



# 植物 EST-SSR 研究进展

陈思<sup>1</sup>, 吴广文<sup>1</sup>, 吴建忠<sup>1</sup>, 黄文功<sup>1</sup>, 刘岩<sup>1</sup>, 杨学<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 经济作物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 对俄农业技术合作中心, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:** 基于 EST(expressed sequence tags)序列开发的 SSR 标记具有信息量大、通用性好、开发简单等优越性,是目前一种主要的功能性分子标记。EST-SSR 标记来自表达基因,除具备基因组 SSR 标记所有优势外,可能与基因功能表达具有直接或间接关系,从而强化了 SSR 标记在遗传研究中的应用。介绍 EST-SSR 分子标记的特点及开发策略,并对 EST-SSR 技术在植物遗传多样性研究、遗传图谱构建、功能基因组学研究等方面的进展进行了综述,为多种植物进一步的分子研究奠定了基础。

**关键词:** EST-SSR; 植物; 分子标记

随着分子生物学的迅猛发展,RFLP、RAPD、AFLP、SSR 等分子标记已成为植物研究中的重要研究手段,而 EST 计划的出现则为植物研究提供了一种新型的分子标记,即 ESR-SSR 标记。EST 计划最早是专业人士 Venter 等在 1989 年推出的,该技术首先应用于人类基因组研究,之后被大规模用在植物基因组方面的探究中。

EST(expressed sequence tags)表达序列标签,可以解释为把 mRNA 在机体外部反转录为 cDNA,同时克隆至载体,建立 cDNA 文库,对在 cDNA 文库中随意选择的克隆展开大范畴地测序,并得到了 cDNA 5' 亦或 3' 端序列片段,它们的长度大概是 150~500 bp<sup>[1-2]</sup>。与基因组序列对比来说,EST 序列具备迅速、便捷的特点,它的价值获得了大量专业人士的认同<sup>[3]</sup>。

植物 EST 计划已经在许多作物开展起来,且 EST 数量的增长速度惊人,部分主要的粮食等作物的 EST 数量剧增,如玉米、水稻、小麦、大麦、大豆、高粱、番茄、草莓、烟草等。玉米(*Zea mays*)中 EST 数量大概为 2 018 337 条,水稻(*Oryza sativa*)EST 大概为 1 248 660 条,高粱(*Sorghum bicolor*)EST 大概为 210 748 条,甘蔗(*Saccha-*

*rum officinarum*)的 EST 数量达 246 399 条<sup>[4]</sup>。美国的 EST 数据库、欧洲的 EMBL 数据库、日本的 DDBJ 数据库以及一些针对特定物种的专门数据库,都保存了大量的 EST 资源。国际数据库 EST 数据库表现为指数增多的趋势,大部分 EST 能够借助互联网获得,这给新分子标记方式的探究奠定了良好的基础。

EST 标记主要是依据 EST 自身的差异而构建的标记方式。依据研究方式的差异,EST 标记共包含 4 种:EST-SSR、EST-SNP、EST-AFLP 和 EST-RFLP。EST-SSR 是近年发展起来的新型分子标记,主要将 PCR 技术当作重心,操作便捷、成本较小,是现阶段研发与运用最广泛的一种。

## 1 EST-SSR 标记的特点

### 1.1 EST-SSR 标记的原理

EST-SSR 标记从某种水平上来说,可以解释为处在 EST 序列上的亦或以 EST 序列研发为基础的 SSR 标记,同时还被叫作 eSSR 标记。此外还有部分专业人士通过 cDNA 克隆研究 SSR 标记,最终得到的标记就是所谓的 cSSR 标记。EST-SSR 标记的原理:首先选取具备 SSR 的 EST 序列,同时根据微卫星序列两侧保守的侧翼序列设计引物,把基因组编码区的微卫星序列借助 PCR 反应扩增出来,然后对扩增的片段通过聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,通过银染之后对微卫星内的核心序列的重叠单位数量的多元化状态进行研究。

EST-SSR 和基因组 SSR 对比,在原理和技术方面极为相似,然而基因组 SSR 于基因组上的部位不能明确亦或大部分源于非编码区,同时

收稿日期:2018-08-24

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(31471546);黑龙江省农业科学院资助项目(2017XQ08,2017SJ036);农业部东北亚麻科学观测实验站资助项目;国家麻类种质改良中心亚麻分中心资助项目。

第一作者简介:陈思(1986-),女,博士,助理研究员,从事亚麻遗传育种及病害防治研究。E-mail: ml3840244625@163.com。

通讯作者:杨学(1969-),男,学士,研究员,从事作物病害、抗病育种研究。Email: yxflax@126.com。

EST-SSR 源自编码区,所以可以从根本上表现出植物基因组功能的信息,增加了功能基因成功识别的几率<sup>[5-6]</sup>。相比于基因组 SSR,EST-SSR 标记不需要建立相关的文库、杂交、测序等,实现了对各项成本的有效控制。在应用上,EST-SSR 与 SSR 皆具有相同的用途,然而 EST-SSR 与 SSR 对比来说具备更高的使用价值。

## 1.2 EST-SSR 标记存在的不足

即便 EST-SSR 已经获得了大规模地运用,但其仍有一些不足之处。其一,和以往的 SSR 标记对比来说,EST-SSR 标记的多态性较低。假如用在建立遗传图谱中,或许会使获得的标记位点比较分散。其二,EST-SSR 即便为基因的转录产物,在功能基因中具备部分调节的作用,并不是一个完整的基因,部分于基因表达调节过程中发挥主要功能的信息,如调控序列、内元序列等无法体现出来,所以,要想获得完善的功能基因依旧需要花费大量的努力。其三,因为 EST 是对大量的 cDNA 文库克隆随机进行的测序,所以对 cDNA 文库的质量方面要求较高。其四,因为 EST 的测序方式存在较大的误差,而且不少应用程序也具有某些局限,这就会造成在聚类拼接环节内独立基因(Unigene)将同源性较大的各种基因混为一体。

## 2 EST-SSR 标记的开发

### 2.1 EST 的获得与 SSR 的发掘

从公共数据库中下载 EST 序列后,首先检查 EST 序列的质量,利用软件 EST-trimmer 或 cross-match([www.phrap.org](http://www.phrap.org))可去除一些“噪音”,如删除载体序列,去除 EST 序列 3' 端的 PolyA 部分。删除序列长度小于 100 bp 的 EST,对大于的 700 bp 的 EST,对 3' 端需进行截短处理以防止存在序列质量问题。因为 EST 为借助随机选择的方式展开的操作,所以就会导致产生对同样的基因实施多次测序的问题;另外,各个专业人士所记录的 EST 序列都存放至数据库内,因此对同样的基因实施多次测序的问题是很难避免的。通常情况下,冗余序列都是无用的,因此,通过软件进行拼接与聚类之前预处理的 EST 序列就变得格外重要了,如此就能够让以上问题得以消除,实现对各项成本的有效控制。目前用于聚类 and 拼接 EST 序列的软件有很多,如 phrap、cap3 以及 Tigr Assembler 等,利用这些软件都能够让

有效的 EST 与尽可能长的重叠序列产生。

SSR 位点的鉴定指标包含两个方面:一方面是根据重复基元的长度;另一方面为依据基元的重复次数亦或是 SSR 位点的最小长度。于 EST-SSR 内,由于存在 cDNA 的 Poly(A) 结构,和常规电泳很难分辨单核苷酸差异表现出来的多态性,因此一般制定此单元的长度范围是 2~6 bp。随着生物信息学的高速发展,许多专用来鉴定 SSR 位点的序列分析工具应运而生,如 Micro Satellite(MISA)、CUGI ssr、Modified Sputnik、SSR Identification Tool(SSRIT)、SSR Finder、Build SSR、SSR Hunter II,以上工具存在差异性的指标与特征,学者们探究的目标存在差异,也就导致制定出的指标的差异性。为精准判定某个物种 EST 内 SSR 的水平,应当科学地运用 EST 资源,在 SSR 被搜索出后,应当对 EST 序列内 SSR 的排布规律、长度和特点等信息做进一步地统计分析。

### 2.2 EST-SSR 引物设计

在引物设计前,要尽可能地降低序列冗余度及减少序列复杂度。在依据目标 SSR 设计引物的过程中,首先应当把 SSR 周围与引物设计要求相悖的长度不足的 EST 序列去除,从提高检测效率的角度出发,SSR 长度在 20 bp 以上的序列为设计引物过程中需要选定的目标;另外,因编码区较为保守,所以设计引物时,最好选取在各种材料之间的变异水平较为显著的 3' 或 5' 端 UTR 中的 SSR。目前,Primer 3.0、Primer 5.0 和 Oligo 等软件已广泛应用于引物设计中。特异性好的引物与目标区域能够特异性结合,不易出现非特异性扩增现象,因而,在设计引物的过程中要想达到这个目的,需要对其部分主要的参数进行合理的设定,包含引物长度、GC 含量、退火温度( $T_m$ )等。

### 2.3 引物有效性检验

在设计好引物之后,应当对所分析的材料展开 PCR 扩增,以确保检测的合理性。扩增之前应当探究与构建合理的 PCR 反应系统与 PCR 扩增程序。扩增中获得的产物可以通过聚丙烯酰胺凝胶电泳亦或琼脂糖凝胶电泳来检验。目前的研究结果显示,大概 60%~90% 的 EST-SSR 引物可以在扩增的过程中得到有效的结果。若未扩增出产物其原因:(1)剪切位点将引物序列打断;(2)在

上下游引物位点之间必然包含一个及以上的内含子;(3)比较复杂的高级结构存在于扩增的范围内;(4)EST 质量不高,致使测序过程中存在问题。除此之外,有时还会出现产物的长度超过预期或产物小于预期长度的现象,分析其原因,前者或许是因为具有长度较短的内含子,而后者或许是因为引物缺少特异性亦或基因序列出现缺陷而导致扩增出了同源序列。

### 3 EST-SSR 标记的应用

#### 3.1 遗传多样性分析

针对合理储存与使用遗传资源来说,对这些资源展开评估是必不可少的,当表现超过两个的物种亦或材料之间的区别时,EST-SSR 标记为其增添了新鲜的血液。所谓植物多样性分析,其实是遗传多样性,也就是基因多样性,EST-SSR 正好表现的是转录部分。即便源自基因组的 SSR 与源自 EST 的 SSR 相比,其多态性更高一些,但仍然有少量引物的多态性较高。借助 EST-SSR 的多态性能够对物种展开遗传多样性研究。

目前,在遗传多态性的研究中,很多科研人员将 EST-SSR 标记运用其中。Scott 等<sup>[7]</sup>通过葡萄 16 对 EST-SSR 引物对于 7 个葡萄品种的遗传多样性展开检验,其间,存在 10 对引物能够在这部分材料内扩增产生多态性条带。Eujayl 等<sup>[8]</sup>通过对 64 个小麦品种展开研究,借助 22 对 EST-SSR 与 20 对 SSR 引物,共获得了 189 个变异位点。Thiel 等<sup>[9]</sup>借助 38 对 EST-SSR 对 54 个大麦品种展开研究,共检验出了 114 个等位变异。李宏伟等<sup>[10]</sup>通过研究 96 份小麦材料,借助 35 对 EST-SSR 标记,检验出了 129 个等位变异,具备多态性的占 87.6%。

#### 3.2 遗传图谱的构建

遗传学图谱主要包含遗传图谱、物理图谱以及转录图谱。其中遗传图谱必须要以各类遗传标记才能够顺利获得。之前,此图谱的创建重点是通过 RFLP、AFLP 以及 RAPD 等标记。近年来,越来越多的 EST 标记渗透到了高密度遗传图谱的创建过程中。EST-SSR 大部分集中于基因富集的范围内,可以认定 EST-SSR 于此图谱内的布局表现出了基因的排布情况,具有较高的实践价值。1994 年 Kurate 等借助源自水稻跟组织与愈伤组织的 883 条 EST 序列,创建了首张植物基因表达图谱。1998 年,水稻基因组计划推出了拥

有 2 275 个标记的图谱,共涉及到水稻基因组的 1 550 cM,存在 70% 的标记源自 EST<sup>[11]</sup>。源自基因组于数据库的 40 对大麦 SSR 标记已经被定位在 7 个连锁群中<sup>[12-13]</sup>,随后,Kota 等<sup>[14]</sup>把由 19 000 条大麦 EST 序列内设计的 76 对 SSR 引物、Kantety 等<sup>[15]</sup>把借助小片段置入文库与数据库得到的 568 对 SSR 引物、Thiel 等<sup>[9]</sup>把由 24 595 条大麦 EST 序列内设计的 76 对 SSR 引物依次在大麦遗传连锁图中进行了定位,创建了次代以 SSR 为基础的遗传连锁图谱。Faville 等<sup>[16]</sup>构建的多年生黑麦图谱上定位了 180 个 EST-SSR 位点。Torada 等<sup>[17]</sup>利用种内杂交组合及 tamoe×Munstertaler 的 DH 群体,构建了包含 185 个基因组 SSR 位点和 65 个 EST-SSR 位点的遗传图谱,总遗传距离为 3 441 cM,标记覆盖率达到 86%。

#### 3.3 EST-SSR 引物的通用性

对于在物种之间的通用性,EST 侧翼序列的保守程度和 SSR 进化的稳定性是 EST-SSR 引物依赖的基础。基于基因组的 SSR 绝大部分源自非编码区,并且侧翼序列一般表现出显著的物种特殊性,所以它在不同物种之间的通用性不高<sup>[18]</sup>。而 EST 本身为基因的组成结构,并且 EST-SSR 侧翼序列一般在物种间具备很高的保守性,因此它在不同物种之间表现出的通用性比较高。虽然 EST-SSR 标记的运用只局限于数据库内已具备 EST 的物种范围内,然而面对未被 EST 收录的物种,可以借助其近缘物种的引物开发 SSR 标记。

很多研究人员的结果都显示 EST-SSR 在不同物种之间具备通用性。李宏伟等<sup>[10]</sup>借助小麦 EST-SSR 标记围绕其它植物的通用性展开了分析,结果证明在小麦、水稻、玉米、大豆中可以进行扩增的 EST-SSR 引物关键是和一些功能有关,比如细胞的防御与衰亡、蛋白质定位、能量、代谢和转录等。Holton 等<sup>[19]</sup>报道 5 对大麦 EST-SSR 引物在小麦不同品种中表现多态。Thiel 等<sup>[9]</sup>研究结果显示,在 311 对大麦 EST-SSR 引物中,约 80% 在大麦中出现了扩增,约 60% 在小麦与黑麦中出现了扩增,40% 在水稻中出现了扩增。Gupta 等<sup>[20]</sup>利用 64 对小麦引物进行的研究中发现,有 59 对在 2 种至 5 种谷类作物中具有通用性,且 24 对能在所有作物中获得多态性。然而,Roder

等<sup>[21]</sup>认为小麦基因组 SSR 引物与大麦不能通用。源自葡萄的 EST-SSR 引物能够被应用在绝大部分葡萄科物种内,然杏的 EST-SSR 引物只在近源物种蔷薇科有等位变异<sup>[22]</sup>。开发不同作物均可使用的 EST-SSR 引物与标记,有助于构建对不同物种间与某些功能基因表达有关的有效分子的标记,且与物种性状有关的功能基因的分离、克隆和利用有一定的促进作用。EST-SSR 在不同物种之间的通用性不但促进它们之间实现基因信息的交换,而且还给植物基因组的深入探究找到了新途径。

### 3.4 功能基因组学研究

当前,在分子生物学领域备受关注之一便是围绕功能基因组学进行的研究,基于 EST-SSR 源自基因的编码区,与基因的功能密切相关,所以站在功能基因组的立场来说,EST-SSR 有着很好的前景。经过了解已知功能基因 EST-SSR 长度出现的改变,可与表型变化联系起来,同时能够与其它生物学改变进行关联。有研究已经证明,SSR 重复基元的改变与基因的部分功能具有一定的关联性:位于 5'UTR 区内,对基因转录或翻译有一定的影响;存在于 3'UTR 区,对基因沉默或转录滑行产生某种程度的影响;位于编码区内,或许会抑制亦或激活基因的表达,也可能对蛋白质起到修饰作用。目前,关于水稻的研究结果显示,5'UTR 二核苷酸重复类别 GA/CT 数目的改变和直连淀粉的浓度存在一定的相关性;对玉米的研究结果表明,部分核糖体蛋白质基因 5'UTR 内存在的 (CCG)<sub>n</sub> 多次影响受精过程。Kantety 等<sup>[15]</sup>通过研究证明含有 SSR 的基因可以具备多种功能,例如基础代谢、细胞结构的生成等。安泽伟等<sup>[23]</sup>针对通过扩增证实的包含 SSR 位点的 15 个橡胶 Unigene 在 GenBank 内展开了核酸的比较研究,结果显示其中的 14 个 Unigene 均可发现相似性极高的 EST 序列。

### 3.5 物种鉴定与亲缘关系分析

基于 EST-SSR 标记可以做到检测物种 DNA 层面上的异同,因此能够借助聚类构建系统树的方式来研究多种类别植物亲缘上的距离,进而完成物种的鉴别。通过对人类与果蝇展开的大量探究,结果显示,利用多态性微卫星标记有利于发现群体分化与选择的瓶颈<sup>[24-25]</sup>。Rossetto 等<sup>[26]</sup>利用 3 对 EST-SSR 引物对葡萄科的 4 个属 8 个种

的遗传关系进行了研究,利用 SSR 侧翼序列的碱基替换、插入或缺失的方式,证明了这几种物种存在的遗传关联性,之后把亲缘关系比较大的其中两个种进行了对比区分。李宏伟等<sup>[10]</sup>通过小麦 EST-SSR 围绕 96 份小麦展开了研究,最后获得的平均相似系数是 0.603 8~0.983 1,这之中,来自意大利的两种小麦相似度最高,为 0.983 1,说明此两种小麦具有较为紧密的亲缘关系。Vendramin 等<sup>[27]</sup>利用桃 EST-SSR 引物围绕 22 份桃品种展开了研究。邓科君等<sup>[28]</sup>研究人员对丹参 EST-SSR 展开了分析,结果显示丹参和同属的其它植物在聚类树上分别位于不同的分支上,同时表明利用 EST-SSR 可以有效区分出丹参。

## 4 结语

EST-SSR 是一类出现时间尚短的分子标记,当前被大量使用在遗传多样性研究、遗传图谱建立、引物通用性分析以及功能基因组学等领域。然而在很多种植物的研究领域,这门技术仅刚刚开始,还未展开更深层次的研究,难以完全展现 EST-SSR 的优势。但随着 EST 计划的开展与深入,及研究技术与方法的持续完善且趋于成熟,EST 数据资源将不断丰富,而其本身又具备独特的优势和多方面的利用价值,因此相信,EST-SSR 标记必将被当作一类有效的工具得到广泛的关注与应用。

### 参考文献:

- [1] 骆蒙,贾继增.植物基因组表达序列标签(EST)计划研究进展[J].生物化学与生物物理进展,2001,28(4):494-497.
- [2] Hately F, Tosser K G, Clouscard-Martinato C, et al. Expressed sequenced tags for genes: A review[J]. Genetics Selection Evolution, 1998, 30(5): 521-541.
- [3] 胡松年.基因表达序列标签(EST)数据分析手册[M].杭州:浙江大学出版社,2005.
- [4] 苏钰.亚麻 EST-SSR 标记开发及遗传图谱构建[D].哈尔滨:东北农业大学,2011:7.
- [5] Li Y C, Korol A B, Fahima T, et al. Microsatellites within genes: structure, function, and evolution[J]. Molecular Biology and Evolution, 2004, 21(6): 991-1007.
- [6] 王家麟,孙佳莹,于清岩,等. EST-SSRs 的开发及应用研究进展[J].生物信息学,2007(3):140-142.
- [7] Scott K D, Eggler P, Seaton G, et al. Analysis of SSRs derived from grape ESTs[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 723-726.
- [8] Eujayl I, Sorrells M E, Baum M, et al. Assessment of genotypic variation among cultivated durum wheat based on EST-SSRs and genomic SSRs[J]. Euphytica, 2001, 119(1-

- 2);39-43.
- [9] Thiel T, Michalek W, Varshney R K, et al. Exploiting EST databases for the development of cDNA derived microsatellite markers in barley(*Hordeum vulgare* L. ) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106: 411-422.
- [10] 李宏伟, 高丽锋, 刘曙东, 等. 用 EST-SSRs 研究小麦遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2005, 38(1): 7-12.
- [11] Cho Y G, McCouch S R, KuiPer M, et al. Integrated map of AFLP, SSLP, and RFLP markers using a recombinant inbred population of rice(*Oryza sativa* L. ) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97: 370-380.
- [12] Becker J, Heun M. Barley microsatellites: Allele variation and mapping [J]. Plant Molecular Biology, 1995, 27 (4): 835-845.
- [13] Liu Z W, Maroof M A S, Biyashev R M. Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93(5-6): 869-876.
- [14] Kota R, Varshney R, Thiel T, et al. Generation and comparison of EST-derived SSRs and SNPs in Barley [J]. Hereditas, 2001, 135(2-3): 145-151.
- [15] Kantety R V, Rota M L, Matthews D E, et al. Data mining for simple sequence repeats inexpressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 48(5-6): 501-510.
- [16] Faville M J, Vecchies A V, Schreiber M, et al. Funcionally assoeiated molecular genetic marker map construction in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L. ) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 110(1): 12-32.
- [17] Torada A, Koike M, Moehidak, et al. SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population of common wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(6): 1042-1051.
- [18] Roder M S, Korzun V, Wendehake K, et al. A microsatellite map of wheat [J]. Genetics, 1998, 149(4): 2007-2023.
- [19] Holton T A, Christopher J T, Meclure L, et al. Identification and mapping of polymorphic SSR markers from expressed gene sequences of barley and wheat [J]. Molecular Breeding, 2002, 9(2): 63-71.
- [20] Gupta P K, Rustgi S, Sharma S, et al. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 270(4): 315-323.
- [21] Roder M S, Plaschke J, Konig S U, et al. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat [J]. Molecular and General Genetics, 1995, 246(3): 327-333.
- [22] Decroocq V, Fave M G, Bordenave L, et al. Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(5): 912-922.
- [23] 安泽伟, 赵彦宏, 程汉, 等. 橡胶树 EST-SSR 标记的开发与应用 [J]. 遗传, 2009, 31(3): 311-319.
- [24] Di Rienzo A, Peperson A C, Garza J C, et al. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(8): 3166-3170.
- [25] Slatkin M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies [J]. Genetics, 1995, 139(1): 457-462.
- [26] Rossetto M, Mcnaally J, Henr R J. Evaluating the potential of SSR flanking regions for examining taxonomic relationships in the vitaceae [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(1): 61-66.
- [27] Vendramin E, Dettori M T, Giovinazzi J, et al. A set of EST-SSRs isolated from peach fruit transcriptome and their transportability across *Prunus* species [J]. Molecular Ecology Notes, 2007, 7(2): 307-310.
- [28] 邓科君, 张勇, 熊保全. 药用植物丹参 EST-SSR 标记的鉴定 [J]. 药学报, 2009, 44(10): 1165-1172.

## Research Progress of EST-SSR in Plants

CHEN Si<sup>1</sup>, WU Guang-wen<sup>1</sup>, WU Jian-zhong<sup>1</sup>, HUANG Wen-gong<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>, YANG Xue<sup>2</sup>

(1. Industrial Crops Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. Sino-Russian Agricultural Scientific and Technological Cooperation Center, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

**Abstract:** EST-based SSR markers which developed from the coding region have informative, well transferability, easy developed and other advantages, it is one of main functional molecular markers. EST-SSR markers have more advantages than the genomic-derived SSRs because they are part of expressed genes. Thus, EST-SSRs might be involved in gene functioning directly or indirectly, and the ability of SSR markers will be greatly enhanced. In this article, the characteristics and development of EST-SSR molecular markers were introduced, the advance of genetic diversity, genetic linkage map, functional genomics were summarized. The article lays the foundation for further molecular study of various plants.

**Keywords:** EST-SSR; plants; molecular markers