

Научная статья

УДК 633.853.52: 631.522:575:577.29

EDN: BMAWTK

DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-3-425-433



## К вопросу о микросателлитных ассоциациях культурной сои Амурской области с сельскохозяйственными признаками

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

Всероссийский научно-исследовательский институт сои, г. Благовещенск, Российская Федерация

**Аннотация.** В исследовании выполнялся поиск и оценка силы корреляции между длиной микросателлитных локусов и хозяйственно-ценными признаками. В опыте по маркированию генетических систем сортов сои ДНК выделяли с помощью готового коммерческого набора, проводили стандартную ПЦР на готовой реакционной смеси. Проанализированы 18 сортов селекции Всероссийского научно-исследовательского института сои с использованием 15 пар праймеров, из которых наиболее специфично себя проявили и полностью пригодны для идентификации и паспортизации имеющихся генотипов сои 8 (Satt1, Satt2, Satt5, Satt9, Soyhsp176, Satt681, Satt141, Satt181) и 1 частично (Sat\_263). Корреляционный анализ проводился путем расчета коэффициента взаимной сопряженности Пирсона. Для оценки возможного влияния на хозяйственно-ценные признаки в базах данных NCBI и soybase провели поиск ассоциаций простых последовательных повторов (SSRs) с локусами количественных признаков (QTLs). В результате корреляционного анализа отметили прямую взаимосвязь длин локусов Satt5, Sat\_263, Satt181 и обратную у Satt2 с высотой растения: среднее значение коэффициента корреляции ( $r$ ) равно 0,485; 0,55; 0,435 и -0,422 соответственно. Прямая зависимость установлена между Satt1 ( $r = 0,561$ ) и Satt2 ( $r = 0,562$ ) и массой семян растений, обратная – между Satt9 ( $r = -0,453$ ), Satt681 ( $r = -0,527$ ) и массой семян. С признаком потенциальной урожайности обнаружена слабая обратная корреляция у Satt2 ( $r = -0,321$ ). Это свидетельствует о том, что микросателлиты могут проявлять себя как маркер определенного признака.

**Ключевые слова:** соя, SSR-анализ, ДНК-маркеры, микросателлитные локусы, молекулярно-генетическая паспортизация

**Для цитирования:** Бондаренко О.Н., Тимкин П.Д., Иваченко Л.Е., Блинова А.А., Пензин А.А. К вопросу о микросателлитных ассоциациях культурной сои Амурской области с сельскохозяйственными признаками // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 3. С.425–433. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-425-433>. EDN: BMAWTK.

### PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

## To the question of microsatellite associations of cultivated soybean of the Amur Oblast with agricultural traits

Ol'ga N. Bondarenko✉, Pavel D. Timkin, Lyubov E. Ivachenko,  
Anastasia A. Blinova, Andrey A. Penzin

All-Russian Research Institute of Soybean, Blagoveshchensk, Russian Federation

**Abstract.** This prospecting study evaluated the correlation strength between the length of microsatellite loci and valuable agricultural traits. For labeling the genetic systems of soybean varieties, DNA was isolated using a ready-made kit followed by subjecting the manufactured reaction mixture to standard PCR. In total, 15 primer pairs were used to analyze 18 varieties of the All-Russian Soybean Research Institute selection. Eight samples (Satt1, Satt2, Satt5, Satt9, Soyhsp176, Satt681, Satt141 and Satt181) were the most specific and fully suitable for the identification and certification of available soybean genotypes; however, sample Sat\_263 was only partially applicable. The possible influence of loci on agricultural traits was determined by searching for associations of simple sequence repeats (SSRs) with quantitative trait loci (QTLs) in the NCBI and soybase databases. To identify the statistical relationship between different attributes and loci lengths, a correlation analysis was performed by calculating Pearson's coefficient. This analysis revealed a direct relationship between the length of Satt5, Sat\_263 and Satt181 loci and plant height, with an inverse relationship being observed in the case of Satt2. The mean value

© Бондаренко О.Н., Тимкин П.Д., Иваченко Л.Е., Блинова А.А., Пензин А.А., 2023

of the correlation coefficient ( $r$ ) comprised 0.485, 0.55, 0.435 and -0.422, respectively. Samples Satt1 ( $r = 0.561$ ) and Satt2 ( $r = 0.562$ ) indicate a direct correlation between their length and plant seed weight, while an inverse correlation was established in the case of Satt9 ( $r = -0.453$ ) and Satt681 ( $r = -0.527$ ). A weak inverse correlation was found with the trait of potential yield with Satt2 ( $r = -0.321$ ). This indicates the ability of microsatellites to act as a marker of a particular trait.

**Keywords:** soybean, SSR-analysis, DNA markers, microsatellite loci, molecular genetic certification

**For citation:** Bondarenko O.N., Timkin P.D., Ivachenko L.E., Blinova A.A., Penzin A.A. To the question of microsatellite associations of cultivated soybean of the Amur Oblast with agricultural traits. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(3):425–433. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-425-433>. EDN: BMAWTK.

## ВВЕДЕНИЕ

Среди возделываемых сельскохозяйственных культур ввиду высокой питательной ценности соя является одной из самых востребованных культур, что делает ее важным объектом для исследований и объясняет необходимость постоянного ее улучшения и выведения новых сортов, что, в свою очередь, направлено на обеспечение потребностей населения. В последние годы на помощь селекционерам пришла биотехнология, что значительно упрощает и ускоряет селекционный процесс и, как итог, может привести к значительному увеличению темпов прироста хозяйственно-ценных признаков [1–3].

Несмотря на активное изучение молекулярных маркеров сои, генетические особенности сортов амурской селекции изучены недостаточно. Для их анализа используются локусы количественных признаков (QTLs) и локусы простых последовательных повторов (SSRs). Анализ QTLs может основываться на изучении фенотипических проявлений. В случае SSRs достоверно неизвестно их влияние на какой-либо признак. Чаще всего они используются для картирования генома, определения родства или ДНК-паспортизации сортов сельскохозяйственных растений, что на сегодняшний день является наиболее эффективным способом их идентификации с целью защиты авторских прав селекционеров и сведения к минимуму фальсификации на рынке семян [4, 5].

Некоторые микросателлитные локусы играют роль в цитогенетике эукариот, им отводится функция регуляторных участков, контролирующей экспрессию генов. Известно, что SSRs-локусы в пределах генома являются своеобразными метками того или иного признака. Это свойство объясняется тем, что для большинства подобных последовательностей характерно расположение рядом с геном, который опосредует связанный признак, что особенно удобно для картирования геномов различных сортов. Локусы, отвечающие за проявление количественного признака, называются QTLs. Они, как правило, и ассоциированы с SSRs-локусами, что дает возможность предположить наличие взаимосвязи между последовательностями микросателлитов и самим геном. Данных о влиянии SSRs-локусов сои на регуляцию генов и, как следствие, на фенотип на данный момент нет [6–8].

Поиск ассоциаций SSR-локусов с полезными признаками является важной задачей геномики, поскольку эти локусы позволяют отслеживать сцепленные с ними гены. Для сложных признаков частым явлением становится полигенная представленность в геноме. Для упрощения процесса отбора оценивают именно сами

микросателлитные маркеры как наиболее удобные для детекции [9, 10].

Таким образом, простые повторяющиеся последовательности могут использоваться не только для паспортизации и идентификации различных сортов, но и как самостоятельные маркеры для селекционного отбора, в случае если будут выяснены конкретные механизмы ассоциации с проявлением хозяйственно-ценных признаков.

Не существует однозначного ответа о наличии взаимосвязи между длиной или последовательностью нуклеотидов в SSR-локусах и проявлением того или иного признака. Как правило, длина SSR-локуса не влияет напрямую на проявление признаков у растений. Однако возможно, что длина SSR-локуса может влиять на реализацию сложных признаков посредством появления новых сайтов связывания транскрипционных факторов, индуцированных инсерциями и делециями [11–16].

Цель исследований – поиск и оценка силы корреляции между длиной микросателлитных локусов и хозяйственно-ценными признаками.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования послужили 18 сортов селекции Всероссийского научно-исследовательского института сои: Кружевница, Умка, Лидия, Веретейка, Даурия, Золушка, Лазурная, Топаз, Сентябрька, Грэй, ВНИИС-18, Алпэтра, Золотница, Апис, Лучистая, Тисей, Пепелина, Чародейка.

Для проведения опыта по маркированию генетических систем сортов культурной сои семена первоначально проращивали согласно ГОСТ 12044-93 в рулонах фильтровальной бумаги в течение семи суток при комнатной температуре. Проростки сои хранили при температуре минус 18 °С до проведения исследований. Выделение и очистка суммарной ДНК были выполнены с использованием набора реагентов для «ДНК-Экстран» (ООО «Синтол», Россия) с целью выделения геномной ДНК из растений. Концентрации двухцепочечной ДНК измеряли на флуориметре MAXLIFE (ООО «МВМ-Диагностика», Россия) согласно инструкции по применению к набору Test dsDNA-100. По результатам данного этапа перед проведением амплификации концентрацию образцов выделенной ДНК разбавляли до 100 нг/мкл.

Для амплификации выделенной ДНК применяли 15 пар SSR-праймеров, предложенных ранее авторами из ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур» в качестве маркерной системы для идентификации и паспортизации сортов культурной сои<sup>1</sup>. ПЦР проведена в 3-х аналитических

повторах с использованием представленных 15 пар SSR-праймеров [17].

ПЦР осуществляли в финальном объеме реакционной смеси 25 мкл, которая включала в себя 12,5 мкл готовой реакционной смеси «БиоМастер» HS-Taq ПЦР-Color (2×) (ООО «Биолабмикс», Россия), содержащей 100 мМ Трис-НСl, рН=8,5 (при 25 °С), 100 мМ КСl, 0,4 мМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,06 ед. акт/мкл Таq ДНК-полимеразы, 0,2% Tween 20, стабилизаторы HS-Taq ДНК-полимеразы и красители; 10 нг образца выделенной ДНК; по 10 пМ прямого и обратного праймеров; 9,5 мкл стерильной воды. Амплификацию выделенных фрагментов ДНК soi проводили с помощью амплификатора CFX96 (Real-time) (Bio-Rad laboratories Inc., США) при следующих температурных режимах: начальная денатурация – при 96 °С в течение 2 мин, затем 32 цикла при температурно-временном режиме: денатурация – при 94 °С в течение 30 сек, отжиг праймера при температуре 45–60 °С (в зависимости от праймера) в течение 40 сек, элонгация – при температуре 70 °С в течение 1 мин; финальная элонгация – при температуре 70 °С в течение 2 мин. Для каждой из представленных пар праймеров была рассчитана температура отжига (в веб-версии программы PrimerBLAST)<sup>2</sup> [18] и была проведена их оптимизация экспериментальным путем. Для этого с каждой парой праймеров проводили ПЦР, где ДНК образцов soi 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 п.н.

Продукты реакции были разделены методом электрофореза в 2%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в 0,5×TBE с использованием камеры для горизонтального электрофореза SE-1 (ООО «Компания Хеликон», Россия) в течение 1,5–2 ч при силе тока 50 мА и напряжении 90–100 В. Визуализация осуществлена путем облучения геля ультрафиолетом с использованием гель-документирующей системы GelDoc EZ (Bio-Rad laboratories Inc., США). Идентификацию и определение размеров аллелей микросателлитных локусов проводили с использованием программы Image Lab Version 6.0.14 Standard Edition. Выявленные по каждому локусу аллели обозначали цифрами через запятую: аллель с максимальным значением молекулярной массы обозначали цифрой 1, далее по мере его уменьшения – цифрами 2, 3, 4.

Поиск ассоциированных с SSRs-маркерами генов QTLs проводили по базам данных soybase<sup>3</sup>, NCBI<sup>4</sup> с помощью инструментария List of QTL, List of Traits, BLAST.

Анализ взаимосвязи длин локусов и хозяйственно-ценных признаков осуществляли с помощью расчета коэффициента взаимной сопряженности Пирсона [19]. Для интерпретации результатов корреляционного анализа воспользовались таблицей Чеддока (табл. 1).

**Таблица 1.** Сила корреляционной связи

**Table 1.** Strength of the correlation

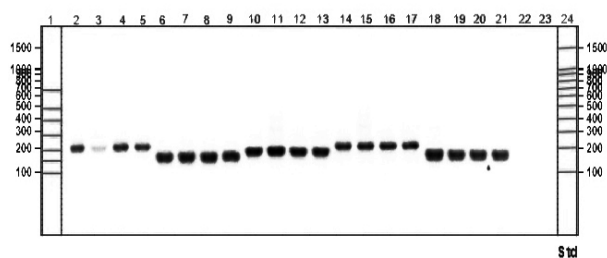
Абсолютное значение $r_{xy}$	Теснота (сила) корреляционной связи
менее 0,3	слабая
от 0,3 до 0,5	умеренная
от 0,5 до 0,7	заметная
от 0,7 до 0,9	высокая
более 0,9	весьма высокая

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из исследуемых 15 пар праймеров те, что фланкировали локусы *Soyprp1*, *Soygy2*, *Sat\_1*, *Sat\_43*, *Sat\_36* и *138ct04*, не гибридизировались с матричной ДНК (табл. 2).

Невозможность гибридизации некоторых праймеров с их мишенями объясняется неточностью и устаревшим протоколом для предоставленных праймеров в литературе<sup>1</sup> по сравнению с более современными из soybase для аналогичных локусов (табл. 3).

Таким образом, из 15 микросателлитных локусов полностью пригодными для идентификации и паспортизации имеющихся генотипов soi оказались только 8 и 1 частично (*Sat\_263*). На основании биоинформационного анализа баз данных NCBI и soybase использование локусов *Soygy2* на данный момент не рекомендовано с целью паспортизации ввиду отсутствия их апробации с биоинформатических баз данных и получения противоречивых результатов. Маркеры *138ct04*, *Sat\_263* стоит применять с осторожностью ввиду низкой валидации фланкирующих участков для этих локусов. Использование маркеров типа *Sat1/Sat43* рекомендуется с учетом обновленных версий праймеров по литературным источникам, имеющимся на soybase. На рисунке показана электрофореграмма результатов амплификации ДНК некоторых сортов soi по локусу *Satt9*.



Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сортов soi по локусу *Satt9*. Дорожки 2-21 – фрагменты ДНК сортов (2-5 – Кружевница, 6-9 – Умка, 10-13 – Лидия, 14-17 – Веретейка, 18-21 – Даурия); 22-23 – отрицательный контроль (-ДНК); 1, 24 – маркер молекулярных весов (DNA Ladder, 100+ bp)

Electrophoregram of DNA amplification products of soybean varieties at the *Satt9* locus. Lanes 2-21 are DNA fragments of varieties (2-5 – Lacemaker, 6-9 – Umka, 10-13 – Lydia, 14-17 – Vereteyka, 18-21 – Dauria); 22-23 – negative control (-DNA); 1, 24 – molecular weight marker (DNA Ladder, 100+ bp)

<sup>1</sup>Рамазанова С.А. Идентификация сортов soi с использованием молекулярно-генетических методов: дис. ... канд. биол. наук. Краснодар, 2008. 107 с. EDN: NQFMYT.

<sup>2</sup>Finding primers specific to your PCR template (using Primer3 and BLAST) // National Library of Medicine [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> (06.07.2023).

<sup>3</sup>SoyBase. Integrating Genetics and Genomics to Advance Soybean Research [Электронный ресурс]. URL: <https://soybase.org/> (06.07.2023).

<sup>4</sup>National Library of Medicine [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (06.07.2023).

**Таблица 2.** Длины микросателлитов различных сортов

**Table 2.** Microsatellites lengths of different varieties

Наименование сорта	Наименование локуса, размер продуктов амплификации (п.н.)								
	Satt1	Satt2	Satt5	Satt9	Soyhsp176	Satt681	Sat_263	Satt141	Satt181
Кружевница	137	154	150	206	115	244	135	148	225
Умка	137	154	136	159	115	244	135	187	225
Лидия	137	154	150	186	115	244	135	187	208
Веретейка	137	154	150	212	115	244	135	187	225
Даурия	145	154	150	168	115	244	135	187	218
Золушка	154	154	160	176	115	244	135	210	208
Лазурная	145	154	150	154	115	244	135	210	185
Топаз	145	154	136	138	115	244	135	210	170
Сентябринка	145	154	136	200	115	244	135	210	208
Грэй	137	146	160	186	115	244	165	210	218
ВНИИС-18	145	146	160	186	115	244	156	210	208
Алпетра	145	146	160	186	115	244	165	210	208
Золотница	137	154	160	212	115	244	156	210	170
Апис	125	154	160	212	115	244	156	210	208
Лучистая	125	146	160	212	120	244	156	210	208
Тисей	125	146	160	206	115	244	180	210	208
Пепелина	137	154	160	168	115	244	156	210	208
Чародейка	154	163	160	186	115	200	165	210	208

**Таблица 3.** Характеристика исследованных микросателлитных локусов

**Table 3.** Characteristics of the studied microsatellite loci

Локусы	Последовательность использованных праймеров в литературе	Последовательность праймеров по soybase
Sat_1	f-CTGGTGGACTATTGATACGACC r-AACTGCGAAGATACTACCTCC	f-GCGGATACGACCAAAAATTGTT r-GCGAACTGCGAAGATACTACCC
Sat_43	f-AAATTCTGTTTCATTGTCCGTC r-CATTTTAATATCCCAGTAGG	f-GCGGTCCGTCATGAATATTAATTAATAA r-GCGAAAGCGGCAGAGAGAGAAAAGT
Soygy2	f-AAAATTGAAAGTGTCACACCCC r-TTAAATCGATTAATTGGCATGA	В данный момент отсутствует в базах данных SSRs (soybase), nucleotide (NCBI)
138ct04	f-ACAATTTATTATTGTGCACGC r-ATTGTGCGCGTGTATGCG	Имеется как SSR-маркер, но не предоставлены праймеры (soybase)
Sat_263	f-GCGGTCGATCGTTTCAATTAGTATG r-GCGCTGGCAGCCCTTTATTATC	Имеется как SSR-маркер, но не предоставлены праймеры (soybase)
Soyprp1	f-CGAAGAGCTACGTGCCAAATT r-GTTAGAAAACCTCCGCCACAC	f-CGTGCCAAATTACATCA r-TGATGGGAACAAGTACATAA
Sat_36	f-AAAGTCATAACTGGCACTCCAAGTTT r-GAACATAACAATAATAATATAGCTC	f-GCGACTCCAAGTTTTTTTTTTGTTT r-GCGGGAGTTAGAGGAAGAGAACA

**Таблица 4.** Локусы SSRs и их ассоциации с QTL (исследуемые признаки сои подчеркнуты)

**Table 4.** Loci of SSRs and their associations with QTL (soybean traits studied are underlined)

Локус	Ассоциированные QTLs	Локус	Ассоциированные QTLs
<i>Satt1</i>	Seed oil 37-10 Seed protein 33-3 <u>Seed yield 29-1</u>	<i>Satt181</i>	Hypocotyl weight 1-2 Pubescence density 1-2 Pubescence density 3-2 Pubescence length 1-2 Seed daidzein 2-2 Seed genistein 2-6 Seed glycitein 2-8 Seed isoflavone 1-3 Seed set 5-27 Seed tocopherol, alpha 3-3 Seed tocopherol, total 3-5 <u>Seed weight 34-4</u>
<i>Satt2</i>	Canopy wilt 1-3 Seed height 1-8 Seed Leu 1-3 Seed linoleic 6-6 Seed Met plus Cys 1-1 <u>Seed weight 18-2</u> <u>Seed weight 49-10</u> <u>Seed yield 21-6</u> <u>Seed yield 5-2</u>		
<i>Satt5</i>	Lodging 27-5 Phytoph 6-2 <u>Plant height 35-5</u> Pod maturity 28-1 Seed oil 38-3 <u>Seed yield 28-10</u>	<i>Soyhsp176</i>	Canopy width 1-2 <u>Plant height 11-3</u> <u>Plant height 7-2</u> Seed abortion 1-3
<i>Satt9</i>	Fe effic 3-4 Flower number 1-2 Japanese beetle resistance 1-8 Phytoph 14-5 Sclero 2-21 Sclero 3-15 Sclero 4-9 Sclero 5-13 Sclero 6-10 Seed isoflavone 4-2 Seed linolenic 14-6 Seed oil 24-5 Seed oil 39-14 Seed stearic 8-5	<i>Soyprp1</i>	На данный момент этому локусу не присвоено наличие каких-либо ассоциаций
		<i>Satt681</i>	Canopy wilt 3-6 Seed glycinin 2-4
<i>Satt141</i>	Corn earworm 9-1 First flower 13-3 Internode length 2-9 Leaflet shape 6-5 Pod wall to Pod weight ratio 1-3	<i>Sat_263</i>	На данный момент этому локусу не присвоено наличие каких-либо ассоциаций

**Таблица 5.** Хозяйственно-ценные признаки исследуемых сортов

**Table 5.** Economically valuable traits of the studied varieties

Название сорта	Высота растений, см	Масса 1000 семян, г	Потенциальная урожайность, т/га
Кружевница	62–68	115–145	2,93
Сентябринка	52–61	132–157	3,15
Веретейка	66–79	123–140	2,95
Лидия	57–90	158–168	3,05
Умка	65–95	170–198	3,84
Даурия	50–80	182–214	3,64
Золушка	71–81	151–177	3,28
Лазурная	60–90	163–203	3,64
Топаз	44–62	140–177	2,63
Грэй	76–91	142–145	3,42
ВНИИС-18	72–87	133–145	4,02
Алпетра	65–85	153–156	2,92
Золотница	56–63	145–170	3,02
Апис	62–81	145–165	3,05
Лучистая	72–85	125–149	3,12
Тисей	82–104	134–144	3,45
Пепелина	59–68	142–154	3,28
Чародейка	70–88	179–217	2,89

**Таблица 6.** Корреляция между признаком и длиной локуса

**Table 6.** Correlation between trait and locus length

Наименование признака	Наименование локуса, размер продуктов амплификации (п.н.)								
	Satt1	Satt2	Satt5	Satt9	Soy/hsp176	Satt681	Sat_263	Satt141	Satt181
Высота растений, см	-0,255	-0,422	0,485	0,204	0,153	-0,165	0,551	0,147	0,435
Масса 1000 семян, г	0,561	0,562	0,028	-0,453	-0,222	-0,527	-0,114	0,202	-0,281
Потенциальная урожайность	0,009	-0,321	0,035	-0,233	-0,080	0,236	0,015	0,067	0,278

Биоинформатический поиск ассоциаций указал, что приведенные маркеры могут быть использованы для генотипирования определенных качеств, которые сцеплены с находящимися рядом участками, так называемыми QTLs (табл. 4).

Следующим шагом были отобраны хозяйственно-ценные признаки, с которыми имеется QTL-ассоциация исследованных SSR-локусов. В результате анализа было отобрано 3 признака: высота растений, масса 1000 семян, потенциальная урожайность (табл. 5) [20].

После того как были отобраны подходящие хозяйственно-ценные признаки, был проведен корреляционный анализ между длинами ампликонов,

полученных после проведения ПЦР, и показателями хозяйственно-ценных признаков (табл. 6).

Была выявлена прямая взаимосвязь высоты растений с локусами Satt5 (умеренная), Satt181 (умеренная), Sat\_263 (заметная), а также обратная зависимость с Satt2 (умеренная). Масса 1000 семян имела прямую корреляцию с Satt1 (заметная), Satt2 (заметная) и обратную корреляцию с Satt9 (умеренная) и Satt681 (заметная). Потенциальная урожайность имела обратную корреляцию с Satt2 (умеренная). Разнонаправленная корреляция Satt2 с разными признаками объясняется тем, что урожайность и высота растений могут быть взаимоисключающими показателями, при высокой урожайности и высоте растения теряется масса семян.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования было обнаружено, что *Satt1*, *Satt2*, *Satt5*, *Satt9*, *Satt681*, *Sat\_263*, *Satt181* имеют некоторую связь с каким-либо признаком, *Satt2* же имеет связь сразу с тремя, показывая прямую корреляцию с массой семян и отрицательную с высотой растения и урожайностью. Это

свидетельствует о том, что микросателлиты могут проявлять себя как маркер определенного признака или же они имеют некую регуляторную функцию и способны увеличивать или уменьшать экспрессию определенных генов, для подтверждения или опровержения чего требуется более детальный и трудоемкий их анализ с помощью *chip-seq*-технологии.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sudaric A., Vratarić M., Mladenović-Drinić S., Matosa M. Biotechnology in soybean breeding // *Genetika*. 2010. Vol. 42, no. 1. P. 91–102. <https://doi.org/10.2298/genstr1001091s>.
2. Singh G., Dukariya G., Kumar A. Distribution, importance and diseases of soybean and common bean: a review // *Biotechnology Journal International*. 2020. Vol. 24, no. 6. P. 86–98. <https://doi.org/10.9734/bji/2020/v24i630125>.
3. Bakhsh A., Sirel I.A., Kaya R.B., Ataman I.H., Tillaboeva Sh., Dönmez B.A., et al. Contribution of genetically modified crops in agricultural production: success stories. In: *Policy Issues in Genetically Modified Crops*. Academic Press, 2021. P. 111–142. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820780-2.00006-6>.
4. Hwang S., Lee T.G. Integration of lodging resistance QTL in soybean // *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. P. 6540. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42965-6>.
5. Achard F., Butruille M., Madjarac S., Nelson P.T., Duesing J., Laffont J-L., et al. Single nucleotide polymorphisms facilitate distinctness–uniformity–stability testing of soybean cultivars for plant variety protection // *Crop Science*. 2020. Vol. 60, no. 5. P. 2280–2303. <https://doi.org/10.1002/csc2.20201>.
6. Tiwari S., Tripathi N., Tsuji K., Tantwai K. Genetic diversity and population structure of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) as revealed by microsatellite markers // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019. Vol. 25, no. 4. P. 953–964. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00682-4>.
7. Vieira M.L.C., Santini L., Diniz A.L., de Freitas Munhoz C. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful // *Genetics and Molecular Biology*. 2016. Vol. 39, no. 3. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027>.
8. Wang H., Campbell B., Happ M., McConaughy S., Lorenz A., Amundsen K., et al. Development of molecular inversion probes for soybean progeny genomic selection genotyping // *bioRxiv*. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.05.03.490091>.
9. Daware A., Das S., Srivastava R., Badoni S., Singh A.K., Agarwal P., et al. An efficient strategy combining SSR markers- and advanced QTL-seq-driven QTL mapping unravels candidate genes regulating grain weight in rice // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01535>.
10. Zatybekov A.K., Turuspekov Y.T., Doszhanova B.N., Abugaliev S.I. 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. Vol. 181, no. 3. P. 81–90. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-3-81-90>.
11. Майер Н.К., Крупин П.Ю., Пыльнев В.В., Рыбец В.С., Коршунов А.В., Дивашук М.Г. Анализ полиморфизма SSR-маркеров, сцепленных с QTL-локусами устойчивости к прорастанию на корню у тритикале // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2011. N 6. С. 144–149. EDN: OOLONX.
12. Bocianowski J., Nowosad K., Wróbel B., Szulc P. Identification of associations between SSR markers and quantitative traits of maize (*Zea mays* L.) // *Agronomy*. 2021. Vol. 11, no. 1. P. 182. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010182>.
13. Fliege C.E., Ward R.A., Vogel P., Nguyen H., Quach T., Guo M., et al. Fine mapping and cloning of the major seed protein quantitative trait loci on soybean chromosome 20 // *The Plant Journal*. 2022. Vol. 110, no. 1. P. 114–128. <https://doi.org/10.1111/tbj.15658>.
14. Chen Ch., Chen Y., Huang W., Jiang Y., Zhang H., Wu W. Mining of simple sequence repeats (SSRs) loci and development of novel transferability-across EST-SSR markers from *de novo* transcriptome assembly of *Angelica Dahurica* // *PLOS ONE*. 2019. Vol. 14, no. 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221040>.
15. Ott A., Trauttschold B., Sandhu D. Using microsatellites to understand the physical distribution of recombination on soybean chromosomes // *PLOS ONE*. 2011. Vol. 6, no. 7. P. e22306. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022306>.
16. Sun M., Jing Y., Zhao X., Teng W., Qiu L., Zheng H., et al. Genome-wide association study of partial resistance to sclerotinia stem rot of cultivated soybean based on the detached leaf method // *PLOS ONE*. 2020. Vol. 15, no. 5. P. e0233366. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233366>.
17. Рябушкина Н.А., Омашева М.Е., Галиакбаров Н.Н. Специфика выделения ДНК из растительных объектов // *Биотехнология. Теория и практика*. 2012. N 2. С. 9–26. <https://doi.org/10.11134/btp.2.2012.1>. EDN: VKUFVW.
18. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T.L. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction // *BMC Bioinformatics*. 2012. Vol. 13, no. 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>.
19. Das D., Das A. *Statistics in biology & psychology*. Academic Publishers, 1980. 351 p.
20. Присяжная И., Присяжная С., Липкань А., Сахаров В., Усанов В. Исследование посевных качеств семян сои в семеноводческих хозяйствах Амурской области // *Journal of Agriculture and Environment*. 2021. T. 19. N 3. <https://doi.org/10.23649/jae.2021.3.19.4>.

## REFERENCES

1. Sudaric A., Vratarić M., Mladenović-Drinić S., Matosa M. Biotechnology in soybean breeding. *Genetika*. 2010;42(1):91-102. <https://doi.org/10.2298/gensr1001091s>.
2. Singh G., Dukariya G., Kumar A. Distribution, importance and diseases of soybean and common bean: a review. *Biotechnology Journal International*. 2020;24(6):86-98. <https://doi.org/10.9734/bji/2020/v24i630125>.
3. Bakhsh A., Sirel I.A., Kaya R.B., Ataman I.H., Tillaboeva Sh., Dönmez B.A., et al. Contribution of genetically modified crops in agricultural production: success stories. In: *Policy Issues in Genetically Modified Crops*. Academic Press; 2021, p. 111-142. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820780-2.00006-6>.
4. Hwang S., Lee T.G. Integration of lodging resistance QTL in soybean. *Scientific Reports*. 2019;(9):6540. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42965-6>.
5. Achard F., Butruille M., Madjarac S., Nelson P.T., Duesing J., Laffont J-L., et al. Single nucleotide polymorphisms facilitate distinctness–uniformity–stability testing of soybean cultivars for plant variety protection. *Crop Science*. 2020;60(5):2280-2303. <https://doi.org/10.1002/csc2.20201>.
6. Tiwari S., Tripathi N., Tsuji K., Tantai K. Genetic diversity and population structure of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) as revealed by microsatellite markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019;25(4):953-964. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00682-4>.
7. Vieira M.L.C., Santini L., Diniz A.L., de Freitas Munhoz C. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*. 2016;39(3). <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027>.
8. Wang H., Campbell B., Happ M., McConaughy S., Lorenz A., Amundsen K., et al. Development of molecular inversion probes for soybean progeny genomic selection genotyping. *bioRxiv*. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.05.03.490091>.
9. Daware A., Das S., Srivastava R., Badoni S., Singh A.K., Agarwal P., et al. An efficient strategy combining SSR markers- and advanced QTL-seq-driven QTL mapping unravels candidate genes regulating grain weight in rice. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01535>.
10. Zatybekov A.K., Turuspekov Y.T., Doshzanova B.N., Abugaliev S.I. 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. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-3-81-90>.
11. Maier N.K., Krupin P.Yu., Pyl'nev V.V., Rubets V.S., Korshunov A.V., Divashuk M.G. Analysis of polymorphism of SSR markers linked to QTL loci, resistance to germination on the root of triticale. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii = Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2011;(6):144-149. (In Russian). EDN: OOLONX.
12. Bocianowski J., Nowosad K., Wróbel B., Szulc P. Identification of associations between SSR markers and quantitative traits of maize (*Zea mays* L.). *Agronomy*. 2021;11(1):182. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010182>.
13. Fliege C.E., Ward R.A., Vogel P., Nguyen H., Quach T., Guo M., et al. Fine mapping and cloning of the major seed protein quantitative trait loci on soybean chromosome 20. *The Plant Journal*. 2022;110(1):114-128. <https://doi.org/10.1111/tpj.15658>.
14. Chen Ch., Chen Y., Huang W., Jiang Y., Zhang H., Wu W. Mining of simple sequence repeats (SSRs) loci and development of novel transferability-across EST-SSR markers from *de novo* transcriptome assembly of *Angelica Dahurica*. *PLOS ONE*. 2019;14(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221040>.
15. Ott A., Trautschold B., Sandhu D. Using microsatellites to understand the physical distribution of recombination on soybean chromosomes. *PLOS ONE*. 2011;6(7):e22306. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022306>.
16. Sun M., Jing Y., Zhao X., Teng W., Qiu L., Zheng H., et al. Genome-wide association study of partial resistance to sclerotinia stem rot of cultivated soybean based on the detached leaf method. *PLOS ONE*. 2020;15(5):e0233366. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233366>.
17. Ryabushkina N.A., Omasheva M.E., Galiakparov N.N. Specifics of DNA extraction from plant objects. *Biotekhnologiya. Teoriya i praktika = Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2012;(2):9-26. (In Russian). <https://doi.org/10.11134/btp.2.2012.1>. EDN: VKUFWV.
18. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T.L. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 2012;13(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>.
19. Das D., Das A. *Statistics in biology & psychology*. Academic Publishers; 1980. 351 p.
20. Prisyazhnaya I., Prisyazhnaya S., Lipkan' A., Sakharov V., Usanov V. Study of sowing qualities of soybean seeds in seed farms of Amur region. *Journal of Agriculture and Environment*. 2021;19(3). (In Russian). <https://doi.org/10.23649/jae.2021.3.19.4>.



### **ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**

**Бондаренко Ольга Николаевна**,  
научный сотрудник,  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт сои,  
675000, г. Благовещенск,  
Игнатъевское шоссе, 19,  
Российская Федерация,  
✉ ton@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-5051-7695>

**Тимкин Павел Дмитриевич**,  
младший научный сотрудник,  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт сои,  
675000, г. Благовещенск,  
Игнатъевское шоссе, 19,  
Российская Федерация,  
tpd@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

**Блинова Анастасия Андреевна**,  
младший научный сотрудник,  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт сои,  
675000, г. Благовещенск,  
Игнатъевское шоссе, 19,  
Российская Федерация,  
baa@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7234-0595>

**Иваченко Любовь Егоровна**,  
д.б.н., ведущий научный сотрудник,  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт сои,  
675000, г. Благовещенск,  
Игнатъевское шоссе, 19,  
Российская Федерация,  
ivachenko-rog@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-4870-2223>

**Пензин Андрей Андреевич**,  
младший научный сотрудник,  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт сои,  
675000, г. Благовещенск,  
Игнатъевское шоссе, 19,  
Российская Федерация,  
paa@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-8578-9818>

#### **Вклад авторов**

Все авторы сделали эквивалентный вклад  
в подготовку публикации.

#### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный  
вариант рукописи.*

#### **Информация о статье**

Поступила в редакцию 01.03.2023.  
Одобрена после рецензирования .08.06.2023.  
Принята к публикации 31.08.2023.

### **INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

**Ol'ga N. Bondarenko**,  
Researcher,  
All-Russian Scientific Research Institute  
of Soybean,  
19, Ignatievsky Highway, Blagoveshchensk, 675000,  
Russian Federation,  
✉ ton@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-5051-7695>

**Pavel D. Timkin**,  
Junior Researcher,  
All-Russian Scientific Research Institute  
of Soybean,  
19, Ignatievsky Highway, Blagoveshchensk, 675000,  
Russian Federation,  
tpd@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

**Anastasia A. Blinova**,  
Junior Researcher,  
All-Russian Scientific Research Institute  
of Soybean,  
19, Ignatievsky Highway, Blagoveshchensk, 675000,  
Russian Federation,  
baa@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7234-0595>

**Lyubov E. Ivachenko**,  
Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher,  
All-Russian Scientific Research Institute  
of Soybean,  
19, Ignatievsky Highway, Blagoveshchensk, 675000,  
Russian Federation,  
ivachenko-rog@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-4870-2223>

**Andrey A. Penzin**,  
Junior Researcher,  
All-Russian Scientific Research Institute  
of Soybean,  
19, Ignatievsky Highway, Blagoveshchensk, 675000,  
Russian Federation,  
paa@vniisoi.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-8578-9818>

#### **Contribution of the authors**

The authors contributed equally to this article.

#### **Conflict interests**

The authors declare no conflict of interests regarding  
the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved by  
all the co-authors.*

#### **Information about the article**

The article was submitted 01.03.2023.  
Approved after reviewing 08.06.2023.  
Accepted for publication 31.08.2023.