

Научная статья  
УДК 633.853.52: 631.522:575:577.29  
DOI: 10.37102/0869-7698\_2022\_222\_02\_3

## Подбор микросателлитных локусов ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов диких форм и сортов сои амурской селекции

О.Н. Бондаренко<sup>✉</sup>, А.А. Блинова, Л.Е. Иваченко, С.И. Лаврентьева

*Ольга Николаевна Бондаренко*

младший научный сотрудник  
Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Благовещенск, Россия  
ton@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-5051-7695>

*Анастасия Андреевна Блинова*

младший научный сотрудник  
Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Благовещенск, Россия  
baa@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7234-0595>

*Любовь Егоровна Иваченко*

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник  
Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Благовещенск, Россия  
ivachenko-rog@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-4870-2223>

*Светлана Игоревна Лаврентьева*

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник  
Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Благовещенск, Россия  
lana.lavrenteva.1984@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7328-9595>

**Аннотация.** В настоящее время оценка генетического разнообразия сортов сельскохозяйственных культур и идентификация селекционного материала эффективно проводятся с использованием различных молекулярно-генетических маркеров. Микросателлитные маркеры (Simple Sequence Repeat, SSR) более широко используются для оценки генетического разнообразия, чем белковые, поскольку достаточно высоконадежны, локус-специфичны, воспроизводимы, имеют высокий уровень полиморфизма, доминантны и не

подвержены влиянию окружающей среды. Сорты сои ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои ранее не были исследованы по локусам ДНК. Цель данной работы – подбор информативных праймеров, оптимальных условий ПЦР, выявление стабильного, воспроизводимого полиморфизма амплифицированных фрагментов ДНК и создание системы молекулярных маркеров для дальнейшей идентификации и паспортизации диких форм, сортов, линий и гибридов сои селекции ФНЦ ВНИИ сои. Материалом исследования служили 7 сортов сои амурской селекции – Кружевница, Сентябринка, Веретейка, Лидия, Умка, Золушка, Лазурная (2020 г.) и 3 формы дикой сои – КА-342, КБел-72, КБл-24 (2019 г.). Геномную ДНК выделяли из 7-дневных проростков сои с использованием готового набора реагентов для выделения геномной ДНК из растений (ООО «Синтол»). Подобраны 11 пар SSR-праймеров с оптимальной температурой отжига от 45 до 60 °С. Четыре праймера не гибридизировались с матричной ДНК, несмотря на оптимизацию процесса, locus *Soypr1* был мономорфным. Выявлены уникальные наборы аллелей, различия наблюдались по одному локусу и более. У четырех полиморфных локусов (*Satt1*, *Satt5*, *Sat36* и *Soyhspl76*) обнаружено по два аллеля, у локусов *Satt2* и *Satt9* – по три. Среднее число аллелей на locus составило 2,14. Значения эффективного числа аллелей варьировали от 1,00 до 2,78 со средней величиной 1,66. Значения PIC находились в диапазоне 0,18–0,63 со средней величиной 0,34. Полученные величины характеризуют полиморфизм исследованных образцов коллекции как средний. Методом ПЦР-анализа отобраны шесть локусов, выявляющих стабильный, воспроизводимый полиморфизм фракций амплифицированной ДНК, что позволяет использовать их для сертификации и молекулярно-генетической паспортизации сортов сои.

**Ключевые слова:** соя, *Glycine max* (L.) Merr., *Glycine soja* Siebold & Zucc, SSR, микросателлиты, ДНК, паспортизация, генетическое разнообразие

**Для цитирования:** Бондаренко О.Н., Блинова А.А., Иваченко Л.Е., Лаврентьева С.И. Подбор микросателлитных локусов ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов сортов сои амурской селекции // Вестн. ДВО РАН. 2022. № 2. С. 37–48. [https://doi.org/10.37102/0869-7698\\_2022\\_222\\_02\\_3](https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_3).

Original article

## Selection of microsatellite DNA loci for creating molecular genetic passports of wild forms and varieties of Amur soybean breeding

O.N. Bondarenko, A.A. Blinova, L.E. Ivachenko, S.I. Lavrent'yeva

*Olga N. Bondarenko*

Junior researcher

Federal Research Center «All-Russian Scientific Research Institute of Soybean»,  
Blagoveshchensk, Russia

[ton@vniisoi.ru](mailto:ton@vniisoi.ru)

<https://orcid.org/0000-0002-5051-7695>

*Anastasia A. Blinova*

Junior researcher

Federal Research Center «All-Russian Scientific Research Institute of Soybean»,  
Blagoveshchensk, Russia

baa@vniisoi.ru

<https://orcid.org/0000-0002-7234-0595>

*Lubov E. Ivachenko*

Doctor of Sciences (Biological)

Leading Researcher

Federal Research Center «All-Russian Scientific Research Institute of Soybean»,  
Blagoveshchensk, Russia

ivachenko-rog@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4870-2223>

*Svetlana I. Lavrent'yeva*

Candidate of Sciences (Biological)

Leading Researcher

Federal Research Center «All-Russian Scientific Research Institute of Soybean»,  
Blagoveshchensk, Russia

ana.lavrenteva.1984@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7328-9595>

**Abstract.** Currently, the assessment of the genetic diversity of crop varieties and the identification of breeding material is effectively carried out using various molecular genetic markers. Microsatellite markers (Simple Sequence Repeat, SSR) are most widely used to evaluate genetic diversity as far as compared to others they are more reliable, locus-specific, reproducible, and have a high level of polymorphism, dominant and less affected by the environment. Amur soybean varieties have not previously been studied for DNA loci, so the purpose of this work was to select informative primers, optimal PCR conditions and identify stable reproducible polymorphism of amplified DNA fragments to create a system of molecular markers suitable for further identification and certification of varieties, lines and hybrids of soybean breeding FSBSI FRC ARSRIS. The material for the study was 7 varieties of soybeans of the Amur breeding and 3 forms of wild soybeans. Genomic DNA was isolated from 7-day-old soybean seedlings using a ready-made kit of reagents to precipitate genomic DNA from plants (LLC “Syntol”). 11 pairs of SSR primers with the optimal annealing temperatures (from 45 to 60°C) were selected. Four primers did not hybridize with template DNA, despite the process optimization, *Soypr1* locus was monomorphic. Unique sets of alleles were identified, and differences were observed at one or more loci. Four polymorphic loci (Satt1, Satt5, Sat36, and Soyhspl76) each contained two alleles, while loci Satt2 and Satt9 contained three alleles. The mean number of alleles per locus was 2.14. The values of the effective number of alleles varied from 1.00 to 2.78 with an average value of 1.66. PIC values ranged from 0.18 to 0.63 with a mean value of 0.34. The obtained values characterize the polymorphism of the studied samples of the collection as average. Using PCR analysis, six loci with stable reproducible polymorphisms of amplified DNA fractions were selected, which allows them to be used for molecular genetic certification of soybean varieties.

**Keywords:** soybean, *Glycine max* (L.) Merr., *Glycine soja* Siebold & Zucc, SSR, microsatellites, DNA, certification, genetic diversity

**For citation:** Bondarenko O.N., Blinova A.A., Ivachenko L.E., Lavrent'yeva S.I. Selection of DNA microsatellite loci for creation of molecular genetic passports of soy varieties of Amur selection. *Vestnik of the FEB RAS*. 2022;(2);37–48. (In Russ.). [https://doi.org/10.37102/0869-7698\\_2022\\_222\\_02\\_3](https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_3).

## Введение

В настоящее время соя является одной из ключевых сельскохозяйственных культур в мировом агропромышленном комплексе. На территории Дальневосточного федерального округа (ДФО) соя – основная возделываемая культура. Амурская область входит в ТОП-5 регионов – производителей сои в России, и на ее площади приходится около 90 % посевов сои ДФО [1]. Несмотря на то что в последние годы в Российской Федерации повсеместно наблюдалась положительная динамика увеличения площадей сельскохозяйственных земель, занятых под возделыванием сои, Министерство сельского хозяйства РФ в 2019 г. запланировало к 2024 г. увеличить производство сои на 75 %, что привело к появлению ряда новых задач в селекции этой культуры [2]. Взаимодополняющее использование современных и классических методов исследований позволит ускорить селекционный процесс, где основной механизм получения новых сортов сельскохозяйственных растений с улучшенными агрономическими и хозяйственно значимыми признаками будет реализован за счет применения маркер-вспомогательной селекции [3].

Соя (*Glycine max* (L.) Merr. и *Glycine soja* Siebold & Zucc) принадлежит семейству Fabaceae, подсемейству Papilionoideae с размером генома 1,1 млрд п.о. [4]. Геном сои относительно небольшой, если сравнивать с геномами других тетраплоидных видов растений. В настоящее время оценка генетического разнообразия сортов сельскохозяйственных культур и линий их диких сородичей, а также идентификация селекционного материала эффективно проводятся с использованием молекулярно-генетических маркеров. Одним из наиболее распространенных и широко используемых для этих целей классов ДНК-маркеров являются микросателлитные последовательности ДНК, или SSR-маркеры (Simple Sequence Repeat) [5]. Они чаще всего применяются для оценки генетического разнообразия, поскольку более надежны, локус-специфичны, воспроизводимы, имеют высокий уровень полиморфизма, доминантны и меньше подвержены влиянию окружающей среды [6]. Для идентификации генотипов сои удобно использовать уникальные профили ДНК, полученные с помощью микросателлитных маркеров. Такой метод анализа уже используется для сертификации и паспортизации сортов сои в странах – крупнейших экспортёрах этой культуры [4, 7, 8]. Считается, что 4–6 правильно подобранных микросателлитных маркеров достаточно для различия сортов сои. Еще в конце прошлого столетия М. Моргант с соавторами, используя семь микросателлитных локусов, получили уникальные ДНК-профили для 61 генотипа сои *Glycine max* и *Glycine soja*. Они также показали преимущество SSR-маркеров перед RFLP- анализом [9]. Высокий уровень полиморфизма в SSR-локусах, достаточный для идентификации сортов сои, отмечали многие исследователи [10–13]. В России идентификация сортов, гибридов и линий сои с использованием микросателлитных локусов проводится в ФНЦ ВНИИМК (г. Краснодар) [14, 15]. Сорта сои ФНЦ ВНИИ сои не были исследованы по ДНК-локусам.

Несмотря на наличие достаточно большого числа микросателлитных маркеров, исследованных другими авторами [10, 11, 14], необходимо провести поиск SSR-праймеров, выявляющих полиморфизм фракций ДНК и оптимизацию их температурных режимов амплификации ДНК непосредственно для диких форм и сортов сои амурской селекции. Цель данной работы – подбор информативных праймеров, оптимальных условий ПЦР и выявление стабильного воспроизводимого

полиморфизма амплифицированных фрагментов ДНК, а также создание системы молекулярных маркеров для дальнейшей идентификации и паспортизации диких форм, сортов, линий и гибридов сои селекции ФНЦ ВНИИ сои. Задачи исследований – оптимизация условий амплификации микросателлитных последовательностей ДНК сои; оценка степени полиморфизма микросателлитов ДНК сои; выявление системы маркеров для дифференциации форм дикой и сортов культурной сои.

## Материалы и методы

Для составления молекулярно-генетических формул и установления степени генетического родства использовали 7-дневные проростки 7 сортов сои амурской селекции – Кружевница, Сентябринка, Веретейка, Лидия, Умка, Золушка, Лазурная (2020 г.) и 3 форм дикой сои – КА-342 (Архаринский район), КБел-72 (Белогорский район), КБл-24 (Благовещенский район) (2019 г.). Проростки получали из семенного материала полевого севооборота лаборатории селекции и генетики сои ФНЦ ВНИИ сои (с. Садовое, Тамбовский район). Для проведения опыта семена сои проращивали согласно ГОСТ 12044-93<sup>1</sup> в рулонах фильтровальной бумаги в течение 7 сут при комнатной температуре. Проростки сои хранили при температуре –18 °С до проведения исследований. Выделение и очистка ДНК были проведены с использованием готового набора реагентов<sup>1</sup> (ООО Синтол) согласно прилагаемой инструкции производителя. Концентрацию ДНК определяли при помощи набора реагентов для измерения концентрации двухцепочечной ДНК на флуориметре MAXLIFE согласно инструкции по применению к набору Test dsDNA-100<sup>2</sup> (ООО «МВМ-Диагностик»). По результатам данного этапа перед проведением амплификации концентрацию выделенной ДНК разбавляли до 100 нг/мкл. Для амплификации выделенной ДНК применяли 11 пар SSR-праймеров (табл. 1), предложенных ранее авторами из ФНЦ ВНИИМК в качестве маркерной системы для идентификации и паспортизации сортов культурной сои [16].

Амплификацию выделенных фрагментов ДНК сои проводили с помощью амплификатора CFX96 (Real-time) (Bio-Rad laboratories Inc., США) при следующих температурных режимах: начальная денатурация – при 96 °С в течение 2 мин, затем 32 цикла при температурно-временном режиме: денатурация – при 94 °С – 30 сек, отжиг праймера – при 45–60 °С (в зависимости от праймера) – 40 с, элонгация – при 70 °С в течение 1 мин; финальная элонгация – при 70 °С в течение 2 мин. Для каждой из представленных пар праймеров была рассчитана температура отжига (в веб-версии программы PrimerBLAST) и проведена оптимизация экспериментальным путем (табл. 2). Для этого с каждой парой праймеров проводили ПЦР, где ДНК образцов сои амплифицировали по установленному протоколу, изменяя температуру отжига в каждом опыте на 3–5 °С. Выбор оптимального значения температуры отжига основывался на получении четких, хорошо различимых

<sup>1</sup> ДНК-Экстран-3 Набор реагентов для выделения геномной ДНК из растений. Синтол, EX-513-100. 2021.

<sup>2</sup> Флуориметр для количественного определения ДНК, РНК и содержания белка: Руководство пользователя. ООО «МВМ-Диагностик». – <https://docplayer.com/74881836-Fluorimetr-dlya-kolichestvennogo-opredeleniya-dnk-rnk-i-soderzhaniya-belka-rukovodstvo-polzovatelya-sdelano-v-rossii-ooo-mvm-diagnostik.html> (дата обращения: 17.01.2022 г.).

Таблица 1

## Характеристика исследуемых микросателлитных локусов

Наименование локуса	Повтор	Последовательность фланкирующих праймеров (5'-3')
<i>Satt1</i>	(ATT) <sub>24</sub>	f-AGTACATAGATATTAAGTCT
		r-AAATGATGAACGTGAATTATT;
<i>Satt2</i>	(AAT) <sub>18</sub>	f-ATAATGTGGAACTAAATGG
		r-TAATGTGCCTATCCTTGTCTT
<i>Satt5</i>	(TAA) <sub>21</sub>	f-TATCCTAGAGAAGAATAAAAA
		r-GTCGATTAGGCTTGAAATA
<i>Satt9</i>	(AAT) <sub>12</sub>	f-ATTACTAGAGAAATTAGTTTA
		r-CTTACTAGGGTATTAACCCTT
<i>Soypr1</i>	(TAT) <sub>20</sub>	f-CGAAGAGCTACGTGCCAAATT
		r-GTTAGAAAACCCGCCACAC
<i>Soygy2</i>	(AT) <sub>9</sub> (ATT) <sub>6</sub>	f-AAAATTGAAAGTGTCACACCCC
		r-TTAAAATCGATTAATTGGCATGA
<i>Sat1</i>	(AT) <sub>17</sub>	f-CTGGTGGACTATTGATACGACC;
		r-AACTGCGAAGATACTACCCTCC
<i>Sat36</i>	(AT) <sub>19</sub>	f-AAAAGTCATAACTGGCACTCCAAGTTT
		r-GAACATAACAATAATAATATAGCTC
<i>Sat43</i>	(AT) <sub>20</sub>	f-AAATTCTGTTTCATTGTCCGTC
		r-CATTTTAATATCCCGAGTAGG
<i>Soyhsp176</i>	(AT) <sub>15</sub>	f-TGTGGGCCACAAAACGTATAG
		r-CGTACGTTCTAGCTAGTCTTC
<i>138ct04</i>	(AG) <sub>8</sub>	f-ACAATTTATTATTGTGCACGC
		r-ATTGTGCGCGTGTATGCG

Примечание. Концентрация праймеров во всех вариантах – 100 пкмоль/мкл.

амплифицированных фрагментов в характерном для каждого локуса диапазоне длин.

Полимеразную цепную реакцию осуществляли в объеме реакционной смеси 25 мкл, которая включала в себя: 12,5 мкл готовой реакционной смеси БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (2×)<sup>3</sup> (ООО «Биолабмикс»), содержащей 100 мМ Трис-НСl, рН 8,5 (при 25 °С), 100 мМ КСl, 0,4 мМ каждого дезоксинуклеозидтрифосфата, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,06 ед. акт./мкл Таq ДНК-полимеразы, 0,2 % Tween 20, стабилизаторы HS-Тaq ДНК-полимеразы и красители; 1 мкл образца выделенной ДНК; по 1 мкл прямого и обратного праймеров; 9,5 мкл стерильной воды. ПЦР проведена в 3-кратной повторности. Продукты реакции были разделены методом электрофореза в 2%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием,

<sup>3</sup> БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (2×). Информация о продукте. 2021. – [https://biolabmix.ru/upload/iblock/bd5/produkt-\\_MHS010.pdf](https://biolabmix.ru/upload/iblock/bd5/produkt-_MHS010.pdf) (дата обращения: 17.01.2022).

Таблица 2

## Оптимальная температура отжига праймера

Наименование	Температура отжига, °С	
	Экспериментальная	Расчетная
<i>Satt1</i>	60	60
<i>Satt2</i>	60	63
<i>Satt5</i>	55	58
<i>Satt9</i>	45	61
<i>Soypr1</i>	60	68
<i>Soygy2</i>	60	66
<i>Sat1</i>	60	70
<i>Sat36</i>	55	72
<i>Sat43</i>	55	64
<i>Soyhsp176</i>	60	67
<i>138ct04</i>	60	60

в 0,5×ТВЕ с использованием камеры для горизонтального электрофореза SE-1 (ООО «Компания Хеликон», Россия) в течение 1,5–2 ч при силе тока 50 мА и напряжении 90–100 В. Визуализация осуществлена путем облучения геля ультрафиолетом с использованием гель-документирующей системы GelDoc EZ (Bio-Rad laboratories Inc., США). Идентификацию и определение размеров аллелей микросателлитных локусов проводили с использованием программы Image Lab Version 6.0.1 4 Standard Edition. Выявленные по каждому локусу аллели обозначали цифрами: аллель с максимальным значением молекулярной массы обозначали цифрой 1, далее по мере его уменьшения – цифрами 2, 3. Отсутствие амплифицированного фрагмента на электрофореграмме обозначали 0.

Индекс информационного полиморфного содержания (PIC) и эффективное число аллелей ( $n_e$ ) [14, 15] вычисляли по следующим формулам:

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2,$$

$$n_e = 1 / \sum_{j=1}^n P_{ij}^2,$$

где –  $P$  частота  $j$  паттерна для локуса  $i$ , суммирование распространяется на  $n$  паттернов.

### Результаты и обсуждение

С использованием SSR-маркеров исследовали 7 сортов сои селекции ФНЦ ВНИИ сои и 3 формы дикой сои. Из исследуемых 11 пар праймеров, праймеры, фланкирующие локусы *Soygy2*, *Sat1*, *Sat43* и *138ct04*, не гибридизировались с матричной ДНК (табл. 2), несмотря на дополнительную оптимизацию температуры отжига. Таким образом, из 11 микросателлитных локусов для идентификации и паспортизации имеющихся генотипов сои выявлены 7. Результаты амплификации ДНК 10 генотипов сои показали, что из семи изученных SSR-

локусов шесть оказались полиаллельными, один – *Soypr1* – мономорфным. Изученные нами сорта и дикие формы сои были проанализированы по оставшимся шести локусам (табл. 3).

Таблица 3

**Полиморфизм микросателлитных локусов ДНК сортов амурской селекции и диких форм сои**

Сорта	Локусы					
	<i>Satt1</i>	<i>Satt2</i>	<i>Satt5</i>	<i>Satt9</i>	<i>Sat36</i>	<i>Soyhsp176</i>
Кружевница	1	1	1	1, 3	2	1
Сентябринка	1	1	2	1	2	1
Веретейка	1	1, 3	1, 2	1	2	1
Лидия	1	1, 3	1	2	2	1
Умка	1	1	2	3	2	1
Золушка	1	3	2	1	2	1
Лазурная	1	1	2	3	1, 2	1
КБл-24	1	1, 2	2	2	1, 2	2
КБел-72	2	1	2	1	1	1
КА-342	1	1, 2, 3	2	2	1	2

Дискриминационные возможности этой маркерной системы были оценены совместно для двух групп образцов сои: сортов селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои (*G. max*) и форм дикой сои (*G. soja*). По двум локусам (*Satt1* и *Soyhsp176*) в сортах культурной сои отсутствовал межсортной полиморфизм, при этом в формах дикой сои был выявлен полиморфизм электрофоретических спектров по обоим указанным локусам. Для диких форм сои мономорфным локусом оказался *Satt5*. В результате амплификации получили межсортные полиморфные картины распределения фрагментов ДНК по всем локусам для обеих групп образцов. Результаты ПЦР-анализа исследуемых образцов позволили выявить всего 15 аллелей. Число аллелей на один локус варьировало от 1 до 3: у двух локусов (*Satt2*, *Satt9*) отмечено по три аллеля, у остальных локусов (*Satt1*, *Satt5*, *Sat36* и *Soyhsp176*) – по два (табл. 4). Среднее число аллелей на локус составило 2,14.

Одним из показателей, характеризующих информативность локуса, является эффективное число аллелей ( $n_e$ ). Этот показатель характеризует выявленные аллели по частоте их встречаемости в изучаемой выборке генотипов, и в тоже время  $n_e$  – это нижняя оценка числа аллелей, одновременно присутствующих в популяции, при условии, что генетический дрейф и мутагенез уравновешены. Количество выявленных аллелей будет равно количеству эффективных, если частоты их встречаемости одинаковы [14]. Для исследуемых образцов этот показатель варьировал от 1 до 2,78. Среднее эффективное число аллелей на локус составило 1,66 (табл. 4).

Другим важным показателем информативности микросателлитных локусов является индекс полиморфного информационного содержания PIC. Этот показатель характеризует дискриминационную силу локуса не только по количеству выявленных аллелей, но и по относительным частотам их встречаемости [17]. Встречаемость редких аллелей меньше влияет на значение PIC, чем аллелей с высокими частотами. Значения PIC варьируют от 0 до 1. PIC приближается к единице, если локус имеет много аллелей с приблизительно равной частотой

Характеристика исследованных микросателлитных локусов

Локус	Молекулярная масса (п.н.)	Наблюдаемое число аллелей, $N_A$	Эффективное число аллелей, $n_e$	Индекс полиморфного информационного содержания, PIC
<i>Satt1</i>	141–150	2	1,22	0,18
<i>Satt2</i>	140–152	3	1,85	0,46
<i>Satt5</i>	157–177	2	1,60	0,38
<i>Satt9</i>	142–221	3	2,78	0,63
<i>Soypr1</i>	163–188	1	1,00	0,00
<i>Sat36</i>	115–185	2	1,67	0,40
<i>Soyhsp176</i>	118–135	2	1,47	0,32
Среднее	–	2,14	1,66	0,34

встречаемости, и равен 0, если локус мономорфный. Для изученных нами SSR-локусов PIC варьирует от 0 для *Soypr1* до 0,63 для *Satt9* (табл. 4). По локусу *Soypr1* в этой выборке не обнаружено полиморфных аллелей, поэтому PIC равен нулю. У локуса *Satt1* индекс полиморфности самый низкий – 0,18, это обусловлено тем, что только дикая форма сои КБел-72 отличается по нему от остальных (табл. 3). У остальных пяти локусов значения PIC достаточные для использования их в целях идентификации и паспортизации сортов сои. Среднее значение индекса полиморфного информационного содержания для изученной группы сортов составило 0,34. Показатели информативности SSR-локусов для сортов селекции ФНЦ ВНИИ сои несколько меньше полученных ранее для российских и казахских сортов сои [10, 18]. Указанные авторы изучали большее количество генотипов разного происхождения, что, вероятно, и определяет их разнообразие. Полученные нами величины характеризуют полиморфизм исследованных образцов коллекции как средний. Таким образом, для исследованных форм дикой и сортов культурной сои амурской селекции выявлены уникальные наборы аллелей, различия наблюдались по одному и более локусам. Для каждого генотипа на основании полученного набора аллелей микросателлитных локусов в дальнейшем будут составлены молекулярно-генетические паспорта.

### Заключение

Методом ПЦР-анализа для идентификации сортов сои использовали 11 микросателлитных локусов, из которых были отобраны шесть (*Satt2*, *Satt9*, *Satt1*, *Satt5*, *Sat36* и *Soyhsp176*), обладающих полиморфизмом. Четыре праймера, фланкирующие локусы *Soygy2*, *Sat1*, *Sat43* и *138ct04*, не гибридизировались с матричной ДНК. Выявлены уникальные наборы аллелей, различия наблюдались по одному локусу и более. Среднее число аллелей на локус равнялось 2,14. Среднее значение индекса полиморфного информационного содержания для изученной группы генотипов составило 0,34. Шесть пар праймеров для ПЦР выявляли стабильный воспроизводящийся полиморфизм фракций амплифицированной ДНК,

что в дальнейшем позволит использовать их для сертификации и молекулярно-генетической паспортизации сортов сои.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соя в России и мире: производство, внутреннее потребление и внешнеторговый оборот. – <https://vostokgosplan.ru/wp-content/uploads/2021/11> (дата обращения: 17.01.2022).
2. Фокина Е.М., Титов С.А. Новые сорта сои амурской селекции // Вестн. ДВО РАН. 2021. № 3(217). С. 85–91. [https://doi.org/10.37102/0869-7698\\_2021\\_217\\_03\\_14](https://doi.org/10.37102/0869-7698_2021_217_03_14).
3. Чесноков Ю.В. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса / Ю.В. Чесноков, В.М. Косолапов. М.: Угрешская типография, 2016. 172 с. ISBN 978-5-91850-055-2.
4. Genetic diversity and population structure of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) as revealed by microsatellite markers / S. Tiwari, N. Tripathi, K. Tsuji et al. // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019. Vol. 25. P. 953–964. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00682-4>.
5. Савиченко В.Г., Рамазанова С.А. Идентификация сортов сои селекции ВНИИМК методом микросателлитного анализа // Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки сельскохозяйственных культур: сб. материалов 11-й Всерос. конф. молодых ученых и специалистов, Краснодар, 25–26 февраля 2021 г. Краснодар: Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта», 2021. С. 97–101. <https://doi.org/10.25230/conf11-2021-97-101>.
6. SSR diversity of vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] / M. Mimura, C.J. Coyne, M.W. Bamback et al. // *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2006. Vol. 54. P. 497–508. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-0006-4>.
7. Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers / S.P.J. Kumar, C. Susmita, K.V. Sripathy et al. // *Molecular Biology Reports*. 2022. Vol. 49. P. 2129–2140. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-07030-4>.
8. Keragaman genetik 27 aksesori kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) introduksi subtropis berdasarkan marka SSR / P. Lestari, R.E. Putri, I. Rineksane et al. // *Vegetalika*. 2021. Vol. 10, N 1. P. 1–17. <https://doi.org/10.22146/veg.58418>.
9. Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci / M. Morgante, A. Rafalski, P. Biddle et al. // *Genome*. 1994. Vol. 37, N 5. P. 763–769. <https://doi.org/10.1139/g94-109>.
10. ДНК-фингерпринтинг сортов сои Казахстана с использованием SSR маркеров / С.И. Аbugалиева, Л.А. Волкова, А.А. Нурланова и др. // *Биотехнология. Теория и практика*. 2013. № 3. С. 26–34. DOI: 10.11134/btp.3.2013.4.
11. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic diversity in India / A. Bisen, D. Khare, P. Nair et al. // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2015. Vol. 21 (1). P. 109–115. DOI: 10.1007/s12298-014-0269-8.
12. Kujane K., Sedibe M.M., Mofokeng A. Genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes making use of SSR markers // *Australian Journal of Crop Science*. 2019. Vol. 13 (07). P. 1113–1119. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.07.p1638>.
13. Fine mapping, candidate gene identification and co-segregating marker development for the *Phytophthora* root rot resistance gene *rpsyd25* / C. Zhong, S. Sun, X. Zhang et al. // *Frontiers Genetics*. 2020. Vol. 11, Article 799. P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00799>.
14. Рамазанова С.А., Коломыцева А.С. Оптимизация технологии генотипирования сои на основе анализа полиморфизма SSR-локусов ДНК // *Масличные культуры*. 2020. № 1 (181). С. 42–48.
15. Гучетль С.З., Фролов С.С., Кузнецова Е.С. Подбор информативных праймеров и оптимальных условий ПЦР для проведения SSR-анализа геномной ДНК сои селекции АОС ВНИИМК // *Масличные культуры*. 2018. № 3 (175). С. 28–33. [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_36468543\\_36074349.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_36468543_36074349.pdf).
16. Рамазанова С.А. Идентификация сортов сои (*Glycine max* L.) с использованием микросателлитных локусов ДНК // *Масличные культуры: Науч.-техн. бюл. Всерос. науч.-исслед. ин-та масличных культур*. 2016. № 2 (166). С. 63–67.
17. Сиволап Ю.М., Солоденко А.Е., Бурлов В.В. RAPD-анализ молекулярно-генетического полиморфизма подсолнечника (*Helianthus annuus*) // *Генетика*. 1998. Т. 34. № 2. С. 266–271.

18. Внутрисортовой полиморфизм сортов сои селекции ВНИИМК / С.А. Рамазанова, С.З. Гучетль, Т.А. Челюстникова и др. // Масличные культуры: Науч.-техн. бюл. ВНИИМК. 2009. № 2 (141). С. 96–98.

#### REFERENCES

1. Soya v Rossii i mire: proizvodstvo vnutrenneye potrebleniye i vneshnetorgovyi oborot. – <https://vostokgosplan.ru/wp-content/uploads/2021/11/>(accessed: 01/17/2022).

2. Fokina E.M., Titov S.A. Novye sorta soi amurskoy seleksii = [New varieties of soybeans of the amur selection]. *Vestnik of the FEB RUS*. 2021;3(217):85-91. (In Russ.).

3. Chesnokov Yu.V. Kosolapov V.M. Geneticheskie resursy rastenii i uskorenie selektsionnogo protsesa = [Plant Genetic Resources and Acceleration of the Breeding Process]. M.: Ugreshskaya tipografiya; 2016.172 p. (In Russ.)

4. Tiwari S., Tripathi N., Tsuji K., Tantwai K. Genetic diversity and population structure of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) as revealed by microsatellite markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019;25:953-964.

5. Savichenko V.G., Ramazanova S.A. Identifikatsiya sortov soi seleksii VNIIMK metodom mikrosatelitnogo analiza = [The identification of soybean varieties of the breeding of V.S. Pustovoit all-russian research institute of oil crops by microsatellite analysis]. In: *Aktual'nye voprosy biologii, seleksii, tekhnologii vozdeyvaniya i pererabotki sel'skokhozyajstvennykh kul'tur: Sbornik materialov 11-i Vserossiiskoi konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov, Krasnodar, 25–26 fevralya 2021 goda. Krasnodar: Federal'nyi nauchnyi centr «Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut maslichnykh kul'tur imeni V.S. Pustovoita»*; 2021. P. 97-101. (In Russ.).

6. Mimura M., Coyne C.J., Bambuck M.W., Lumpkin T.A. SSR diversity of vegetable soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2006;54:497-508.

7. Kumar S.P.J., Susmita C., Sripathy K.V. et al. Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers. *Molecular Biology Reports*. 2022;49:2129-2140.

8. Lestari P., Putri R.E., Rineksane I. et al. Keragaman genetik 27 aksesi kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) introduksii subtropis berdasarkan marka SSR. *Vegetalika*. 2021;10(1):1-17. <https://doi.org/10.22146/veg.58418>.

9. Morgante M., Rafalski A., Biddle P., Tingey S., Olivieri A.M.. Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci. *Genome*. 1994;37(5):763-769.

10. Abugalieva S.I., Volkova L.A., Nurlanova A.A., Zhanpeisova A.S. DNK-fingerprinting sortov soi Kazakhstana s ispol'zovaniem SSR markerov = [DNA-fingerprinting of soybean varieties in Kazakhstan using SSR-markers]. *Biotechnology theory and practice*. 2013;3:26-34 (In Russ.).

11. Bisen A., Khare D., Nair P., Tripathi N. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic diversity in India. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2015;21(1):109-115. <https://doi.org/10.1007/s12298-014-0269-8>.

12. Kujane K., Sedibe M.M., Mofokeng A. Genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes making use of SSR markers. *Australian Journal of Crop Science*. 2019;13(07):1113-1119.

13. Zhong C., Sun S., Zhang X. et. al. Fine mapping, candidate gene identification and co-segregating marker development for the *Phytophthora* root rot resistance gene *rpsyd25*. *Frontiers Genetics*. 2020;11(799):1-12.

14. Ramazanova S.A., Kolomytseva A.S. Optimizatsiya tekhnologii genotipirovaniya soi na osnove analiza polimorfizma SSR-lokusov DNK = [Optimization of soybean genotyping process using analysis of a polymorphism of SSR-loci in DNA]. *Maslichnye kul'tury*. 2020;1(181):42-48. (In Russ.)

15. Guchetl' S.Z., Frolov S.S., Kuznetsova E.S. Podbor informativnykh praimerov i optimal'nykh uslovii PCR dlya provedeniya SSR-analiza genomnoi DNK soi seleksii AOS VNIIMK = [A selection of informative markers and optimal conditions of PCR for SSR-analysis of a genomic DNA of soybean developed at the Armavirskaya experimental station]. *Maslichnye kul'tury*. 2018; 3(175):28-33. (In Russ.)

16. Ramazanova S.A. Identifikatsiya sortov soi (*Glycine max* L.) s ispol'zovaniem mikrosatellitnykh lokusov DNK = [Identification of soybean (*Glycine max* L.) cultivars using microsatellite DNA loci]. *Maslichnye kul'tury*. 2016;2(166):63-67. (In Russ.)
17. Sivolap Yu.M., Solodenko A.E., Burlov V.V. RAPD-analiz molekulyarno-geneticheskogo polimorfizma podsolnechnika (*Helianthus annuus*) = [RAPD analysis of sunflower (*Helianthus annuus*) molecular genetic polymorphism]. *Genetika*. 1998;34(2):266-271. (In Russ.)
18. Ramazanova S.A., Guchetl S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova TS., Moshnenko E.V. Vnutrisortovoi polimorfizm sortov soi selektsii VNIIMK = [Invarietal polymorphism of soybean cultivars of VNIIMK breeding]. *Maslichnye kul'tury*. 2009;2(141):96-98. (In Russ.)