

Поиск ДНК-маркеров к признаку содержание белка у сои: сравнительное исследование группы сортов

М.Г. Синявская^{1*}, А.С. Томашова¹, В.В. Александрович¹, О.П. Шатарнов¹, О.Г. Давыденко²

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

² ООО «Соя-Север», Минская область, п. Колодищи, Республика Беларусь

* m.siniauskaya@igc.by

Содержание белка в зерне у сои – один из важнейших параметров, характеризующий ценность генотипа (образца). Этот признак в значительной степени зависит от агрофона выращивания, но также имеется и генетическая основа для его развития, в той или иной степени. Прогрессу в исследованиях по поиску и созданию относительно высокобелковых урожайных сортов сои, как важнейшей сельскохозяйственной культуры несомненно будет способствовать и расширение представлений об изменчивости генов метаболизма азота у сои. Это гены утилизации нитрата – нитритредуктазы, нитратредуктазы, NO-синтаза взаимодействующего белка; гены, связанные с ассимиляцией аммонийного азота – глутаматдегидрогеназы, глутаминсинтазы, глутаматсинтазы; гены систем транспорта нитрата и аммония. Последовательности вышеописанных генов метаболизма азота у сои изучены слабо.

Цель: Исследовать последовательности генов, области генома, связанные с ассимиляцией азота (белка) у сои.

Материалы и методы: Изучены 30 сортов сои культурной (*Glycine max*) и 1 дикорастущий образец (*G. soja*), отобранные из коллекции лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Данные образцы различались по признаку «содержание белка», к каждому сорту прилагалось описание его агробиологических характеристик.

Проростки 7–10 дней, полевой материал сои были исследованы стандартными молекулярно-генетическими методами. Тотальная ДНК выделялась с набором АртДНК (ООО «АртБиотех»), дизайн праймеров к генам, связанным с азотным обменом у сои проведен с помощью primer blast и др. ПЦР по разработанным праймерным комбинациям была проведена с готовым премиксом ArtMix (ООО «АртБиотех»), проверка качества ампликонов, последующая очистка ампликонов и подготовка их к секвенированию проводилась по стандартным методикам. Секвенирование по Сэнгеру проводилось с набором Nimagen v3.1 (по протоколу производителя) на приборе Abi3500 (Applied Biosystems), анализ последовательностей после секвенирования – в программах ChromasPro, Benchling.

Результаты: Изучены кодирующие последовательности трех генов, которые имеют отношение к утилизации азота растением сои. Разработано 19 праймерных комбинаций для трех генов азотного обмена у высших растений (соя) – нитритредуктазы, нитратредуктазы и NO-синтаза ассоциированного белка. Отработаны условия полимеразной цепной реакции для 18 локусов, проведены секвенирование по Сэнгеру и биоинформатический анализ результатов секвенирования. Выявлены множественные отличия в последовательностях генов нитрит- и нитратредуктазы у образцов культурной сои и образца *Glycine soja*.

В 3'фланкирующей области гена нитритредуктазы у ряда сортов обнаружены динуклеотидная трансверсия АА-ТТ по сравнению с референсным сортом Williams 82, выясняется функциональная значимость изменений. Ведется дальнейшая работа по генам метаболизма азота у сои, разработаны и тестируются на вышеописанной выборке ДНК маркеры к генам глутаминсинтазы, глутаматсинтазы и др., а также к генам транспортеров нитрата и аммония.

Выводы: Обнаружены множественные отличия в последовательности ДНК культурной и дикорастущей сои по генам нитрит- и нитратредуктазы. У ряда сортов сои культурной в 3'фланкирующей области гена нитритредуктазы обнаружена динуклеотидная замена, функциональная значимость которой не ясна.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке по ГПНИ «Биотехнологии 2» 2021–2025 гг., подпрограмма 2 «Геномика, эпигеномика, биоинформатика», задание 2.10.7.