

УДК 633.853.52: 631.522:575:577.29

UDC 633.853.52: 631.522:575:577.29

4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические науки, сельскохозяйственные науки)

4.1.2. Plant breeding, seed production and biotechnology (biological sciences, agricultural sciences)

**ВНУТРИСОРТОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ
СОРТОВ СОИ НА ОСНОВЕ
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДНК**

**INTRA-VARIETY VARIABILITY OF SOYBEAN
VARIETIES BASED ON MICROSATELLITE
DNA LOCI**

Мотайленко Юлия Александровна
магистрантка
email: yuliamotailenko@yandex.ru

Motailenko Yulia Alexandrovna
graduate student
email: yuliamotailenko@yandex.ru

Самелик Елена Григорьевна
к.б.н, доцент
РИНЦ SPIN-код: 2733-8712
email: esamelik@yandex.ru
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Samelik Elena Grigoryevna
Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
RSCI SPIN code: 2733-8712
email: esamelik@yandex.ru
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

В статье рассмотрена целесообразное применение микросателлитных локусов на различных сортах сои. Приведены результаты исследований по внутрисортной изменчивости. Выявлены сорта, имеющие неоднородность

The article considers the expedient use of microsatellite loci on various soybean varieties. The results of studies on intraport variability are presented. We have also identified varieties with heterogeneity

Ключевые слова: СОЯ, ДНК-МАРКЕРЫ,
ПОЛИМОРФИЗМ, СОРТ, ЛОКУСЫ

Keywords: SOY, DNA MARKERS,
POLYMORPHISM, VARIETY, LOCI

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-194-008>

Введение. Соя – бобовая культура, которая является лидером по содержанию белка и масла в своих бобах. Содержание масла в бобе до 27%, доля крахмала достигает 30%, белка 50-52%, протеин сбалансирован по аминокислотному составу. Соевый белок имеет в своем составе лизин, который отлично усваивается животными в специализированных кормах [1]. Также бобы имеют огромное содержание кислот, витаминов различной группы. Ее называют культурой 21 века из-за своих уникальных качеств по биохимическому составу. Также соя является азотфиксатором, благодаря этому не требует дополнительных затрат для внесения удобрений. С каждым годом площади под посев соевых бобов увеличивают. В 2023 году посевные площади под данную культуру были увеличены и составляли 3,5 млн га. Это происходит из-за того, что соя остается одной из рентабельных культур на рынке. Благодаря своим уникальным показателям бобовая

<http://ej.kubagro.ru/2023/10/pdf/08.pdf>

культура превосходит большое количество технических культур, которые выращивают для получения масла. [1]. При возделывании бобовой культуры получают два полноценных урожая: белка и растительного масла. Поэтому селекционеры и генетики используют новейшие технологии для получения высокопродуктивных сортов и гибридов, которые будут устойчивы к различным факторам.

Наука не стоит на месте, с каждым годом активными темпами идет развитие современной селекции сои в различных направлениях. Выделяют большой спектр направлений таких, как: селекция на повышение урожайности, на иммунитет и толерантность к основным патогенам, на улучшение биохимического состава семян, на улучшение качества продукции. Все это направлено на получение селекционного результата-создание сорта, имеющего улучшенные показатели одного или несколько хозяйственно ценных признаков. Прежде всего, урожайность, которая будет стабильна по климатическим зонам, сроки посева, биохимический состав семян, устойчивость к различным факторам. В настоящее время селекционеры заинтересованы в создании инновационных сортов сои. Высокорослые сорта совмещают в себе качества продукта и высокие возможности селекции. Данные растения считаются первоклассными и удовлетворяют потребность клиентов. Преимущество таких сортов состоит в том, что у них меньше растрескиваются бобы, соответственно, снижение урожайности не происходит. Семена таких генотипов крупные имеют устойчивый и высокий показатель по белку. Такое направление селекции очень важно так, как из соевых бобов производят огромное количество продукции, кормов для животных, в которых соя отлично компенсирует дефицит белка. Без сои практически не возможно развитие животноводческого комплекса. Высокая соя содержит намного больше питательных веществ, белка и масла, чем обычная. Для выращивания такой уникальной культуры требуется определенный подход и необходимо

учитывать следующие показатели: выбор сорта, который будет устойчив к различным болезням и вредителям, а также обладать высокой продуктивностью; правильная обработка почвы; внесение удобрений, которые будут иметь сбалансированную дозировку; уход за растениями, нуждаются в дополнительном поливе и своевременной обработке от сорняков; правильное хранение зерна сои. Учитывая все особенности выращивания можно получить высокие показатели урожайности и качества высокой сои.

Бобовая культура является одним из продуктов «здоровой» кухни, которая набирает популярность среди населения страны и мира. Поэтому очень важно производить экологически безопасную продукцию.

В настоящее время ученые-генетики активно ведут работы по выявлению внутрисортной изменчивости сортов сои с помощью микросателлитных локусов ДНК [2]. Данный метод исследования позволяет за достаточно короткий промежуток времени получить достоверный результат. Во-первых, при помощи данных технологий можно не только определить полиморфизм, но и ряд различных заболеваний растений и многое другое. Тем самым обеспечить устойчивость сельскохозяйственных культур ко многим факторам, что уже существенно сократит затраты на различные диагностики [3].

Во-вторых, можно целенаправленно подбирать генотипы с ценными признаками или же выбраковывать образцы, которые не содержат нужных признаков. Что тоже немало важно при создании новых сортов и гибридов[2].

В-третьих, расширяются посевные площади, благодаря чему увеличивается общий валовый сбор, а также продукция становится намного качественной и более дешевой. Маркерные ДНК позволяют произвести паспортизацию и сертификацию сортов сои, которые не будут зависимы от морфологических признаков [2]. На любом этапе развития

растений можно получить результат при помощи ДНК технологий, которые на сегодняшний день значительно расширяются. Из-за этого процесс селекции ускоряется [3]. Микросателлитные последовательности распространены по всему геному сои. В них происходит накопление мутаций, это обуславливает высокий уровень полиморфизма. Для выявления внутрисортовой изменчивости достаточно правильно подобранных 4-6 микросателлитных локусов для различия сортов сои [3]. Современная технология способствует изучению структуры локуса, которая используется для идентификации различных сельскохозяйственных культур [2]. Генетическая однородность необходима для получения новых высокопродуктивных сортов и гибридов.

Для повышения гибридизации культур необходимо большое количество знаний о генетическом материале, степени родства сортов [1].

Учитывать однородность линий и гибридность семян в первом поколении. Все эти значимые вопросы в селекции и семеноводстве решают ДНК- технологии. Молекулярно-генетические маркеры не подвергаются фенотипической изменчивостью, это одно из главных преимуществ над морфологическими маркерами [3].

Цель исследования: Изучение генетической однородности сортов сои селекции ВНИИМК с использованием 9 микросателлитных локусов ДНК.

Задачи были следующие:

- изучение внутрисортового полиморфизма сортов сои по 9 микросателлитным локусам ДНК;
- подбор оптимальных условий проведения амплификации ДНК сои;
- проведение реакций амплификации ДНК сортов сои;

- анализ исследований и выводы

Материалы и методы исследований: В ходе нашей работы было отобрано 9 сортов сои селекции ВНИИМК, относящиеся к разным группам спелости. У раннеспелых сортов продолжительность межфазные периодов была наименьшей, что связано с индивидуальной особенностью.

Для выделения ДНК были использованы следующие приборы: электронные весы, которые использовались для приготовления навесок, различные дозаторы с разным объемом, колбы и пробирки, амплификатор, центрифуга, ламинарный бокс, термостат, морозильные камеры, хранящие образцы, наборы для проведения ПЦР реакций.

Стандартным методом была выделена генная ДНК из листьев и проростков сои. Листья были собраны с растений в фазу цветения. Проростки проращивались в рулонах фильтровальной бумаги в течение 7-ми дней в месте, лишенного света. Первым этапом выделения ДНК был клеточный лизис и гомогенизация образца. Второй этап заключался в добавлении фермента РНКазы. Третий этап включал в себя очищение нуклеиновой кислоты из клеточного лизата, для получения двухцепочечной ДНК осаждение проводили 70% спиртом.

Материал для работы составлял 100 мг растительной ткани, который выдерживали в кельвинаторе при -80°C в течение 2-х часов. После морозильной камеры приступали к процессу гомогенизации образцов, в каждый добавляли 1,5мл 500 мкл СТАВ-буфер для лизиса, 10мг/мл РНКазы, инкубировали при температуре $55-65^{\circ}\text{C}$, осадок ДНК должен плавать в спирте. Заключительным этапом являлось определение концентрации ДНК в агарозном геле, который длился 40 минут. Для реакций амплификации ДНК разбавляли до нужной концентрации.

Результаты исследований: Для каждого сорта сои применялся локус, который имел определенное число повторов и разное количество фрагментов. Это подтверждало высокополиморфность микросателлита.

Экспериментальным путем были подобраны оптимальные температуры отжига для каждого микросателлитного локуса, которые четко показывали на фореграмме наличие или отсутствие полиморфизма у определенного сорта. Более высокие температуры показали амплификационные фракции ДНК наиболее выраженными.

Сорт Фора по всем локусам оказался генетически однородным. Все фракции имели одинаковый размер по количеству пар нуклеотидов, это подтверждало отсутствие полиморфизма.

Исследуемый сорт Лада показал совсем другую картину. По локусу Satt2 один из фрагментов оказался отличным от других, он был большего размера. Свидетельствовало это о наличии полиморфизма (рисунок 1)

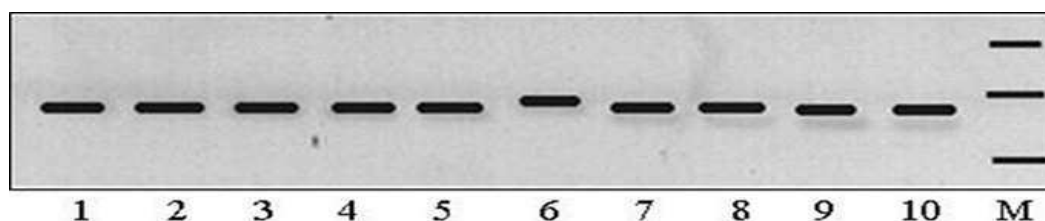


Рисунок 1. Свидетельствовало это о наличии полиморфизма

Материал, полученный в результате исследования по локусу Satt2.

Изменения по количеству пар нуклеотидов у данного сорта прослеживалось по локусу Satt9 (рисунок 2).

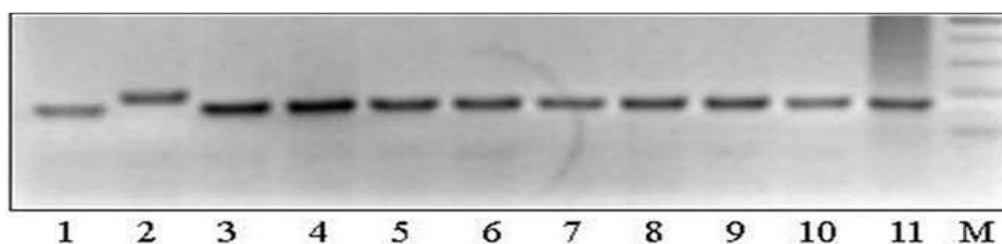


Рисунок 2. Фрагменты продуктов ПЦР

Неоднородность у Лады была выявлена по трем из девяти локусов. Таким образом, можно сделать вывод о том, что по изученным локусам внутрисортной полиморфизм имеется.

По локусу Soypr1 сорт сои Лада оказался мономорфным. На

электрофореграмме (рисунок 3) это отлично видно.

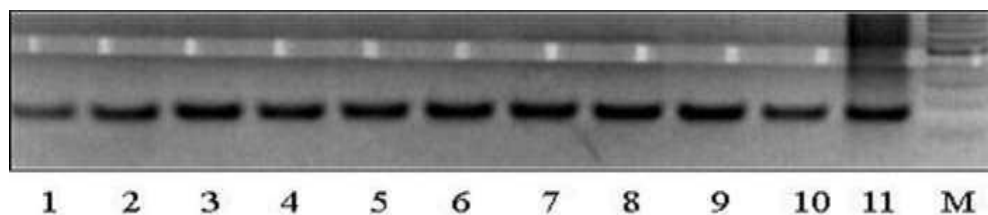


Рисунок 3. Электрофореграмма

У всех образцов фрагменты ДНК одного размера. Следовательно, по данному локусу не выявлен внутрисортной полиморфизм.

При изучении сорта Вилана по двум локусам он показал разные результаты. Satt9 не дал нужных результатов, то есть полиморфизм отсутствовал, а по локусу Soyp1 были образцы, которые отличались фрагментами от остальных.

У сербского сорта Видра идентифицировать полиморфизм удалось по локусу Satt5, неоднородность составила 30%. Индекс полиморфного содержания был наивысшим, этот показатель является одним из главных определяющих информативность микросателлитных локусов.

Выводы. Определение генетического разнообразия возможно быстро и точно при помощи маркирования определенных участков ДНК.

Благодаря микросателлитным локусам можно выявить полиморфизм у культуры, поэтому генетикам очень важно разрабатывать надежные и доступные технологии генотипирования. По SSR локусам можно получать уникальные профили ДНК, которые в дальнейшем будут использованы для паспортизации и сертификации сортов сои.

При помощи амплификации фрагментов ДНК удалось выявить у некоторых сортов генетическую неоднородность, а у других сортов определить выровненность.

Список литературы

1. Конарев А.В. Использование молекулярных маркеров в работе с генетическими ресурсами растений / А.В. Конарев // Сельхоз. Биол. –1998. – №5. – С. 3-23.
2. Рамазанова, С.А. Полиморфизм микросателлитных локусов ДНК сортов сои селекции ВНИИМК / С.А. Рамазанова, С.З. Гучетль, Т.А. Челюстникова, Т.С. Антонова // Сб. докл. межд. науч.-практ. конф. «Современные проблемы научного обеспечения производства подсолнечника» посвященной 120-летию со дня рождения академика В.С. Пустовойта, ВНИИМК, Краснодар, Россия, 19-22 июля 2006. – С. 234-239.
3. Пащенко И. А., Самелик Е. Г. Генетическая паспортизация сортов сои на основе микросателлитных маркеров // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Сборник статей по материалам 77-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2021 год. В 3-х частях. Краснодар, 2022. С. 140-143.

References

1. Konarev A.V. Ispol'zovanie molekuljarnyh markerov v rabote s geneticheskimi resursami rastenij / A.V. Konarev // Sel'hoz. Biol. –1998. – №5. – S. 3-23.
2. Ramazanova, S.A. Polimorfizm mikrosatellitnyh lokusov DNK sortov soi selekcii VNIIMK / S.A. Ramazanova, S.Z. Guchetl', T.A. Cheljustnikova, T.S. Antonova // Sb. dokl. mezhd. nauch.-prakt. konf. «Sovremennye problemy nauchnogo obespechenija proizvodstva podsolnechnika» posvjashhennoj 120-letiju so dnja rozhdenija akademika V.S. Pustovojta, VNIIMK, Krasnodar, Rossija, 19-22 ijulja 2006. – S. 234-239.
3. Pashhenko I. A., Samelik E. G. Geneticheskaja pasportizacija sortov soi na osnove mikrosatellitnyh markerov // Nauchnoe obespechenie agropromyshlennogo kompleksa. Sbornik statej po materialam 77-j nauchno-prakticheskoi konferencii studentov po itogam NIR za 2021 god. V 3-h chastjah. Krasnodar, 2022. S. 140-143.