

УДК633.34

DOI 10.48612/vch/nvv3-zdk1-2hmg

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ 5 SSR-МАРКЕРОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ СОРТОВ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ СЕЛЕКЦИИ**А. А. Иванов, П. Д. Тимкин, Л. Е. Иваченко***Всероссийский научно-исследовательский институт сои
675027, г. Благовещенск, Амурская область*

Аннотация. Для сои установлено большое разнообразие фенотипических признаков. С их помощью оценивают урожайность зерна, генетическое разнообразие, уровень изменчивости, высоту растений и другие показатели. Но иногда этих признаков бывает недостаточно для того, чтобы идентифицировать селекционный материал. Для описания генотипов используют молекулярно-генетические маркеры, с помощью которых проводится паспортизация сортов многих сельскохозяйственных культур. Целью данной работы было оценить дискриминационный потенциал маркерной системы. Для молекулярно-генетической характеристики использовали 5 микросателлитных локусов (Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181). Материалом исследования служили 6 образцов сои (5 культурных и 1 дикая форма). В ходе проведенного исследования удалось различить сорта по молекулярно-генетическим признакам. Однако, в случае оценки генетической родственности или отдаленности сортов данная система будет иметь значительную неточность. Выводы о нерелевантности использования малого количества SSR-маркеров были сделаны на основании данных дендрограммы. Исследуемые генотипы сои продемонстрировали 4 кластера. В I кластере – 741, Hidaka (селекция Японии). Во II – Ласточка, Татьяна (ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои), Звезда (ВНИИССОК). В III кластер вошла форма дикой сои КТ156. В IV сорт – Татьяна (селекция ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои). Однако, по полученным данным, была обнаружена генетическая близость сорта Звезда к сортам Амурской селекции. В результате исследований для 5 сортов культурной и 1 сорта дикой сои были получены уникальные наборы аллелей, которые могут быть использованы для создания их молекулярно-генетических паспортов, но не как инструмент в популяционной генетике.

Ключевые слова: соя, SSR, микросателлиты, ДНК, идентификация, паспортизация, генетическое разнообразие.

Соя (*Glycine max*) является важной бобовой культурой, богатой растительным протеином, включающая девять незаменимых аминокислот. Благодаря этим качествам соя является важным источником белка, применяемым в рационе питания населения и кормления домашнего скота и птиц [13].

Одними из способов идентификации сортов сои и их дифференциации может служить определение по фенотипическим признакам: урожайность зерна, высота растений, появление первых бобовых, полегание растений, масса тысячи семян и дни полного созревания, за которые было получено евклидово расстояние [15]. Еще одним способом идентификации сортов сои является использование биохимических маркеров. Так белковые маркеры позволяют анализировать изменчивость отдельных локусов у разных генотипов, не прибегая к скрещиваниям. Например, электрофоретически выявляемые изоферменты, в частности их множественные формы, можно рассматривать как маркеры соответствующих генов [6]. А также одним из современных способов идентификации сортообразцов является использование генетических маркеров (SSRs, SNPs, RFLP, AFLP).

В молекулярной биологии существует метод анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP). Это метод, в основе которого лежит анализ длин между различными сайтами к рестриктазам в гомологичных участках генома. У различных сортов будем наблюдать полиморфизм в таких участках и по данным отличиям можно проводить дифференцировку. При анализе RFLP образец ДНК расщепляется на фрагменты при помощи одного или нескольких ферментов рестрикции. Затем полученные рестрикционные фрагменты, в соответствии с их размером, разделяются с помощью гель-электрофореза [8].

Другой важный метод, основанный на анализе генетических маркеров – полиморфизм длин амплифицированных фрагментов (AFLP). Данный метод особенно популярен в криминалистике при установлении личности. Также AFLP может быть применен в прикладном сельском хозяйстве для идентификации сортовой принадлежности, а также при популяционно-генетических исследованиях, где необходимо установить генетическое родство или отдаленность разных популяций. AFLP основан на обнаружении фрагментов ДНК, которые под действием ферментов рестрикции расщепляются, затем амплифицируются с помощью ПЦР (полимеразная цепная реакция). Полученные фрагменты визуализируются на полиакриламидных гелях или с помощью флуоресцентной детекции в капиллярных системах [9].

На сегодняшний день ДНК-маркеры становятся важной составляющей для селекции растений и получают все более широкое применение по всему миру. ДНК-маркеры позволяют достаточно точно и быстро выявлять генетическое разнообразие популяций, видов, подвидов и т.д. В настоящее время насчитывается несколько десятков типов молекулярных маркеров. Одним из способов молекулярной характеристики и анализа генетического разнообразия растений является применение ДНК-маркеров. Существует несколько типов (видов) маркеров, среди которых есть ДНК-маркер с простыми повторами последовательности (SSR, также известные как микросателлиты). SSR присутствуют в геноме большинства сельскохозяйственных культур и по сравнению с другими генетическими маркерами имеют высокий уровень полиморфизма [3], [10].

Метод SSR-анализа является наиболее перспективным и пригодным для практического использования, благодаря таким критериям как высокая точность, надежность, а также хорошая воспроизводимость результатов [10].

Также известен маркер однонуклеотидного полиморфизма (SNP). В последние десятилетия SSR и SNP-маркеры широко использовались для изучения генетического разнообразия [4], [5] и поиска ассоциаций между маркерами и признаками. Недавно появилась технология diversity array (DArT), которая представляет собой передовую платформу генотипирования путем секвенирования (GBS) [10]. Это маркерная система и в отличие от SNP не требует данных о последовательности генома для разработки чипов. Данный метод также применяется при составлении генетических карт и изучении разнообразия [1].

На современном рынке бобов продажи имеются проблемы – проблемы трудности и идентификации сортообразцов, а также фальсификации на рынке и защиты патентного права.

Целью данного исследования являлась оценка дискриминационного потенциала микросателлитов ДНК (Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181) для их использования в паспортно-идентификационной системе.

Материалы и методы. Объектом исследования были семена 6 сортов сои Hidaka (селекция Японии), L-741, Звезда (селекция ВНИИССОК), КТ-156 (Амурская обл.), Ласточка (ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои), Татьяна (ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои). Материалом для проведения исследования служили семена сои. ДНК выделяли согласно методике выделения и очистки ДНК из семян сои с использованием модифицированного СТАВ-метода [5]. Для проведения исследований брали 6 семян сои, которые замачивали в дистиллированной воде при +25°C в течение суток. Далее семена подвергали шоковой заморозке в течение 30 минут при температуре –86°C. Затем из каждого семени отбирали навеску 0,025 г. Степень очистки и концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре EZdgor (Китай). Для амплификации по маркированию генома форм дикой и сортов культурной сои выделенной ДНК применяли 5 пар праймеров к SSR-локусам (Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181), отобранных на основании литературных источников [11], [7]. ПЦР проводили в 2-кратной повторности с использованием вышеперечисленных SSR-праймеров, для которых были оптимизированы температуры отжига. 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 %-ом агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в 0,5×TBE буфере. Визуализацию осуществляли с использованием геледокументирующей системы GelDoc EZ (Bio-Rad laboratories Inc., США). Для маркирования молекулярной массы использовали готовый набор ДНК (DNA Ladder, 100+bp). Идентификацию и определение размеров аллелей микросателлитных локусов проводили с использованием программы Image Lab Version 6.0.1 4 Standard Edition. Для каждого маркера вычисляли величину информационного полиморфизма (polymorphic information content – PIC), частоту встречаемости и эффективное число аллелей. Аллельное состояние каждого локуса обозначали в соответствии с размером продуктов амплификации – пар нуклеотидов (п.н.). Отсутствие амплифицированного фрагмента на электрофореграмме обозначали 0, присутствие – 1. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением пакета программы POPGENE ВЕРСИИ 1.32 [15]. Для визуализации обнаруженных генетических дистанций между исследуемыми образцами была построена дендрограмма методом невзвешенного попарно-группового анализа (unweighted pair wise group method analysis – UPGMA).

Результаты и обсуждение. В ходе проведенных исследований были получены длины всех микросателлитных локусов для каждого сорта. Также были составлены молекулярно-генетический формулы, отображающие длину аллели (табл. 1).

Таблица 1 – Молекулярно-генетические формулы 6 генотипов сои, полученные с использованием микросателлитного анализа

№	Сорт	Формула
1	Ласточка	A ₁₃₀ B ₁₄₁ C ₁₆₇ D ₂₁₄ E ₁₀₅
2	Татьяна	A ₁₄₅ B ₁₄₄ C ₁₇₂ D ₂₁₆ E ₁₀₄
3	Hidaka	A ₁₅₂ B ₁₇₂ C ₁₆₆ D ₁₅₉ E ₁₈₀
4	741	A ₁₅₃ B ₁₇₈ C ₁₈₇ D ₁₉₇ E ₁₈₀
5	Звезда	A ₁₃₀ B ₁₇₃ C ₁₆₂ D ₁₇₂ E ₂₁₈
6	КТ-156	A ₁₃₇ B ₁₇₆ C ₁₇₅ D ₂₁₀ E ₂₀₈

*Примечание: код локуса А – Satt1, В – Satt2, С – Satt5, D – Satt141, E – Satt181.

Также для упрощения визуальной дифференцировки сортов были составлены молекулярные профили, представляющие из себя электрофореграмму со всеми локусами для каждого из сортов (рис. 1).

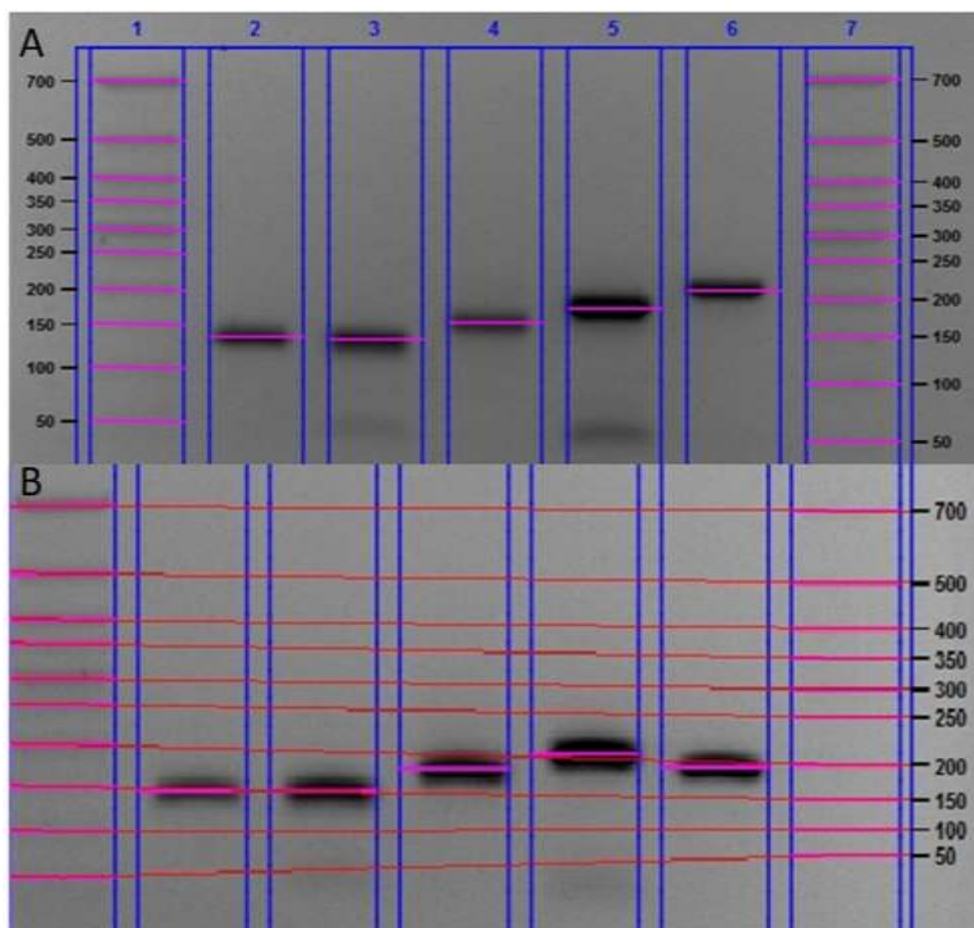


Рис. 1. А) Молекулярный профиль сорта Татьяна по 5 локусам: Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181; В) Молекулярный профиль сорта Ласточка по 5 локусам: Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181.

2). Дендрограмма генетического родства демонстрирует наличие нескольких обособленных кластеров (рис.

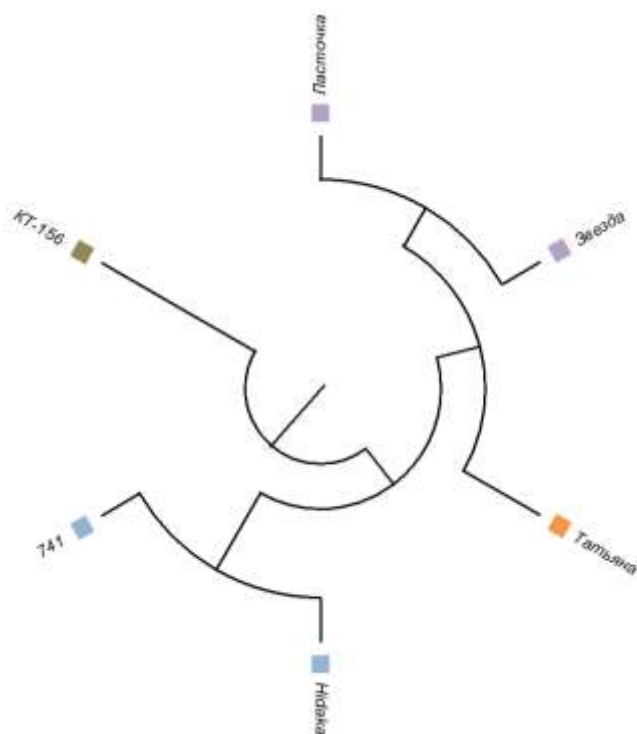


Рис. 2. Дендрограмма генотипов культурной, дикой и овощной сои

Анализ полученной дендограммы позволил выделить 4 отдельных кластера. В первый вошли сортовые линии 741 и Hidaka (селекции Японии), во второй – сорта сои Ласточка (селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои) и Звезда (селекции ВНИИССОК). В третий вошла форма дикой сои КТ156. Четвертый отдельный кластер был образован одним сортом – Татьяна (селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои). Однако сорт сои Звезда оказался генетически близок к сорту Амурской селекции, что фактически является недостатком использования 5 микросателлитных локусов.

Выводы. С использованием системы из пяти SSR-маркеров были идентифицированы 6 сортов сои (5 культурных и 1 дикая форма). Для каждого из них получены уникальные наборы аллелей, сформировавшие специальные формулы, которые впоследствии могут быть применены для создания генетических паспортов, в основе которых лежит система использования маркеров подобного типа. В ходе проведения исследования выяснилось, что классическое применение технологии SSR-маркеров, которые ранее использовались для генотипирования и определения генетического родства в популяционной генетике, в том количестве, которое требуется для описанных выше исследований, не требуется. Однако, если пытаться использовать продемонстрированный протокол в задачах определения родства или отдаленности сортовых линий, можно допустить ошибки. Так в случае использования данной маркерной системы, можно наблюдать генетическую близость между сортом селекции ВНИИ сои (Татьяна) с линией, отдаленной по своему ареалу произрастания и выведению (Звезда). Поэтому можно рекомендовать использование локусов Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181 для проведения анализов направленных на идентификацию сортов. К тому же при необходимости данный набор локусов может быть расширен в случаях, когда необходимо дифференцировать различные сорта, имеющие родственное происхождение, путем добавления в систему новых локусов.

Литература

1. А. С. Сухарева ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных растений А. С. Сухарева, Б. Р. Кулуев // Биомика. – 2018. – № 10(1). – С. 69-84. – DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-15
2. Изучение генетического разнообразия мировой коллекции сои с использованием микросателлитных маркеров, связанных с устойчивостью к грибным болезням / А. К. Затыбеков, Е. К. Турусбеков, Б. Н. Досжанова и др. // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2020. – Т. 181, № 3. – С. 81–90. – doi: 10.30901/2227-8834-2020-3-81-90
3. Молекулярные маркеры в исследованиях генетического разнообразия представителей рода *Rubus* L. и перспективы их применения в селекции / А. М. Камнев, О. Ю. Антонова, С. Е. Дунаева и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 20–30. – doi:10.18699/VJ20.591.]
4. Подбор микросателлитных локусов ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов диких форм и сортов сои амурской селекции / О. Н. Бондаренко, А. А. Блинова, Л. Е. Иваченко и др. // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2022. – № 2(222). – С. 37–48
5. Тимкин, П. Д. Модификация став-метода на модели семян сои сорта «Лидия» / П. Д. Тимкин, А. А. Пензин // Симбиоз-Россия 2022 : сборник статей XIII Международной конференции ученых-биологов, Пермь, 24–25 октября 2022 года. – Пермь : Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2023. – С. 484-487. – DOI 10.17072/simbioz-2022-492-495. – EDN NQUZV
6. Чесноков, Ю. В. Биохимические маркеры в генетических исследованиях культурных растений: применимость и ограничения / Чесноков Ю. В. // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 5. – С. 863–887. – doi: 10.15389/agrobiology.2019.5.863rus
7. Bondarenko ON, Blinova AA, Ivachenko LE, et al. [Selection of microsatellite DNA loci for creating molecular genetic passports of wild forms and varieties of Amur soybean breeding]. *Vestnik Dal'nevostochnogo otdeleniya Rossiiskoi akademii nauk*. 2022;(2):37-48. Russian
8. Heras, J.; Dominguez, C.; Mata, E.; Pascual, V.; Lozano, C.; Torres, C.; Zarazaga, M. (2015-03-29). "A survey of tools for analysing DNA fingerprints". *Briefings in Bioinformatics*: bbv016. doi:10.1093/bib/bbv016. ISSN 1467-5463
9. Ibrahimi, M. et al. (2023) '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*, 21(1). doi:10.1186/s43141-023-00516-7.
10. Kumawat, G. et al. (2014) 'Molecular characterization and genetic diversity analysis of soybean (*glycine max* (L.) merr.) germplasm accessions in India', *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21(1), pp. 101–107. doi:10.1007/s12298-014-0266-y.
11. Ramazanov SA. Identification of soybean varieties (*Glycine max* L.) using microsatellite DNA loci. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiiskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur*. 2016;(2):63-7. Russian.,
12. Shaibu, A.S. et al. (2021) 'Assessment of the genetic structure and diversity of soybean (*glycine Max* L.) germplasm using Diversity Array Technology and single nucleotide polymorphism markers', *Plants*, 11(1), p. 68. doi:10.3390/plants11010068.17
13. Shaibu, A.S. et al. (2021) 'Assessment of the genetic structure and diversity of soybean (*glycine Max* L.) germplasm using Diversity Array Technology and single nucleotide polymorphism markers', *Plants*, 11(1), p. 68. doi:10.3390/plants11010068.

14. Yuan FJ, Zhao HJ, Ren XL, Zhu SL, Fu XJ, Shu QY. Generation and characterization of two novel low phytate mutations in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theor Appl Genet.* 2007 Nov;115(7):945-57. doi: 10.1007/s00122-007-0621-2. Epub 2007 Aug 16. PMID: 17701395.
15. Zambiazzi, E.V. et al. (2017) 'Genetic diversity in soybean genotypes using phenotypic characters and enzymatic markers', *Genetics and Molecular Research*, 16(3). doi:10.4238/gmr16039770.

Сведения об авторах

1. **Иваний Алена Андреевна**, лаборант лаборатории биотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт сои, 675027, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, д. 19, Амурская область, Россия; e-mail: iaa@vniiso.ru, тел. +7-914-565-94-50;
2. **Тимкин Павел Дмитриевич**, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт сои, 675027, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, д. 19, Амурская область, Россия; e-mail: tpd@vniiso.ru, тел. +7-999-165-79-41;
3. **Иваченко Любовь Егоровна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт сои, 675027, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, д. 19, Амурская область, Россия; e-mail: ivachenko-rog@yandex.ru, тел. +7-914-563-41-00.

THE USE OF FIVE SSR-MARKERS TO DIFFERENTIATE VARIETIES OF DOMESTIC AND FOREIGN BREEDING

A. A. Ivaniy, P. D. Timkin, L. E. Ivachenko
All-Russian Scientific Research Institute of Soybeans
 675027, Blagoveshchensk, Amur region

Abstract. A wide variety of phenotypic traits has been established for soybeans. They are used to assess grain yield, genetic diversity, level of variability, plant height and other indicators. But sometimes these signs are not enough to identify the breeding material. Molecular genetic markers are used to describe genotypes, with the help of which the certification of varieties of many crops is carried out. The purpose of this work was to evaluate the discriminatory potential of the marker system. 5 microsatellite loci (*Satt1, Satt2, Satt5, Satt141, Satt181*) were used for molecular genetic characterization. The research material was 6 soybean samples (5 cultivated and 1 wild form). In the course of the study, it was possible to distinguish varieties by molecular genetic characteristics. However, in the case of assessing the genetic relatedness or remoteness of varieties, this system will have a significant inaccuracy. Conclusions about the irrelevance of using a small number of SSR markers were made based on the data of the dendrogram. The studied soybean genotypes demonstrated 4 clusters. In the I cluster – 741, Hidaka (Japanese breeding). In II – Lastochka, Tatiana (selection of the Federal State Budgetary Scientific Research Center of the Research Institute of Soybeans), Zvezda (ARSRIVBSP). The third cluster includes the wild soybean form KT156. Grade IV – Tatiana (FSBSI FSC ARSRI of soybeans). However, according to the data obtained, the genetic proximity of the Zvezda variety to the varieties of Amur breeding was discovered. As a result of research, unique sets of alleles were obtained for 5 varieties of cultivated and 1 variety of wild soybeans, which can be used to create their molecular genetic passports, but not as a tool in population genetics.

Keywords: soybean, SSR, microsatellites, DNA, identification, passporting, genetic diversity.

References

1. A. S. Sukhareva DNK-markery dlya geneticheskogo analiza sortov kulturnykh rasteniy A. S. Sukhareva. B. R. Kuluyev // *Biomika*. – 2018. – № 10(1). – S. 69-84. – DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-15
2. Izucheniye geneticheskogo raznoobraziya mirovoy kolleksii soi s ispolzovaniyem mikrosatellitnykh markerov. svyazannykh s ustoychivostyu k gribnym boleznyam / A. K. Zatybekov. E. K. Turuspekov. B. N. Doszhanova i dr. // *Trudy po prikladnoy botanike. genetike i selektsii*. – 2020. – T. 181. № 3. – S. 81–90. – doi: 10.30901/2227-8834-2020-3-81-90
3. Molekulyarnyye markery v issledovaniyakh geneticheskogo raznoobraziya predstaviteley roda *Rubus* L. i perspektivy ikh primeneniya v selektsii / A. M. Kamnev. O. Yu. Antonova. S. E. Dunayeva i dr. // *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii*. – 2020. – T. 24. № 1. – S. 20–30. – doi:10.18699/VJ20.591.]
4. Podbor mikrosatellitnykh lokusov DNK dlya sozdaniya molekulyarno-geneticheskikh pasportov dikikh form i sortov soi amurskoy selektsii / O. N. Bondarenko. A. A. Blinova. L. E. Ivachenko i dr. // *Vestnik Dalnevostochnogo otdeleniya Rossiyskoy akademii nauk*. – 2022. – № 2(222). – S. 37–48
5. Timkin. P. D. Modifikatsiya stav-metoda na modeli semyan soi sorta «Lidiya» / P. D. Timkin. A. A. Penzin // *Simbioz-Rossiya 2022 : sbornik statey XIII Mezhdunarodnoy konferentsii uchenykh-biologov. Perm. 24–25 oktyabrya 2022 goda*. – Perm : Permskiy gosudarstvennyy natsionalnyy issledovatel'skiy universitet. 2023. – S. 484-487. – DOI 10.17072/simbioz-2022-492-495. – EDN NQUZV
6. Chesnokov. Yu. V. Biokhimicheskiye markery v geneticheskikh issledovaniyakh kulturnykh rasteniy: primenimost i ogranicheniya / Chesnokov Yu. V. // *Selskokhozyaystvennaya biologiya*. – 2019. – T. 54. № 5. – S. 863–887. – doi: 10.15389/agrobology.2019.5.863rus

7. Bondarenko ON, Blinova AA, Ivachenko LE, et al. [Selection of microsatellite DNA loci for creating molecular genetic passports of wild forms and varieties of Amur soybean breeding]. *Vestnik Dal'nevostochnogo otdeleniya Rossiiskoi akademii nauk.* 2022;(2):37-48. Russian
8. Heras, J.; Dominguez, C.; Mata, E.; Pascual, V.; Lozano, C.; Torres, C.; Zarazaga, M. (2015-03-29). "A survey of tools for analysing DNA fingerprints". *Briefings in Bioinformatics: bbv016.* doi:10.1093/bib/bbv016. ISSN 1467-5463
9. Ibrahim, M. et al. (2023) '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*, 21(1). doi:10.1186/s43141-023-00516-7.
10. Kumawat, G. et al. (2014) 'Molecular characterization and genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* (L.) merr.) germplasm accessions in India', *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21(1), pp. 101–107. doi:10.1007/s12298-014-0266-y.
11. Ramazanov SA. Identification of soybean varieties (*Glycine max* L.) using microsatellite DNA loci. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiiskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur.* 2016;(2):63-7. Russian..
12. Shaibu, A.S. et al. (2021) 'Assessment of the genetic structure and diversity of soybean (*Glycine Max* L.) germplasm using Diversity Array Technology and single nucleotide polymorphism markers', *Plants*, 11(1), p. 68. doi:10.3390/plants11010068.17
13. Shaibu, A.S. et al. (2021) 'Assessment of the genetic structure and diversity of soybean (*Glycine Max* L.) germplasm using Diversity Array Technology and single nucleotide polymorphism markers', *Plants*, 11(1), p. 68. doi:10.3390/plants11010068.
14. Yuan FJ, Zhao HJ, Ren XL, Zhu SL, Fu XJ, Shu QY. Generation and characterization of two novel low phytate mutations in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theor Appl Genet.* 2007 Nov;115(7):945-57. doi: 10.1007/s00122-007-0621-2. Epub 2007 Aug 16. PMID: 17701395.
15. Zambiazzi, E.V. et al. (2017) 'Genetic diversity in soybean genotypes using phenotypic characters and enzymatic markers', *Genetics and Molecular Research*, 16(3). doi:10.4238/gmr16039770.

Information about authors

1. ***Ivaniy Alyona Andreevna***, laboratory assistant at the Laboratory of Biotechnology, All-Russian Scientific Research Institute of Soybeans, 675027, Blagoveshchensk, Ignatievskoe highway, 19, Amur region, Russia; e-mail: iaa@vniisoi.ru, tel. +7-914-565-94-50;
2. ***Timkin Pavel Dmitrievich***, Junior Researcher at the Laboratory of Biotechnology, All-Russian Research Institute of Soybeans, 675027, Blagoveshchensk, Ignatievskoe highway, 19, Amur region, Russia; e-mail: tpd@vniisoi.ru, tel. +7-999-165-79-41;
3. ***Ivachenko Lyubov Egorovna***, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Biotechnology, All-Russian Research Institute of Soybeans, 675027, Blagoveshchensk, Ignatievskoe Highway, 19, Amur region, Russia; e-mail: ivachenko-rog@yandex.ru, tel. +7-914-563-41-00.