



Генетика и селекция растений Genetics and plant breeding

DOI: 10.22363/2312-797X-2025-20-1-88-101

EDN HYSNGO

УДК 582.739

Научная статья / Research article

Генотипическая кластеризация 51 сорта культурной и форм дикой сои с использованием SSR-маркеров

А.А. Иваний  , А.А. Пензин , О.Н. Бондаренко ,
А.А. Блинова , А.Е. Гретченко , Л.Е. Иваченко , П.Д. Тимкин 

Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои»,
г. Благовещенск, Российская Федерация
 iaa@vniisoi.ru

Аннотация. Сорта сои характеризуются в основном морфологическими и биохимическими признаками. Однако при попытке использовать данные параметры в идентификации и дифференциации сортов исследователи сталкиваются с затруднениями, что усложняет работу с близкородственными сортовыми линиями. Микросателлитные маркеры, или SSR (простые повторы последовательности), являются отличным инструментом для идентификации и дифференциации сортов, выявления степени их генетического родства и защите авторских прав. Цель исследования — получение молекулярно-генетических формул для сортов культурной и форм дикой сои с последующим выявлением их генетического родства. Материалом исследования служил 51 образец культурной и дикой сои (39 культурных сортов сои селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои и 12 форм дикой сои). Из исследуемых образцов выделялось геномная ДНК, которая затем была амплифицирована. Полученные ампликоны разделили в 2%-м агарозном геле и детектировали длину получившихся фрагментов в двух повторностях. Для молекулярно-генетической характеристики использовали 9 микросателлитных локусов (*Satt1*, *Satt2*, *Satt5*, *Satt9*, *Soyhsp176*, *Satt681*, *Sat_263*, *Satt141*, *Satt181*). Результаты, демонстрирующие длину каждого локуса, проанализировали алгоритмом UPGMA для регистрации генетического родства или отдаленности. Получены молекулярно-генетические формулы исследуемых образцов, которые в дальнейшем можно использовать для составления генетических паспортов. На основе алгоритма UPGMA 51 генотип сои сгруппировали в 13 основных кластеров. Большинство форм дикой сои, произрастающих в Амурской области, продемонстрировали

© Иваний А.А., Пензин А.А., Бондаренко О.Н., Блинова А.А., Гретченко А.Е.,
Иваченко Л.Е., Тимкин П.Д., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

генетическую близость благодаря принадлежности к трем близко расположенным кластерам. Однако форма дикой сои из Хабаровского края (Дикая соя 31) и одна из форм Амурской области (КЗ-6337), не входящая в указанные кластеры, оказались генетически отдалены от других групп дикой сои. Эти результаты свидетельствуют об адекватности использования 9 SSR-локусов для задач идентификации, выявления родства и дальнейшей паспортизации сои.

Ключевые слова: *Glycine max*, *Glycine soja*, SSR-анализ, ДНК-маркеры, микросателлитные локусы, молекулярно-генетическая паспортизация

Вклад авторов: Иваний А.А. — внесла основной вклад в написание работы: проведение анализа, написание статьи; Пензин А.А. — проведение эксперимента, редактирование статьи; Бондаренко О.Н. — проведение амплификации; Блинова А.А. — выделение ДНК и проведение электрофореза; Гретченко А.Е. — проведение электрофореза; Иваченко Л.Е. — участвовала в написании и редактировании работы; Тимкин П.Д. — написание статьи, проведение эксперимента, редактирование статьи, формулирование основной идеи.

Финансирование. Работа была выполнена в рамках темы научно-исследовательской работы № FNGE-2024-0014.

Заявление о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

История статьи: поступила в редакцию 7 мая 2024 г., принята к публикации января 14 октября 2024 г.

Для цитирования: Иваний А.А., Пензин А.А., Бондаренко О.Н., Блинова А.А., Гретченко А.Е., Иваченко Л.Е., Тимкин П.Д. Генотипическая кластеризация 51 сорта культурной и форм дикой сои с использованием SSR-маркеров // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2025. Т. 20. № 1. С. 88—101. doi: 10.22363/2312-797X-2025-20-1-88-101 EDN HYSNGO

Genotypic clustering of 51 soybean cultivars and wild forms using SSR-markers

Alena A. Ivaniy  , Andrey A. Penzin , Olga N. Bondarenko ,
Anastasia A. Blinova , Alina E. Gretchenko ,
Lyubov E. Ivachenko , Pavel D. Timkin 

Russian Research Institute of Soybean, Blagoveshchensk, Russian Federation
 iaa@vniisoi.ru

Abstract. Soybean cultivars are characterized mainly by morphological and biochemical traits. However, researchers encounter difficulties when trying to use these parameters in cultivar identification and differentiation, making it difficult to work with closely related cultivar lines. Microsatellite markers or SSRs (simple sequence repeats) are an excellent tool for variety identification and differentiation, revealing the degree of genetic relatedness and copyright protection. The aim of the research was to obtain molecular genetic formulas for cultivated and wild soybean varieties with subsequent identification of their genetic relatedness. The object of the study was 51 samples of soybean (39 cultivars and 12 wild forms). Genomic DNA was isolated from the studied samples and then amplified. The obtained amplicons were separated in 2% agarose gel and the length of the fragments was detected in two replications. Nine microsatellite loci (Satt1, Satt2, Satt5, Satt9, Soyhsp176, Satt681, Sat_263, Satt141, Satt181) were used for molecular genetic characterization. Results demonstrating the length of each locus were analyzed by the UPGMA algorithm to record genetic relatedness or remoteness. The molecular genetic formulae of the studied samples were obtained, which can be further used to compile genetic

passports. Based on the UPGMA algorithm, 51 soybean genotypes were grouped into 13 main clusters. Most of the soybean wild forms growing in the Amur Region demonstrated genetic proximity due to belonging to three closely located clusters. However, the soybean wild form from the Khabarovsk Territory (Dikaya soya 31) and one of the forms from the Amur Region (KZ-6337) were genetically distant from other groups of soybean wild forms. These results indicate the adequacy of the use of 9 SSR locuses for identification tasks, identification of relatedness and further passportization of soybeans.

Keywords: *Glycine max*, *Glycine soja*, SSR analysis, DNA markers, microsatellite loci, molecular genetic passportization

Authors' contribution. Ivaniy A.A. — analysis, scientific writing; Penzin A.A. — conducting the experiment, editing the article; Bondarenko O.N. — amplification; Blinova A.A. — DNA release and electrophoresis; Gretchenko A.E. — conducting electrophoresis; Ivachenko L.E. — scientific writing and editing; Timkin P.D. — scientific writing and editing, conducting the experiment, formulating the main idea.

Funding. The study was performed as part of the research work No. FNGE-2024-0014.

Conflict of interest. The authors declared no conflict of interests.

Article history: received 7 May 2024; accepted 14 October 2024.

For citation: Ivaniy AA, Penzin AA, Bondarenko ON, Blinova AA, Gretchenko AE, Ivachenko LE, Timkin PD. Genotypic clustering of 51 soybean cultivars and wild forms using SSR-markers. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2025;20(1):88—101. (In Russ.). doi: 10.22363/2312-797X-2025-20-1-88-101 EDN HYSNGO

Введение

Идентификация сортов сои — важная задача в прикладной селекции, семеноводстве, торговле и т.д. Решение такой задачи возможно с использованием двух методов: оценки морфологических признаков и анализа молекулярно-генетических маркеров. Методы не взаимоисключают, а дополняют друг друга [1, 2]. Несмотря на то, что для проверки однородности и стабильности растений используют морфологические признаки, последние не подходят для селекции с узким генетическим разнообразием. На сегодняшний день исследователи сосредоточены на применении молекулярных маркеров.

Благодаря молекулярным маркерам идентификация и дифференциация различных сортов растений становятся менее затратными по времени и более простыми [3, 4]. Для поиска молекулярно-генетических маркеров широко используется платформа секвенирования нового поколения (NGS). Маркеры для генетического изучения культурных растений могут быть представлены простыми повторами последовательностей (SSR), одонуклеотидными полиморфизмами (SNP), полиморфизмами длин рестрикционных фрагментов (RFLP), полиморфизмами длин амплифицированных фрагментов (AFLP), вставками/делециями (InDels) и др. [5–7].

Микросателлиты (SSR) встречаются в геномах большинства эукариот и являются очень информативными, многоаллельными и воспроизводимыми. Метод SSR-анализа является наиболее перспективным и пригодным для практического использования, благодаря таким критериям, как высокая точность и надежность результатов [8–10].

Цель исследования — получение молекулярно-генетических формул для сортов культурной и форм дикой сои с последующим выявлением их генетического родства.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования были семена культурных сортов сои селекции ВНИИ сои и формы дикой сои, ареал которых Амурская область (КЗ-6337, КБл-29, КА-1413, КА-32, КБел-72, КБл-24, КА 346, КТ-156, КЗ-578, КБл-90, КБл-77) и Хабаровский край (Дикая соя 31).

Геномную ДНК выделяли с использованием коммерческого набора ДНК-экстракт-3 (ООО «Синтол», Россия) по протоколу, приложенному к реактивам, из семян сои с модификацией. Для проведения исследований отбирали по 6 семян сои и замачивали их в дистиллированной воде при +25 °С в течение суток. Далее семена подвергали шоковой заморозке в течение 30 минут при температуре –86 °С. Затем из каждого семени отбирали навеску 0,025 г [11].

Степень очистки и концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре EZdrop (Китай). Пределы измерения концентрации брали от 50 до 200 нг/мкл. Образцы считались чистыми при соотношении длин волн 260/280, равных $1,8 \pm 0,1$. Для амплификации выделенной ДНК форм дикой сои и сортов культурной сои применяли 9 пар праймеров к SSR-локусам (*Satt1*, *Satt2*, *Satt5*, *Satt9*, *Soyhsp176*, *Satt681*, *Sat_263*, *Satt141*, *Satt181*), отобранных на основании литературных источников [12–14]. ПЦР проводили в 2-кратной повторности. Для каждой из представленных пар праймеров рассчитали температуру отжига (в веб-версии программы PrimerBLAST) и провели их оптимизацию экспериментальным путем (табл. 1). В этих целях 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 амплифицированных фрагментов в характерном для каждого локуса диапазоне количества пар нуклеотидов (н.п). В таком случае температуру, при которой получались хорошо различимые ампликоны, называли фактической. Амплификацию ДНК сои на амплификаторе CFX96 (Real-time) (Bio-Rad laboratories Inc., США) выполняли в 50 мкл готовой реакционной смеси расширенного набора для проведения ПЦР с HS-Taq (ООО «Биолабмикс»). Продукты реакции разделяли методом электрофореза в 2%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в 0,5 × TBE буфере.

Анализ и визуализацию осуществляли с использованием гель-документирующей системы GelDoc EZ (Bio-Rad laboratories Inc., США). Для анализа молекулярной массы использовали готовый набор ДНК (DNA Ladder, 50+bp). Идентификацию и определение размеров аллелей микросателлитных локусов проводили с использованием программы Image Lab Version 6.0.1 4 Standard Edition. Аллельное состояние каждого локуса обозначали в соответствии с размером продуктов амплификации — пар нуклеотидов (н.п.). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением пакета программы POPGENE версии 1.32 [15].

Для визуализации обнаруженных генетических дистанций между исследуемыми образцами построили дендрограмму методом невзвешенного попарно-группового анализа (unweighted pair wise group method analysis — UPGMA).

Таблица 1

Оптимальная температура отжига праймеров

Наименование локуса	Температура отжига, °C	
	Фактическая	Расчетная
<i>Satt1</i>	60	60
<i>Satt2</i>	60	63
<i>Satt5</i>	55	58
<i>Satt9</i>	45	61
<i>Soyhsp176</i>	60	67
<i>Satt681</i>	58	65
<i>Sat_263</i>	65	56
<i>Satt141</i>	63	60
<i>Satt181</i>	63	50

Источник: составлено О.Н. Бондаренко, А.А. Пензиным на основе экспериментальных данных.

Table 1

Optimum annealing temperature

Locus	Annealing temperature, °C	
	Actual	Calculated
<i>Satt1</i>	60	60
<i>Satt2</i>	60	63
<i>Satt5</i>	55	58
<i>Satt9</i>	45	61
<i>Soyhsp176</i>	60	67
<i>Satt681</i>	58	65
<i>Sat_263</i>	65	56
<i>Satt141</i>	63	60
<i>Satt181</i>	63	50

Source: compiled by O.N. Bondarenko, A.A. Penzin based on experimental data.

Результаты исследования и обсуждение

В ходе исследования получены длины всех микросателлитных локусов для каждого сорта культурной и форм дикой сои и составлены молекулярно-генетические формулы, отображающие длину аллелей (табл. 2), которые позволят использовать их при регистрации сортов, а также для дальнейшей паспортизации и защиты прав селекционеров.

Таблица 2

Молекулярно-генетические формулы 51 генотипа сои,
полученные путем микросателлитного анализа

№	Наименование сорта культурной / формы дикой сои	Формула*
1	Кружевница	$A_{137}B_{154}C_{150}D_{206}H_{115}J_{244}K_{135}L_{148}M_{225}$
2	Сентябринка	$A_{145}B_{154}C_{136}D_{200}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
3	Веретейка	$A_{137}B_{154}C_{150}D_{212}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{225}$
4	Лидия	$A_{137}B_{154}C_{150}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
5	Умка	$A_{137}B_{154}C_{136}D_{159}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{225}$
6	Даурия	$A_{145}B_{154}C_{150}D_{168}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{218}$
7	Золушка	$A_{154}B_{154}C_{160}D_{176}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
8	Лазурная	$A_{145}B_{154}C_{150}D_{154}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{185}$
9	Топаз	$A_{145}B_{154}C_{136}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{170}$
10	Олимп	$A_{145}B_{154}C_{160}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{218}$
11	Ляна	$A_{145}B_{146}C_{160}D_{154}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{185}$
12	Грэй	$A_{137}B_{146}C_{160}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{218}$
13	ВНИИС18	$A_{145}B_{146}C_{160}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
14	Алпетра	$A_{145}B_{146}C_{160}D_{186}H_{120}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
15	Золотница	$A_{137}B_{154}C_{160}D_{212}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{170}$
16	Апис	$A_{125}B_{154}C_{160}D_{212}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$
17	Лучистая	$A_{125}B_{146}C_{160}D_{212}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$
18	Тисей	$A_{125}B_{146}C_{160}D_{206}H_{115}J_{244}K_{180}L_{210}M_{208}$
19	Пепелина	$A_{137}B_{154}C_{160}D_{168}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$
20	Чародейка	$A_{154}B_{163}C_{160}D_{186}H_{115}J_{200}K_{165}L_{210}M_{208}$
21	Персона	$A_{125}B_{146}C_{160}D_{212}H_{105}J_{220}K_{135}L_{187}M_{175}$
22	Статная	$A_{125}B_{146}C_{165}D_{212}H_{105}J_{228}K_{135}L_{187}M_{170}$
23	Евгения	$A_{145}B_{154}C_{175}D_{212}H_{105}J_{228}K_{135}L_{187}M_{205}$
24	Журавушка	$A_{145}B_{154}C_{160}D_{220}H_{105}J_{220}K_{135}L_{187}M_{208}$
25	Бонус	$A_{137}B_{137}C_{175}D_{200}H_{105}J_{244}K_{156}L_{187}M_{195}$
26	Лебедушка	$A_{137}B_{146}C_{160}D_{120}H_{105}J_{220}K_{145}L_{187}M_{208}$
27	Куханна	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{120}H_{105}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
28	МК 100	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{206}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
29	Невеста	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
30	Нега 1	$A_{137}B_{146}C_{175}D_{168}H_{115}J_{244}K_{145}L_{187}M_{195}$
31	Октябрь 70	$A_{145}B_{146}C_{185}D_{154}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
32	Грация	$A_{137}B_{146}C_{165}D_{148}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{185}$
33	Интрига	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{200}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{195}$
34	Ласточка	$A_{145}B_{154}C_{185}D_{212}H_{105}J_{244}K_{156}L_{210}M_{185}$
35	Татьяна	$A_{137}B_{137}C_{160}D_{212}H_{105}J_{256}K_{156}L_{187}M_{208}$
36	Гармония	$A_{154}B_{146}C_{175}D_{212}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{218}$
37	Соната	$A_{154}B_{146}C_{175}D_{212}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
38	Китросса	$A_{154}B_{146}C_{175}D_{176}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{225}$
39	Алена	$A_{154}B_{137}C_{150}D_{168}H_{115}J_{200}K_{135}L_{187}M_{185}$

Окончание табл. 2

№	Наименование сорта культурной / формы дикой сои	Формула*
40	Дикая соя 31	$A_{137}B_{154}C_{185}D_{120}H_{126}J_{228}K_{135}L_{187}M_{170}$
41	КЗ-6337	$A_{108}B_{146}C_{160}D_{186}H_{115}J_{200}K_{135}L_{148}M_{170}$
42	КБл-29 ¹	$A_{145}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
43	КА-14131	$A_{145}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
44	КА-32	$A_{125}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
45	КБел-72	$A_{145}B_{176}C_{160}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
46	КБл-241	$A_{145}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
47	КА 3462	$A_{137}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
48	КТ-156 ²	$A_{137}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
49	КЗ-5782	$A_{137}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
50	КБл-90	$A_{125}B_{176}C_{175}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
51	КБл-77	$A_{154}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{2135}L_{210}M_{208}$

Примечание. *Код локуса А – Satt1, В – Satt2, С – Satt5, D – Satt9, Н – Soyhsp176, J – Satt681, К – Sat_263, L – Satt141, М – Satt181.

Источник: составлено А.А. Иваний, А.А. Пензиным, О.Н. Бондаренко, П.Д. Тимкиным на основе экспериментальных данных.

Table 2

The molecular genetic formulas of 51 soy genotype obtained by microsatelite analysis

№	Soy culivar / wild form	Formula*
1	Kruzhevitsa	$A_{137}B_{154}C_{150}D_{206}H_{115}J_{244}K_{135}L_{148}M_{225}$
2	Sentyabrinka	$A_{145}B_{154}C_{136}D_{200}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
3	Vereteika	$A_{137}B_{154}C_{150}D_{212}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{225}$
4	Lidiya	$A_{137}B_{154}C_{150}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
5	Umka	$A_{137}B_{154}C_{136}D_{159}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{225}$
6	Dauriya	$A_{145}B_{154}C_{150}D_{168}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{218}$
7	Zolushka	$A_{154}B_{154}C_{160}D_{176}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
8	Lazurnaya	$A_{145}B_{154}C_{150}D_{154}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{185}$
9	Topaz	$A_{145}B_{154}C_{136}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{170}$
10	Olimp	$A_{145}B_{154}C_{160}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{218}$
11	Lyana	$A_{145}B_{146}C_{160}D_{154}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{185}$
12	Grei	$A_{137}B_{146}C_{160}D_{186}H_{115}J_{244}K_{165}L_{210}M_{218}$
13	VNIIS18	$A_{145}B_{146}C_{160}D_{186}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$
14	Alpetra	$A_{145}B_{146}C_{160}D_{186}H_{120}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
15	Zolotnitsa	$A_{137}B_{154}C_{160}D_{212}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{170}$
16	Apis	$A_{125}B_{154}C_{160}D_{212}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$
17	Luchistaya	$A_{125}B_{146}C_{160}D_{212}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$

¹ Сорта, относящиеся к Х кластеру и имеющие сходные молекулярно-генетические формулы.

² Сорта, относящиеся к IX кластеру и имеющие сходные молекулярно-генетические формулы.

End of tabl. 2

Nº	Soy cultivar / wild form	Formula*
18	Tisei	$A_{125}B_{146}C_{160}D_{206}H_{115}J_{244}K_{180}L_{210}M_{208}$
19	Pepelina	$A_{137}B_{154}C_{160}D_{168}H_{115}J_{244}K_{156}L_{210}M_{208}$
20	Charodeika	$A_{154}B_{163}C_{160}D_{186}H_{115}J_{200}K_{165}L_{210}M_{208}$
21	Persona	$A_{125}B_{146}C_{160}D_{212}H_{105}J_{220}K_{135}L_{187}M_{175}$
22	Statnaya	$A_{125}B_{146}C_{165}D_{212}H_{105}J_{228}K_{135}L_{187}M_{170}$
23	Evgeniya	$A_{145}B_{154}C_{175}D_{212}H_{105}J_{228}K_{135}L_{187}M_{205}$
24	Zhuravushka	$A_{145}B_{154}C_{160}D_{220}H_{105}J_{220}K_{135}L_{187}M_{208}$
25	Bonus	$A_{137}B_{137}C_{175}D_{200}H_{105}J_{244}K_{156}L_{187}M_{195}$
26	Lebedushka	$A_{137}B_{146}C_{160}D_{120}H_{105}J_{220}K_{145}L_{187}M_{208}$
27	Kukhanna	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{120}H_{105}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
28	MK 100	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{206}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
29	Nevesta	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{186}H_{115}J_{244}K_{156}L_{187}M_{208}$
30	Nega 1	$A_{137}B_{146}C_{175}D_{168}H_{115}J_{244}K_{145}L_{187}M_{195}$
31	Oktyabr 70	$A_{145}B_{146}C_{185}D_{154}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
32	Gratsiya	$A_{137}B_{146}C_{165}D_{148}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{185}$
33	Intriga	$A_{137}B_{146}C_{185}D_{200}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{195}$
34	Lastochka	$A_{145}B_{154}C_{185}D_{212}H_{105}J_{244}K_{156}L_{210}M_{185}$
35	Tatiana	$A_{137}B_{137}C_{160}D_{212}H_{105}J_{256}K_{156}L_{187}M_{208}$
36	Garmoniya	$A_{154}B_{146}C_{175}D_{212}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{218}$
37	Sonata	$A_{154}B_{146}C_{175}D_{212}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{208}$
38	Kitrossa	$A_{154}B_{146}C_{175}D_{176}H_{115}J_{244}K_{135}L_{187}M_{225}$
39	Alena	$A_{154}B_{137}C_{150}D_{168}H_{115}J_{200}K_{135}L_{187}M_{185}$
40	Dikaya soya 31	$A_{137}B_{154}C_{185}D_{120}H_{126}J_{228}K_{135}L_{187}M_{170}$
41	KZ-6337	$A_{108}B_{146}C_{160}D_{186}H_{115}J_{200}K_{135}L_{148}M_{170}$
42	KBI-29 ³	$A_{145}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
43	KA-14133	$A_{145}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
44	KA-32	$A_{125}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
45	KBel-72	$A_{145}B_{176}C_{160}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
46	KBI-24 ³	$A_{145}B_{176}C_{175}D_{120}H_{126}J_{244}K_{165}L_{210}M_{208}$
47	KA 346 ⁴	$A_{137}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
48	KT-156 ⁴	$A_{137}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
49	KZ-578 ⁴	$A_{137}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
50	KBI-90	$A_{125}B_{176}C_{175}D_{186}H_{115}J_{244}K_{135}L_{210}M_{208}$
51	KBI-77	$A_{154}B_{176}C_{175}D_{138}H_{115}J_{244}K_{2135}L_{210}M_{208}$

Note. *Lokus code A – *Satt1*, B – *Satt2*, C – *Satt5*, D – *Satt9*, H – *Soyhsp176*, J – *Satt681*, K – *Sat_263*, L – *Satt141*, M – *Satt181*.

Source: compiled by A.A. Ivaniy, A.A. Penzin, O.N. Bondarenko, P.D. Timkin based on experimental data.

³ Varieties belonging to the X cluster and having similar molecular genetic formulas.

⁴ Varieties belonging to the IX cluster and having similar molecular genetic formulas.

Для упрощения визуальной идентификации сортов составлены молекулярные профили, которые приведены в виде электрофореграммы со всеми исследованными локусами для каждого сорта (рис. 1).

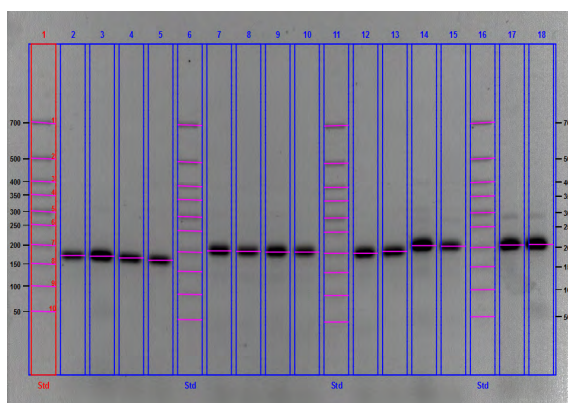


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК по сортам: 2–3 – Персона; 4–5 – Статная; 7–8 – Евгения; 9–10 – Журавушка; 12–13 – Бонус; 14–15 – Лебедушка; 17–18 – Куханна с использованием локуса *Satt181*

Fig. 1. Electrophoregram of DNA amplification products by cultivars: 2–3 – Persona; 4–5 – Statnaya; 7–8 – Evgeniya; 9–10 – Zhuravushka; 12–13 – Bonus; 14–15 – Lebedushka; 17–18 – Kukhanna using *Satt181* locus

Source: compiled by A.A. Ivaniy, A.A. Blinova, A.E. Gretchenko based on experimental data.

Результаты полученной электрофореграммы показали, что каждая пара праймеров гибридизовалась со своей мишенью и эффекта off-target не наблюдалось, следовательно, используемые нами праймеры и температурные режимы способствуют высокой специфичности.

Для выяснения взаимосвязи между генотипами проведен кластерный анализ в виде циркулярной дендрограммы (рис. 2). Дендрограмма генетического родства демонстрирует наличие нескольких обособленных кластеров.

Анализ полученной дендрограммы позволил выделить 13 отдельных кластеров сои. Для генотипов исследуемых сортов культурной сои получены уникальные наборы аллелей, которые можно использовать для составления молекулярно-генетических формул и последующей паспортизации. Можно наблюдать, что формы дикой сои не являются родственными сортам культурной сои, следовательно, использования 9 пар праймеров достаточно для получения генетических паспортов сортов культурной и форм дикой сои с последующим выявлением их генетического родства. Тот факт, что дендрограмма на основе UPGMA сгруппировала 51 генотип сои в 13 обособленных кластеров, указывает на то, что большинство сортов имеют общих родителей. Кластеры XI, XIII состоят только из 1 генотипа, что свидетельствует об уникальности аллельных наборов у формы дикой сои КЗ-6337 и Дикая соя 31 соответственно. Для форм дикой сои в кластерах IX (КБл-29, КА-1413, КБЛ-24) и X (КА-346, КТ-156, КЗ-578) не было обнаружено уникальных наборов аллелей из-за чего применение данной технологии в дифференциации форм дикой

сои не представляется возможным, а молекулярно-генетические формулы не релевантны для использования в целях паспортизации с помощью данной маркерной системы и требуют дополнительных исследований.

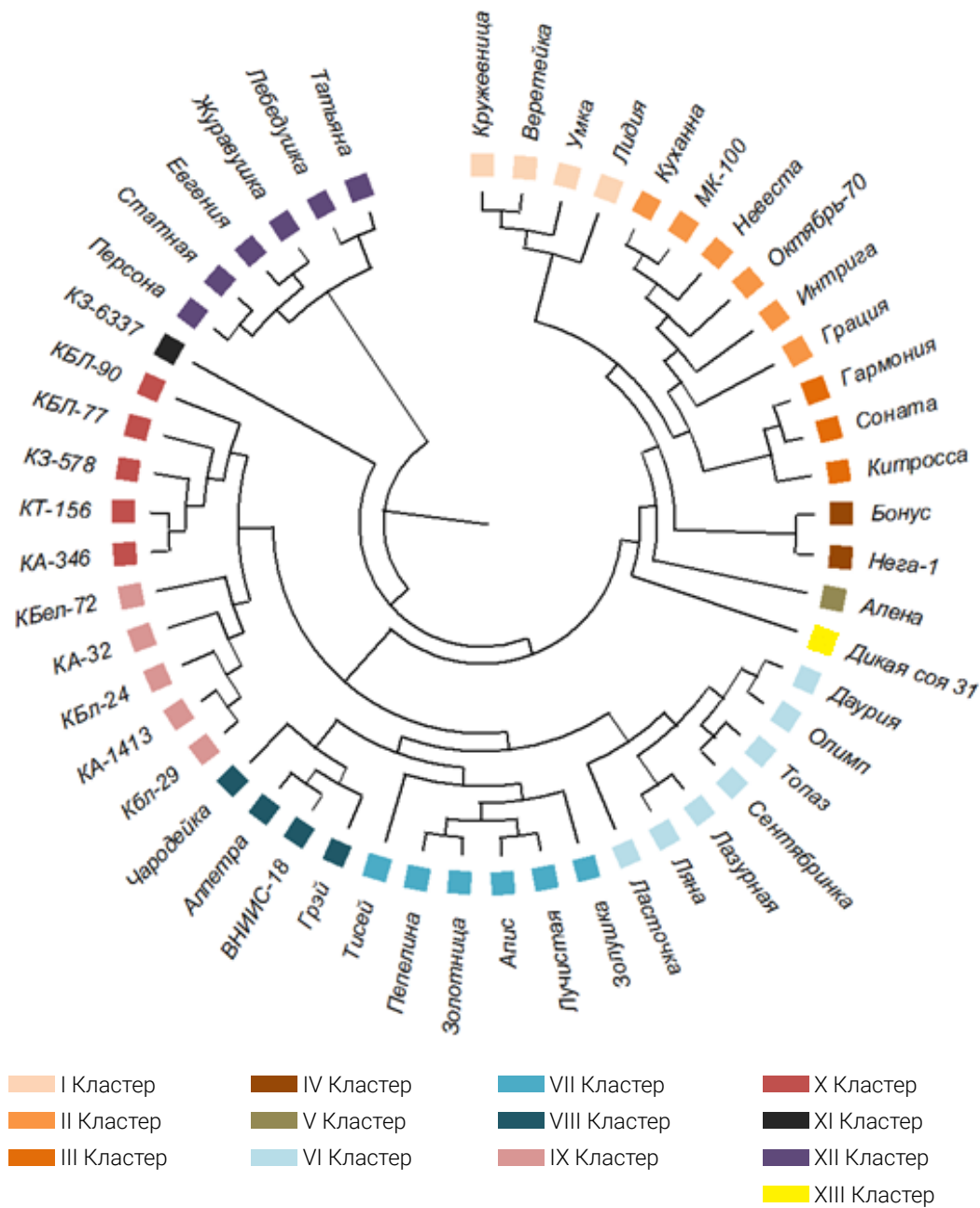


Рис. 2. Дендрограмма 51 генотипа сои (39 сортов культурной и 12 форм дикой сои)
Источник: составлено А.А. Иваний на основе экспериментальных данных.

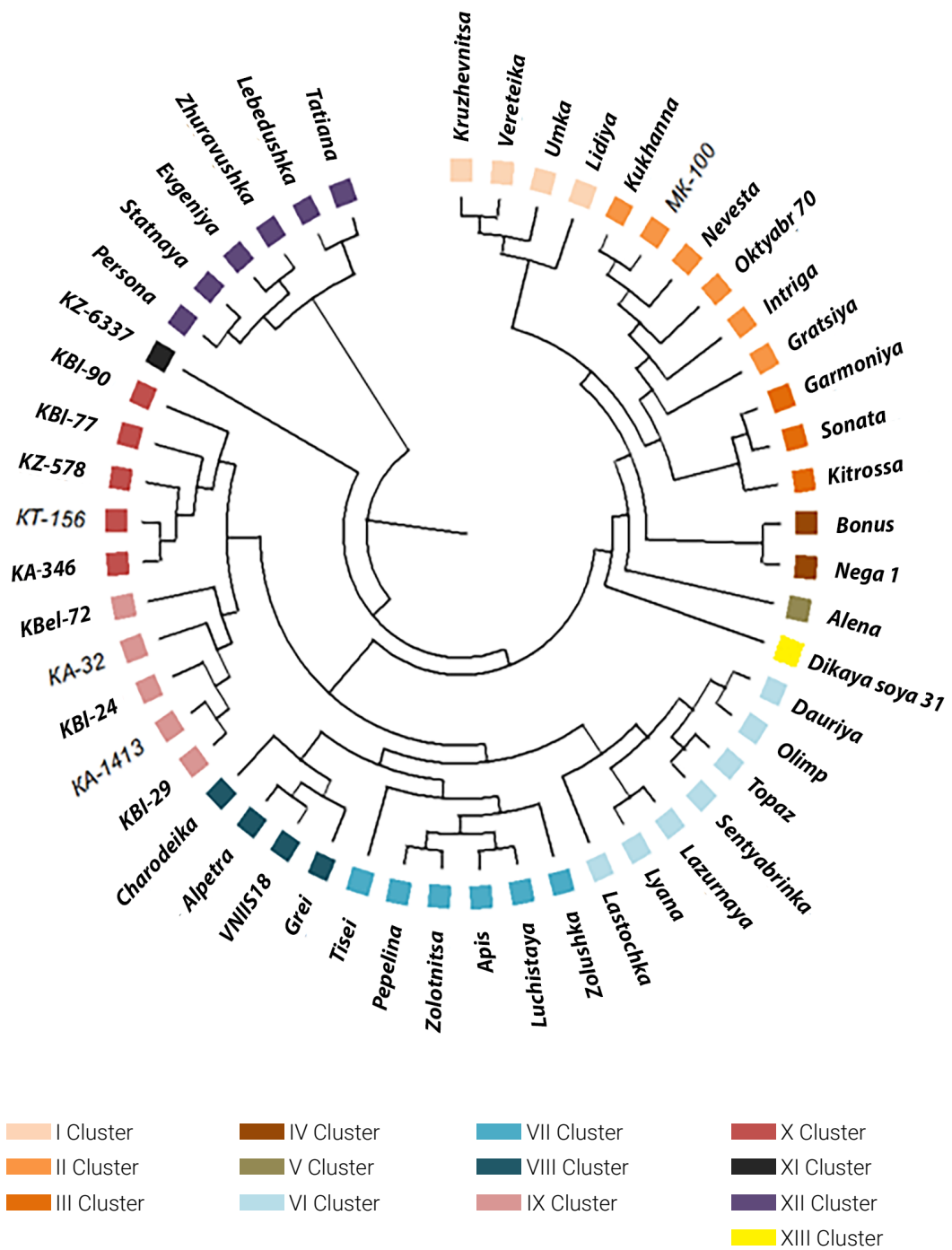


Fig. 2. Dendrogram for 51 soybean genotype (39 cultivars and 12 wild forms)

Source: compiled by A.A. Ivaniy based on experimental data.

Заключение

С использованием системы из 9 SSR-маркеров идентифицирован 51 генотип сои. Для каждого из культурных сортов получены уникальные наборы аллелей. Построена UPGMA-дендрограмма и выявлена степень генетического родства форм дикой и сортов культурной сои с целью их дальнейшей молекулярно-генетической паспортизации. На основе полученных уникальных генетических характеристик сортов культурной и сортообразцов дикой сои в дендрограмме произведена их группировка по 13 кластерам, характеризующимся родственным генотипом. Формы дикой сои преимущественно располагаются в отдельном кластере, что свидетельствует об адекватности выбранных локусов для популяционно-генетического анализа. Исключением стали две формы дикой сои — КЗ-6337 и Дикая соя 31, которые находятся в отдельных кластерах, что может быть следствием отдаленного от остальных форм ареала или объясняться другими эволюционными причинами. При анализе полученной дендрограммы можно выделить форму дикой сои — Дикая соя 3, генетически отдаленную от остальных сортов дикой сои, но генетически близкую с сортами культурной сои, откуда следует, что маркерная система не подошла для дифференцирования форм дикой сои. Таким образом, использованный в исследовании набор 9 пар праймеров к микросателлитным маркерам *Satt1*, *Satt2*, *Satt5*, *Satt9*, *Soyhsp176*, *Satt681*, *Sat_263*, *Satt141*, *Satt181* обладает достаточной информативностью и может быть рекомендован к применению с целью идентификации сортов культурной сои и составления генетических паспортов. Для форм дикой сои требуется использование дополнительного набора локусов или более точные аналитические методы, например секвенирование по Сенгеру, которое даст возможность оценить полиморфизм по нуклеотидному составу, а не по длине.

Список литературы / References

1. Korir NK, Han J, Shangguan L, Wang C, Kayesh E, Zhang Y, et al. Plant Variety and cultivar identification: advances and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2013;33(2):111—125. doi: 10.3109/07388551.2012.675314
2. Kim YH, Park HM, Hwang TY, Lee SK, Choi MS, Jho S, et al. Variation block-based genomics method for crop plants. *BMC Genomics*. 2014;15(1):477. doi: 10.1186/1471-2164-15-477
3. Gautam AK, Verma RK, Avasthi S, Sushma, Bohra Y, Devadatha B, et al. Current insight into traditional and modern methods in fungal diversity estimates. *Journal of Fungi*. 2022;8(3):226. doi: 10.3390/jof8030226 EDN: SXJPCZ
4. Oliveira M, Azevedo L. Molecular markers: An overview of data published for fungi over the last ten years. *Journal of Fungi*. 2022;8(8):803. doi: 10.3390/jof8080803 EDN: JRTUAE
5. Hou X, Li L, Peng Z, Wei B, Tang S, Ding M, et al. A platform of high-density INDEL/CAPS markers for map-based cloning in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. 2010;63(5):880—888. doi: 10.1111/j.1365-3113x.2010.04277.x
6. Chaudhary R, Maurya GK. Restriction fragment length polymorphism. In: Vonk J, Shackelford TK. (eds.) *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Cham, Switzerland: Springer; 2019. doi: 10.1007/978-3-319-47829-6_175-1
7. Atoui A, El Khoury A. PCR-RFLP for *Aspergillus* species. In: Moretti A, Susca A. (eds.) *Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology*, volume 1542. New York, USA: Humana Press; 2017. p.313—320. doi: 10.1007/978-1-4939-6707-0_20
8. Ibrahimi M, Brhadda N, Ziri R, Fokar M, Iraqi D, Gaboun F, et al. Analysis of genetic diversity and population structure of Moroccan date palm (*Phoenix dactylifera* L.) using SSR and DAMD molecular markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2023;21(1):66. doi: 10.1186/s43141-023-00516-7 EDN: JYOHAN

9. Abugalieva SI, Zatybekov AK, Enuarbek SN, et al. *Izuchenie geneticheskogo raznoobraziya i pasportizatsiya sortov soi Glycine max (L.) Merr.* [Study of genetic diversity and certification of soybean varieties *Glycine max* (L.) Merr.]. Almaty; 2017. (In Russ.).

Абугалиева С.И., Затыбеков А.К., Энурбек Ш.Н. и др. Изучение генетического разнообразия и паспортизация сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. Алматы, 2017. 100 с.

10. Zatybekov AK, Turuspekov YT, Doszhanova BN, Abugalieva SI. A study of the genetic diversity in the world soybean collection using microsatellite markers associated with fungal disease resistance. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2020;181(3):81—90. doi: 10.30901/2227-8834-2020-3-81-90 EDN: MMIRVY

11. Ivaniy AA, Penzin AA. Comparative analysis of the yield of DNA released by a set of DNA-extran 3 when working with seeds and seedlings. In: *Agro-industrial complex: problems and development prospects: conference proceedings*. Blagoveshchensk; 2023. p.58—62. (In Russ.). doi: 10.22450/9785964205385_1_58 EDN: DPUUAN

Иваний А.А., Пензин А.А. Сравнительный анализ выхода ДНК, выделяемой набором ДНК-экстран 3 при работе с семенами и проростками. 20-21 апреля 2023. Т. 1. С. 58—62. doi: 10.22450/9785964205385_1_58 EDN: DPUUAN

12. Ramazanov SA. Identification of soybean (*Glycine max* L.) cultivars using microsatellite DNA loci. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiiskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur*. 2016;(2):63—67. (In Russ.). EDN: WXSMT

Рамазанова С.А. Идентификация сортов сои (*Glycine max* L.) с использованием локусов микросателлитной ДНК. Масличные культуры // Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2016. № 2. С. 63—67. EDN: WXSMT

13. Kumar SP, Susmita C, Sripathy KV, Agarwal DK, Pal G, Singh AN, et al. Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers. *Molecular Biology Reports*. 2021;49(3):2129—2140. doi: 10.1007/s11033-021-07030-4

14. Mukuze C, Tukamuhabwa P, Maphosa M, Dari S, Dramadri IO, Obua T, et al. Genetic diversity analysis among soybean genotypes using SSR markers in Uganda. *Afr J Biotech*. 2020;19(7):439—448. doi: 10.5897/AJB2020.17152 EDN: ZRJMEW

15. Bondarenko ON, Blinova AA, Ivachenko LE, Lavrentieva SI. Selection of microsatellite DNA loci for creating molecular genetic passports of wild forms and varieties of Amur soybean breeding. *Vestnik of the Far East branch of the Russian Academy of Sciences*. 2022;(2):37—48. (In Russ.). doi: 10.37102/0869-7698_2022_222_02_3 EDN: TJLSZW

Бондаренко О.Н., Блинова А.А., Иваченко Л.Е., Лаврентьева С.И. Подбор микросателлитных локусов ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов диких форм и сортов сои амурской селекции // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. 2022. № 2. С. 37—48. https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_3 EDN: TJLSZW

Об авторах:

Иваний Алена Андреевна — младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: iaa@vniisoi.ru
ORCID: 0009-0004-7304-7771

Пензин Андрей Андреевич — научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: paa@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0002-8578-9818 SPIN-код: 1467-9500

Иваченко Любовь Егоровна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: ivachenko-rog@yandex.ru
ORCID: 0000-0003-4870-2223 SPIN-код: 4641-4820

Бондаренко Ольга Николаевна — научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: ton@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0002-5051-7695 SPIN-код: 1592-0588

Блинова Анастасия Андреевна — научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: baa@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0002-7234-0595 SPIN-код: 8575-0595

Гретченко Алина Евгеньевна — научный сотрудник лаборатории физиологии и биохимии растений, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: gae@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0003-3930-5672 SPIN-код: 3750-4348

Тимкин Павел Дмитриевич — младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», Российская Федерация, 675027, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Игнатьевское шоссе, д. 19; e-mail: tpd@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0001-6655-1049 SPIN-код: 2729-2815

About authors:

Ivaniy Alena Andreevna — Junior Researcher, Laboratory of Biotechnology, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: iaa@vniisoi.ru
ORCID: 0009-0004-7304-7771

Penzin Andrey Andreyevich — Research Associate, Laboratory of Biotechnology, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: paa@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0002-8578-9818 SPIN-code: 1467-9500

Ivachenko Lyubov Egorovna — Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Biotechnology, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: ivachenko-rog@yandex.ru
ORCID: 0000-0003-4870-2223 SPIN-code: 4641-4820

Bondarenko Olga Nikolaevna — Research Associate, Laboratory of Biotechnology, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: ton@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0002-5051-7695 SPIN-code: 1592-0588

Blinova Anastasia Andreevna — Researcher, Head of the biotechnology laboratory, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: baa@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0002-7234-0595 SPIN-code: 8575-0595

Gretchenko Alina Evgenyevna — Researcher, Laboratory of plant physiology and biochemistry, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: gae@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0003-3930-5672 SPIN-code: 3750-4348

Timkin Pavel Dmitrievich — Junior Researcher, Laboratory of Biotechnology, Russian Research Institute of Soybean, 19 Ignatievskoye Shosse, Blagoveshchensk, Amur region, 675027, Russian Federation; e-mail: tpd@vniisoi.ru
ORCID: 0000-0001-6655-1049 SPIN-code: 2729-2815