

А.В. ТИХОНОВ, В.В. МАРТЫНОВ, Д.Б. ДОРОХОВ

Учреждение Российской академии наук Центр «Биоинженерия»,
Москва

E-mail: dmitriy.dorokhov@gmail.com

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОВЛИЯНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ ДИКОЙ СОИ (*GLYCINE SOJA*) В ДОЛИНЕ РЕКИ ЦУКАНОВКИ НА ЮГЕ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ



Сравнительное изучение генетической структуры естественных и антропогенных популяций *G. soja* дает значимую информацию о путях формирования различных популяций и позволяет разрабатывать меры по сохранению уникального природного банка генов дикой сои как ближайшего родственника культурной сои. В настоящей работе при помощи ISSR-маркеров был проведен сравнительный анализ генетической структуры естественных и антропогенных субпопуляций *G. soja* с целью изучения возможности взаимовлияния субпопуляций антропогенных и естественных фитоценозов на формирование их генетического разнообразия и выяснения генетической структуры естественных субпопуляций дикой сои в местах соприкосновения двух типов ценозов. В результате в изученной модельной популяции были определены характеристики, описывающие генетическое разнообразие этой популяции, и показана важная роль мест взаимодействия субпопуляций различных фитоценозов в формировании пространственной генетической структуры популяции в долине р. Цукановки.

© А.В. ТИХОНОВ, В.В. МАРТЫНОВ, Д.Б. ДОРОХОВ, 2011

Введение. С годами проблема сохранения генотипов дикорастущих родичей культурных растений *in situ* не теряет своей актуальности. Антропогенное воздействие может разрушать среду обитания многих видов, изменять естественные экосистемы и генетическое разнообразие дикорастущих растений. Считается, что одним из важнейших следствий воздействия антропогенных факторов на структуру видового ареала является его разделение на ряд более или менее изолированных участков [1]. Дикая соя (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.), являющаяся ближайшим родичем культурной сои (*G. max*), это рудеральный сорняк, который предпочитает нарушенные фитоценозы. В естественных ландшафтах, а это долины рек, берега речных островов, проток и стариц, восстанавливающиеся луга, склоны сопки и осыпи [2], *G. soja* использует несколько способов распространения своих семян – автохорию, зоохорию и гидрохорию. В долинах рек важное значение для расширения ареала приобретает гидрохория, поскольку при автохории семена разбрасываются вокруг материнского растения на расстояние всего до 1–3 м. Хозяйственная деятельность не только не приводит к сокращению ареала *G. soja*, а, наоборот, лишь расширяет его. Дикорастущая соя использует нарушенные человеком фитоценозы (в первую очередь это относится к обочинам дорог) в качестве искусственных коридоров для своего расселения.

Изучая биоразнообразие дикой сои на протяжении многочисленных экспедиций в центр происхождения и разнообразия *G. soja* на Дальнем Востоке РФ, мы неоднократно описывали места соприкосновения естественных и антропогенных ценозов, в которых произрастает *G. soja*. В большинстве случаев это были пересечения дорог с руслами рек. В этой связи большое значение приобретает детальное молекулярно-генетическое изучение популяций дикорастущей сои в местах соприкосновения и возможного взаимодействия популяций *G. soja* из естественных и антропогенных ценозов [3, 4]. Несмотря на преимущества дорог как фактора, способствующего расширению ареала вида, мы ранее показали [5], что под антропогенной нагрузкой в такой популяции происходит снижение генетического полиморфизма. В связи с этим предполагалось изучить возможность взаимовлияния субпопуляций антропогенных (придорожных) и естественных фито-

ценозов на формирование их генетического разнообразия и изучить генетическую структуру естественных субпопуляций дикой сои в местах соприкосновения двух типов ценозов.

Сравнительный анализ генетической структуры популяций естественных и антропогенных ландшафтов дает значимую информацию об изменениях, происходящих в естественных популяциях *G. soja*, и позволяет разрабатывать меры по сохранению уникального природного банка генов, помогает принимать решения о биобезопасности генетически модифицированной сои и разрабатывать методы мониторинга взаимодействия дикой и генетически модифицированной сои в случае принятия положительного решения о ее выпуске в окружающую среду.

Дикорастущая соя изучается уже на протяжении длительного времени, в том числе с использованием методологии молекулярных маркеров, с помощью которых исследуется ее происхождение [6, 7], филогения [8–10], генетическая структура популяций [11–18]. Тем не менее работы, посвященные детальному изучению генетической структуры отдельных популяций дикорастущей сои, которые находятся в различных экологических условиях, и взаимодействию этих популяций, крайне редки и разрозненны [12]. Сравнительные молекулярно-генетические исследования отдельных популяций *G. soja*, произрастающих в различных ценозах, по нашим данным, вообще не проводились.

В настоящем исследовании с помощью ISSR-анализа были изучены показатели генетического разнообразия и структура популяции дикой сои в долине р. Цукановки площадью примерно 460 000 м². Для оценки степени генетической подразделенности популяции и генетического сходства между составляющими ее образцами был использован коэффициент родства, полученный в результате обработки данных ISSR-анализа с помощью соответствующего математического аппарата. В результате, кроме очевидной географической подразделенности, была выявлена генетическая подразделенность этой популяции на две субпопуляции в верхнем и нижнем течении реки, определен участок, где генофонды этих субпопуляций смешиваются между собой, и

выдвинуты предположения о роли реки и дороги в формировании генетического разнообразия изученной популяции.

Полученные данные могут быть использованы для выработки рекомендаций при проведении природоохранных мероприятий по сохранению генофонда дикой сои и других видов диких растений, распространяющихся методом гидрохории, а также выбору мест проведения мониторинга при контроле за возможным распространением генно-инженерной вставки из культурных генетически модифицированных растений в популяции их диких родичей в рамках осуществления программ по контролю за биобезопасностью трансгенных растений.

Материалы и методы. В исследовании использовали семена дикой сои (160 семян), собранные сотрудниками Центра «Биоинженерия» РАН в популяции *G. soja*, произрастающей в долине р. Цукановки юга Приморского края (рис. 1, а), в период экспедиционных работ в 2006 г. Долина р. Цукановки находится под слабым антропогенным воздействием, особенно в ее верхнем течении, в то же время реку в нескольких местах пересекает дорога – ландшафт с высокой степенью антропогенной нагрузки. Сбор проводили по следующей схеме: семена собирали вдоль дорог, пересекающих реку (образцы условно относили к антропогенной субпопуляции «дорога»), в местах пересечения дорог с рекой (образцы условно относили к смешанной субпопуляции «мост») и вдоль берегов реки (образцы условно относили к естественной субпопуляции «река»). Сбор был проведен в 16 точках (рис. 1, б). Со всех растений, произрастающих в каждой точке сбора, рандомизированно брали по 30 семян, из которых впоследствии формировали среднюю пробу в количестве 10 семян. Места сбора относились к двум типам фитоценологических сообществ – второй группы (вдоль дорог) и четвертой группы (слабонарушенные травянистые сообщества вдоль рек) [3]. Площадь сбора составила 460 000 м². Высота над уровнем моря в верхнем течении – 32 м, в нижнем – 11 м. Географические координаты – 42°44' N и 130°46' E.

Семена высевали на чашки Петри с последующим доращиванием проростков в теплице на поддонах с искусственным грунтом при дневной

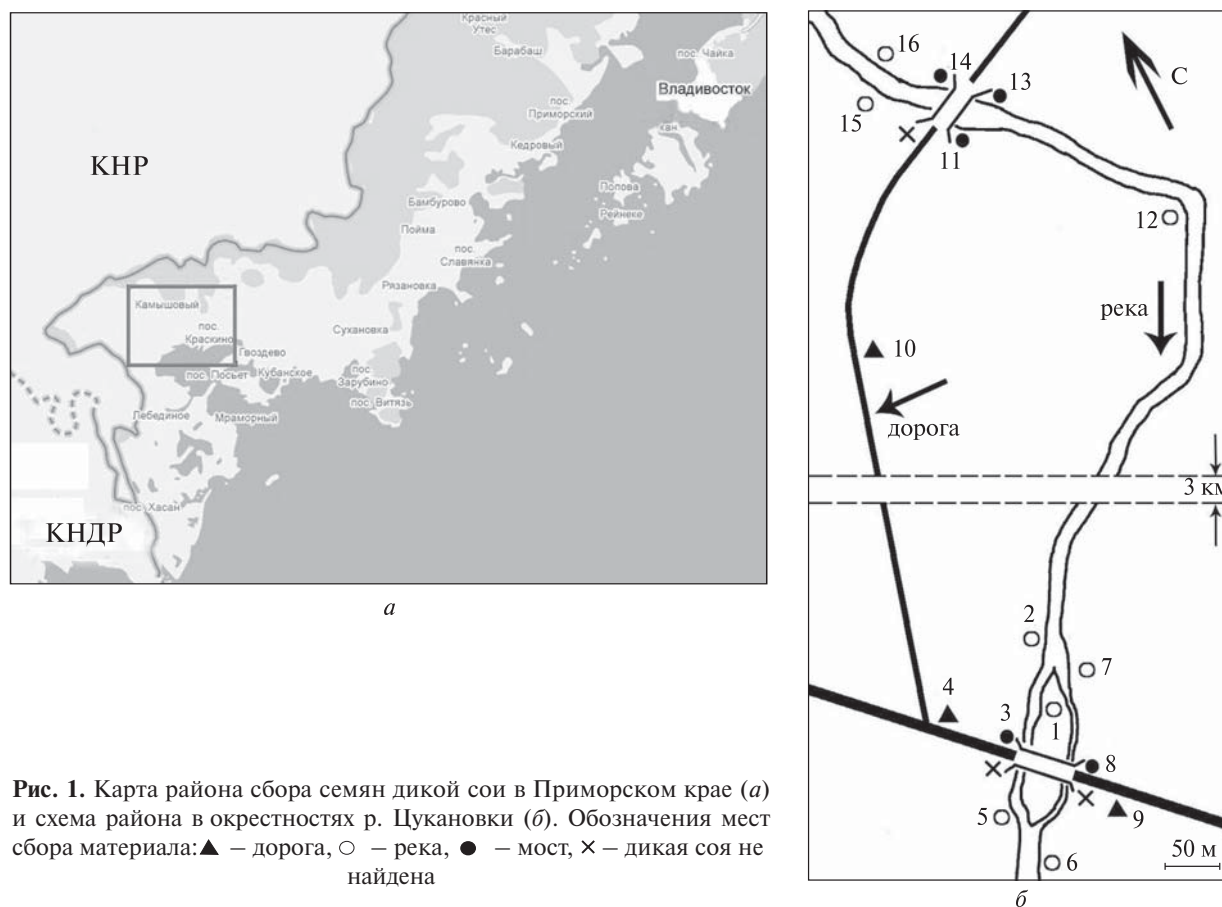


Рис. 1. Карта района сбора семян дикой сои в Приморском крае (а) и схема района в окрестностях р. Цукановки (б). Обозначения мест сбора материала: ▲ – дорога, ○ – река, ● – мост, × – дикая соя не найдена

температуре 21 °С, ночной – 18 °С, влажности воздуха – 40 %, длине светового дня – 15 ч.

Выделение ДНК проводили из первых настоящих листьев молодых проростков по протоколу Эдвардса и др. [19], модифицированному Дороховым и Клоке [20]. Для реакции амплификации ДНК пользовались термоциклером марки «Applied Biosystems GeneAmp PCR System 2700». Для ПЦР было использовано 9 ISSR-праймеров (табл. 1). Программа реакции амплификации была следующей: преденатурация 3 мин – 94 °С; далее 20 циклов: 5 с – 94 °С, 30 с – 51,4–53,8 °С (в зависимости от праймера), 30 с – 72 °С; далее 20 циклов: 5 с – 94 °С, 30 с – 35 °С, 5 с – 72 °С; досинтез 7 мин – 72 °С.

Разделение фрагментов ДНК, полученных в результате амплификации, проводили посредством электрофореза в 2%-ном агарозном геле при напряженности электрического поля 5 В/см. В качестве буферной системы использовали 0.5 × TBE.

Для оценки уровня генетического разнообразия рассчитывали следующие общепринятые в генетико-популяционных исследованиях показатели: процент полиморфных локусов при 95%-ном (P_{95}) критерии достоверности, среднее число наблюдаемых аллелей на локус (na), эффективное число аллелей (ne), средняя ожидаемая гетерозиготность (He), индекс гетерогенности Шеннона (H). Для вычисления показателей использовали пакет компьютерных программ PopGen 32 [21], TFPGA 1.3 [22] и Statistica 6.0 [23].

Для оценки степени генетической подразделенности популяции и генетического сходства между составляющими ее образцами использовали коэффициент родства, который отражает вероятность того, что передаваемый потомству случайный аллель случайного локуса у одного генотипа идентичен случайному аллелю случайного локуса у другого генотипа и выражает степень генетического сходства между двумя от-

дельными образцами относительно среднего значения этого показателя между всеми образцами в изучаемой популяции. Для используемых в настоящей работе ДНК маркеров доминантного типа уравнение расчета коэффициента родства было следующим:

$$Fd_{ij} = \frac{1 + F_i}{2} \cdot \frac{\sum_k (X_{ki} - D_k)(X_{kj} - D_k) + D_k(1 - D_k)h_k^2 / (n - 1)}{\sum_k D_k(1 - D_k)h_k^2},$$

где Fd_{ij} – коэффициент родства между образцами i и j ; F_i – коэффициент инбридинга; X_{ki} – генотип образца i по локусу k (0 или 1); X_{kj} – генотип образца j по локусу k ; D_k – частота доминантного генотипа по локусу k ; h^2 – наследуемость доминантного маркера, являющаяся функцией частоты доминантного генотипа и коэффициента инбридинга; n – размер исследуемой выборки [24].

Коэффициент родства рассчитывали между каждой парой образцов для каждого локуса, после чего определяли усредненный мультилокусный коэффициент родства.

Для расчета коэффициента родства применяли программу SPAGeDi 1.3 [25], алгоритм которой использует приведенную формулу. Коэффициент инбридинга в формуле был взят равным 0,95 согласно расчетам, сделанным для популяций дикой сои [26, 27].

Результаты исследований. При анализе электрофоретических спектров продуктов амплификации выявлено 130 воспроизводимых ДНК-фрагментов, среди которых 47 были полиморфными. Число амплифицированных фрагментов на один праймер находилось в пределах от 11 до 16 для всех образцов.

Основные параметры генетического разнообразия изученной популяции представлены в табл. 2. Доля полиморфных локусов (P_{95}) в исследованной выборке составила 36,15 %, значение ожидаемой гетерозиготности (He) в исследуемой популяции – 0,1918. Среднее число наблюдаемых аллелей на локус (na) в изучаемой популяции равно 1,3615, значение эффективного числа аллелей (ne) – 1,1509. Субпопуляция в нижнем течении оказалась генетически более разнообразной, чем субпопуляция в верхнем течении.

В качестве характеристики распределения генетической структуры изучаемой популяции

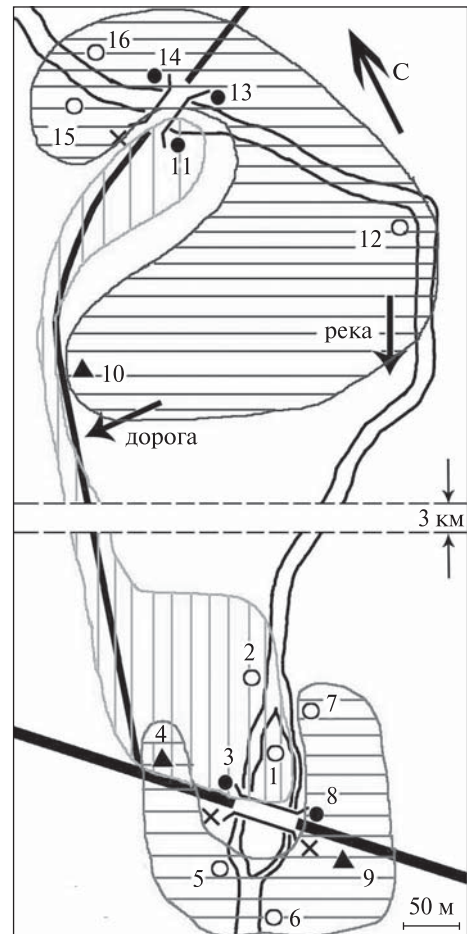


Рис. 2. Подразделенность популяции дикой сои долины р. Цукановки на основе анализа результатов, полученных с использованием ISSR-маркеров

в пространстве мы использовали значения коэффициента родства между образцами из различных точек сбора. В соответствии с этими значениями можно выделить три группы точек сбора, между образцами которых коэффициент родства имеет положительные значения (рис. 2). Между этими точками из разных групп коэффициент родства приобретает отрицательные значения, что свидетельствует о том, что степень генетического сходства между образцами, произрастающими в этих точках, ниже среднего значения этого показателя между всеми образцами в изучаемой популяции.

Обсуждение полученных данных. Сравнение полученных результатов с опубликованными ранее данными позволяет сделать выводы об

Таблица 1
Использованные в работе ISSR-праймеры

Праймер	Температура отжига, °С	Последовательность праймера, 3'→ 5'	Общее количество локусов	Количество полиморфных локусов
JIN01	52	(AG) ₈ C	16	3
JIN03	52	(CA) ₈ A	16	8
JIN04	51,4	(AC) ₈ T	14	5
JIN05	52	(AG) ₈ YT	11	4
JIN06	52	(GA) ₈ YT	18	7
JIN11	52	(GGAGA) ₃	12	4
JIN12	53,8	BNB(GA) ₇	13	5
JIN14	53,8	DBD(AC) ₇	14	6
JIN15	52	DBD(TG) ₇	16	5
Всего			130	47

особенностях генетической структуры исследованной популяции. Доля полиморфных локусов (P_{95}) в изученной популяции составила 36,15 % (табл. 2), что ниже, чем аналогичный показатель трех естественных популяций дикой сои Северного Китая, генетическую структуру которых также исследовали с помощью ISSR-маркеров [14]. Уровень полиморфности (P_{95}) в этих популяциях варьирует от 68,2 до 72 %. Эти различия могут быть связаны с объективно более низким генетическим разнообразием изучаемой популяции, которое, как мы считаем, является результатом взаимодействия между антропогенной и естественной субпопуляциями. В нижнем течении р. Цукановки показатели генетического разнообразия выше, чем в верхнем. Можно предположить, что это также связано с преимущественной ролью гидрохории в распространении дикой сои. Это предположение находит подтверждение в работе Zhu et al. [28], где неожиданно высокое (как пишут сами авторы) генетическое разнообразие описывае-

мой в ней популяции, по-видимому, можно объяснить тем, что популяция сформировалась и существует много лет в эстуарии р. Хуанхэ, и высокое генетическое разнообразие этой популяции возникло в результате гидрохории.

Применение коэффициента родства позволило оценить степень генетического сходства отдельных образцов как функцию расстояния между ними. При исследовании популяций дикой сои, в которых основным способом распространения является автохория, была показана четкая обратная зависимость значения коэффициента родства от расстояния [13, 14, 28, 29]. Положительные значения коэффициента родства наблюдались в этих популяциях на расстоянии до 30 м. В изученной нами популяции такая зависимость отсутствует. В данном случае анализ значений коэффициента родства позволил выявить три группы точек сбора образцов, в каждой из которых значение коэффициента родства было положительным между каждой парой точек внутри группы и отрицательным между точками из разных групп. Пространственное расположение этих групп показано на рис. 2. Видно, что расположение двух групп соответствует географической подразделенности изучаемой популяции — они образовались в верхнем и нижнем течении реки соответственно, в то время как третья группа занимает промежуточное положение. Мы предполагаем, что выявленный нами характер генетической подразделенности изучаемой популяции дикой сои свидетельствует о том, что географическая удаленность способствует выделению двух генетически обособленных субпопуляций, но вместе с тем между этими субпопуляциями происходит генетический обмен, что позволяет считать их относящимися к одной популяции. Доказательством этого мы счи-

Таблица 2

Параметры внутривидовой генетической изменчивости *G. soja*, произрастающей в долине р. Цукановка, вычисленные на основе данных ISSR-анализа

Субпопуляция	<i>n</i>	<i>n_a</i>	<i>n_e</i>	<i>H_e</i>	<i>I</i>	npl/общее количество локусов	P_{95} , %
Верхнее течение	70	1,2308 (0,4230)	1,1208 (0,2900)	0,1685 (0,1541)	0,1030 (0,1206)	30/130	23,08
Нижнее течение	90	1,3154 (0,4665)	1,1416 (0,2660)	0,1890 (0,1538)	0,1386 (0,1293)	41/130	31,54
Вся популяция	160	1,3615 (0,4823)	1,1210 (0,2573)	0,1761 (0,1417)	0,1233 (0,1086)	47/130	36,15

таем наличие третьей группы, которая, по нашему мнению, образовалась при смешении генофондов двух других групп в результате гидрорехии, зоохории и, возможно, антропохории.

Таким образом, как мы предполагали, в изученной популяции было обнаружено пониженное генетическое разнообразие по сравнению с ранее исследованными популяциями, произрастающими на территории юга Дальнего Востока РФ и Китая, поэтому считаем, что это в основном связано со взаимодействием между естественной и антропогенной субпопуляциями. Была показана роль мест взаимодействия субпопуляций различных фитоценозов в формировании пространственной генетической структуры популяции р. Цукановки.

A.V. Tikhonov, V.V. Martynov, D.B. Dorokhov

STUDY OF INTERACTION OF WILD SOYBEAN SUBPOPULATIONS (*GLYCINE SOJA*) IN THE VALLEY OF THE TSUKANOVKA RIVER IN THE SOUTH OF FAR EAST OF RUSSIA

A comparative study of the genetic structure of natural and anthropogenic populations of *G. soja* gives significant information about formation of different populations, and allows developing measures for preservation of unique natural gene bank of wild soybean, the species closely related to cultivated soybean. In this study, ISSR markers were used to carry out a comparative analysis of genetic structure of natural and anthropogenic subpopulations of *G. soja* for studying possible mutual influence of subpopulations of anthropogenic and natural phytocenosis on the formation of their genetic diversity and to study genetic structure of natural subpopulations of wild soybean in the contact places between the two types of cenoses. As a result, the characteristics that describe the genetic diversity of studied populations have been identified and the important role of an interaction between subpopulations of different phytocenoses on formation of the spatial genetic structure of population in the valley of Tsukanovka river has been demonstrated.

A.B. Tikhonov, D.B. Martynov, D.B. Dorokhov

ВИВЧЕННЯ ВЗАЄМОВПЛИВУ СУБПОПУЛЯЦІЙ ДИКОЇ СОЇ (*GLYCINE SOJA*) У ДОЛИНИ Р. ЦУКАНІВКИ НА ПІВДНІ ДАЛЕКОГО СХОДУ РОСІЇ

Порівняльне вивчення генетичної структури природних та антропогенних популяцій *G. soja* дає значну інформацію про шляхи формування різних популяцій і дозволяє розробляти заходи щодо збереження унікального природного банку генів дикої сої — близького родича культурної сої. В даній роботі за допомогою

ISSR-маркерів було проведено порівняльний аналіз генетичної структури природних і антропогенних субпопуляцій *G. soja* з метою вивчення можливості взаємовпливу субпопуляцій антропогенних та природних фітоценозів на формування їхньої генетичної різноманітності і визначення генетичної структури природних субпопуляцій дикої сої в місцях стикування двох типів ценозів. В модельній популяції визначено характеристики, що описують генетичну різноманітність цієї популяції, і показано важливу роль місць взаємодії субпопуляцій різних фітоценозів у формуванні просторової генетичної структури популяції в долині р. Цуканівки.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Флинт В.Е., Смирнова О.В., Зауольнова Л.Б., Ханина Л.Г., Бобровский М.В., Торопов Н.А., Мелехова О.П., Сорокин А.Г. Сохранение и восстановление биоразнообразия. — М.: Изд-во Науч. и метод. центра, 2002. — 157 с.
2. Скворцов Б.В. Дикая и культурная соя Восточной Азии // Вестн. Маньчжурии. — 1927. — № 9. — С. 35—43.
3. Дымина Г.Д., Горовой П.Г., Дейнеко Е.В. и др. Изучение географического распространения, особенностей экологии и генетического разнообразия популяций дикой сои (*Glycine soja* Siebold et Zucc.) на юге российского Дальнего Востока как элемента исследований по биобезопасности генетически модифицированной сои, устойчивой к гербициду фосфинотрицину // Современные направления борьбы с сорняками с использованием новых классов гербицидов и трансгенных растений, устойчивых к гербицидам. Сер. Генетическая инженерия и экология. — М., 2001. — 2. — С. 148—160.
4. Недолужко А.В., Дорохов Д.Б. Изучение биобезопасности генетически модифицированной сои в центре происхождения и разнообразия на Дальнем Востоке Российской Федерации // Цитология и генетика. — 2007. — № 3. — С. 72—85.
5. Недолужко А.В., Тихонов А.В., Дорохов Д.Б. Молекулярно-генетический анализ структуры популяций дикой сои (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) в антропогенных и естественных ландшафтах Приморского края // Генетика. — 2008. — 44, № 8. — С. 1—5.
6. Hymowitz T. On the domestication of soybean // Econ. Bot. — 1970. — 23. — P. 408—423.
7. Xu D.H., Abe J., Gai J.Y., Shimamoto Y. Diversity of chloroplast DNA SSRs in wild and cultivated soybeans: evidence for multiple origins of cultivated soybean // Theor. Appl. Genet. — 2002. — 105, № 5. — P. 645—653.
8. Kollipara K.P., Singh R.J., Hymowitz T. Phylogenetic and genomic relationships in the genus *Glycine* Willd. based on sequences from the ITS region of nuclear rDNA // Genome. — 1997. — 40, № 1. — P. 57—68.

9. Li Z., Nelson R.L. Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs // Crop Sci. 2001. — **41**. — P. 1337–1347.
10. Chen Y., Nelson R.L. Genetic variation and relationships among cultivated, wild, and semiwild soybean // Crop Sci. — 2004. — **44**. — P. 316–325.
11. Yu H., Kiang Y.T. Inheritance and genetic linkage studies of isozymes in soybean // J. Hered. — 1993. — **84**, № 6. — P. 489–492.
12. Yu H., Kiang Y. T. Genetic variation in South Korean natural populations of wild soybean (*Glycine soja*) // Euphytica. — 1993. — **68**. — P. 213–221.
13. Jin Y., He T., Lu B.-R. Fine scale genetic structure in a wild soybean (*Glycine soja*) population and the implications for conservation // New Phytol. — 2003. — **159**. — P. 513–519.
14. Jin Y., He T., Lu B.-R. Genetic spatial clustering: significant implications for conservation of wild soybean (*Glycine soja*: *Fabaceae*) // Genetica. — 2006. — **128**. — P. 41–49.
15. Dorokhov D.B., Ignatov A., Deineko E., Serjapin A., Ala A., Skryabin K. Potential for gene flow from herbicide-resistant GM soybeans to wild soya in the Russian Far East // Introgression from genetically modified plants into wild relatives. — Wallingford : CAB International, 2004. — P. 151–161.
16. Kuroda Y., Kaga A., Tomooka N., Vaughan D.A. Population genetic structure of Japanese wild soybean (*Glycine soja*) based on microsatellite variation // Mol. Ecol. — 2006. — **15**, № 4. — P. 959–974.
17. Wang K.J., Takahata Y. Preliminary comparative evaluation of genetic diversity between Chinese and Japanese wild soybean (*Glycine soja*) germplasm pools using SSR markers // Genet. Res. Crop Evol. — 2007. — **54**, № 1. — P. 157–165.
18. Сеитова А.М., Игнатов А.Н., Супрунова Т.П., Цветков И.Л., Дейнеко Е.В., Дорохов Д.Б., Шумный В.К., Скрябин К.Г. Оценка генетического разнообразия дикорастущей сои (*Glycine soja* Siebold et Zucc.) в Дальневосточном регионе России // Генетика. — 2004. — **40**, № 2. — С. 224–231.
19. Edwards K., Johnstone C., Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis // Nucl. Acids Res. — 1991. — **19**, № 6. — P. 1349.
20. Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов // Генетика. — 1996. — **33**, № 4. — С. 443–450.
21. Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T. POPGENE. Microsoft Windows-based freeware for Population Genetic Analysis. Release 1.31. University of Alberta, Edmonton. 1999.
22. Miller M.P. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author. 1997.
23. STATISTICA 6.0 for Windows. 6.0, Statsoft Inc., Tulsa, OK, US. StatSoft I. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 1998.
24. Hardy O.J. Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterization of isolation-by-distance processes using dominant genetic markers // Mol. Ecol. — 2003. — **12**. — P. 1577–1588.
25. Hardy O.J., Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels // Mol. Ecol. — 2002. — Notes 2. — P. 618–620.
26. Kiang Y.T., Chiang Y.C., Kaizuma N. Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture // Japan J. Hered. — 1992. — **83**. — P. 325–329.
27. Ohara M., Shimimoto Y. Importance of genetic characterization and conservation of plant genetic resources: the breeding system and genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja*) // Plant Species Biol. — 2002. — **17**. — P. 51–58.
28. Zhu Weiyue, Zhou Taoying, Zhong Ming, Lu Baorong. Sampling strategy for wild soybean (*Glycine soja*) populations based on their genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure // Front. Biol. China — 2007. — **2**, № 4. — P. 397–402.
29. Тихонов А.В., Недолужко А.В., Мартынов В.В., Дорохов Д.Б. Изучение генетического разнообразия и пространственной структуры популяции дикой сои (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) вблизи села Екатериновка на юге Приморского края // Генетика. — 2011. — **47**, № 3. — С. 339–344.

Поступила 23.10.10