

## ***Oryza rufipogon* Griff. Mitokondri Genomunun (mtDNA) *In silico* SSR Analizi**

**Ertuğrul FİLİZ**

Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Çilimli Meslek Yüksek Okulu, Düzce Üniversitesi, Düzce

**Özet:** Kültüvarı yapılan çeltik türleri, insan beslenmesi için en önemli ürünlerden biridir. *Oryza* cinsi 21 yabani ve 2 kültüvar tür barındırmaktadır. *Oryza rufipogon* Griff. kültüvar çeltiğin yabani atasıdır ve aynen kültüvar çeltik türleri gibi (*Oryza sativa* L. ve *Oryza glaberrima* Steud. ) AA genom yapısına sahiptir. Basit dizi tekrarları (SSRs) olarak da bilinen mikrosatellitler, bütün genomda dağılmış halde bulunan küçük ve birbirini izleyen tekrarlardır (1-6 bp). Bu çalışmada, bioinformatik araçlar kullanılarak *O. rufipogon* mitokondriyal genomunda SSR'ları (mtSSR) tanımladık. Mitokondriyal genomda 594 SSR ortalama 1 SSR/1.06 kb olarak belirledik ve mtSSR'ların %96'sının kodlama yapmayan bölgelerde olmasına karşın mtSSR'ların %4'ü kodlama yapan bölgelerde gözlemlendi. Tek nükleotid SSR'lar kodlama bölgelerinde baskın olmasına karşın üç nükleotid SSR'lar mitokondriyal genomda en fazla bulunan tekrarlardır. Tek nükleotid tekrarları için en sık tekrar A/T (85.5%), ikili nükleotid tekrarları için AG/CT (70.59%), üçlü nükleotid tekrarları için AAG/CTT (30.9%), dörtlü nükleotid tekrarları için AAAG/CTTT (24.5%), beşli nükleotid tekrarları için eşit AAATT/AATTT, AAGAT/ATCTT, AATTC/GAATT ve CCCGG/CCGGG (16.7%), altılı nükleotid tekrarları için AAAAAT/ATTTTT (100%) bulunmuştur. Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları gelecekte farklı *Oryza* türleri için filogenetik, evrimsel genetik, genetik haritalama ve mtSSR temelli genetik çeşitlilik çalışmalarına bilimsel bir zemin sağlayacaktır.

**Anahtar kelimeler:** *Oryza rufipogon*, çeltik, mtDNA, SSR, *in silico* analiz.

### ***In silico* SSRs Analysis of Mitochondrial Genome (mtDNA) of *Oryza rufipogon* Griff.**

**Abstract:** Cultivated rice is one of the most important crops for human diet. The *Oryza* genus includes 21 wild species and 2 cultivated species. *Oryza rufipogon* Griff. is the wild ancestor of cultivated rice and has AA genome structure as cultivated rice species (*Oryza sativa* L. and *Oryza glaberrima* Steud. ). Microsatellites also known as simple sequence repeats (SSRs) are small tandem repeats (1-6 bp) that are interspersed throughout the genome. In this study, *in silico* we identified mitochondrial SSRs (mtSSR) in *O. rufipogon* mitochondrial genome (mtDNA) by using bioinformatics tools. We determined 594 SSRs in the mitochondrial genome with an average of 1 SSR/1.06 kb and a total of 4% mtSSRs were observed in genic regions while a total of 96% mtSSRs were observed in intergenic regions. Trinucleotide SSRs were the most abundant repeats in mitochondrial genome while mononucleotide SSRs were predominant in genic regions. The most frequent motifs were A/T (85.5%) for mononucleotide repeats, AG/CT (70.59%) for dinucleotide repeats, AAG/CTT (30.9%) for trinucleotide repeats, AAAG/CTTT (24.5%) for tetranucleotide repeats, AAATT/AATTT, AAGAT/ATCTT, AATTC/GAATT and CCCGG/CCGGG were equal (16.7%) for pentanucleotide repeats and AAAAAT/ATTTTT (100%) for hexanucleotide repeats. In conclusion, this study results provide scientific basis for phylogenetics, evolutionary genetics, genetic mapping and diversity studies based on mtSSRs for different *Oryza* species in future.

**Key words:** *Oryza rufipogon*, rice, mtDNA, SSR, *in silico* analysis.

#### **1. Giriş**

Kültürü yapılan çeltik türleri, dünyadaki en önemli beslenme kaynaklarından ve yaklaşık dünya nüfusunun %50'sinin beslenme ihtiyacını karşılamaktadır (Gao ve ark., 2006). Çeltik kültür çalışmalarının yaklaşık olarak 9000 yıl önce Hindistan ve Güney Çin'nin büyük bir kısmında başladığı tahmin edilmektedir. Çeltik, *Oryza* cinsine ait olan ve kültürü yapılan Asya pirinci *Oryza sativa* L. ve Afrika pirinci *Oryza glaberrima* Steud.

türleriyle birlikte yaklaşık yirmiden fazla yabani çeltik türü barındırmaktadır (Khush, 1997). *O. glaberrima* türü Batı Afrika'nın belirli bölgelerinde yetiştirilirken, *O. sativa* türü küresel ölçekte yetiştirilmektedir (Londo ve ark., 2006). Yabani çeltik olarak da bilinen *O. rufipogon* Griff., Asya kültüvar pirincinin atası olarak bilinmekte olup çeltik ıslah çalışmalarında en önemli gen havuzlarından biridir (Oka, 1988). *O. rufipogon* günümüzde Çin'in bazı bölgelerinde doğal olarak dağılım

göstermektedir (Gao, 1997). İlk erkek sterilite geni (MS) *O. rufipogon* türünde tespit edilerek diğer kültüvar çeltik türlerine aktarılmıştır (Yuan ve ark., 1989). Ayrıca, bu tür tungro virüsüne karşı dayanıklılık ve asit sülfatlı topraklara dayanıklılık gibi önemli agronomik özelliklerin kültüvar çeltik türlerine aktarılmasına kaynak sağlamıştır (Bellon ve ark., 1998). *Oryza* türleri diploid ve allotetraploid genom yapılarına sahiplerdir. Diploit türler AA, BB, CC, EE, FF veya GG genom yapısına sahipken allotetraploid türler BBCC, CCDD veya HHJJ genom yapısına sahiptir (Nishikawa ve ark., 2005). Kültüvarı yapılan iki çeltik türü de (*O. sativa* L. ve *O. glaberrima* Steud. )  $2n = 24$  diploid kromozom yapısına sahiptir ve yabancı çeltik türü olan *O. rufipogon* türünde de olduğu gibi AA genom yapısı özelliği göstermektedir (Xu ve ark., 2007).

Bitki mitokondriyal genomları (mtDNA) dizi (nokta mutasyonları, eklenme-silinme vb. ) ve yapısal düzeyde (yabancı DNA parçası eklenme, duplikasyon, DNA kırılmaları vb.) çok dinamik yapıya sahiplerdir. Özellikle kapalı tohumlu bitkilerde mtDNA büyüklükleri 200 kb ile 2000 kb arasında değişmektedir (Palmer ve ark., 2000). Ayrıca, bitki mitokondriyal genomlarında dağılmış halde bulunan küçük ve büyük tekrar birimleri (mtSSR) mtDNA'ya çok dinamik bir genom yapısı sağlamaktadır (Mackenzie ve ark., 1994).

Mikrosatellit veya basit dizi tekrarları (SSRs) uzunlukları canlılarda 1-6 baz çifti (bp) arasında değişen ve ökaryotik organizmaların çekirdek ve organel genomlarında yaygın olarak bulunan tekrar dizileridir (Victoria ve ark., 2011).

Genom içerisine dağılmış olan SSR bölgelerindeki varyasyonlar, genetik çeşitlilik, genetik haritalama ve fonksiyonel çeşitlilik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Varshney ve ark., 2005).

Yapılan bu çalışmada, biyoenformatik araçlar yardımıyla *O. rufipogon* mitokondriyal genom dizisi kullanılarak *in silico* SSR analizi gerçekleştirildi ve genom içindeki SSR yoğunluğu, SSR motifleri, SSR uzunlukları gibi parametreler tespit edildi.

## 2. Materyal ve Metod

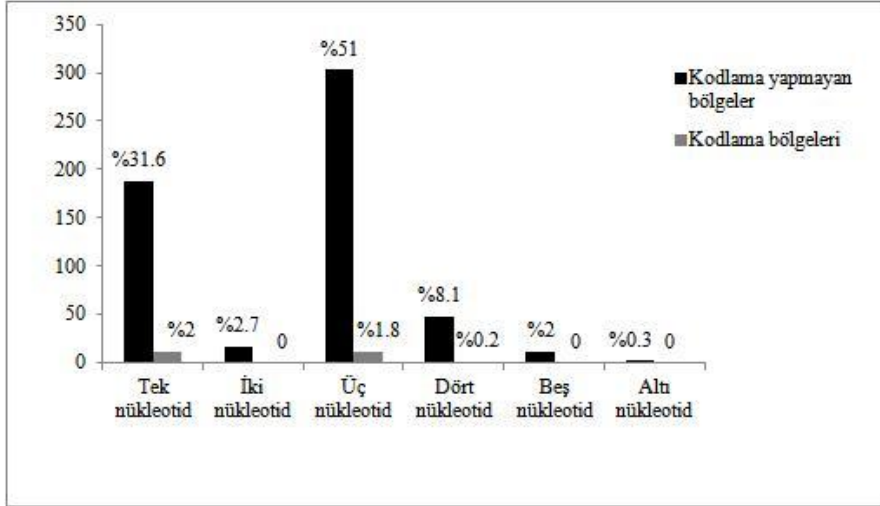
Bu çalışmada *Oryza rufipogon* türüne ait tamamlanmış mitokondriyal genom dizisi (aksesyon no: NC\_013816, büyüklüğü: 559045 baz çifti) FASTA formatında Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nden (NCBI) elde edildi ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/)). Mitokondriyal SSR'ların belirlenmesinde MISA yazılımı kullanıldı (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>). SSR'lar belirlenirken minimum tekrar sayıları tek nükleotidler için 8, ikili nükleotidler için 5, üçlü, dörtlü, beşli ve altılı nükleotid tekrarları için 3 olarak belirlendi. Ayrıca, SSR bölgelerinin kodlama yapan veya yapmayan bölgelerde olup olmadığı Genbank anotasyon verilerine göre analiz edildi ve bulunan üçlü SSR tekrarlarının yer aldığı lokusların muhtemel kodladığı amino asitlerde tespit edilmiştir.

## 3. Sonuçlar ve Tartışma

### 3.1. mtSSRs yoğunluğu

*O. rufipogon* mitokondriyal genom analizi sonuçlarında toplam 594 mtSSR bulundu ve bu SSR'lardan 24 tanesinin (%4) kodlama yapan bölgelerde (genic), 570 tanesinin (%96) ise kodlama yapmayan bölgelerde (intergenic) olduğu tespit edildi (Şekil 1.).

Ortalama SSR yoğunluğu kilobaz (kb) başına 1.06 ve G+C içeriği %44.04 bulundu. Rajendrakumar ve ark. (2007) *Oryza sativa* subsp. *japonica* türüyle yaptıkları çalışmada 2528 SSR tespit etmiş olup bunların %8,7'sinin kodlama yapan bölgelerde olduğu görülmüştür. Bu oranın bizim bulduğumuz sonuçlardan yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu, ayrıca ortalama kilobaz başına mtSSR yoğunluğunun kodlama yapan bölgelerde 4.2, kodlama yapmayan bölgelerde 5.3 olduğu ve bu sonuçların bulgularımızdan yaklaşık 4-5 kat fazla olduğu saptanmıştır. *Chlorophyta* taksonuna ait 14 mitokondri ve 22 kloroplast genomunda yapılan *in silico* SSR analiz çalışmasında, mtDNA'ların yaklaşık %50'sinde kodlama yapan bölgelerde SSR bulunamamış, var olanlarda ise %0.02 – %0.68 arasında değiştiği görülmüştür (Kuntal ve Sharma, 2011). Bu değerlerin yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre çok düşük olduğu anlaşılmıştır.



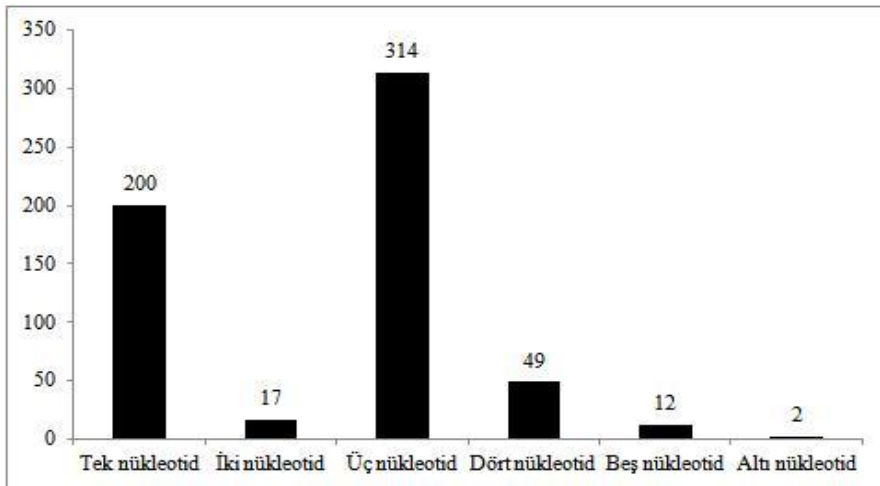
Şekil 1. Kodlama yapan ve yapmayan bölgelerdeki mtSSR'lar

### 3.2.mtSSR tipleri ve motif dağılımı

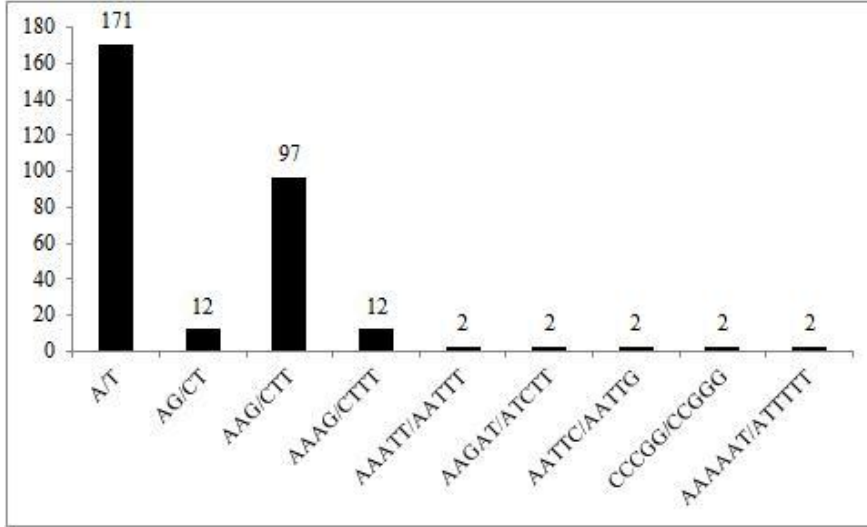
mtSSR motif dağılımları incelendiğinde, genom seviyesinde en fazla üçlü tekrar olduğu (%52.9) daha sonra sırasıyla tekli tekrar (%33.7) ve dördü tekrar (%8.2) olduğu görülmüştür (Şekil 2).

Kodlama yapan bölgelerde en fazla tek nükleotid SSR (%2) daha sonra sırasıyla üç nükleotid SSR (%1.8) ve dört nükleotid SSR (%0.2) bulunmuştur. Bazı yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, kodlama bölgelerinde üçlü nükleotid tekrarı en yaygın olarak bulunurken bunu iki ve dördü nükleotid SSR'ları takip etmektedir (Varshney ve ark., 2005) fakat çalışmamızın bulguları bu hipotezi desteklememektedir. Buna karşın, kodlama bölgelerindeki üçlü tekrarların çokluğu da

dikkat çekmektedir. Üçlü SSR bölgelerin genelde kodlama bölgelerinde yer aldığı, buna karşın diğer tekrar tiplerinin kodlama yapmayan bölgelerde daha fazla bulunduğu, bununda kodlama bölgelerindeki üçlü tekrarların çerçeve kayma mutasyonlarının baskısı altında seleksiyona maruz kalarak üçlü tekrarlar dışındaki SSR motiflerinin varyasyonuna neden olduğu düşünülmektedir (Metzgar ve ark., 2000). SSR tiplerine bakıldığında tek nükleotid tekrarlarında A/T (%85.5) tekrarının G/C (%14.5) tekrarlarından fazla olduğu bulunmuştur (Şekil 3). Bu sonuç bazı önemli tahıl bitkilerinin genom analizlerinin verilerine paralel bulunmuştur (Rajendrakumar ve ark., 2008).



Şekil 2. Farklı mtSSR tekrarlarının toplam sayıları



Şekil 3. En sık görülen mtSSR motifleri

*Oryza sativa* subsp. *japonica* SSR analizlerinde en fazla iki nükleotidli tekrar, tek nükleotidli tekrar ve üç nükleotidli tekrar bulunmuştur (Rajendrakumar ve ark., 2007). Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemekte olup bu farklılığın, *O. rufipogon* türünün gen havuzunun farklı evrimsel dinamik süreçlere maruz kalmasından kaynakladığını düşünülmektedir. İki nükleotid tekrarlarının tek nükleotid tekrarlarına oranla sayının yaklaşık 12 kat az olduğu, AG/CT tekrarının en fazla olduğu (%70.59) bunu da AT/AT tekrarının (%20.1) izlediği görüldü ve bu sonucun çeltikle yapılan çalışmayla örtüşmediği (Rajendrakumar ve ark., 2007) fakat değişik bitki gruplarıyla yapılan mtSSR analiz sonuçlarıyla uyumlu

olduğu görülmüştür. (Kuntal ve Sharma, 2011) (Tablo 1.). Ayrıca, bazı bitki türlerinde gerçekleştirilen kloroplast genomu (cpDNA) SSR analizi çalışmalarında da benzer sonuçların elde edildiği anlaşılmıştır (Gandhi ve ark., 2010). Üç nükleotid tekrarlarında AAG/CTT (%30.9) motifi en fazla bulunurken sırasıyla ACT/AGT (%12.4) ve AAT/ATT (%9.9) motiflerinin bunu izlediği tespit edilmiştir. *Arabidopsis thaliana* model bitkisinde yapılan SSR analizlerinde en fazla görülen üç nükleotid tekrarının AAG olduğu bulunmuştur (Varshney ve ark., 2002) ve bu sonucu bulgularımız desteklemektedir. Ayrıca, diğer organel genom analizleri de çalışmamızın sonuçlarıyla

Tablo 1. *Oryza rufipogon* mitokondriyal genomunda gözlemlenen tekrar motifleri

Tekrar sayısı	Motif
İki nükleotid	AG, AT, CT, TC
Üç nükleotid	AAC, GTT, AAG, CTT, AAT, ATT, ACC, GGT, ACG, CGT, ACT, AGT, AGC, CTG, AGG, CCT, ATC, ATG, CCG, CGG
Dört nükleotid	AAAC, GTTT, AAAG, CTTT, AAAT, ATTT, AACG, CGTT, AAGC, CTTG, AAGG, CCTT, AAGT, ACTT, AATG, ATTC, ACCT, AGGT, ACTG, AGTC, AGCG, CGCT, ATCC, ATGG, CCCG, CGGG, CCGG, CCGG
Beş nükleotid	AAAGG, CCTTT, AAATC, ATTTG, AAATT, AATTT, AAGAT, ATCTT, AATAG, ATTCT, AATCC, ATTGG, AATTC, AATTG, CCCGG, CCGGG
Altı nükleotid	AAAAAAT, ATTTTT

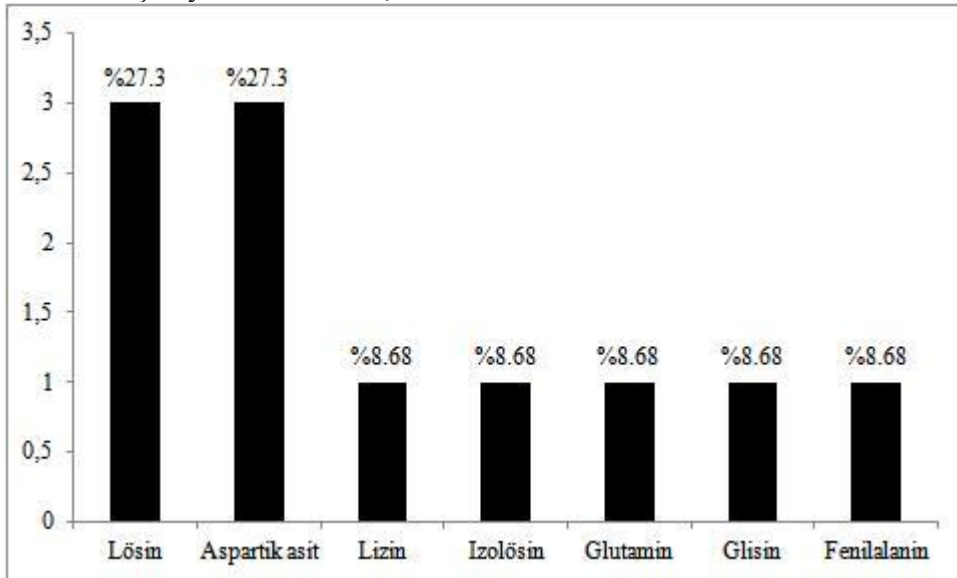
paraleldir (Rajendrakumar ve ark., 2007; Rajendrakumar ve ark., 2008). Dört nükleotid SSR motiflerinde en fazla sırasıyla AAAG/CTTT (%24.5), AAGC/GCTT, AAGG/CCTT, ACTG/CAGT (%10.2) ise eşit oranla dağılım göstermiştir. Beş nükleotid tekrarlarında AAATT/AATTT, AAGAT/ATCTT, AATTC/GAATT ve CCCGG/CCGGG (%16.7) motifleri eşit oranlarla tespit edilmiştir. Altı nükleotid tekrarlarında sadece AAAAAT/ATTTTT motifi (%100) gözlemlenmiştir.

Genbank anotasyon verilerine göre *O. rufipogon* mtDNA'sında 59 gen bölgesi tanımlanmış olup yapılan analizler sonucunda 24 genin (%40.7) SSR bölgeleriyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Gen bölgeleri içindeki SSR'lar genom içerisindeki tekrar yapmayan bölgelere oranla daha yüksek mutasyon eğilimi göstermektedir. Ayrıca, SSR varyasyonları gen anlatımını, gen aktivitesinin susturulmasını veya fonksiyonunun değiştirilmesi gibi olayları da etkilemektedir (Li ve ark., 2004). Elde ettiğimiz bulgular temel alındığında, bütün genomda en fazla bulunan SSR motifinin üçlü tekrarlar olması ve kodlama yapan bölgelerdeki en sık bulunan SSR motiflerinden ikinci sırada olması yukarıdaki hipotezle uyum göstermektedir. Kodlama bölgelerindeki üçlü tekrarların muhtemel kodladığı aminoasit çeşitleri incelendiğinde, en fazla kodlanan aminoasitler lösin ve aspartik asit (%27.3), diğerleri ise eşit yüzdelerle lizin, izölösin,

glutamin, glisin ve fenilalanin şeklindedir (%8.68) (Şekil 4.). Farklı aminoasit tekrarları farklı protein sınıflarını ortaya çıkarmaktadır. *A. thaliana* model bitkisinde en fazla tekrarlanan kodonun lizin (Lys) olduğu görülmüştür (Li ve ark., 2004). Bu sonuç *O. rufipogon* bitkisinin verileriyle uyumsuzdur.

Mikrosatellitler, genom içerisinde kodlama yapan ve yapmayan bölgelerde düzenli dağılım göstermeyen kısa DNA dizileridir, DNA eşlenme ve onarılma süreçleri farklı türlerde SSR dağılımını etkilemektedir (Oliveira ve ark., 2006). Bu çalışmada, *O. rufipogon* türünün komple mitokondriyal genomu (mtDNA) biyoenformatik araçlar yardımıyla analiz edilmiştir ve özellikle belirlenen mitokondriyal mikrosatellitlerin (mtSSR) %96 gibi büyük bir oranının kodlama yapmayan bölgelerde olduğu saptanmıştır.

25.762 tahmini protein kodlayan DNA dizileri incelenmesi sonucunda, üçlü nükleotid tekrarları hariç diğer tüm SSR tipleri kodlama bölgelerinde kodlama yapmayan bölgelere oranla çok düşük frekansta bulunmuş ve bununda kodlama bölgelerindeki çerçeve kayma mutasyonlarına karşı negatif bir seleksiyona katkıda bulunacağı düşünülmüştür (Morgante ve ark., 2002). Kodlama yapmayan bölgelerdeki SSR sayısının fazla olması ve kodlama bölgelerindeki SSR sayılarının da üçlü tekrarlarda ikinci sırada bulunması bu hipotezle uyum göstermektedir. Sonuç olarak, SSR markörleri koddominant olmaları itibarıyla



Şekil 4. Kodlama bölgelerindeki SSR bölgeleriyle ilişkili olası aminoasit ürünleri

bilgilendirme gücü, polimorfizm oranı ve mutasyon oranlarına bağlı olarak varyasyon seviyesi de önemli derecede yüksektir. SSR markörleri, bitki filogenetiği ve genetik çeşitlilik çalışmalarında, genetik haritalama ve fonksiyonel genomik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu çalışmanın sonuçları, özellikle gelecekte yapılacak olan çeltik türleriyle ilgili mtSSR çalışmalarına güçlü bir bilimsel zemin oluşturacaktır.

### Kaynaklar

- Bellon, M.R., Brar, D.S., Lu, B.R., Pham J.L. 1998. Rice genetic resources. In: Dwoling NG, Greenfield SM, Fischer KS (eds) Sustainability of rice in the global food system, Chapter 16, Davis, California (USA). Pacific Basin Study Center and IRRI, Manila, 251–283.
- Gandhi, S.G., Awasthi, P. and Bedi, Y.S. 2010. Analysis of SSR dynamics in chloroplast genomes of *Brassicaceae* family. *Bioinformation*, 5(1), 16-20.
- Gao, L.Z. 1997. Studies on genetic variation of three wild rice (*Oryza* spp.) in China and their conservation biology. Ph.D. Dissertation, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing, P.R. China.
- Gao, L.Z., Zhang, C.H., Li, D.Y., Pan, D.J., Jia, J.Z., Dong, Y.S. 2006. Genetic diversity within *Oryza rufipogon* germplasms preserved in Chinese field gene banks of wild rice as revealed by microsatellite markers. *Biodiversity and Conservation*, 15, 4059–4077.
- Khush, G.S. 1997. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Molecular Biology*, 35, 25–34.
- Kuntal, H., Sharma V. 2011. *In Silico* Analysis of SSRs in Mitochondrial Genomes of Plants. *OMICs: A Journal of Integrative Biology*, Vol. 15, No. 11, 783–789.
- Li, Y.C., Korol, A.B., Fahima, T. and Nevo, E. 2004. Microsatellites Within Genes: Structure, Function, and Evolution. *Mol. Biol. Evol.*, 21(6), 991–1007.
- Londo, J.P., Chiang, Y.C., Hung, K.H., Chiang, T.Y., Schaal, B.A. 2006. Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*. *PNAS*, 103: 25, 9578–9583.
- Mackenzie, S., He, S., Lyznik, A. 1994. The Elusive Plant Mitochondrion as a Genetic System. *Plant Physiol.*, 105, 775–780.
- Metzgar, D., Bytof, J., Wills, C. 2000. Selection Against Frameshift Mutations Limits Microsatellite Expansion in Coding DNA. *Genome Res.*, 10, 72–80.
- Morgante, M., Hanafey, M. and Powell, W. 2002. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nat. Genet.*, 30, 194–200.
- Nishikawa, T., Vaughan, D.A., Kadowaki, K. 2005. Phylogenetic analysis of *Oryza* species, based on simple sequence repeats and their flanking nucleotide sequences from the mitochondrial and chloroplast genomes. *Theor Appl Genet*, 110, 696–705.
- Oka, H.I. 1988. Origin of cultivated rice. Japanese Scientific Societies Press, Tokyo.
- Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M.I., Vencovsky, R., Vieira, M.L.C. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites, *Genetics and Molecular Biology*, 29(2), 294-307.
- Palmer, J.D., Adams, K.L., Cho, Y., Parkinson, C.L., Qiu, Y.L., and Song, K. 2000. Dynamic evolution of plant mitochondrial genomes: mobile genes and introns, and highly variable mutation rates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 6960-6966.
- Rajendrakumar, P., Biswal, A.K., Balachandran, S.M., Srinivasarao, K. and Sundaram, R.M. 2007. Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions. *Bioinformatics*, 23, 1–4.
- Rajendrakumar, P., Biswal, A.K., Balachandran, S.M., Sundaram, R.M. 2008. In silico analysis of microsatellites in organellar genomes of major cereals for understanding the phylogenetic relationships. *In Silico Biology*, 8, 9-18.
- Xu, J.H., Cheng, C., Tsuchimoto, S., Ohtsubo, H., Ohtsubo, E. 2007. Phylogenetic analysis of *Oryza rufipogon* strains and their relationship to *Oryza sativa* strains by insertion polymorphism of rice SINEs. *Genes Genet. Syst.*, 82, 217-229.
- Varshney, R.K., Thiel, T., Stein, N., Langridge, P. and Graner, A. 2002. In Silico Analysis on Frequency and Distribution of Microsatellites in ESTs of Some Cereal Species. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 7, 537 – 546.
- Varshney, R.K., Graner, A., Sorrells, M.E. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnology*, Vol.23, No.1.
- Victoria, F.C., Maia, L.C., Oliveira, A.C. 2011. In silico comparative analysis of SSR markers in plants. *BMC Plant Biology*, 11,15.
- Yuan, L.P., Virmani, S.S., Mao, C.X. 1989. Hybrid rice: achievements and further outlook. In: Progress in irrigated rice research. International Rice Research Institute, Manila, The Philippines, 219–223.