

**РАЗРАБОТКА И ТЕСТИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ
СЕЛЕКЦИИ СКОРОСПЕЛЫХ ФОРМ ГУАРА (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.)**
Шадрина В.В. (Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени
С.М. Кирова)
Научный руководитель – д.б.н., профессор Потокина Е.К.
(Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова)

Аннотация. Селекция скороспелых форм новой сельскохозяйственной бобовой культуры гуара (*Cyamopsis tetragonoloba*) представляет повышенный интерес для отечественной агроиндустрии, так как в эндосперме семян этого растения содержится полисахарид галактоманнан, известный под названием «гуаровая камедь», которая широко используется в пищевой, газовой и нефтяной промышленности. С целью поиска генов, влияющих на продолжительность вегетационного периода этой культуры в условиях выращивания на территории РФ, обширная выборка растений ранее была генотипирована методом RADseq, были идентифицированы SNP, ассоциированные с изменчивостью изучаемого признака, и разработаны соответствующие локус-специфичные молекулярные маркеры. В задачи данной работы входила верификация полученных молекулярных маркеров и проверка их эффективности для целей маркер-вспомогательной селекции скороспелых форм гуара.

Гуар (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) однолетнее бобовое растение, которое в регионах традиционного возделывания – Индии и Пакистане – широко используется в качестве кормового растения, источника белка и сидерата. Повышенный интерес к этому бобовому растению в последнее время возник из-за высокого содержания полисахарида галактоманнана (гуаровой камеди) в эндосперме его семян, способного при низких концентрациях гидратироваться в холодной воде с образованием вязкого коллоидного раствора – гуаровой камеди, используемой в качестве загустителей и стабилизаторов в пищевой, газовой и нефтяной промышленности. Потребность в гуаровой камеди растет как на внешнем, так и на внутреннем рынке, в связи с чем есть необходимость селекции скороспелых форм гуара для его успешного выращивания в южных регионах России.

Ранее обширная выборка растений гуара была генотипирована методом RADseq. По результатам полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) был предсказан набор SNP-маркеров, сцепленных с изменчивостью продолжительности вегетационного периода. Всего было выявлено 6 полиморфных локусов, соответствующих 6 различным контигам в референсной сборке генома гуара.

Для валидации SNP-маркеров было необходимо разработать локус-специфичные праймеры для проведения ПЦР с ДНК разных растений гуара с контрастным фенотипом, и затем подтвердить предсказанный *in silico* однонуклеотидный полиморфизм путем секвенирования полученных ПЦР продуктов по Сэнгеру. Праймеры ПЦР были спроектированы с использованием программы PrimerQuest. Последовательности праймеров были выровнены на референсную сборку генома с применением Bwa V.0.7.3, чтобы исключить отжиг за пределами целевого контига, и проверены с помощью UGENE v.39.0., используя соответствующий контиг в качестве целевой последовательности. Выборка растений, на которой тестировались маркеры, включала 16 генотипов гуара. Очистка продуктов магнитными частицами проводилась по протоколу Agencourt AMPure XP, подготовка к секвенированию осуществлялась с помощью BigDye Terminator v3.1., программа ПЦР и очистка с использованием ЭДТА 125мМ проводились по рекомендациям производителя.

В ходе исследования были успешно сконструированы локус-специфичные праймеры, позволяющие амплифицировать фрагменты геномной ДНК гуара, содержащие полиморфные локусы (SNP), ассоциированные с изменчивостью растений гуара по продолжительности

вегетационного периода. С помощью секвенирования по Сэнгеру получены последовательности ПЦР-продуктов, которые были выравнены на референсную сборку генома гуара. В ходе выравнивания полученных сиквенсов все целевые SNP, ранее предсказанные *in silico*, были подтверждены. Таким образом, разработанные молекулярные маркеры могут быть использованы при селекции новых сортов гуара, сроки вегетации которых будут соответствовать условиям возделывания этой культуры на территории Российской Федерации.

Шадрина В.В. (автор)

Подпись

Потокина Е.К. (научный руководитель)

Подпись