

Научная статья

УДК 633.853.52:575

DOI: 10.25230/2412-608X-2021-4-188-18-24

## Поиск новых SSR-локусов ДНК для создания эффективной технологии генотипирования сои

Светлана Алексеевна Рамазанова<sup>1</sup>  
Виолетта Георгиевна Савиченко<sup>1</sup>  
Эльмира Гереевна Устарханова<sup>2</sup>  
Елизавета Дмитриевна Логинова<sup>1</sup>  
Руслан Нурмагомедович Рамазанов<sup>3</sup>  
Аслан Хавиретович Гучетль<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17  
molecula.genetic@vniimk.ru

<sup>2</sup>Армавирская опытная станция – филиал ФГБНУ  
ФНЦ ВНИИМК

Россия, г. Армавир, пос. Центральной усадьбы  
опытной станции ВНИИМК

<sup>3</sup>Кубанский государственный университет  
350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149

**Ключевые слова:** соя, *Glycine max* (L.) Merr.,  
SSR, микросателлиты, ДНК, паспортизация, гене-  
тическое разнообразие

**Для цитирования:** Рамазанова С.А., Савичен-  
ко В.Г., Устарханова Э.Г., Логинова Е.Д., Рамаза-  
нов Р.Н., Гучетль А.Х. Поиск новых SSR-локусов  
ДНК для создания эффективной технологии геноти-  
пирования сои // Масличные культуры. 2021.  
Вып. 4 (188). С. 18–24.

**Аннотация.** Соя – основная белково-масляная культура, имеющая большое экономическое значение. В настоящее время для характеристики новых сортов, заявленных на выдачу патента, все больше применяют современные методы, основанные на анализе микросателлитных (SSR) локусов ДНК. Целью данной работы было провести поиск новых микросателлитных маркеров для оптимизации уже существующей технологии идентификации и паспортизации сортов сои. А так же подобрать условия проведения ПЦР с ними и апробировать на сортах коллекции ВИР. Из литературных источников и библиотечных баз данных были выбраны семь микросателлитных локусов, показавших высокий уровень полиморфизма на образцах сои и локализованных в разных

хромосомах. Были подобраны экспериментальным путем оптимальные температуры отжига для всех пар SSR-праймеров. Результаты амплификации ДНК 20 генотипов сои показали, что все семь изученных SSR-локусов полиаллельны. В целом было выявлено 22 аллеля, что в среднем составило 3,1 на локус. Эффективное число аллелей  $N_e$  для изученных генотипов сои варьировало от 1,69 до 2,27 и в среднем составило 2,01. Среднее значение индекса полиморфного информационного содержания (PIC) было 0,50. Все изученные образцы сои имеют уникальные наборы аллелей по изученным локусам. Установлено, что семь апробированных нами локусов могут быть использованы при создании эффективной технологии для идентификации и паспортизации генотипов сои.

UDC 633.853.52:575

**Search of the new SSR-loci of DNA for development of effective technology for soybean genotyping.**

**S.A. Ramazanova<sup>1</sup>**, leading researcher, PhD in biology

**V.G. Savichenko<sup>1</sup>**, junior researcher

**E.G. Ustarkhanova<sup>2</sup>**, head of the lab. of soybean breeding and seed growing, PhD in agriculture

**E.D. Loginova<sup>2</sup>**, laboratory assistant

**R.N. Ramazanov<sup>3</sup>**, student

**A.Kh. Guchetl<sup>3</sup>**, student

<sup>1</sup>V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops

17 Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia  
molecula.genetic@vniimk.ru

<sup>2</sup>ArmaVirskaya experimental station – a branch of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops

Central Settlement of the VNIIMK experimental station, Armavir, Russia

<sup>3</sup>Kuban State University

149 Stavropolskaya str., Krasnodar 350040, Russia

**Key words:** soybean, *Glycine max* (L.) Merr., SSR, microsatellites, DNA, certification, genetic diversity

**Abstract.** Soybean is the major protein-oil crop of a huge economic importance. Currently, to describe the new cultivars being applied for a patent there are used the modern methods based on an analysis of microsatellite (SSR) loci of DNA. The purposes of this work were a search of the new microsatellite markers to optimize the existing technology of soybean cultivars certification and identification as well as selection of conditions for PCR analysis and to test them on cultivars from the VIR's collection. Seven microsatellite loci demonstrated the high polymorphism level on soybean cultivars and located in the different chromosomes were chosen in the literary sources and librarian data bases. The optimal temperatures for annealing were selected empirically for all

the pairs of SSR-markers. The results of DNA amplification of 20 soybean genotypes showed all seven studied SSR-loci were polyallelic. In general, we revealed 22 alleles that on average are 3.1 per a locus. The effective number of alleles  $N_e$  for the studied soybean genotypes varied from 1.69 to 2.27 and on average was equal to 2.01. An average meaning of an index of the polymorphic information content (PIC) was 0.50. All the investigated soybean samples have the unique sets of alleles by the studied loci. Seven approved loci can be used in development of an effective technology for identification and certification of the soybean genotypes.

**Введение.** При создании новых сортов сельскохозяйственных культур, сертификации и их коммерческом распространении генетическая паспортизация имеет большое значение. Довольно широкое применение для этих целей получили микросателлитные маркеры (SSR – Simple Sequence Repeats) [1; 2].

SSR-маркеры представляют собой простые повторяющиеся фрагменты ДНК, с единицей повтора 2-6 нуклеотидов. Их присутствие и равномерное распределение в геномах всех высших организмов, преимущественно кодоминантный характер наследования, высокий уровень полиморфизма, относительная простота детекции и высокая воспроизводимость результатов, а также возможность автоматизировать процесс анализа делает их одними из наиболее распространенных ДНК-маркеров [3].

В России и в мире проведено много исследовательских работ по идентификации генотипов растений с помощью микросателлитных маркеров. Полиморфизм микросателлитов был изучен у подсолнечника, ячменя, картофеля, риса, льна масличного, винограда, яблони и многих других сельскохозяйственных культур [4; 5; 6; 7; 8; 9; 10].

Оценка генетического разнообразия и паспортизация сортов на основе SSR-маркеров также проводилась и на сое. В. Sun et al. проанализировали аллельные профили 149 образцов дикой сои из Китая с использованием 41 SSR-маркера, среднее значение индекса полиморфного информационного содержания PIC (poly-

morphism information content) составило 0,825. Анализ выявил значительные различия среди популяций из провинций Хунань, Фуцзянь, Гуанси и Северного Китая. Также они предположили, что провинция Фуцзянь может быть основным центром генетического разнообразия однолетней дикой сои в Южном Китае [11].

Работы индийских ученых показали, что SSR-маркеры эффективны для оценки генетического родства сортов сои. J. Ghosh et al. проводили анализ 32 сортов с использованием 10 пар SSR-праймеров [12]. А. Visen et al. проанализировали 38 сортов сои с помощью 16 микросателлитных локусов. Авторы предполагают, что SSR-маркеры эффективны для изучения генетического разнообразия, родства, а также идентификации разновидностей сои [13].

Сравнительная оценка полиморфизма 37 генотипов сои коллекции Казахстана была проведена с использованием 50 SSR-маркеров по всему геному сои. Было выявлено 167 аллелей. Индекс разнообразия проанализированной коллекции по Шеннону варьировал от 0,349 до 1,562. Среднее значение PIC составило 0,613. Установлены генетические расстояния между казахстанскими сортами, которые варьировали от 0,10 до 1,83. Для каждого коммерческого сорта сои Казахстана был разработан генетический паспорт на основе использования SSR-профилей [14].

Анализ варибельности девяти микросателлитных локусов у 25 сортообразцов сои различного происхождения и четырех диких форм проводили П. Кезимана с соавторами. Индекс полиморфного информационного содержания PIC для изученных локусов составил в среднем 0,73 [15].

Идентификацию генотипов сои на основе микросателлитных маркеров проводили С. Mukuze et al. Они идентифицировали 34 сорта сои с использованием 21 пары SSR-праймеров [16]. В исследованиях М. Zulj Mihaljevic et al. анализи-

ровали 97 сортов 42 парами микросателлитных праймеров [17].

Способ идентификации сортов и гибридных растений сои на основе микросателлитных маркеров был разработан в ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК в 2008 г. [18; 19]. С помощью набора из девяти пар SSR-праймеров идентифицировали 72 генотипа сои российских и зарубежных селекционеров. Эту систему маркеров успешно применяли для идентификации сортов, линий и селекционных образцов. Однако с увеличением их количества этой системы маркеров стало недостаточно для идентификации некоторых генотипов. Поэтому появилась необходимость оптимизировать существующую технологию. Для идентификации генотипов сои использовали 13 пар полиморфных SSR-праймеров [20]. Но дальнейшие исследования показали, что примененная система молекулярных маркеров так же не позволяет различать некоторые генотипы. Поэтому целью исследования было подобрать новые информативные микросателлитные локусы ДНК и оценить возможность их использования для создания эффективной технологии для идентификации и паспортизации генотипов сои.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служили 20 сортов сои из коллекции ВИР, репродуцированной на Армавирской опытной станции – филиале ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК: Лидия, Белор, Даурия, Соер-3, Северная 4, СибНИИК 315, Окская, Ясельда, Витязь 50, СибНИИСХОЗ 6, Алтом, ВНИИОЗ-85, Лучезарная, Росинка, Венера (Приморская 915), Т-25, Алтайр, Брянская 11, Локус, Грибская-30.

Экстракцию ДНК осуществляли из фрагментов зеленых листьев из каждого растения сорта индивидуально и из смеси 10–15 растений по модифицированной методике с использованием СТАВ-буфера [21]. Концентрацию ДНК определяли по интенсивности ее окрашивания бромистым этидием в 1%-ном агарозном геле.

Для исследования из литературных источников выбрали семь микросателлитных локусов (SCT413, SAT420, SATT309, SATT149, SATT307, SATT286, SATT532). Экспериментально осуществили подбор температурных режимов для полимеразной цепной реакции с ними.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в объеме реакционной смеси 25 мкл, содержащей: 67 мМ трис-НСl, рН 8,8; 16,6 мМ сульфата аммония; 1,5–3,0 мМ MgCl<sub>2</sub>; 0,01 % Tween 20; по 0,2 мМ каждого dNTP; по 10 пМ праймеров; 10 нг матричной ДНК и 1 единицу Taq-полимеразы (НПО «СибЭнзим», Россия). Амплификацию проводили в термощиклере MiniAmp Plus (Thermo Fisher, США) при следующих температурных режимах: начальная денатурация при 96 °С в течение 2 мин, затем 30–34 цикла при температурно-временном режиме: денатурация при 94 °С – 30 сек, отжиг при 45–60 °С – 40 сек, элонгация при 70 °С – 1 мин, финальная элонгация при 70 °С – 2 мин. Количество циклов и температура отжига зависели от используемых праймеров. Детекцию продуктов амплификации осуществляли с помощью электрофореза высокого разрешения в 8 %-ном полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (параметры силы тока и напряжения: 200 mA, 800 V) с последующей окраской геля азотнокислым серебром. После окрашивания гель фотографировали и анализировали.

Для каждого изучаемого локуса были определены индекс полиморфного информационного содержания (PIC) и эффективное число аллелей (Ne). Вычисления проводили с помощью компьютерного программного обеспечения Gene-Calc [22].

**Результаты и обсуждение.** Для создания эффективной технологии генотипирования сои необходима система информативных микросателлитных маркеров с достаточно высоким уровнем полиморфизма. Из литературных источников нами были отобраны семь микро-

сателлитных локусов ДНК, характеристики которых были получены из библиотечных баз данных Primer-BLAST и Soybase [23; 24]. Их характеристика и нуклеотидные последовательности фланкирующих их праймеров представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Характеристика микросателлитных локусов ДНК сои, полученная из баз данных Primer-BLAST и Soybase**

№	Локус	Локализация	Мотив	Нуклеотидные последовательности фланкирующих праймеров	Размер фрагмента
1	SCT413	1	(AT) <sup>35</sup>	F:GCGCTCCCTTCTTTTCC ACTGAATTGA R:GCGTTTCTCTCGGTTT CTCTCTCTTATTA	200
2	SAT420	20	(AT) <sup>19</sup>	F:GCGGATGGAGCCAACA R:GCGTGTAGCCCTAGAA AGTT	186
3	SATT309	18	(ATT) <sup>13</sup>	F:GCGCCTTCAAATGGCG TCTT R:GCGCCTTAAATAAAAC CCGAAACT	147
4	SATT149	13	(ATT) <sup>17</sup>	F:TTGCACATCTTTTTGGT AAACAGTCATAA R:GTTGGAGGCCATAGTC ACATTAATCTTAGA	274
5	SATT307	6	(ATT) <sup>12</sup>	F:GCGCTGGCCTTTAGAAC R:GCGTGTAGGAAATTG AGTAGTAAG	162
6	SATT286	6	(ATT) <sup>17</sup>	F:GCGGCGTTAATTTATGC CGGAAA R:GCGTTTGGTCTAGAATA GTTCTCA	217
7	SATT532	1	(ATT) <sup>15</sup>	F:GCGCCAATATTATCATG CTTTATGT R:GCGTGTAAAAATCTTTG AATCTTGA	168

Для каждой из представленных пар праймеров рассчитана температура отжига (в веб-версии программы Primer-BLAST). Однако эти значения являются приблизительными и требуют их оптимизации экспериментальным путем. Для этого с каждой парой праймеров проводили ПЦР. Образцы ДНК пяти сортов сои амплифицировали по установленному протоколу, изменяя температуру отжига в каждом опыте на 3–5 °С.

Выбор оптимального значения температуры отжига основывался на получен-

ных спектрах ДНК после электрофоретического разделения амплифицированных фрагментов. Необходимо было добиться получения четких, хорошо различимых фрагментов в характерном для каждого локуса диапазоне длин. А также уменьшить неспецифический отжиг праймеров. На рисунке для примера показаны электрофореграммы продуктов амплификации с праймерами SAT420 и SCT413. Для праймера SAT420 оптимальной выбрана температура отжига 58 °С, так как при снижении температуры появляются дополнительные, неспецифические фракции ДНК (рис. А). Для праймера SCT413 лучшего качества фореграммы получены также при 58 °С. При слишком высокой температуре отжиг ухудшается и, как следствие, на фореграмме выявляются нечеткие, плохо различимые фрагменты (рис. Б).

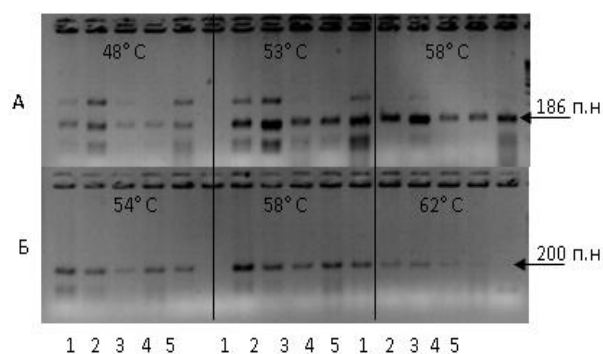


Рисунок – Оптимизация температуры отжига для ПЦР анализа микросателлитных локусов; фореграммы продуктов амплификации А – с праймером SAT420, Б – с праймером SCT413; дорожки 1–5 – генотипы сои (ориг.)

В результате проведенных экспериментов для каждой пары праймеров были подобраны оптимальные значения температуры отжига, которые представлены в таблице 2. Из таблицы видно, что у всех праймеров расчетная температура отжига отличается от подобранной нами экспериментально.

Таблица 2

**Оптимальные температуры отжига для ПЦР анализа микросателлитных локусов ДНК сои**

№	Локус	Температура отжига (°С)	
		Расчетная	Экспериментальная (оптимальная)
1	SCT413	64,0	58
2	SAT420	57,1	58
3	SATT309	61,0	50
4	SATT149	61,5	56
5	SATT307	56,5	47
6	SATT286	60,0	58
7	SATT532	57,5	55

По всем изучаемым микросателлитным локусам с использованием ПЦР было проведено генотипирование 20 сортов сои коллекции ВИР. Для каждого сорта был получен набор амплифицированных фрагментов ДНК, для которых рассчитали приблизительный размер. Фрагмент наибольшей длины обозначали цифрой 1 и далее цифрами 2, 3, 4 по мере уменьшения их длин. Таким образом, получили характеристики аллельного состояния микросателлитных локусов у образцов сои (табл. 3).

Таблица 3

**Полиморфизм микросателлитных локусов ДНК сортов сои**

Генотип	Локус						
	SCT 413	SAT 420	SATT 309	SATT 149	SATT 307	SATT 286	SATT 532
Лидия	2	3	2	1	2	2	2
Белор	1	3	2	3	1	1	2
Даурия	3	3	3	3	2	1	2
Соер-3	2	2	2	3	3	3	2
Северная 4	2	2	2	3	2	1	1,2
СибНИИК-315	3	2	2	3	1	1	1,2
Окская	2	2	2	2	2	1	2
Ясельда	3	2	2	3	2	1	1
Витязь 50	2	2	1	2	2	2	1,3
СибНИИСХОЗ-6	1	2	3	3	1	1	2
Алтом	1	1	3	3	1	1	3
ВНИИОЗ-85	3	2	3	1	2	3	1,2
Лучезарная	2	2	2	1	2	1	1
Росинка	2	2	2	3	2	1	1
Венера (Примоская 915)	2	2	3	3	3	1	2
Т-25	2	2	2	1	2	4	3
Альгаир	3	3	2	3	1	1	1
Брянская 11	1	3	2	1	3	2	3
Локус	2	3	3	1	3	3	1
Грибская 30	2	2	2,3	3	3	2	2,3

Как видно из таблицы 3, в основном у изученных сортов выявлено по одному аллелю на локус. Однако у сортов Северная 4, СибНИИК-315, Витязь 50, ВНИИ-ОЗ-85 по локусу Satt532, а у сорта Грибская 30 по локусам SATT532 и SATT309 выявлено по два фрагмента разной длины. Это свидетельствует о наличии внутрисортного полиморфизма у этих сортов и требует дальнейшего изучения.

У большинства изучаемых SSR-локусов было выявлено по три аллеля, по локусу SAT286 – четыре, что в среднем составило 3,1 аллеля на локус (табл. 4). При этом эффективное число аллелей для изучаемых генотипов сои варьировало от 1,69 до 2,27 со средним значением 2,01.

Таблица 4

**Основные показатели информативности изучаемых микросателлитных локусов**

№	Локус	Количество аллелей, Na	Эффективное число аллелей, Ne	Индекс полиморфного информационного содержания, PIC
1	SCT413	3	2,13	0,53
2	SAT420	3	1,69	0,41
3	SATT309	3	1,72	0,42
4	SATT149	3	1,89	0,47
5	SATT307	3	2,27	0,56
6	SATT286	4	2,13	0,53
7	SATT532	3	2,27	0,56
Среднее		3,1	2,01	0,50

Индекс полиморфного информационного содержания (PIC), характеризующий информативность микросателлитных локусов, в изученной группе генотипов сои варьировал от 0,41 до 0,56 со средним значением 0,50. Наибольшее значение PIC было получено по локусам SATT307 и SATT532 – 0,56.

**Заключение.** В результате исследования были апробированы семь пар праймеров, описанных в литературе как фланкирующие микросателлитные участки ДНК сои. В зависимости от локуса число аллелей варьировало от 3 до 4 (в среднем 3,1 аллеля на локус). Эффективное число аллелей Ne для изученных генотипов сои в среднем составило 2,01, а

значение индекса полиморфного информационного содержания (PIC) 0,50. Из двадцати образцов сои пять оказались генетически неоднородными. Проанализированные образцы различались по аллельному состоянию локусов. Таким образом, изученные маркеры пригодны для создания молекулярно-генетических паспортов и определения генетической однородности сортов сои. Можно сделать вывод, что семь апробированных нами локусов могут быть использованы для создания эффективной технологии для идентификации и паспортизации генотипов сои.

### Список литературы

1. Давидчук Н.Д., Коробельская Е.М., Еремеева Н.В., Кобыльский Г.И. Полиморфизм запасных белков и использование его в семеноводстве пшеницы и ячменя // Вестник Тамбовского Государственного Университета. – 2009. – Т. 14. – С. 116–121.
2. Азарин К.В., Маркин Н.В., Лотник В.С., Усатов А.В. ДНК маркеры в селекции растений: учеб. пособие // Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2012. – С. 16.
3. Сухарева А.С., Кулуев Б.Р. ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных растений // Биомика. – 2018. – Т. 10. – № 1. – С. 69–84.
4. Гучетль С.З., Зайцев Н.И., Фролов С.С., Фролова И.Н., Кузнецова Е.С. Генотипирование инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции Армавирской опытной станции ВНИИМК с помощью микросателлитных локусов // Масличные культуры. – 2019. – № 3 (179). – С. 27–34.
5. Сиволап Ю.М., Бальвинская М.С., Родер М. SSR-анализ молекулярно-генетического полиморфизма сортов ярового ячменя южно-украинской селекции // Доклады Росс. акад. сельхоз. наук. – 2001. – № 5. – С. 3–7.
6. Колобова О.С., Малюченко О.П., Шалаева Т.В., Шанина Е.П., Шилов И.А. [и др.]. Генетическая паспортизация картофеля на основе мультиплексного анализа 10 микросателлитных маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – № 21. – С. 124–127. DOI 10.18699/VJ17.230
7. Супрун И.И., Ковалев В.С., Токмаков С.В., Белан К.А. ДНК-паспортизация современных российских сортов риса с применением SSR-маркеров // Науч. журнал КубГАУ – 2017. – Т. 131. – С. 1–11. DOI: 10.21515/1990-4665-131-065.
8. Челюстникова Т.А., Гучетль С.З., Антонова Т.С. Микросателлитные локусы для идентификации сортов льна масличного селекции ВНИИМК: подбор информативных праймеров и оптимальных условий ПЦР ДНК // Масличные культуры. – 2019. – № 2 (178). – С. 41–46.
9. Гориславец С.М., Рисованная В.И., Спотарь Г.Ю., Володин В.А. Генотипирование сорта винограда Бессемянный Магарача и анализ его происхождения с использованием SSR-маркеров // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2018. – Т. 20. – С. 19–21.
10. Лыжин А.С., Соловченко А.Е. Создание генетических паспортов подвойных форм яблони на основе анализа полиморфизма микросателлитных последовательностей ДНК // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – № 33. – С. 11–13. DOI: 10.24411/0235-2451-2019-10203.
11. Sun B., Fu C., Yang C., Ma Q. [et al.] Genetic diversity of wild soybeans from some regions of Southern China based on SSR and SRAP markers // American Journal of Plant Sciences. – 2013. – № 4. – P. 257–268.
12. Ghosh J., Ghosh P.D., Choudhury P.R. An assessment of genetic relatedness between soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivars using SSR markers // American Journal of Plant Sciences. – 2014. – No 5. – P. 3089–3096.
13. 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. – No 21 (1). – P. 109–115.
14. Абуғалиева С.И., Волкова Л.А., Нурланова А.А., Жанпейсова А.С., Турусбеков Е.К. ДНК-фингерпринтинг сортов сои Казахстана с использованием SSR-маркеров // Биотехнология. Теория и практика. – 2013. – № 3. – С. 26–34.
15. Кезимана П., Романова Е.В., Трифонова (Кочумова) А.А., Шмелькова Е.О. Анализ вариабельности микросателлитных локусов сортов сои (*Glycine max*) // Теоретические и прикладные проблемы АПК. – 2016. – № 4. – С. 3–7.
16. Mukuze C., Tucamuhabwa P., Maphosa M., Dari S., Dramadri I.O. [et al.] Genetic diversity analysis among soybean genotypes using SSR markers in Uganda // African Journal of Biotechnology. – 2020. – Vol. 19 (7). – P. 439–448.
17. Zulj Mihaljevic M., Sarcevic H., Lovric A., Andrijanic Z., Sudaric A. [et al.]. Genetic diversity of European commercial soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] germplasm revealed by SSR markers // Genet Resour Crop Evol. – 2020. – No 67. – P. 1587–1600.
18. Способ идентификации сортов сои на основе микросателлитных (SSR) маркеров: пат. 2388828 РФ : МКП C12Q 1/68 10.05.2010.
19. Способ выделения гибридных растений сои с использованием микросателлитных (SSR) локусов ДНК : пат. 2398883 РФ : МКП C12Q 1/68 10.09.2010.
20. 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.
21. Saghai-Marooif M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS USA. – 1984. – 81. – P. 8014–8018.
22. Binkowski J., Miks S. Gene-Calc [компьютерное программное обеспечение]: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gene-calc.pl/pic> (дата обращения: 26.10.2021).
23. SoyBase. Integrating Genetics and Genomics to Advance Soybean Research: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://soybase.org/> (дата обращения: 10.09.2021).
24. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 26.10.2021).

### References

1. Davidchuk N.D., Korabel'skaya E.M., Eremeeva N.V., Kobyl'skiy G.I. Polimorfizm zapasnykh belkov i ispol'zovanie ego v semenovodstve pshenitsy i yachmenya // Vestnik Tambovskogo Gosudarstvennogo Universiteta. – 2009. – T. 14. – S. 116–121.

2. Azarin K.V., Markin N.V., Lotnik B.C., Usatov A.V. DNK markery v selektsii rasteniy: ucheb. posobie // Ros-tov-na-Donu: Izdatel'stvo Yuzhnogo federal'nogo universiteta, 2012. – S. 16.
3. Sukhareva A.S., Kuluev B.R. DNK-markery dlya geneticheskogo analiza sortov kul'turnykh rasteniy // Biomika. – 2018. – T. 10. – № 1. – S. 69–84.
4. Guchetl' S.Z., Zaytsev N.I., Frolov S.S., Frolova I.N., Kuznetsova E.S. Genotipirovanie inbrednykh liniy i gibridov podsolnechnika selektsii Armavirskoy opytnoy stantsii VNIIMK s pomoshch'yu mikrosatelitnykh lokusov // Maslichnye kul'tury. – 2019. – № 3 (179). – S. 27–34.
5. Sivolap Yu.M., Bal'vinskaya M.S., Roder M. SSRP-analiz molekulyarno-geneticheskogo polimorfizma sortov yarovogo yachmenya yuzhno-ukrainskoy selektsii // Doklady Ross. akad. sel'khoz. nauk. – 2001. – № 5. – S. 3–7.
6. Kolobova O.S., Malyuchenko O.P., Shalaeva T.V., Shanina E.P., Shilov I.A. [i dr.]. Geneticheskaya pasportizatsiya kartofelya na osnove mul'tipleksnogo analiza 10 mikrosatelitnykh markerov // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. – 2017. – № 21. – S. 124–127. DOI: 10.18699/VJ17.230
7. Suprun I.I., Kovalev V.S., Tokmakov S.V., Belan K.A. DNK-pasportizatsiya sovremennykh rossiyskikh sortov risa s primeneniem SSR-markerov // Nauch. zhurnal KubGAU – 2017. – T. 131. – S. 1–11. DOI: 10.21515/1990-4665-131-065.
8. Chelyustnikova T.A., Guchetl' S.Z., Antonova T.S. Mikrosatelitnye lokusy dlya identifikatsii sortov l'na maslichnogo selektsii VNIIMK: podbor informativnykh praymerov i optimal'nykh usloviy PTsR DNK // Maslichnye kul'tury. – 2019. – № 2 (178). – S. 41–46.
9. Gorislavets S.M., Risovannaya V.I., Spotar' G.Yu., Volodin V.A. Genotipirovanie sorta vinograda Bessemyanny Magarach i analiz ego proiskhozhdeniya s ispol'zovaniem SSR-markerov // Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie. – 2018. – T. 20. – S. 19–21.
10. Lyzhin A.S., Solovchenko A.E. Sozdanie geneticheskikh pasportov podvoynykh form yabloni na osnove analiza polimorfizma mikrosatelitnykh posledovatel'nostey DNK // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2019. – № 33. – С. 11–13. DOI: 10.24411/0235-2451-2019-10203.
11. Sun B., Fu C., Yang C., Ma Q. [et al.] Genetic diversity of wild soybeans from some regions of Southern China based on SSR and SRAP markers // American Journal of Plant Sciences. – 2013. – No 4. – P. 257–268.
12. Ghosh J., Ghosh P.D., Choudhury P.R. An assessment of genetic relatedness between soybean [Glycine max (L.) Merrill] cultivars using SSR markers // American Journal of Plant Sciences. – 2014. – No 5. – R. 3089–3096.
13. 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. – No 21 (1). – P. 109–115.
14. Abugalieva S.I., Volkova L.A., Nurlanova A.A., Zhanpeisova A.S., Turuspekov E.K. DNK-fingerprinting sortov soi Kazakhstana s ispol'zovaniem SSR-markerov // Biotekhnologiya. Teoriya i praktika. – 2013. – № 3. – S. 26–34.
15. Kezimana P., Romanova E.V., Trifonova (Kochumova) A.A., Shmel'kova E.O. Analiz variabel'nosti mikrosatelitnykh lokusov sortov soi (Glucine max) // Teoreticheskie i prikladnye problemy APK. – 2016. – № 4. – S. 3–7.
16. Mukuze C., Tucamuhabwa P., Maphosa M., Dari S., Dramadri I.O. [et al.] Genetic diversity analysis among soybean genotypes using SSR markers in Uganda // African Journal of Biotechnology. – 2020. – Vol. 19 (7). – P. 439–448.
17. Zulj Mihaljevic M., Sarcevic H., Lovric A., Andrijanic Z., Sudaric A. [et al.]. Genetic diversity of European commercial soybean [Glycine max (L.) Merr.] germplasm revealed by SSR markers // Genet Resour Crop Evol. – 2020. – No 67. – P. 1587–1600.
18. Sposob identifikatsii sortov soi na osnove mikrosatelitnykh (SSR) markerov: pat. 2388828 RF : MKP C12Q 1/68 10.05.2010. vykhodnye dannye?
19. Sposob vydeleniya gibridnykh rasteniy soi s ispol'zovaniem mikrosatelitnykh (SSR) lokusov DNK : pat. 2398883 RF : MKP C12Q 1/68 10.09.2010.
20. Ramazanova S.A., Kolomytseva A.S. Optimizatsiya tekhnologii genotipirovaniya soi na osnove analiza polimorfizma SSR-lokusov DNK // Maslichnye kul'tury. – 2020. – № 1 (181). – S. 42–48.
21. Saghai-Marooif M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS USA. – 1984. – 81. – P. 8014–8018.
22. Binkowski J., Miks S. Gene-Calc [komp'yuternoe programmnoe obespechenie]: [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <https://gene-calc.pl/pic> (data obrashcheniya: 26.10.2021).
23. SoyBase. Integrating Genetics and Genomics to Advance Soybean Research: [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <https://soybase.org/> (data obrashcheniya: 10.09.2021).
24. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine: [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (data obrashcheniya: 26.10.2021).

## Сведения об авторах

**С.А. Рамазанова**, ведущий научный сотрудник, канд. биол. наук

**В.Г. Савиченко**, млад. науч. сотрудник

**Э.Г. Устарханова**, зав. лаб. селекции и семеноводства сои, канд. с.-х. наук

**Е.Д. Логинова**, лаборант-исследователь

**Р.Н. Рамазанов**, студент

**А.Х. Гучетль**, студент

*Получено/Received*

11.11.2021

*Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed*

12.11.2021

*Получено после доработки/Manuscript revised*

15.11.2021

*Принято/Accepted*

16.11.2021

*Manuscript on-line*

30.12.2021