

ПОЛІМОРФІЗМ НОВИХ СОРТІВ СОЇ ЗА ДНК-МАРКЕРАМИ

Л. М. Присяжнюк, кандидат сільськогосподарських наук
Ю. В. Шитікова

І. О. Сігалова, кандидат сільськогосподарських наук
Український інститут експертизи сортів рослин

Представлено результати досліджень молекулярно-генетичного поліморфізму сортів сої МС-локусами – Satt 726, Satt 063, Satt 114, Satt 228 з метою їх диференціації та ідентифікації

Ключові слова: генетична різноманітність, ідентифікація сортів, SSR-маркери, генотипування

Соя (*Glycine max* (L.) Merril) займає одне з провідних місць як цінна білково-олійна культура в світі та Україні, широко використовується у кормовиробництві, переробній та харчовій промисловості. Генетичну різноманітність сортів сої даний час оцінюють за допомогою морфологічних ознак. Проте сучасні селекційні програми, які направлені на поліпшення сортів сої, включають встановлення особливостей її генетичного поліморфізму.

Соя, порівняно з багатьма видами сільськогосподарських рослин, має відносно низький рівень генетичної варіабельності. Розробка підходів до диференціації та ідентифікації сортів цієї культури актуальна для генетико-селекційних досліджень і захисту авторських прав. Як свідчать багаточисленні дослідження, у сої виявлено високий рівень поліморфізму за мікросателітними локусами (SSR). Основними перевагами використання маркерів на основі SSR є їх локус-специфічність, кодомінантна і багатоалельна природа та висока чисельність в геномі, що дає можливість ідентифікувати та проводити генотипування сортів. Такий підхід забезпечує підвищення ефективності експертизи сортів, оскільки результати цієї експертизи тісно пов'язані з проблемами об'єктивної оцінки сортового матеріалу.

Метою було дослідити молекулярно-генетичний поліморфізм нових сортів сої за допомогою SSR-маркерів з можливістю застосування цього аналізу для додаткової експертизи.

Матеріалом для дослідження слугували двадцять п'ять сортів сої культурної української та іноземної селекції, які були занесені до Державного реєстру сортів, придатних до поширення в Україні у 2016 р. Вибірка для досліджень вклю-

чала по 30 генотипів кожного сорту. Процедуру виділення ДНК з кожної окремої насінини проводили із застосуванням катіонного детергенту ЦТАБ, дворазовим очищенням сумішшю хлороформ-ізоаміловий спирт та розчином етанолу.

Молекулярно-генетичний поліморфізм сортів сої досліджували за допомогою ПЛР із специфічними праймерами за чотирма мікросателітними локусами (МС-локуси) – Satt 114, Satt 228, Satt 726, Satt 063.

Розділення продуктів ампліфікації проводили у 2% агарозному гелі. Розмір отриманих ампліконів визначали відносно маркера молекулярної маси із використанням комп'ютерної програми TotalLab v2.01.

Для характеристики генетичної структури досліджуваних сортів сої розраховували частоти детектованих алелів у межах кожного праймера. З метою оцінки ступеня ідентифікованої мінливості у популяції та визначення здатності маркера визначати різницю між генотипами розраховували PIC (polymorphism information content) – індекс поліморфності локусу.

Спроможність маркерної системи диференціювати досліджені сорти оцінювали на основі клас-терного аналізу. Групування сортів проводили за допомогою незваженого методу середніх зв'язків.

В результаті проведених досліджень отримані алелі специфічних розмірів в межах кожного МС-локусу (табл.).

Найбільшу кількість алелів із досліджуваних сортів виявлено у Satt 228 – 22 алеля, їх розмір становив від 207 до 269 п.н., найменшу для МС-локуса Satt 114 – 11 алелів, розмір яких варіював від 77 до 126 п.н. Згідно отриманих даних у певних сортів сої спостерігався внутрішньосортовий поліморфізм: за всіма досліджуваними МС-локусами у сорту 'Алінда', за локусами Satt 114, Satt 063 – у сорту 'Міленіум', за локусами Satt 063 та Satt 726 – у сорту 'Фуріо'. Таким чином, при застосуванні оцінки поліморфізму для створення молекулярно-генетичних формул сортів сої або встановлення їх автентичності потрібно

1. Алелі, ідентифіковані у сортів сої за МС-локусами

№ п/п	Назва локусу	Кількість алелів, шт.	Розмір алелів, п.н.	PIC
1	Satt 114	11	77; 82; 86; 92; 96; 98; 100; 110; 115; 123; 126	0,85
2	Satt 228	22	207; 212; 218; 221; 223; 226; 233; 234; 236; 237; 240; 242; 247; 248; 251; 255; 256; 260; 263; 265; 267; 269	0,94
3	Satt 726	19	188; 197; 200; 205; 209; 215; 220; 225; 229; 233; 240; 245; 250; 252; 255; 258; 268; 270; 275	0,93
4	Satt 063	18	105; 108; 112; 120; 127; 130; 133; 137; 140; 142; 145; 150; 154; 156; 162; 167; 180; 200	0,92

враховувати внутрішньосортний поліморфізм.

Ідентифіковані алелі рівномірно представлені у даній рослинній вибірці, що дало змогу отримати високі значення індексу поліморфності локусу, які коливалися у межах від 0,85 до 0,93, а в середньому становив 0,89.

Для диференціації досліджуваних сортів на основі результатів ПЛР аналізу за чотирма мі-

кросателітними маркерами проводили кластерний аналіз, який відображає генетичні дистанції між сортами. Результати ієрархічної класифікації в вигляді філогенетичного дерева наведено на рисунку. Таким чином, кластерний аналіз дав можливість виділити групи сортів, що найбільш подібні між собою – це сорти які знаходяться в одному кластері.

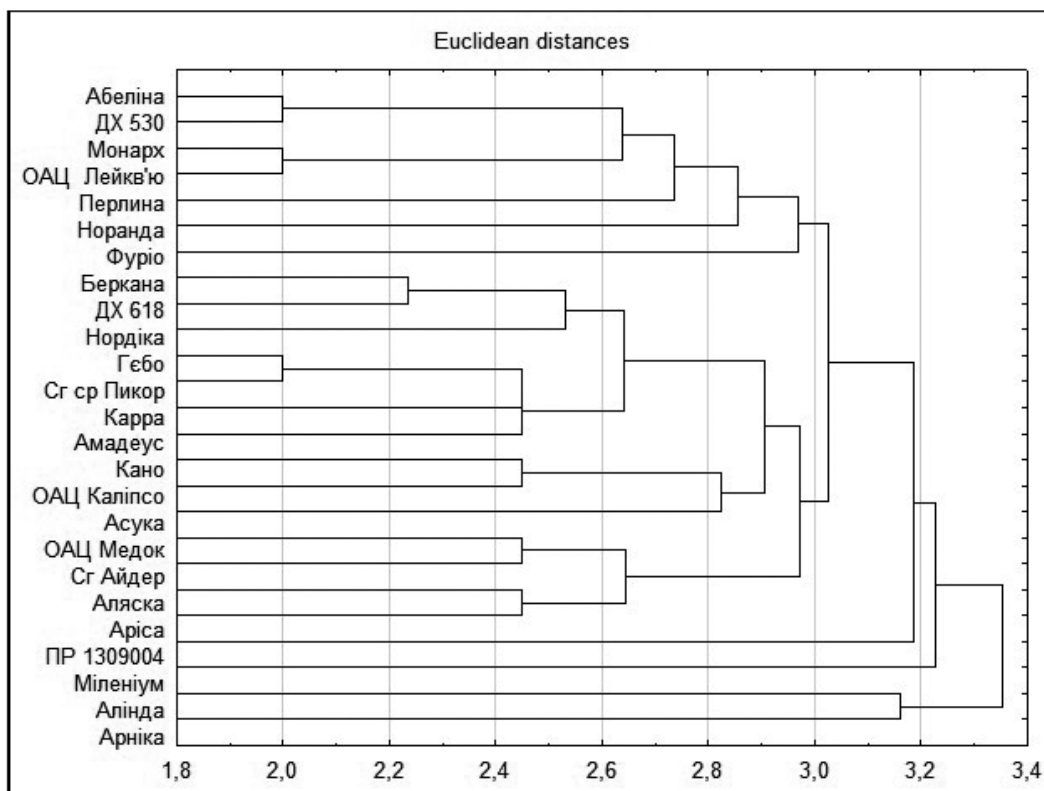


Рис.1. Розподіл сортів сої за ступенем спорідненості на основі ПЛР досліджень

На основі отриманої дендрограми визначені 9 кластерів за мікросателітними маркерами Satt 063, Satt 114, Satt 228 та Satt 726, які сформовані сортами 'Абеліна' та 'ДХ 530', 'Монарх' та 'ОАЦ Лейкв'ю', 'Беркана' та 'ДХ 618', 'Гебо' та 'Сг Ср Пікор', 'Кано' та 'ОАЦ Каліпсо', 'ОАЦ Медок' та 'Сг Айдер', 'Аляска' та 'Аріса', 'Алінда' та 'Арніка'.

Менш спорідненими за досліджуваними МС-локусами виявились сорти 'Алінда' та 'Арніка'. Більший рівень близькості показали сорти 'Кано' та 'ОАЦ Каліпсо', 'ОАЦ Медок' та 'Сг Айдер', 'Аляска' та 'Аріса', які за значеннями філогенетичних відстаней знаходяться на одному рівні. Слід звернути увагу, що сорти 'Карра' та 'Амадеус', що утворюють прилеглий кластер до сортів 'Гебо' та 'Сг Ср Пікор', проте між собою знаходяться на однаковому рівні близькості.

Сорти сої, які мають відмінності за генетичними маркерами Satt 063, Satt 114, Satt 228 та Satt 726 розташовуються в різних блоках кластерів, та найбільш віддалені один від одного.

Отже, для диференціації двадцяти п'яти досліджених сортів сої можна рекомендувати використання мікросателітних локусів Satt 114, Satt 228, Satt 726 та Satt 063.

За результатами виявленого молекулярно-генетичного поліморфізму отримано ряд алельних характеристик за мікросателітними локусами, що відображають генетичну структуру сортів. Результати цих досліджень були використанні для створення бази даних молекулярно-генетичного поліморфізму досліджених сортів сої з метою їх ідентифікації.