УДК 633.853.52:631.522

DOI 10.25230/2412–608X–2018–3–175–28–33

ПОДБОР ИНФОРМАТИВНЫХ ПРАЙМЕРОВ И ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ПЦР ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ SSR-АНАЛИЗА ГЕНОМНОЙ ДНК СОИ СЕЛЕКЦИИ АОС ВНИИМК

С.З. Гучетль,

кандидат биологических наук

С.С. Фролов,

кандидат сельскохозяйственных наук

Е.С. Кузнецова,

лаборант-исследователь

Армавирская опытная станция – филиал ФНЦ
ВНИИМК

Россия, 352925, Краснодарский край, г. Армавир,
пос. Центральная усадьба опытной станции ВНИИМК
Тел./факс: 8 (86137) 3-13-76

E-mail: stanciya-vniimk@yandex.ru

Для цитирования: 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. Научно-техни-
ческий бюллетень Всероссийского научно-иссле-
довательского института масличных культур. –
2018. – Вып. 3 (175). – С. 28–33.

Ключевые слова: соя, сорта, ДНК, микросате-
ллитные локусы.

Одной из возможностей развития соевой от-
расли в России является внедрение в селекцион-
ные программы современных биотехнологических
подходов, основанных на использовании молеку-
лярных маркеров. Так, для изучения генетического
разнообразия информативным, воспроизводимым
и сравнительно недорогим классом ДНК-маркеров
являются микросателлитные (SSR) маркеры. Сор-
та сои АОС ВНИИМК не были исследованы по
ДНК локусам. Необходимо было провести поиск
SSR-праймеров, выявляющих полиморфизм
фрагментов ДНК и оптимизацию температурных ре-
жимов амплификации ДНК для создания системы
молекулярных маркеров для идентификации и
паспортизации сортов, линий и гибридов сои се-
лекции АОС ВНИИМК. Материалом для исследо-
вания служили пять сортов сои коллекции АОС
ВНИИМК и один сорт коллекции ВНИИМК. Ге-
номную ДНК выделяли из семядольных листьев
этиолированных проростков сои с использовани-
ем СТАВ буфера. Для 16 пар SSR-праймеров по-

добраны оптимальные температуры отжига. Они
варьировали от 48 до 60 °С. Два праймера не гиб-
ридизировались с матричной ДНК ни при одной
температуре отжига. Четыре локуса были моно-
морфными. У десяти полиморфных локусов обна-
ружено по два аллеля, за исключением локусов
Satt 2 и Sat 36 с тремя аллелями. Среднее число
аллелей на локус составило 2,2. Значения эффек-
тивного числа аллелей варьировали от 1,43 до 2,70
со средней величиной 1,82. Значения PIC находи-
лись в диапазоне от 0,30 до 0,63 со средней вели-
чиной 0,43. Полученные величины характеризуют
полиморфизм исследованных образцов коллекции
как средний. Несколько сортов обладали внутри-
сортовым полиморфизмом. Анализ электрофоре-
тических спектров 10 полиморфных микросате-
ллитных локусов сортов сои селекции АОС
ВНИИМК показал индивидуальность аллельного
состава каждого из них. Это позволяет использо-
вать данные локусы для молекулярно-генетиче-
ской паспортизации сортов сои.

UDC 633.853.52: 631.522

**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.**

S.Z. Guchetl, PhD in biology

S.S. Frolov, PhD in agriculture

E. S. Kuznetsova, laboratory assistant researcher

Armavirskaya experimental station of the All-Russian
research institute of oil crops

The Central Settlement of the Experimental station of
VNIIMK,

Armavir, 352925, Krasnodar region

Tel./fax: 8 (86137) 3-13-76

E-mail: stanciya-[vniimk@yandex.ru](mailto:stanciya-vniimk@yandex.ru)

Key words: soybean, cultivars, DNA, microsatel-
lite loci.

One of the possibilities to develop the soybean
production branch in Russia is introduction of the
modern biotechnological approaches using molecular
markers into the breeding programs. Thus, microsat-
ellite (SSR) markers are informative, replicable and
relatively cheap class of DNA-markers to study ge-
netic diversity of soybean. Soybean cultivars devel-
oped at the Armavirskaya experimental station were
not studied by DNA-loci. We have to look for SSR-
primers revealing polymorphism of DNA fractions
and optimizing temperature regimes for DNA ampli-
fication to create a system of molecular markers for
identification and certification of soybean cultivars,
lines and hybrids developed at the Armavirskaya ex-
perimental station. As a research material we used
five soybean cultivars from a collection of the
Armavirskaya experimental station and a cultivar

from VNIIMK collection. We isolated the genomic DNA from cotyledonary leaves of ethylized soybean seedlings using STAB-buffer. We found optimal temperatures of annealing for 16 pairs of SSR-primers. The temperatures varied from 48 to 60 °C. Two primers were not annealed with matrix DNA at any temperatures. Four loci were monomorphic. Ten polymorphic loci revealed two alleles, except loci Satt 2 and Sat 36 with three alleles. A middle quantity of alleles per a locus was 2.2. A meaning of effective amount of alleles varied from 1.43 to 2.70 with middle value 1.82. PIC-meanings were from 0.30 to 0.63 with a middle value 0.43. The received meanings characterize polymorphism of studied samples from collection as middle. Some cultivars possess intravarietal polymorphism. Analysis of electrophoretic spectra of ten polymorphic microsatellite loci of soybean cultivars developed at the Armavirskaya experimental station showed unicity of each allele set. It allows using these loci for a molecular-genetic certification of soybean cultivars.

Введение. Соя (*Glycine max* L. Merrill) является важной зернобобовой культурой в мире, обладающей комплексом ценных свойств. Благодаря разнообразному химическому составу соя широко используется как продовольственная, кормовая и техническая культура. В сырьевых ресурсах мирового производства растительных масел соя занимает первое место среди всех масличных культур, а по сборам белка лидирует среди зерновых и зернобобовых культур. Она выращивается на всех континентах более чем в 90 странах мира. В России за период с 2000 по 2015 гг. объем импорта увеличился с 65 тыс. т до 2,05 млн т, или в 31,5 раз. Нарастание объемов свидетельствует о дефиците растительного белка. При этом Россия обладает существенными возможностями развития соевой отрасли [1; 2]. Одной из них является внедрение в селекционные программы современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров. Оценка чистоты/идентичности сортового материала и генетического разнообразия современных сортов может способствовать их более широкому и эффективному применению в современных селекционных программах. Для этой цели обычно используют набор маркеров, выявляющих в геноме наибольшее число аллелей. Так,

для исследования молекулярно-генетического полиморфизма культурной сои различных эколого-географических зон были использованы три ПЦР-метода: ПП ПЦР, SSRP и ISSR. Наиболее эффективным для дифференциации генотипов культурной сои из данных методов показал себя ISSR-метод [3]. Для изучения генетического разнообразия информативным, воспроизводимым и сравнительно недорогим классом ДНК-маркеров являются микросателлитные (SSR) маркеры. Они воспроизводимы, имеют высокий уровень полиморфизма, кодоминантны, могут быть легко обнаружены с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и обычно известна информация об их локализации. SSR-маркеры широко используются в изучении генетического разнообразия сои [4; 5; 6; 7], для идентификации гибридов F_1 и определения их сортовой чистоты [8; 9]. Сорта сои АОС ВНИИМК не были исследованы по ДНК локусам. Но прежде чем использовать систему молекулярных маркеров в практических целях, необходимо ее тестировать на способность предсказывать фенотип на широком наборе сортов, изогенных линий, в различном генетическом окружении и в различных условиях окружающей среды [10; 11; 12]. Поэтому несмотря на наличие достаточно большого числа микросателлитных маркеров, исследованных другими авторами [5; 6; 8], необходимо провести поиск SSR-праймеров, выявляющих полиморфизм фракций ДНК и оптимизацию температурных режимов амплификации ДНК с разными праймерами для сортов сои селекции АОС ВНИИМК. Цель данной работы: подбор информативных праймеров, оптимальных условий ПЦР и выявление стабильного, воспроизводимого полиморфизма амплифицированных фрагментов ДНК для создания системы молекулярных маркеров для идентификации и паспортизации сортов, линий и гибридов сои селекции АОС ВНИИМК.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили пять сортов сои коллекции АОС ВНИИМК: Мечта, Дуар, Восточка, Зара, Дуниза, и сорт Сла-

вия коллекции ВНИИМК. Геномную ДНК выделяли из семядольных листьев этиолированных проростков сои с помощью модифицированного метода Saghai-Marooof *et al.* [13] с использованием СТАВ буфера. Для проведения ПЦР использовали 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 mM трис-HCl, pH 8,8; 16,6 mM сульфата аммония; 1,5–3 mM MgCl₂; 0,01 % Tween 20; по 0,2 mM дезоксирибонуклеозидфосфатов; по 10 pM праймеров; 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК. Амплификацию проводили в приборе Терцик (ДНК-технология, Россия). Использовали 16 SSR-локусов, большинство из которых разработаны и описаны Cregan *et al.* [14]. Электрофорез продуктов амплификации проводили в агарозном геле (2 % агароза, 1 × TAE-буфер и 1 × SB буфер) с использованием камеры для горизонтального электрофореза (SE. 2, ДНК-технология, Россия) в течение 1–1,5 ч при силе тока 60 mA и напряжении 90–200 V. Последующее окрашивание осуществляли бромистым этидием. Визуализация и документирование результатов электрофореза обеспечивались при помощи трансиллюминатора ECX-F20.M (WILBER LOURMAT, Франция) и фотоаппарата Canon EOS 550D (Япония).

Для обозначения аллельных вариантов использовали количество пар нуклеотидных оснований (пн) фрагмента ДНК. Определение размеров аллелей осуществляли визуально, относительно маркера молекулярной массы.

Индекс информационного полиморфного содержания (PIC) [15] и эффективное число аллелей (n_e) [16] вычисляли по 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 и суммирование распространяется на n паттернов.

Результаты и обсуждение. Метод ПЦР основан на 3-этапном циклическом процессе, в результате которого многократно увеличивается количество специ-

фического фрагмента ДНК. Каждый цикл ПЦР состоит из трех последовательных стадий: денатурация (94–96 °C); отжиг (гибридизация) праймеров (45–65 °C); полимеризация или элонгация (удлинение) цепи ДНК (68–72 °C). При проведении испытаний наиболее удовлетворительные результаты были получены при следующих температурно-временных режимах: начальная денатурация при 96 °C в течение 2 мин; затем 30 циклов при соблюдении температурно-временного режима: отжиг при 48–60 °C в течение 40 с, элонгация – 1 мин при 70 °C, денатурация при 94 °C – 30 с, финальная элонгация – 2 мин. Важным фактором, влияющим на эффективность и специфичность амплификации, является подбор оптимальных температур отжига праймеров (T_m) на матрице. Данная температура зависит от длины праймеров и их G-C-состава. Существуют формулы для расчета температуры отжига исходя из первичной структуры олигонуклеотидов. Однако ни одна формула не учитывает всех особенностей реакции, поэтому точное значение T_m определяют экспериментальным путем. В результате работы нами для 16 пар праймеров был произведен подбор оптимальной температуры отжига (табл. 1).

Таблица 1

Оптимальные температуры отжига для ПЦР анализа 16 пар праймеров микросателлитных локусов ДНК сои

Армавирская ОС ВНИИМК, 2018 г.

Название праймера SSR-локуса	Оптимальная температура отжига (°C)
Satt 2	60
Soyhsp 176	60
Sat 1	60
Satt 335	60
Satt 309	60
Satt 307	60
Satt 1	55
Satt 102	55
Satt 406	55
Satt 126	55
138ct04	50
Satt 5	50
Sat 36	50
Soypr 1	48
Sat 43	Нет отжига
Satt 9	Нет отжига

Температура отжига праймеров варьировала от 48 до 60 °C. Изменение T_m на несколько градусов позволяло минимизи-

ровать количество неспецифических фракций ДНК (рис. 1).

Рисунок 1 – Электрофоретические спектры продуктов амплификации ДНК у сортов сои по локусу Soypr 1:

А – температура отжига 45 °С. Дорожки 1–5, 11 – сорт Зара; 6–10 – сорт Дуниза; 12 – отрицательный контроль. Стрелками обозначены неспецифические фракции ДНК; Б – температура отжига 48 °С. Дорожки 1–5 – сорт Восточка; 6–11 – сорт Дуар. М – маркер молекулярной массы 100 пн.

Так, на рисунке 1А стрелками обозначены фракции ДНК, амплифицированные в результате неспецифического отжига праймеров локуса Soypr 1 на матрице. Увеличение температуры гибридизации на 3 °С (рис. 1Б) позволило получить четкие, преимущественно специфические фракции. Два праймера – Sat 43 и Satt 9 – не гибридизировались с матричной ДНК ни при одной температуре отжига.

Для определения оптимального количества локусов с максимальным числом аллелей и хорошо читаемыми маркерными спектрами, проведены полимеразные цепные реакции с оставшимися 14 праймерами. Четыре локуса – 138ct04, Satt 335, Satt 307, Satt 102 – оказались мономорфными для данного набора сортов. Локус Soyhsp 176 отличал мономорфные по нему сорта селекции АОС ВНИИМК от сорта Славия селекции ВНИИМК. Количество аллелей для полиморфных локусов равнялось двум (рис. 2), за исключением

локусов Satt 2 и Sat 36, у которых обнаружено по три аллеля (табл. 2, 3).

Таблица 2

Аллельные состояния 10 полиморфных микросателлитных локусов ДНК у сортов сои селекции АОС ВНИИМК

Армавирская ОС ВНИИМК, 2018 г.

Гено-тип	Локус									
	Satt 1	Satt 2	Satt 5	Sat 36	Soypr 1	Soyhsp 176	Sat 1	Satt 309	Satt 126	Satt 406
Мечта	175	190	180	175	180	120	240	190	205	290
Дуар	175	190	180	170	180	120	240	180	180	290
Весточка	175	190	150	170	180	120	230	180	180	290
Зара	175	185	150	170	180	120	230	180	205	290
Дуниза	185	170	180	170	150	120	240	180	180	350
Славия	185	185	180	180	180	150	230	180	205	290

Рисунок 2 – Электрофоретические спектры продуктов амплификации ДНК у сортов сои по локусу Satt 126:

Дорожки: 1–5 – сорт Весточка; 6–10 – сорт Дуар; 11–16 – сорт Зара. М – маркер молекулярной массы 100 пн

Для определения дискриминационного потенциала использованной системы маркеров нами были рассчитаны также эффективное число аллелей и индекс полиморфного информационного содержания (PIC) (табл. 3).

Таблица 3

Показатели информативности SSR-локусов, использованных в работе

Армавирская ОС ВНИИМК, 2018 г.

Локус	Наблюдаемое число аллелей	Эффективное число аллелей	PIC
Satt 1	2	1,85	0,46
Satt 2	3	2,70	0,63
Satt 5	2	1,85	0,46
Sat 36	3	2,08	0,52
Soypr 1	2	1,43	0,30
Soyhsp 176	2	1,43	0,30
Sat 1	2	2,00	0,50
Satt 309	2	1,43	0,30
Satt 126	2	2,00	0,50
Satt 406	2	1,43	0,30
Среднее	2, 2	1,82	0,43

Среднее число аллелей на локус составило 2,2. Значения эффективного числа ал-

лелей варьировали от 1,43 у локусов Soypr 1, Soyhsr 176 и Satt 309 до 2,70 у Satt 2, со средним значением 1,82. Значения PIC находились в диапазоне от 0,30 у локусов Soypr 1, Soyhsr 176 и Satt 309 до 0,63 у Satt 2. Среднее значение индекса полиморфного информационного содержания для изученной группы генотипов – 0,43. Показатели информативности SSR-локусов для сортов селекции АОС ВНИИМК несколько меньше полученных ранее для российских и казахских сортов сои [5; 9]. Но авторы изучали большее количество генотипов разного происхождения, что, вероятно, и определяет их разнообразие. Полученные нами величины характеризуют полиморфизм исследованных образцов коллекции как средний. Анализ электрофоретических спектров 10 полиморфных микросателлитных локусов ДНК сортов сои показал индивидуальность аллельного состава каждого из них. Кроме того, мы отметили, что несколько сортов обладали внутрисортным полиморфизмом. Поскольку соя является самоопыляющейся культурой, предполагается, что культивируемые сорта генетически однородны. Тем не менее имеют место исключения. Так, анализ микросателлитных последовательностей ДНК показал, что некоторые сорта сои селекции ВНИИМК генетически неоднородны [9; 17]. Также был исследован внутрисортной полиморфизм сортов сои казахской селекции. Выявлены как полная мономорфность, так и полиморфизм сортов по вовлеченным в анализ SSR-маркерам [5]. Из изученных сортов сои селекции АОС ВНИИМК внутрисортной полиморфизм по некоторым маркерам показали сорта Мечта, Дуар и Дуниза. Например, у сорта Дуар (рис. 1Б: дорожки 6–11) по локусу Soypr 1 обнаружены генотипы гетерозиготные (рис. 1Б: дорожка 6) и гомозиготные с различающимися аллелями (рис. 1Б: дорожки 7–11). Гетерогенность по одному-двум микросателлитным локусам ДНК допустима для коммерческих сортов сои, так как данные локусы в основном являются некодирующими участками ДНК и не влияют на агротехнические характеристики сорта.

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что из 16 использованных SSR-локусов два локуса не гибридизируются с матрицей ДНК. Для 14 микросателлитных праймеров подобраны оптимальные условия ПЦР. Десять пар праймеров для ПЦР выявляют стабильный, воспроизводимый полиморфизм фракций амплифицированной ДНК, что позволяет использовать их для молекулярно-генетической паспортизации сортов сои.

Список литературы

1. Кривошлыков К.М., Рощина Е.Ю. Современные тенденции рынка сои в мире и России // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2016. – Вып. 2 (166). – С. 68–72.
2. Зайцев Н.И., Бочкарёв Н.И., Зеленцов С.В. Перспективы и направления селекции сои в России в условиях реализации национальной стратегии импортозамещения // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2016. – № 2. – С. 3–11.
3. Брик А.Ф., Сиволан Ю.М. Молекулярно-генетический полиморфизм сои, детектированный ПП-ПЦР, SSRP и ISSR // Цитология и генетика. – 2001. – № 5. – С. 3–9.
4. Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстинова Т.А., Антонова Т.С. Идентификация сортов сои российской селекции на основе анализа микросателлитных (SSR) локусов ДНК // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2008. – № 2 (139). – С. 56–58.
5. Абугалиева С.И., Волкова Л.А., Нурланова А.А., Жанпейсова А.С., Турусбеков Е.К. ДНК-фингерпринтинг сортов сои Казахстана с использованием микросателлитных маркеров // Биотехнология. Теория и практика. – 2013. – № 3. – С. 23–35.
6. Bisen A., Khare D., Nair P., Tripath N. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic diversity in India // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. – 2015. – V. 21 (1). – P. 109–115. doi:10.1007/s12298-014-0269-8.
7. Tantasawat P., Trongchuen J., Prajongjai T., Jenweerawat S. and Chaowiset W. SSR analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic relationship and variety identification in Thailand // *Australian Journal of Crop Science*. – 2011. – V. 5 (3) – P. 283–290.
8. Рамазанова С.А., Антонова Т.С. Использование микросателлитных локусов (SSR) ДНК для идентификации гибридов F1 сои // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 66. – С. 219–223.
9. Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстинова Т.А., Антонова Т.С., Мошненко Е.В. Внутрисортной полиморфизм сортов сои селекции ВНИИМК // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2009. – № 2 (141). – С. 96–98.
10. Леонова И.Н. Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования

генов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – № 2. – С. 314–325.

11. Гучетль С.З., Фролов С.С., Зайцев Р.Н., Кузнецова Е.С. Паспортизация линий и гибридов подсолнечника селекции Армавирской опытной станции ВНИИМК: подбор оптимальных ДНК локусов и условий ПЦР // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2017. – № 3 (171). – С. 23–28.

12. Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С., Бочковой А.Д. ДНК-генотипирование на основе RAPD- и SSR-маркеров: апробирование и подбор оптимальных условий для *Helianthus annuus* L. // Наука Кубани. – 2007. – № 2. – С. 44–46.

13. Saghai-Maroo 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. – V. 81. – P. 8014–8018.

14. Cregan P.B., Jarvik T., Bush A.L., Shoemaker R.C., Lark K.G., Kahler A.L., Van Toai T.T., Lohnes D.G., Chung J., Specht J.E. An integrated genetic linkage map of soybean // Crop Science. – 1999. – Vol. 39. – P. 1464–1490.

15. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Научно-методическое руководство / Под ред. Сиволапа Ю.М. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 156 с.

16. Айала Ф., Дж. Кайгер. Современная генетика. – М.: Мир, 1988. – Т. 3. – 332 с.

17. Рамазанова С.А. Идентификация сортов сои (*Glycine max* L.) с использованием микросателлитных локусов ДНК // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2016. – Вып. 2 (166). – С. 63–67.

References

1. Krivoslykov K.M., Roshchina E.YU. Sovremennyye tendentsii rynka soi v mire i Rossii // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2016. – Vyp. 2 (166). – S. 68–72.

2. Zaytsev N.I., Bochkaryov N.I., Zelentsov S.V. Perspektivy i napravleniya selektsii soi v Rossii v usloviyakh realizatsii natsional'noy strategii importozameshcheniya // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2016. – № 2. – S. 3–11.

3. Brik A.F., Sivolap YU.M. Molekulyarnogeneticheskiy polimorfizm soi, detektirovannyu PP-PTSR, SSRP i ISSR // TSitologiya i genetika. – 2001. – № 5. – S. 3–9.

4. Ramazanova S.A., Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S. Identifikatsiya sortov soi rossiyskoy selektsii na osnove analiza mikrosatelitnykh (SSR) lokusov DNK // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2008. – № 2 (139). – S. 56–58.

5. Abugaliyeva S.I., Volkova L.A., Nurlanova A.A., Zhanpeisova A.S., Turuspekova E.K. DNK-fingerprinting sortov soi Kazakhstana s ispol'zovaniyem mikrosatelitnykh markerov // Biotekhnologiya. Teoriya i praktika. – 2013. – № 3. – S. 23–35.

6. 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. – V. 21 (1). – P. 109–115. doi:10.1007/s12298-014-0269-8.

7. Tantasawat P., Trongchuen J., Prajongjai T., Jenweerawat S. and Chaowiset W. SSR analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic relationship and variety identification in Thailand // Australian Journal of Crop Science. – 2011. – V. 5 (3). – P. 283–290.

8. Ramazanova S.A., Antonova T.S. Ispol'zovaniye mikrosatelitnykh lokusov (SSR) DNK dlya identifikatsii gibridov F1 soi // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2017. – № 66. – S. 219–223.

9. Ramazanova S.A., Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S., Moshnenko E.V. Vnutrisortovoy polimorfizm sortov soi selektsii VNIIMK // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2009. – № 2 (141). – S. 96–98.

10. Leonova I.N. Molekulyarnyye markery: ispol'zovaniye v selektsii zernovykh kul'tur dlya identifikatsii, introgressii i piramidirovaniya genov // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. – 2013. – T. 17. – № 2. – S. 314–325.

11. Guchetl' S.Z., Frolov S.S., Zaytsev R.N., Kuznetsova E.S. Paspportizatsiya liniy i gibridov podsolnechnika selektsii Armavirskoy opytnoy stantsii VNIIMK: podbor optimal'nykh DNK lokusov i usloviy PTSR // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2017. – № 3 (171). – S. 23–28.

12. Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S., Bochkovoy A.D. DNK-genotipirovaniye na osnove RAPD- i SSR-markerov: aporobirovaniye i podbor optimal'nykh usloviy dlya *Helianthus annuus* L. // Nauka Kubani. – 2007. – № 2. – S. 44–46.

13. Saghai-Maroo 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. – V. 81. – P. 8014–8018.

14. Cregan P.B., Jarvik T., Bush A.L., Shoemaker R.C., Lark K.G., Kahler A.L., Van Toai T.T., Lohnes D.G., Chung J., Specht J.E. An integrated genetic linkage map of soybean // Crop Science. – 1999. – Vol. 39. – P. 1464–1490.

15. Ispol'zovaniye PTSR-analiza v genetiko-selektsionnykh issledovaniyakh: Nauchno-metodicheskoye rukovodstvo / Pod red. Sivolapa YU.M. – Kiev: Agrarna nauka, 1998. – 156 s.

16. Ayala F., Dzh. Kayger. Sovremennaya genetika. – M.: Mir, 1988. – T. 3. – 332 s.

17. Ramazanova S.A. Identifikatsiya sortov soi (*Glycine max* L.) s ispol'zovaniyem mikrosatelitnykh lokusov DNK // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2016. – Vyp. 2 (166). – S. 63–67.

Получено: 05.06.2018 Принято: 17.09.2018

Received: 05.06.2018 Accepted: 17.09.2018