).
- [28] 王会敏, 苏秀红, 董诚明, 等. 夏枯草转录组 SSR 位点信息分析[J]. 中国现代中药, 2018, 20(1): 29. DOI: [10.13313/j.issn.1673-4890.20170619003](#).
- [29] 胡建斌, 李建吾. 甜瓜 EST-SSR 位点信息及标记开发[J]. 园艺学报, 2009, 36(4): 513. DOI: [10.16420/j.issn.0513-353x.2009.04.010](#).
- [30] 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 Research, 2001(11): 1441. DOI: [10.1101/gr.184001](#).
- [31] XU X, PENG M, FANG Z A, et al. The direction of microsatellite mutations is dependent upon allele length[J]. Nature Genetics, 2000, 24: 396. DOI: [10.1038/74238](#).
- [32] 李翠婷, 张广辉, 马春花, 等. 野三七转录组中 SSR 位点信息分析及其多态性研究[J]. 中草药, 2014, 45(10): 1468. DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2014.10.021](#).
- [33] 王学勇, 周晓丽, 高伟, 等. 丹参新的 EST-SSR 分布规律及分子标记的建立[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(3): 289. DOI: [10.4268/cjcmm20110313](#).
- [34] 刘越, 岳春江, 王翊, 等. 藏茵陈川西獐牙菜转录组 SSR 信息分析[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(11): 2068. DOI: [10.4268/cjcmm20151103](#).
- [35] 杨维泽, 金航, 赵振玲, 等. 西洋参 EST 资源的 SSR 信息分析[J]. 西南农业学报, 2011, 24(1): 275. DOI: [10.16213/j.cnki.scjas.2011.01.041](#).

责任编辑: 何承刚