

**РАЗРАБОТКА И УНИВЕРСАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ EST-SSR
ЖИТНЯКА МОНГОЛЬСКОГО (*AGROPYRON MONGOLICUM KENG.*) НА ОСНОВЕ
СЕКВЕНИРОВАНИЯ ТРАНСКРИПТОМА**

**ХАНЬ ЦЗЯФАНЬ, ВАН ЦИЛУН, ЛИ ЮЙЧЭНЬ, ХУАН СИНТЯНЬ,
ДУ ЦЗИНЬЮЙ, ЧЖАО ЯНЬ**

Сельскохозяйственный университет Внутренней Монголии
Хух-Хото, Китайская Народная Республика, 010070

ЛЮ ЯЛИН

*Mengcao Ecological Environment (Group),
Хух-Хото, Китайская Народная Республика, 010070*

(Поступила в редакцию 20.06.2025)

Растения рода *Agropyron* являются отличным кормом и обладают высокой устойчивостью к стрессу. На основе данных секвенирования транскриптома (*A. Mongolicum Keng*) были случайным образом отобраны и синтезированы 99 пар SSR-праймеров. Эти праймеры были валидированы для пяти различных видов *Agropyron*: *Agropyron Mongolicum Keng*, *A. michnoi*, *A. desertorum*, *A. desertorum* cv. *nordan* и *Agropyron cristatum* × *A. desertorum* cv. *Hycrest*. Были протестированы пять видов изучаемого растения. Целые полосы были успешно амплифицированы 89 парами праймеров, что соответствует эффективности в 90 %. Размеры целевых фрагментов соответствовали результатам секвенирования. Результаты показали, что SSR-маркеры, разработанные на основе данных транскриптома *A. Mongolicum Keng*, обладают практичесностью и универсальностью. Эти маркеры заложили прочную основу для оценки генетических ресурсов, картирования, улучшения сортов и анализа генетического разнообразия *Agropyron*.

Ключевые слова: житняк монгольский, секвенирование транскриптома, молекулярный маркер EST-SSR, праймер, ПЦР-амплификация.

Plants of the genus *Agropyron* are excellent forage crops and exhibit high stress tolerance. Based on transcriptome sequencing data (*A. mongolicum Keng*), 99 pairs of SSR primers were randomly selected and synthesized. These primers were validated for five different *Agropyron* species: *Agropyron mongolicum Keng*, *A. michnoi*, *A. desertorum*, *A. desertorum* cv. *nordan*, and *Agropyron cristatum* × *A. desertorum* cv. *Hycrest*. Five species of the studied plant were tested. Whole bands were successfully amplified with 89 primer pairs, corresponding to 90% efficiency. The target fragment sizes were consistent with sequencing results. The results demonstrated that the SSR markers developed on the basis of data of *A. mongolicum Keng* transcriptome are practical and versatile. These markers provide a solid foundation for genetic resource assessment, mapping, cultivar improvement, and genetic diversity analysis of *Agropyron*.

Key words: mongolian wheatgrass, transcriptome sequencing, EST-SSR molecular marker, primer, PCR amplification.

Введение

Житняк монгольский (*Agropyron mongolicum Keng*) является отличной кормовой травой и обладает очень высокой кормовой ценностью. В данном исследовании метод секвенирования транскриптома был использован для высококачественного секвенирования транскриптома житняка. Праймеры для разработки SSR-маркеров были отобраны случайным образом. Обнаружен ряд праймеров SSR с высокой эффективностью амплификации и практичностью, которые удобны для будущего применения в идентификации ресурсов генетического материала того же рода [1–6].

Молекулярные SSR-маркеры, разработанные в этом исследовании на основе секвенирования транскриптома монгольского житняка [7, 8], являются эффективными и практичными. Результаты исследования закладывают основу для дальнейшей разработки молекулярных SSR-маркеров монгольского житняка. Эти маркеры являются базой для анализа разнообразия генетических ресурсов житняка [9, 10, 11], составления генетической карты, оценки генофонда и улучшения сортов.

Основная часть

Объектами исследований служили пять видов житняка, которые были собраны из питомника кормовых ресурсов и кормовой базы Сельскохозяйственного университета Внутренней Монголии (табл. 1).

Таблица 1. Виды житняка

Наименование вида	Латинское название	Источник	Тип
Житняк монгольский	<i>Agropyron mongolicum Keng</i>	Внутренняя Монголия	разновидность
Житняк пустынnyй	<i>Agropyron desertorum</i> (Fisch.) Schult	Внутренняя Монголия	дикие ресурсы
Житняк пустынnyй стансдартический	<i>Agropyron desertorum</i> CV. <i>nordan</i>	США	разновидность
Гибрид житняка	<i>Agropyron cristatum</i> × <i>A. desertorum</i> cv. <i>Hycrest</i>	США	разновидность
Житняк Михно	<i>Agropyron michnoi</i>	Внутренняя Монголия	разновидность

Экстракция геномной ДНК и синтез праймеров EST-SSR.

Для выделения ДНК использовали свежие и нежные листья 5 видов житняка (стадия озеленения). Навеску массой около 0,10 г от каждого материала, поместить в центробежную пробирку со стальными шариками, быстро заморозить жидким азотом, измельчить шаровой мельницей. Экстрагировать геномную ДНК с помощью набора для экстракции геномной ДНК растений компании Tiangen (центробежная колонка). Определенные действия выполняются в соответствии с инструкцией. Качество ДНК определяли с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле, а концентрацию ДНК определяли с помощью ультрафиолетового спектрофотометра DROP 2000.

ПЦР амплификация. ПЦР-амплификация проводилась в объеме 20 мкл [15]. Смесь состояла из 10 мкл Master Mix, 1 мкл прямого и обратного праймеров, 1 мкл матрицы ДНК (разбавленной) и 7 мкл ddH₂O для пополнения всего объема.

Процедура реакции предварительного скрининга 95 °С предварительная денатурация в течение 3 мин; денатурация при 95 °С в течение 30 с, оптимальная температура отжига праймера составляет 55 °С, отжиг составляет 30 с, элонгация 72 °С в течение 30 с, 35 циклов; 72 °С завершающая элонгация в течение 7 минут. Хранить при 4 °С.

Извлечение и обнаружение ДНК. Экстрагированная геномная ДНК житняка была обнаружена с помощью 1 % электрофореза в агарозном геле. Результаты электрофореза показали, что экстрагированная геномная ДНК имела хорошую целостность без явных разрывов и деградации. После электрофореза концентрация и чистота были определены с помощью количественного прибора измерения нуклеиновых кислот. Результаты обнаружения показали, что концентрация геномной ДНК пяти извлеченных видов житняка была высокой, значение OD260/OD280 составляло около 1,8–2,0, и в OD260 был очевидный пик поглощения, чистота была высокой, что подходило для последующей реакции ПЦР-амплификации праймеров молекулярного маркера SSR.

Значения концентрации ДНК пяти видов житняка выглядят следующим образом (табл. 2).

Таблица 2. Результаты теста ДНК

Наименование вида	Нуклеиновая кислота	Группа по эксплуатации	A260(Abs)	A280(Abs)	260/280	260/230
Житняк монгольский	63,7	ng/µL	1,275	0,621	2,05	1,13
Житняк пустынnyй	44,3	ng/µL	0,885	0,430	2,06	0,87
Житняк пустынnyй стандартный	46,3	ng/µL	0,927	0,460	2,02	0,93
Гибрид житняка	64,2	ng/µL	1,284	0,644	1,99	1,16
Житняк Михно	135,1	ng/µL	2,701	1,335	2,02	1,55

Последовательность праймеров SSR.

В этом эксперименте, основанном на секвенировании транскриптома житняка монгольского, параметры праймера были разработаны с содержанием GC 40–60 %, температурой отжига 50–60 °С, длиной праймера 18–25 п.н., а целевой фрагмент, как ожидается, будет более 50 п.н.

Таблица 3. Информация о 99 парах SSR- праймеров

№ п.п.	Номер праймера	Повторяющийся мотив	Нуклеотидная последовательность праймеров (5'-3')	Нуклеотидная последовательность праймеров (5'-3')
1	CL1017	TTTG	CAGCATATCAACACAGACAAT	TTTTTGGATTCTGCAGTCAGT
2	CL1018	TC	GCACCTATGTAGATGGCAACT	AGAGAGGAAAGTCCATTGATT
3	CL101	AGC	CCACCAACCTCTCTCTGTAT	GTTACCGATTGACAGCGAAGT
4	CL103	GCCTCC	GAACATCGGCTACGAGTACG	GTCCTTCTTCAGCTGCTTGT
5	CL1064	CGT	CGCTCGTTGCACTTGTAGC	ACGGACAGCTCTGCTCACT
6	CL1073	TGC	TCTTGTCTCTGTGTACCGAA	TGTCGACTTCCATGGATTAGAT
7	CL1085	GGC	AGATCCACAGATCCAAATCCA	CGATCGAGGAGACGAAACTAAT
8	CL1087	CGC	TTACCTTGATCTGGTACAGCT	GTCGCTGTAGGGGCTTC
9	CL1111	GGT	GAAATTCTTCACACCGTAGGCA	ATATTGCACTTTCATTCTTCCG
10	CL1121	CGG	CTTAAATCTGAGTGATGGCCT	CTCCCTCTCCCTGCCCTAAATC
11	CL1140	CT	CTCTGAATCTGAATCTTGTGTTG	CATGGGGACTACAAATGAACA
12	CL1172	CGC	AACTTGCACGACGAC	GTGACTCTGGAGGACGACAAC
13	CL1193	AG	TTCTTCAGTTCAGCAAACATG	AGTGGAGGTGCAGGGTAGAAG
14	CL1237	TGC	CCTCTCTGAGTCTGTGCTTG	GGTCTGGTTCTCCAAGAAAGAA
15	CL1242	TA	GCTGATTGCTGGGAATATGAG	AAGATTCTGGTGGACAGAGTG
16	CL1244	TGC	ATCTCTAAATGCCAACAGGTC	GATGCTTGTGGTGTCTCCT
17	CL1278	AGC	GGCACAAATGAATCCCAGAGA	CATCATGGGGATATGGTAAAT
18	CL1298	CA	ACTGATCGGCATCATCTTGTA	CTCAAAAGATCTGTCCCCAGTA
19	CL1317	CGG	GGACTTCTGCATGCCATC	GAGGTGCGCCACGTAGAG
20	CL1343	GCC	GCTTTAATCCACACTTCCGTC	CCGTGGTAGCGACTGCTG

21	CL1348	CCG	AGCAGCTACCTCTCGGACA	ACCGAGAGCTTGGCGTTG
22	CL1361	TCC	AGGATTATCGCCTGGACAC	CTCGGAGAGGCAGAAAGAAAAG
23	CL1367	CTT	AACCTGCCAGTATGCTTGAAA	GGATCTTCTGTACGATGATTG
24	CL1403	GTC	GATACTGCTAAATCTCGGCTT	ATTGTTCTAAGGAACCGAAAT
25	CL1440	AGG	AGTTAGAGACGGCAGAGAGG	CCCGTCACACCTCAGCTC
26	CL1454	GA	GGAGAGGATCAAAGAAGAGG	ACTATCGACCGACACATCCAG
27	CL1458	TG	GTGGTCAATCTTGGATAAG	TCTTGTGTTGGCTGCTTC
28	CL1497	CGA	CTTCTGCTCACCATGGCAC	CTCATTTCTCCGTTGCCTC
29	CL1520	AAGG	TACTTGTCAAGAGAAGGAACG	ACCAAATCAAGGAACCAAGCTA
30	CL1533	CCT	ATGGTTCCGTACAGTTGCC	GAGAGTTCTCGGCTTGTAAATCA
31	CL1571	TC	ACCTGGAGGTTCTCAAGCACT	GTACCACTACCACGTGATCATC
32	CL1602	CCA	ATGAAAAGGAGCTTCAGCCAT	ACCGAAGTAATTAAACGACCAA
33	CL1680	GAG	GTCCCGCAGAAAAAGGTGTC	CACGACCTTCGCGCTATC
34	CL168	CTG	AACCCGACCATGATAAGAA	GTTCACACTACGGGTTGGTCAT
35	CL1695	CGG	GCTTGCTGGAAGTCGAGG	ACACGACGTGGACCAACAT
36	CL1709	GA	AAGGAAGAAGAACGAGCAAA	AGGAGAAAGAAAATCGGTGAA
37	CL1728	CCG	CAAGGAGGACAAGAAGGACG	CTGTGGTTGTGGTAGTACGGGT
38	CL1754	GGA	TCTATTGCTCGACTCTAGGC	GCCGTACTGGCAATAGAGTACA
39	CL1760	GCT	GCTCCGTTATTCTATGTGATGT	CACCAGAGAAGTTCAAGGAAG
40	CL1765-1	GAG	AGGTCTACTACGAAGACGGC	GTCCGAGGTCAAGGAAGTCAG
41	CL1765-2	CCT	GTCGAGCAGCAACCACGAC	CCCTGTTAAATTGTAAAGAAC
42	CL1774-2	GCTTCT	TTTAGAAAATGAAGCGACCC	CATAAAAGTTCTGGACGCTTTG
43	CL1774	AGC	GCTCACTCCATAAGCACTCAA	AGGTTGTCGACTATGCCCTTGAT
44	CL1801	CT	CATACGATTCTGCTCGATT	TTTGGATTGATTGTGTCAGTCA
45	CL1813	GGC	GAACGAACGATTGGTTATTG	GGTACCCGTGGAGGAGGAGTA
46	CL1829	CGG	CTTGAGCTAGCCGAGGAGC	CTTCTCCTCGATCATCCTGAC
47	CL182-1	AAC	CTAACCTCTGGCAAAAGAGACC	CACCTCCATGCTCCATACTTAC
48	CL182	TTG	CACCTCCATGCTCCATACTTT	TCTATCCGTTGATATCGAATGT
49	CL1837	AGG	TACGAGGTTGTCCTCACTGAT	CAATTCCATCTCATTCAAC
50	CL1859	GCT	ACGGAGCTCTCGTCCCTG	CAAACCCCTAACGCCAGCCAG
51	CL1875	TGG	AGCGAAGCCACGATAGGAT	ACCAACGGATAAGATAGACCCA
52	CL1915	GCT	GTTCAGCCTTGCACAAGGAGTC	GAGCATAAAGCAGTACAATGC
53	CL1925	CCT	GGGAATAGTCGTCCTGTT	GCTGGTCTGGACGAGCAC
54	CL1934	CGG	CAGCTTCAGCACGTCCAC	GAAGCTAGCTAGGAGTCACCA
55	CL1937	TCC	AGAGCAGGAGCTAGGGTT	GACCTGGAGGTCTTCTTCCC
56	CL1941	AT	GCTTCGTCCTACAGAGAAGA	CTTCGGCTAATTACGTTACGG
57	CL1944	CGG	ATTGGAGACGGTTGTGTTCC	TCTTCTCCTTCTCACCTGTTG
58	CL1950	TCG	GCTTGTCTTCTCTCGGGTT	GAATCTCGAAAGACGACCTGT
59	CL1952	GCG	CAAGGATTACAGCTCTACAA	AAGTAGTCGAACGACTCGATGT
60	CL1964	CAGT	ATGGCTGATCTGATTGAAGA	GTTGTTGTGAGTGGAGGCACTA
61	CL1967	ATCAA	CATCTTTGATGATCCTGGTG	AGGGTGCTGCTAATCTAGGAC
62	CL1980	CTC	CCTGGTGATCCTCTCCCT	TAAACTAAGTGTAACTCCGGG
63	CL1987	CGC	CAATGGTCGATTGTCACGTG	ACAGGCTGCTGGTGCTGT
64	CL2032	CT	TTTCCACTACCATCAATTCA	CACACATTGTCGTGTTGGAGA
65	CL2039	TC	TCCTCGGTTCAAGATAAGCTT	TCACAATCATTACAAAAGAAC
66	CL2044	GA	CTTGAGTCGAACGAAGTGG	TGCTCTTCAATCAAGCAATACA
67	CL206	TG	CAAACGTAAAGGGTTTCTCC	TGTCGACAACCAAGATCATCATT
68	CL2086	CCT	CAGCTTCAGCGTGTGAT	CTGAACCTGCTTCTCACCT
69	CL2090	AC	AGGCACACATCAACACACAT	TCGCCTCTTTTCTCTCT
70	CL210	TTC	GACCTATGACTGATGGTCACA	CCTCTTGCAGAAGTAGCAATGT
71	CL2113	CGA	TCCTTCGTCCTCCATCTACGTC	CGGTCTTGGCGAGTAGGA
72	CL2114-1	GAG	TGAAGAGAAGGAGGAAGTGA	AGTCTCGATCTCGTAGAACCCC
73	CL2114-2	CCG	GGGATTCTACGAGATCGAGAC	CAAAGGCTCAACAAAAACAG
74	CL2114-3	GGC	CTCAAAGGCTTCAACAAAAAC	GGGATTCTACGAGATCGAGACT
75	CL2114-4	GGC	AAGGCTTCAACAAAAACAGA	GGGATTCTACGAGATCGAGACT
76	CL2120	GC	ATCATCAGGGTAGCCAGACA	ATATGATCGATCCACACGAGAG
77	CL2136	TGCA	TTTGGAGTGGTACACTTGT	TAATAAGTAGCACGCATTACGC
78	CL2140	AGC	CACGTACCCAGTGTGGAGG	GAGTACGAGTACGGAGATGATC
79	CL2212	AAAC	CTACCTGACAGGCTGACACAA	GCTGTGAAATTGTGAATAGGGA
80	CL2256	GCC	CATCCACGAGCTCCCTACC	CATGCCTGTAATGGTTGAGGTT
81	CL2259	GA	CTAATTAATCCTCCTGCTCAG	CACCAGCTGGCACATCAC
82	CL2259-1	GA	CATACCCGCTAATTAATCCTC	AAAAGCAGAGAAGAAGTTGTG

83	CL2270	CCCTT	GCAGGAGATTGAAATGTAATG	CCTCACCTCTCTCTCCTCT
84	CL2309	TGC	TTCCCCTCCTTGATACAGC	ACTGAAGACCATAACAGAAG
85	CL2311	GCA	CAAACTTGTGTCAATTGAG	AGAAAGCTTGTGTGCTCCGTA
86	CL2324	CA	GACTGCAAGTAGCAGGAGAG	CAGGAAGGTACCAAGATCGAGA
87	CL2331	CCG	ATTCGAGGATGTCTATGG	ATGGGTGAGGACCTCTTCTG
88	CL2333	CAC	CACCAAGCACCAGCAACAG	AGAATTCCCAGCAACATCAAGT
89	CL233	GCG	GATCCTAGCCATGATGGTATG	GCTGCCTCCACTTTTGAG
90	CL2352	CCT	ATTAAAGCCCTTCCACTTC	GCAGGCACTTATAGGAGAACATGAC
91	CL2364	AGA	CGCTGAACAGCCAAGATAAT	TATCTATCTGGCATTCTGGCTCT
92	CL2379	GAGTGG	CTGGGAGTGGTGGGTTGC	GACCAGGACACACTCTTGAGT
93	CL2434	TCG	ATCATCTGGCTCCACCTCAG	CTCGGCACCAGCATGTT
94	CL2441	TTG	CGAATTGAGCAGAAAAGAAG	ATATTGAGGGCTCATGGAG
95	CL2449	CCA	GTCCACGCTTGCTCTCC	GAGGTATTCGTGGTGTCAAT
96	CL2452	GCCG	AGCAGCAGCTAGCTATCTCAA	CTTTCTTCTTCGGAGCATCT
97	CL2452-1	AACC	AGATGCTCCGAAAAGAAGAA	TAAGGGGTGTGAAGTATAAT
98	CL2456	CGG	GTGCTGCTGAAGTAGAA	GGCAGGCTCACATCTCC
99	CL2476	ACC	GTCTCAATGATCCGTTTACC	CTAAGCTGCACGAGATGGC

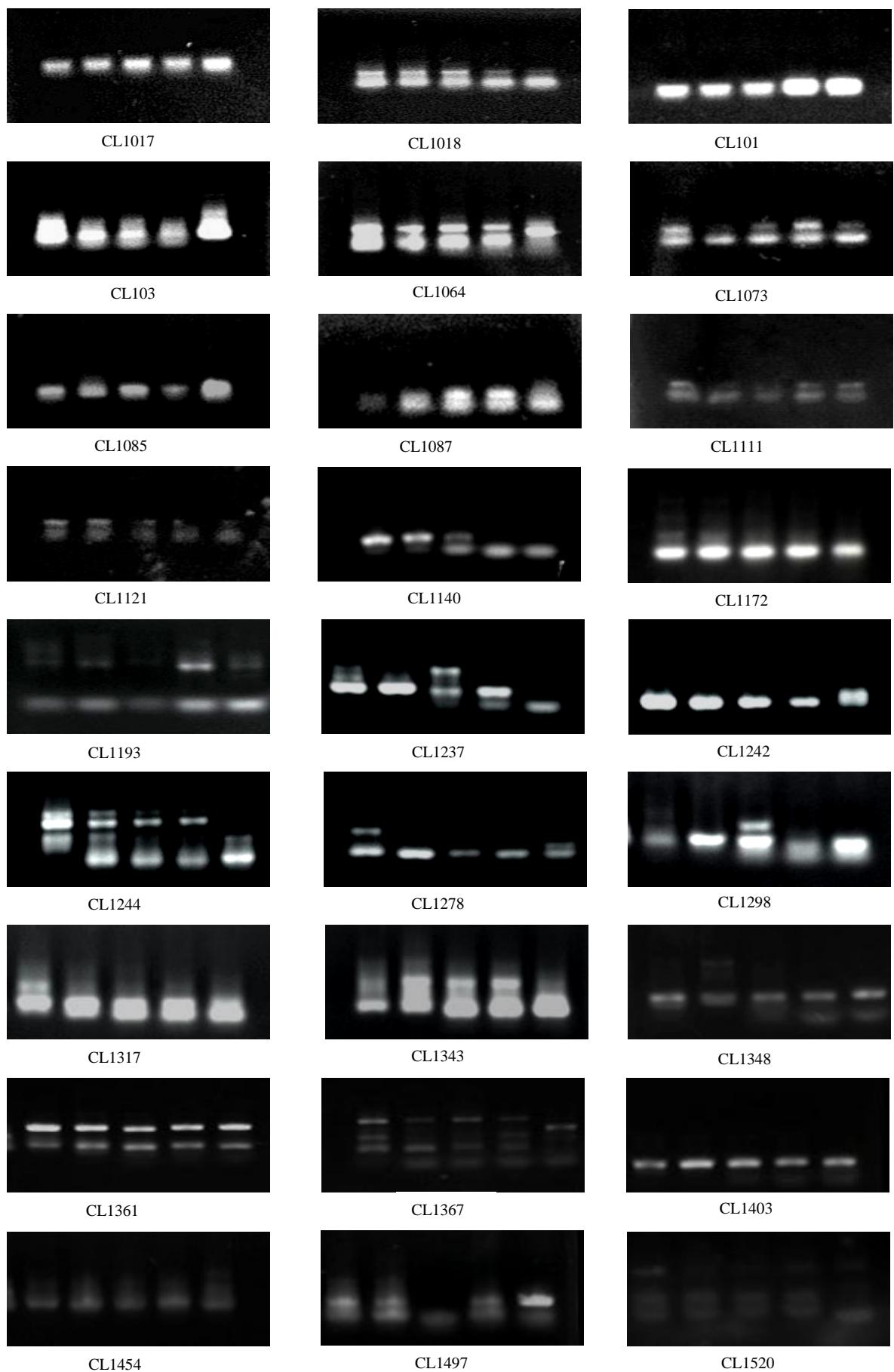
Анализ эффективности праймеров SSR. ПЦР-амплификация геномной ДНК 5 видов житняка была выполнена с помощью 99 пар праймеров. Результаты показали, что 89 пар праймеров амплифицировали четкие полосы, а 10 пар не амплифицировали продукты. Критерии успешной разработки маркеров заключаются в том, что праймеры для скрининга являются эффективными праймерами до тех пор, пока амплифицируется четкая полоса в житняке монгольском. Эти праймеры имеют большое значение для идентификации генетического материала житняка. Результаты амплификации пяти материалов из следующих 89 пар праймеров представлены на рисунке 1 (рис. 1).

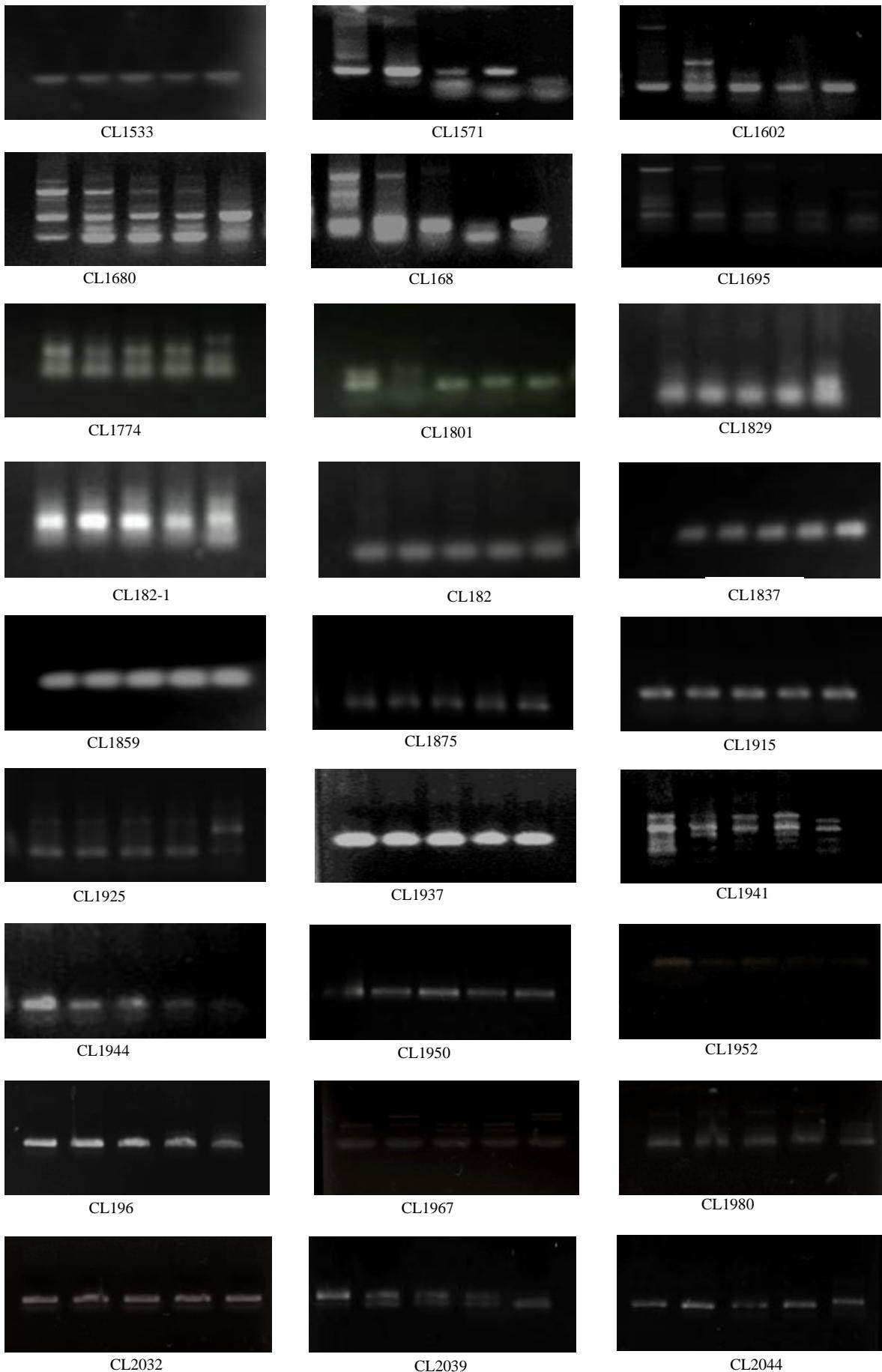
Проверка праймеров SSR. Праймеры SSR, разработанные на основе данных транскриптома житняка монгольского, также амплифицируют четкие и очевидные полосы в других видах житняка, что указывает на то, что праймеры SSR для житняка обладают высокой универсальностью среди видов житняка и могут быть использованы для изучения и идентификации родственных связей растений или сортов житняка.

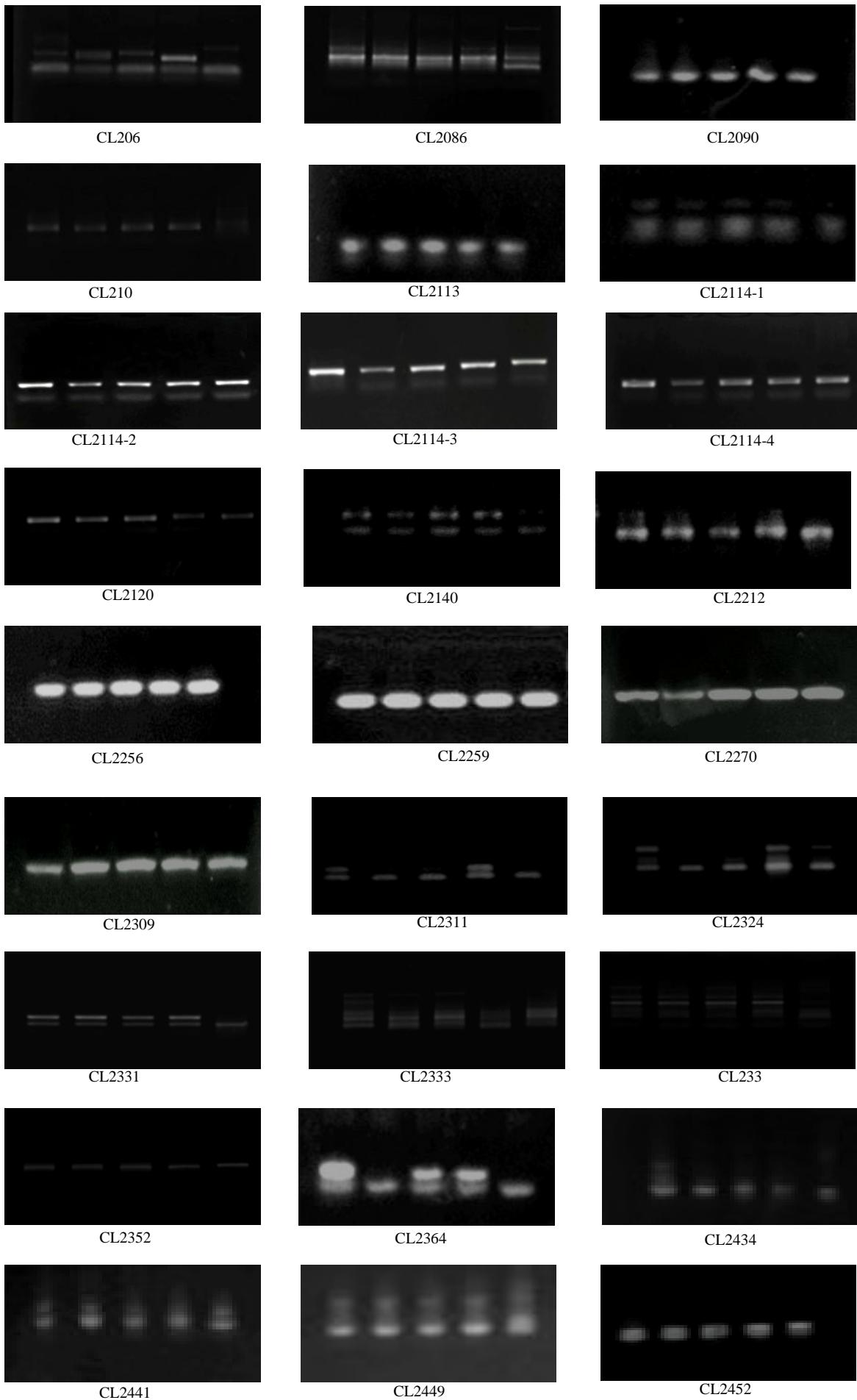
Результаты ПЦР-амплификации.

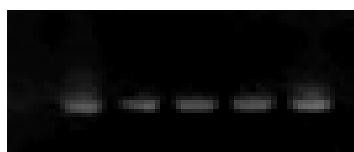
В последние годы развиваются технологии высокопроизводительного секвенирования, такие как технология секвенирования транскриптома (RNA-seq, RNA-sequence), которая определяет последовательность кДНК транскриптома, чтобы выявить все гены или EST (EST, expressed sequence tag) в растительных тканях или клетках [16, 17, 18]. Эта технология широко используется во многих исследованиях растений. Большое количество молекулярных маркеров EST-SSR было разработано и использовано на основе секвенирования транскриптома в этом эксперименте, чтобы проверить точность и надежность данных секвенирования транскриптома. Целевая полоса, амплифицированная ПЦР, обнаруженная электрофорезом в агарозном геле (рис 1), соответствовала ожидаемому размеру целевого фрагмента.

Десять пар праймеров не получили результатов амплификации. Причина может заключаться в том, что в процессе предварительного скрининга праймеров в процедуре амплификации не проводился тонкий градиентный скрининг, но непосредственно основывался на температуре отжига разработанных праймеров SSR и на предыдущих исследованиях анализа SSR различных растений. Возможно, для некоторых праймеров оптимальная температура отжига не была найдена, что могло привести к некоторой неэффективной и неспецифической амплификации [19, 20, 21].









CL2452-1



CL2476

Рис. 1. Результаты амплификации 89 пар праймеров для 5 видов житняка

Повторяющиеся мотивы и частоты локусов SSR.

Таблица 4. Статистические результаты данных SSR транскриптома монгольского житняка

Число повторов	Мононуклеотидные повторы	Динуклеотидные повторы	Тринуклеотидные повторы	Тетрануклеотидные повторы	Пентануклеотидные повторы	Гексануклеотидные повторы
4	0	0	0	0	495	269
5	0	0	3780	327	54	0
6	0	973	1578	65	0	0
7	0	530	775	0	0	0
8	0	337	81	1	0	0
9	0	219	0	0	0	0
10	0	202	0	0	0	0
11	0	205	0	0	0	0
12	190	18	0	0	0	0
13	124	0	0	0	0	0
14	57	0	0	0	0	0
15	68	0	0	0	0	0
16	40	1	0	0	0	0
17	30	0	0	0	0	0
18	7	0	0	0	0	0
19	14	0	0	0	0	0
20	10	0	0	0	0	0
21	40	0	0	0	0	0
22	44	0	0	0	0	0
23	37	0	0	0	0	0
24	2	0	0	0	0	0
Итог	663	2485	6214	393	549	269

Анализируя данные типы повторяющихся мотивов, полученные из транскриптома житняка монгольского при помощи 99 SSR-праймеров, отмечается наличие в генотипе широкого разнообразия повторяющихся последовательностей от мононуклеотидных до гексануклеотидных повторов (табл. 4). Повторяющихся мотивов с 4–6 нуклеотидами в транскриптоме житняка монгольского встречается меньше, но с большим диапазоном, чем с 1–3 нуклеотидными повторами, что может служить основанием для положительной корреляцией полиморфизма, выявленного с использованием SSR-маркеров и количества повторяющихся мотивов (рис. 2).

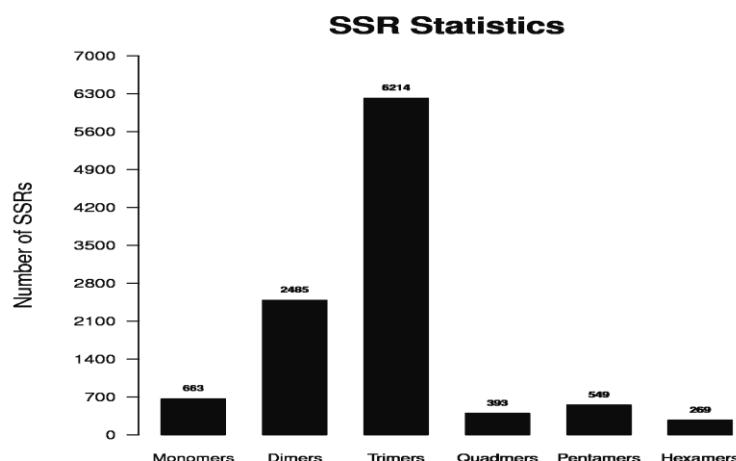


Рис. 2. Последовательности транскриптома житняка монгольского

Наиболее распространенный является тринуклеотидный повтор. Динуклеотидные повторы являются следующими по распространению. Пента и гексануклеотидные повторы встречаются реже [22–27].

Заключение

В этом исследовании было впервые разработано 99 пар праймеров EST-SSR с использованием данных последовательности транскриптома монгольского житняка, из которых 89 пар были эффективными и универсальными для других четырех видов житняка. Результаты этого эксперимента не только обеспечивают основу для дальнейшего развития SSR-маркеров житняка монгольского, но также расширяют коллекции молекулярных маркеров для анализа генетического разнообразия и размножения с использованием этих маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Разработка молекулярных маркеров SSR и оценка генетического разнообразия транскриптома суданской травы [J] / Чжу Юнционь, Пэн Дандан, Линь Чаовэнь и др. Чжу Юнционь, Пэн Дандан, Линь Чаовэнь [и др.] // Журнал травяной промышленности. – 2018. – №5.
2. Стратегия секвенирования транскриптома (РНК-секвенирование) и ее данные должны быть использованы в разработке молекулярных маркеров [J] / Ли Сяобай, Сян Лин, Луо Цзе [и др.] // Китайский журнал клеточной биологии. – 2013. – №35(5): 720–726.
3. Ли Рую. Повторение простой последовательности (SSR) и его применение в исследованиях сельскохозяйственных культур [J] / Ли Рую // Shandong Agricultural Science. – 1999. – №4: 44–48.
4. Лю Юйчжоу. Исследование генетического разнообразия ресурсов зародышевой плазмы мармелада [D] / Лю Юйчжоу // Хунаньский сельскохозяйственный университет. – 2015.
5. Цзян Шаохун. Исследование генетической карты маркеров SSR сои [J] / Цзян Шаохун // Научно-техническая информация (научное обучение и исследования). – 2007. – №17.
6. Хуан Хайянь. Разработка праймеров EST-SSR и генетическое разнообразие *Eucosmia ulmoides* [D] / Хуан Хайянь. – Пекин: Китайская академия лесных наук, 2013.
7. Молекулярное разведение *Dactylis grass* [J] / Тан Лу, Чжан Синьцюань, Хуан Линкай [и др.] // Наука о травянистых растениях. – 2018. – №9: 2230–2240.
8. Разработка маркера Genomic-SSR для генома *Dactylis grass* [J] / Ли Цзи, Хуан Линкай, Цзинь Меня [и др.] // Молекулярная селекция растений. – 2017. – 10: 237–245.
9. Анализ генетического разнообразия RAPD и ISSR 20 зародышевой плазмы люцерны в Синьцзяне [J] / Ма Циньсин, Ян Чжуанчжуан, Чжан Цзийюй [и др.] // Журнал Юньнаньского сельскохозяйственного университета (естественные науки). – 2018. – 33(04): 9–19.
10. Чжан Сибинь. Генетическое разнообразие молекулярных маркеров SSR различных солеустойчивых люцерны [D]. 2018.
11. Анализ генетического разнообразия маркеров SSR в ресурсах зародышевой плазмы *Miscanthus sinensis* в Китае [J] / Сюэ Лян, Сюэ Де, Цзян Цзиньсион [и др.] // Журнал генетических ресурсов растений. – 2013 (1): 36–41.
- 12 Прогресс в исследованиях методов экстракции ДНК растений в молекулярных маркерах [J] / Лю Тас, Лин Лимэй, Гонг Лимин [и др.] // Zhongnan Pharmaceutical. – 2005 (06): 370–373.
- 13 Хуан Юнлянь. Исследование экспериментальной технологии электрофореза в агарозном геле [J]. Журнал Чжаньцзянского педагогического университета, 2009, 30 (06): 83–85.
- 14 Chang Bingmei, Zhang Dong, Li Meining, et al. Применение нового красителя нуклеиновой кислоты в электрофорезе в агарозном геле [J]. Современная профилактическая медицина, 2010, 37 (19): 3717–3718 + 3720.
- 15 Xiao-Yan Zhang, Wei-Xiang Shen & Jun Gao. обнаружение резистентности *Helicobacter pylori* к кларитромицину в слизистой оболочке желудка с помощью системы амплификации рефрактерных мутаций в сочетании с количественным PCR [J] в реальном времени. Cancer Medicine, 2019, 8(4).
- 16 Ван Цзиюэ, Лю Ман, Лю Линъюнь, Чан Чжи. Универсальный анализ маркеров EST-SSR в луговой феску и многолетнем райграсе [J]. Acta Grassland. – 2021. – 29(09): 1900–1908.
17. Разработка нового набора маркеров EST-SSR пшеницы и их применение в построении генетических карт [J] / Лу Бинбин, Дай Чан, Пэн Чжэнсун, ЯМАМОТО Наоки, У Ичо, Вэй Шухун, Ян Зайцзюнь // Северо-Китайский сельскохозяйственный журнал. – 2020. – 35(04): 57–63.
18. Разработка и проверка маркеров EST-SSR для бобов Цинхай-Тибет на основе секвенирования транскриптома [J] / Ван Инфан, Чжан Емэн, Лю Дэмэй, Шэн Инфан, Ван Хайцин // Наука о травянистых растениях. – 2020. – 37(04): 718–727.
19. Анализ различий в качественных признаках и генетического разнообразия сортов ароматного риса *Japonica* на основе маркеров SNP[J] / Чжоо Ичжоу, Ни Шаньцзюнь, Чжан Чжан, Ли Синь, Мао Тин, Чжан Лили, Лю Янь, Лю Фуцай // Ляонинская сельскохозяйственная наука. – 2020. – №1.
20. Анализ генетического разнообразия ресурсов ароматного риса в провинции [J] / Чжао Фэнминь, Ли Сюопин, Сюэ Цзиньфан, Ван Линань, Ма Вэньдун, Чжан Сяньго, Шань Лили, Го Цзюньсян // Молекулярная селекция растений. – 2020. – №12.
21. Генетический анализ аромата риса *Wuyudao № 4* и скрининг молекулярных маркеров SSR [J] / Лю Хайнин, Ян Чжунлян, Лю Хуэй, Лэн Чуньсю, У Личэн, Сюй Чжэнхуа, Юй Яньминь, Лай Юнцай // Хэйлунцзянская сельскохозяйственная наука. – 2021. – №6: 5–9.
22. Анализ локусов SSR и разработка полиморфных праймеров на основе генома *Erigeron breviscapus*[J] / Лю Сунвэй, Лу Инчунь, Сун Ваньлин [и др.]. – Молекулярная селекция растений. – 2018. – №12.
23. Анализ локусов SSR и разработка молекулярных маркеров на основе секвенирования транскриптома [J] / Лю Хэ Хуэйвэнь, Лю Цзюньюй, Гуань Миньхуа, Ли Цзи, Цзэн Сунцзюнь, У Кунлинь // Молекулярная селекция растений. – 2021: 1–13.
24. Разработка и универсальный анализ маркеров EST-SSR для *Acer verde* на основе последовательности транскриптома [J] / Му Ин, Бай Юньхай, У Цзин, Дуо Дэцюань, Чжан Жуйи / Молекулярная селекция растений. – 2021: 1–18.
25. Анализ характеристик локусов SSR на основе данных транскриптома плодов ежевики [J] / У Яцюн, Чжан Чуньхун, Ян Хайнин, Лу Ляньфэй, Ли Вэйлинь, У Вэньлун // Молекулярная селекция растений. – 2021: 1–10.
26. Анализ информации о локусах SSR в транскриптоме *Alisma* [J] / Цинь Ся, Линь Вэньцзинь, Вэнь Сянюэ, У Шуаншуван, Сюй Жунцин, Вэй Даочжи / Молекулярная селекция растений. – 2021: 1–14.
27. Анализ локусов ассоциации признаков, связанных с содержанием сахара в мясистых корнях редкви [J] / Гао Минган, Лю И, Ван Жуйхуа, Хань Минь, Ли Юаньюань // Журнал Северо-Западного университета сельского и лесного хозяйства (издание естественных наук). – 2022. – №5: 1–1.