

Типування сортів сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.) за мікросателітним маркером *Satt100* гена *E7* фотоперіодичної чутливості

Н. Е. Волкова¹, Н. А. Мізерна²

¹Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннізнавства та сортовивчення, вул. Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна, e-mail: natavolki@ukr.net

²Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна

Мета. Провести типування сортів сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.) української та закордонної селекції за мікросателітним маркером *Satt100* гена *E7* фотоперіодичної чутливості. **Методи.** Виділення ДНК з проростків на колонках із сорбуючою мембраною; полімеразна ланцюгова реакція; горизонтальний гель-електрофорез; визначення розмірів продуктів ампліфікації за програмою «GelAnalyzer 2010a». **Результати.** За допомогою аналізу мікросателітного локусу *Satt100*, який є маркером гена *E7*, проведено типування 15 сортів сої. Встановлено наявність продуктів ампліфікації розміром 133, 149 та 168 п.н., що маркують рецесивний та домінуючий алелі гена *E7* відповідно. Усі досліджені сорти, крім сорту 'Одеська 150А', були гомогенними за мікросателітним локусом *Satt100*. Генотипи восьми сортів мали рецесивний алель *e7*, шести – домінуючий алель *E7*. Порівняли наявність певного алеля гена *E7* у генотипі сорту з належністю до групи стиглості. Відмічено зв'язок для сортів з вегетаційним періодом до 100 діб: усі чотири сорти цієї групи мали алель *e7* та для сортів із вегетаційним періодом понад 110 діб: для всіх чотирьох сортів цієї групи характерні фрагменти ампліфікації локусу *Satt100*, що маркують домінуючий алель. Із семи середньоранніх сортів чотири мали рецесивний алель *e7*, а три – домінуючий *E7*. Наведено інформацію про отримання різних науковцями фрагментів ампліфікації неоднакових розмірів, але при цьому виявлено тенденцію щодо зв'язку більш високомолекулярних фрагментів з домінуючим, а низькомолекулярних – з рецесивним алелем. **Висновки.** За результатами типування за мікросателітним маркером *Satt100* гена *E7* фотоперіодичної чутливості для 15 сортів сої визначено наявність рецесивного або домінуючого алеля гена *E7*. Для більшості зразків встановлено відповідність наявності певного алеля гена *E7* та тривалості вегетаційного періоду. Наявність фрагментів ампліфікації різного розміру, характерних для рецесивного алеля, свідчить про необхідність сиквенування та біоінформатичного аналізу фрагментів ампліфікації локусу *Satt100*.

Ключові слова: сорти сої культурної, вегетаційний період, маркер, ген, полімеразна ланцюгова реакція, гаплотип.

Вступ

Со́я культурна (*Glycine max* (L.) Merr.) має велике економічне та екологічне значення. Як одну з поширених культур її вирощують по всьому світу – від екватора до 50°N та 35°S широти. У Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні, станом на 02.10.2017 р. налічується 209 сортів сої різних груп стиглості для культивування в усіх областях [1].

На швидкість перебігу вегетативної фази онтогенезу (час між сходами і початком цвітіння *Ve-R1*) та перехід до генеративної фази (*R1-R8*) найбільше впливає такий чинник довкілля, як фотоперіод. Сою відносять до рослин короткого дня. Вона прийшла до нас із Східноазіатського центру походження культурних рослин. Тривалий день суттєво відтермінує цвітіння сої, рослини формують значну наземну масу і здебільшого не дозрівають. Тому площа вирощування кожного сорту обмежена надто вузьким діапазоном широти.

Со́я адаптувалася до різних широт через природне варіювання множинних генів і локусів, що контролюють час цвітіння та до-

Nataliia Volkova

<http://orcid.org/0000-0002-9333-4872>

Nataliia Mizerna

<http://orcid.org/0000-0001-6213-5216>

зрівняння. Ці гени й локуси взаємодіють і реагують на зміну умов навколишнього середовища, що великою мірою впливає не тільки на цвітіння та дозрівання, а й на морфологію рослин, урожайність і стресостійкість.

У культури сої визначено 10 основних генів, що контролюють час цвітіння та дозрівання: *E*-гени (*early*) *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E5*, *E6*, *E7*, *E8*, *E9* та ген *J* [2]. Вплив цих генів на цвітіння сої і роль у фотореакціях різні. Чотири з локусів ідентифіковано методами молекулярно-генетичного аналізу: *E1* кодує соєспецифічний потенціальний фактор транскрипції, *E2* – гомолог GIGANTEA GmG1a, *E3* і *E4* кодують фітохроми GmPhyA3 та GmPhyA2 відповідно [3]. Молекулярна основа локусу *E7* невідома. Ці гени контролюють тривалість фаз «сходи–цвітіння» та «цвітіння–дозрівання», сприймаючи неіндуктивний фотоперіод, тому їх можна назвати генами фотоперіодичної чутливості. Домінантні алелі затримують час цвітіння, тобто обумовлюють пізні цвітіння та дозрівання. Нечутливість або слабка чутливість до тривалості фотоперіоду обумовлюється рецесивними алелями [4, 5].

Розуміння молекулярних основ цих генів і локусів та їх прояву за різних умов навколишнього середовища важливе для визначення генотипових комбінацій, що забезпечать більший або стабільніший урожай у певному регіоні.

Вважають, що у поясі помірного клімату (територія України розташована в межах Північного помірного поясу) раннє цвітіння в поєднанні з тривалою репродуктивною стадією найкраще для цієї культури. З огляду на це ген *E7*, за результатами експресії якого вегетативна фаза подовжується, а цвітіння – затримується на 4–5 діб, є найкращим з-поміж усіх відомих генів саме через слабкий вплив на індукцію цвітіння. Суттєво підвищити врожайність насіння сої у разі подовження вегетації лише на 4–5 діб можливо пірамідуванням гена *E7* у генотипах скоростиглих сортів [6].

Таким чином, визначення наявності гена *E7* у генофонді сої й оцінювання його агрономічного значення є актуальним завданням. Пошук джерел гена *E7* з використанням гібридологічного аналізу ускладнюється через його слабкий ефект. Тому для такого пошуку слід використовувати молекулярні маркери.

Локус *E7*, досліджений на ізолініях ‘Narsoy’, тісно пов’язаний з *E1* і *T* (*pubescence color*, колір опушення) [7] та картований у 22,2 сМ-інтервалі на групі зчеплення С2 між мікросателітними локусами *Satt100* і *Satt460*, який також містить мікросателітний локус

Satt319 [8]. Отже, в межах регіону *E1-T-E7* визначено мікросателітні маркери *Satt460*, *Satt319* і *Satt100* гена *E7*.

Мета досліджень – провести типування сортів сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.) української та закордонної селекції за мікросателітним маркером *Satt100* гена *E7* фотоперіодичної чутливості.

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом досліджень були 15 сортів української та закордонної селекції: ‘Анатоліївка’, ‘Антарес’, ‘Аполон’, ‘Валюта’, ‘Васильківська’, ‘Київська 98’, ‘Мельпомена’, ‘Одеська 150А’, ‘Орія’, ‘Proteinka’ (Сербія), ‘Сяйво’, ‘Устя’, ‘Фарватер’, ‘Юг 30’, насіння яких надано відділом селекції, генетики та насінництва бобових культур Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннезнавства та сортовивчення, ‘Williams 82’ (США) отримано з колекції Soybean Germplasm Collection (United States Department of Agriculture, USDA, Agricultural Research Service, ARS, США).

Із суміші 10 проростків (п’ятидобових, етильованих) одержували ДНК з використанням набору для виділення рослинної геномної ДНК «Thermo Scientific GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit» (Thermo Scientific, США) згідно з інструкцією.

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили на термоциклері T100™ Thermal Cycler (BioRad, США) у такому режимі: 94 °C – 4 хв; 35 циклів – 94 °C – 40 сек., 58 °C – 1 хв, 72 °C – 1 хв 20 сек.; 72 °C – 2 хв. Реакційна суміш містила: 30 нг ДНК, 0,3 мкМ кожного праймера, 250 мкМ кожного дНТФ, 1,5 мМ MgCl₂, 0,75 од. Taq ДНК-полімерази, 1ЧПЛР буфер. ПЛР-аналіз супроводжували негативним (безматричним) контролем. Послідовність (5’-3’) праймерів: прямого – acctcattttggcataaa, зворотного – ttggaaaacaagtaataataaca [9].

Для розподілу продуктів ампліфікації використали метод горизонтального гелелектрофорезу в 3% агарозному гелі. Розмір продуктів ампліфікації визначали за програмою «GelAnalyzer 2010a» (ліцензія не потрібна).

Результати досліджень

З використанням ПЛР-аналізу мікросателітного локусу *Satt100*, що є маркером гена *E7*, провели типування 15 сортів сої (рисунок).

Отримано продукти ампліфікації локусу *Satt100* розмірами 133, 149 та 168 п.н. (таблиця). Усі сорти, крім сорту ‘Одеська 150А’, були гомогенними за геном *E7*.

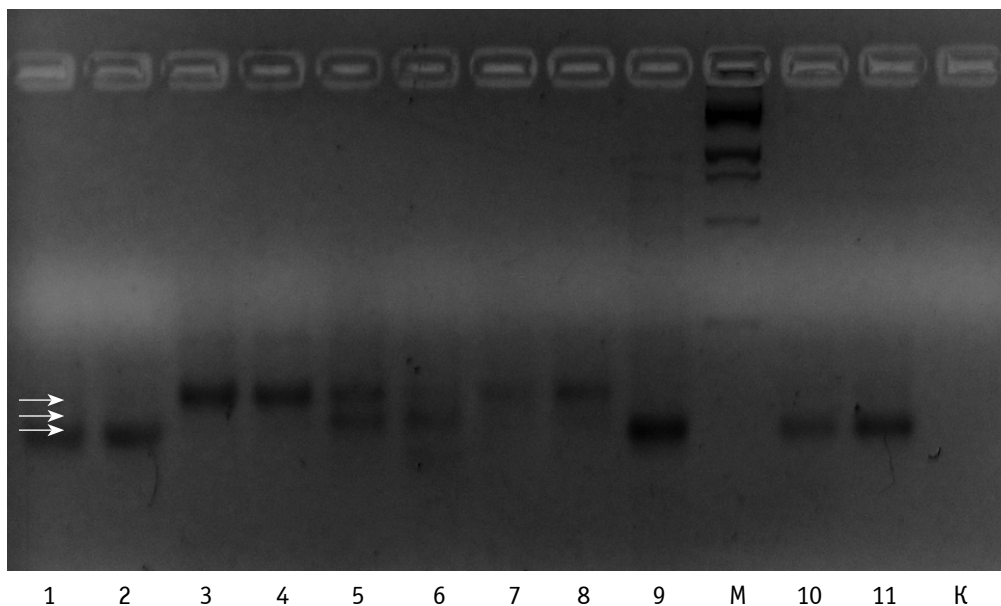


Рис. Электрофореграма розподілу продуктів ампліфікації мікросателітного локусу *Satt100* у сортах сої 'Васильківська' (1), 'Устя' (2), 'Сяйво' (3), 'Анатоліївка' (4), 'Одеська 150А' (5), 'Київська 98' (6), 'Орія' (7), 'Фарватер' (8), 'Валюта' (9), 'Антарес' (10), 'Юг 30' (11)

Примітка. М – маркер молекулярної маси М29 (СибЭнзим, РФ) (фрагменти 250, 500, 750, 1000 ... п.н.). К – негативний (безматричний) контроль ПЛР. Стрілками вказано (зверху донизу) фрагменти ампліфікації розмірами 168, 149, 133 п.н. відповідно.

За результатами молекулярно-генетичних досліджень [10] ліній сої сорту 'Наровоу', ізогенних за *E*-генами (лінія ОТ 94-47 має генотип *e1e2E3e4e5E7*, лінія ОТ 89-5 – *e1e2e3e4e5E7*, лінія ОТ 94-41 – *e1e2e3e4e5E7*), встановлено, що продукт ампліфікації мікросателітного локусу *Satt100* розміром 168 п.н. маркує домінуючий алель *E7* нечутливості до фотоперіоду, а розміром 133 п.н. – рецесивний алель *e7*. Також під час тестування 86 сортів сої отримано фрагменти ампліфікації інших розмірів – 115, 116, 143, 149 п.н. Фрагменти 143 і 149 п.н. розглядали як відповідні *e7*, тоді як ідентифікація алельної форми з 115 і 116-п.н.–продуктами потребує додаткових досліджень.

У таблиці сорти розташовано за групами стиглості. Порівнювали наявність певного алеля гена *E7* у генотипі сорту з належністю до групи стиглості. Зв'язок відмічено для сортів із вегетаційним періодом до 100 і понад 110 діб: для цих сортів характерні фрагменти ампліфікації локусу *Satt100*, що маркують рецесивний та домінуючий алелі відповідно. Серед семи середньоранніх сортів чотири мали рецесивний алель *e7*. Таким чином, спостерігали загальну тенденцію зміни в генотипах сортів рецесивного алеля *e7* на домінуючий алель *E7* із подовженням вегетаційного періоду.

Результати типування двох сортів – 'Устя' і 'Юг 30', що досліджено Rozenzweig із співав-

торами [10] й нами, збіглися щодо встановлення *e7*-генотипу. Проте розміри ампліфікації локусу *Satt100* були різними: 133 і 143 п.н. у дослідженні V. Rozenzweig із співавторами [10] та 149 п.н. у нашому для обох сортів: 'Устя' і 'Юг 30'. Аналогічні дослідження проведено під час типування 15 селекційних ліній сої Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН України [11, 12] та 23 батьківських сортів і відповідних ліній [13]. Авторами отримано фрагменти ампліфікації локусу *Satt100* розмірами 143, 149, 152, 168 п.н. та 145, 149, 182 п.н. відповідно.

Отже, в різних дослідженнях гена *E7* із використанням маркера *Satt100* (і тієї ж пари праймерів) отримано продукти ампліфікації різного розміру. Але при цьому виявлено тенденцію до зв'язку більш високомолекулярного фрагмента з домінуючим алелем, а низькомолекулярних фрагментів – із рецесивним. Можливо, делеція в локусі *Satt100*, що призводить до зменшення розміру фрагмента ампліфікації й, відповідно, зв'язку з рецесивним алелем, є функціональним маркером гена *E7*. Доцільно секвенувати фрагменти ампліфікації і провести біоінформатичні дослідження поліморфізму локусу *Satt100* та гена *E7*.

Слід зазначити, що у вищезгаданому дослідженні [10] алельний стан гена *E7* встановлювали за гаплотипом за двома мікроса-

Дані мікросателітного аналізу сортів сої за локусом *Satt100*

Сорт	Розмір фрагмента ампліфікації локусу <i>Satt100</i> , п.н.	Алель гена <i>E7 / e7</i>	Група стиглості	Тривалість вегетаційного періоду, дів
‘Устя’	149	<i>e7</i>	СКС*	до 90
‘Київська 98’	149	<i>e7</i>	РС*	91–100
‘Юг 30’	149	<i>e7</i>	РС**	
‘Аполон’	133	<i>e7</i>	РС*	
‘Валюта’	149	<i>e7</i>	СР*	101–110
‘Васильківська’	149	<i>e7</i>	СР*	
‘Фарватер’	168	<i>E7</i>	СР*	
‘Антарес’	149	<i>e7</i>	СР*	
‘Орія’	168	<i>E7</i>	СР*	
‘Сяйво’	168	<i>E7</i>	СР*	
‘Proteinka’	133	<i>e7</i>	СР**	
‘Анатоліївка’	168	<i>E7</i>	СС*	111–120
‘Одеська 150А’	149, 168	<i>E7 + e7</i>	СС*	
‘Мельпомена’	168	<i>E7</i>	СС*	
‘Williams 82’	168	<i>E7</i>	ПС (III)***	
				понад 130–140

Примітка. Сорт СКС – скоростиглий, РС – ранньостиглий, СР – середньоранній, СС – середньостиглий, ПС – пізньостиглий згідно із: * [1]; ** даними відділу селекції, генетики та насінництва бобових культур СГІ–НЦНС; *** супровідним документом Soybean Germplasm Collection (USDA, ARS, США).

телітними локусами *Satt100* і *Satt319*, який також зчеплений з геном *E7*. Це коректніше для висновку щодо алельного стану гена *E7*. Для підвищення прогнозуючого потенціалу системи маркерів *E*-генів також необхідно встановити гаплотипи за всіма генами фотоперіодичної чутливості.

Отже, наступними етапами дослідження мають бути біоінформатичний аналіз генів фотоперіодичної чутливості, сиквенування фрагментів ампліфікації різного розміру та порівняння їх з існуючими у базах даних нуклеотидних послідовностей, типування зразків сої за маркерами інших генів фотоперіодичної чутливості, порівняння з іншими ознаками (посухотолерантність, урожайність та ін.) і розроблення надійної маркерної системи. Молекулярно-маркерна селекція за геном *E7* й іншими, що контролюють час цвітіння і дозрівання рослин, та пірамідування певних алелів в одному генотипі розглядаються як необхідний етап селекції сої на підвищення врожайності.

Висновки

За результатами типування за мікросателітним локусом *Satt100*, що є маркером гена *E7* фотоперіодичної чутливості, для 15 сортів сої визначено наявність рецесивного або домінантного алеля гена *E7*. Для більшості зразків встановлено відповідність наявності певного алеля гена *E7* та тривалості вегетаційного періоду. Порівняння з результатами досліджень інших науковців свідчить про необхідність сиквенування та біоінформатичного аналізу фрагментів ампліфікації локусу *Satt100*.

Використана література

1. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2017 рік (чинний станом на 02.10.2017 р.). Київ : Алефа, 2017. С. 208–216.
2. Gupta S., Bhatia V., Kumawat G. et al. Genetic analyses for deciphering the status and role of photoperiodic and maturity genes in major Indian soybean cultivars. *J. Genet.* 2017. Vol. 96, Iss. 1. P. 147–154. doi: 10.1007/s12041-016-0730-2
3. Jia H., Jiang B., Wu C. et al. Maturity group classification and maturity locus genotyping of early-maturing soybean varieties from high-latitude cold regions. *PLoS ONE.* 2014. Vol. 9, Iss. 4. e94139. doi: 10.1371/journal.pone.0094139
4. Watanabe S., Harada K., Abe J. Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean. *Breed. Sci.* 2012. Vol. 61, Iss. 5. P. 531–543. doi: 10.1270/jsbbs.61.531
5. Kong F., Nan H., Cao D. et al. A new dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean. *Crop Sci.* 2014. Vol. 54, Iss. 6. P. 2529–2535. doi: 10.2135/cropsci2014.03.0228
6. Rosenzweig V., Goloenko D., Davydenko O., Shablinskaya O. Breeding strategies for early soybeans in Belarus. *Plant Breed.* 2003. Vol. 122, Iss. 5. P. 456–458. doi: 10.1046/j.1439-0523.2003.00874.x
7. Cober E. R., Voldeng H. D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to *E1* and *T*. *Crop. Sci.* 2001. Vol. 41, No. 3. P. 698–701. doi: 10.2135/cropsci2001.413698x
8. Molnar S. J., Rai S., Charette M., Cober E. R. Simple sequence repeat (SSR) markers linked to *E1*, *E3*, *E4*, and *E7* maturity genes in soybean. *Genome.* 2003. Vol. 46, No. 6. P. 1024–1036. doi: 10.1139/g03-079
9. SoyBase and the soybean breeder’s toolbox. Integrating genetics and molecular biology for soybean researchers. URL: <http://soybase.org>
10. Rozenzweig V., Aksyonova E., Milash S. et al. Prospects of exploiting of photoperiod sensitivity gene *E7* in early soybean breeding and revealing of its sources with SSR-markers. *Soybean Gen. Newsl.* 2008. Vol. 35. 7 p. URL: <https://www.soybase.org/sgn/articleFiles/61Rosenzweig081712%20-%2012-22-08%20-%20PDF%20-%20FINAL.pdf>
11. Жарікова Д., Войткова В., Чеботар С. та ін. Поліморфізм селекційних ліній сої визначений за молекулярним маркером *Satt100* до гена *E7* фотоперіодичної чутливості. Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату : матер. Всеукр. наук.-практ.

інтернет-конф. (м. Херсон, 9 грудня 2016 р.). Херсон, 2016. С. 52–54.

12. Zharikova D. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus, that involved in determination of time to flowering / Flash presentations. *Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics*. A Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section (Vilnius, 11–14 sept. 2017). Vilnius, Lithuania. URL: <https://www.eucarpia2017.lt/wp-content/uploads/2017/10/48-zharikova-01-report-12.09.17.pdf>
 13. Zharikova D., Ivanyuk S., Chebotar G. et al. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus. *Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics*. Book of Abstracts of the Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section. (Vilnius, 11–14 sept. 2017). Vilnius, Lithuania, 2017. P. 60.
- ## References
1. State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine in 2017. (2017). (pp. 208–216). Kyiv: Alefa. [in Ukrainian]
 2. Gupta, S., Bhatia, V., Kumawat, G., Thakur, D., Singh, G., Tripathi, R., ... Chand, S. (2017). Genetic analyses for deciphering the status and role of photoperiodic and maturity genes in major Indian soybean cultivars. *J. Genet.*, 96(1), 147–154. doi: 10.1007/s12041-016-0730-2
 3. Jia, H., Jiang, B., Wu, C., Lu, W., Hou, W., Sun, S., Yan, H., & Han, T. (2014). Maturity group classification and maturity locus genotyping of early-maturing soybean varieties from high-latitude cold regions. *PLoS ONE*, 9(4): e94139. doi: 10.1371/journal.pone.0094139
 4. Watanabe, S., Harada, K., & Abe, J. (2012). Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean. *Breed. Sci.*, 61(5), 531–543. doi: 10.1270/jsbbs.61.531
 5. Kong, F., Nan, H., Cao, D., Li, Y., Wu, F., Wang, J., ... Liu, B. (2014). A new dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean. *Crop Sci.*, 54(6), 2529–2535. doi: 10.2135/cropsci2014.03.0228
 6. Rosenzweig, V., Goloenko, D., Davydenko, O., & Shablinskaya, O. (2003). Breeding strategies for early soybeans in Belarus. *Plant Breed.*, 122(5), 456–458. doi: 10.1046/j.1439-0523.2003.00874.x
 7. Cober, E. R., & Voldeng, H. D. (2001). A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to *E1* and *T*. *Crop Sci.*, 41(3), 698–701. doi: 10.2135/cropsci2001.413698x
 8. Molnar, S. J., Rai, S., Charette, M., & Cober, E. R. (2003). Simple sequence repeat (SSR) markers linked to *E1*, *E3*, *E4*, and *E7* maturity genes in soybean. *Genome*, 46(6), 1024–1036. doi: 10.1139/g03-079
 9. *SoyBase and the soybean breeder's toolbox. Integrating genetics and molecular biology for soybean researchers*. Retrieved from <http://soybase.org>
 10. Rozenzweig, V., Aksyonova, E., Milash, S., Goloenko, D. V., & Davydenko, O. G. (2008). Prospects of exploiting of photoperiod sensitivity gene *E7* in early soybean breeding and revealing of its sources with SSR-markers. *Soybean Gen. Newsl.*, 35, 1–7. Retrieved from <https://www.soybase.org/sgn/article-Files/61Rosenzweig081712%20-%2012-22-08%20-%20PDF%20-%20FINAL.pdf>
 11. Zharikova, D., Voytkova, V., Chebotar, S., Ivanyuk, S., & Korniychuk, O. (2016). Polymorphism of soybean breeding lines revealed by molecular marker *Satt100* for *E7* gene of photoperiod sensitivity. In *Pidvyschennia efektyvnosti funktsionuvannia silskoho gospodarstva v umovakh zminy klimatu: materialy Vseukr. nauk.-prakt. internet-konferentcii* [Increasing the efficiency of agricultural operations under conditions of climate change: materials of All-Ukrainian Sci Internet Conf.] (pp. 52–54). Dec. 09, 2016, Kherson, Ukraine. [in Ukrainian]
 12. Zharikova, D. (2017). Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus, that involved in determination of time to flowering / Flash presentations. In *Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics*. A Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section. Sept. 11–14, 2017, Vilnius, Lithuania. URL: <https://www.eucarpia2017.lt/wp-content/uploads/2017/10/48-zharikova-01-report-12.09.17.pdf>
 13. Zharikova, D., Ivanyuk, S., Chebotar, G., Korniychuk, O., & Chebotar, S. (2017). Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus. *Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics*. Book of Abstracts of the Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section (p. 60). Sept. 11–14, 2017, Vilnius, Lithuania.

УДК 577.21:575.22:581.6

Волкова Н. Э.¹, Мизерная Н. А.² Типирование сортов сои культурной (*Glycine max* (L.) Merr.) по микросателлитному маркеру *Satt100* гена *E7* фотопериодической чувствительности // Plant Varieties Studying and Protection. 2017. Т. 13, № 4. С. 373–378. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.4.2017.117740>

¹Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноводства и сортоизучения, ул. Овидиопольская дорога, 3, г. Одесса, 65036, Украина, e-mail: natavolki@ukr.net

²Украинский институт экспертизы сортов растений, ул. Генерала Родимцева, 15, г. Киев, 03041, Украина

Цель. Осуществить типирование сортов сои культурной (*Glycine max* (L.) Merr.) украинской и зарубежной селекции по микросателлитному маркеру *Satt100* гена *E7* фотопериодической чувствительности. **Методы.** Выделение ДНК из ростков на колонках с сорбирующей мембраной; полимеразная цепная реакция; горизонтальный гель-электрофорез; определение размеров продуктов амплификации с использованием программы «GelAnalyzer 2010a». **Результаты.** С помощью анализа микросателлитного локуса *Satt100*, являющегося маркером гена *E7*, проведено типирование 15 сортов сои. Установлено наличие продуктов амплификации размером 133, 149 и 168 п.н., которые маркируют рецессивный и доминантный аллели гена *E7* соответственно. Все исследуемые сорта, кроме сор-

та 'Одесская 150А', были гомогенными по микросателлитному локусу *Satt100*. Генотипы восьми исследованных сортов имели рецессивный аллель *e7*, шести – доминантный аллель *E7*. Сравнили наличие определенного аллеля гена *E7* в генотипе сорта с принадлежностью к группе спелости. Отмечено связь для сортов с вегетационным периодом до 100 суток: все четыре сорта этой группы имели аллель *e7*, и для сортов с вегетационным периодом более 110 суток: для всех четырех сортов этой группы характерны фрагменты амплификации локуса *Satt100*, которые маркируют доминантный аллель. Среди семи среднеранних сортов четыре имели рецессивный аллель *e7*, а три – доминантный *E7*. Представлено информацию о получении разными учеными фрагментов амплификации неодинаковых

размеров, но при этом выявлено тенденцию связи более высокомолекулярного фрагмента с доминантным геном, а низкомолекулярных – с рецессивным геном. **Выводы.** По результатам типирования по микросателлитному маркеру *Satt100* гена *E7* фотопериодической чувствительности для 15 сортов сои определено наличие рецессивного или доминантного аллеля гена *E7*. Для большинства образцов установлено соответствие наличия определенного аллеля

гена *E7* и продолжительности вегетационного периода. Наличие фрагментов амплификации разного размера, характерных для рецессивного аллеля, свидетельствует о необходимости секвенирования и биоинформатического анализа фрагментов амплификации локуса *Satt100*.

Ключевые слова: сорта сои культурной, вегетационный период, маркер, ген, полимеразная цепная реакция, гаплотип.

UDC 577.21:575.22:581.6

Volkova, N. E.¹, & Mizerna, N. A.² (2017). Soybean cultivars (*Glycine max* (L.) Merr.) typing for *Satt100* microsatellite marker of *E7* gene of photoperiod sensitivity. *Plant Varieties Studying and Protection*, 13(4), 373–378. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.4.2017.117740>

¹*Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, 3 Ovidiopska doroga Str., Odesa, 65036, Ukraine, e-mail: natavolki@ukr.net*

²*Ukraine Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymtseva Str., Kyiv, 03041, Ukraine*

Purpose. Typing soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars of Ukrainian and foreign breeding for microsatellite marker *Satt100* of *E7* gene of photoperiod sensitivity. **Methods.** DNA recover from seedlings on columns with sorbing membrane; polymerase chain reaction (PCR); horizontal gel electrophoresis; amplification products size determination using “GelAnalyzer 2010a” program. **Results.** PCR analysis of the microsatellite locus *Satt100* to be the marker of the *E7* gene was used for typing 15 soybean cultivars. Availability of the 133, 149 and 168 bp amplification products has been established that marked recessive and dominant alleles of *E7* gene correspondingly. All varieties, except ‘Odeska 150A’, were homogeneous for the microsatellite locus *Satt100*. Genotypes of eight varieties has the recessive allele *e7*, six ones – the dominant allele *E7*. Availability of the certain allele of the *E7* gene was compared in variety genotype with belonging to the maturity group. The association was found for varieties with vegetation period up to 100 days: all four varieties of this group had the *e7* allele, for varieties with vegetation period more than 110 days: for all four varieties of this

group the *Satt100* locus amplification fragments that mark the dominant allele are specific. Among seven middle-aged varieties, four of them had the recessive allele *e7*, three of them – dominant allele *E7*. According to the presented information, some scientists obtained amplification fragments of different size, but the tendency was revealed concerning the association of the higher molecular fragments with the dominant gene, and the low molecular fragments with the recessive gene. **Conclusions.** Based on the results of typing of 15 soybean varieties for the microsatellite marker *Satt100* of *E7* gene of photoperiod sensitivity, it was determined availability of recessive or dominant allele of *E7* gene. For most samples, the concordance of availability of the certain allele of *E7* gene and the duration of the vegetation period was established. Availability of amplification fragments of different size to be specific for recessive allele testified the need for sequencing and bioinformatic analysis of the *Satt100* locus amplification fragments.

Keywords: soybean cultivars, vegetative period, marker, polymerase chain reaction, haplotype.

Надійшла / Received 16.10.2017

Погоджено до друку / Accepted 14.11.2017