

Аллельный полиморфизм генов углеводного обмена у отечественных сортов картофеля с различающимся содержанием крахмала и редуцирующих сахаров в клубнях

Е.М. Сергеева¹, Д.И. Каретников¹, А.С. Батов², Ю.А. Гуреева², И.А. Сабоиев¹, К.Т. Ларичев¹, К.А. Колошина², Д.А. Афонников¹, Е.А. Салина¹, А.В. Кочетов¹

¹ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия

* sergeeva@bionet.nsc.ru

Цель: Картофель *Solanum tuberosum* является важной сельскохозяйственной культурой и одним из основных продуцентов крахмала. Такие признаки как содержание сухого вещества и крахмала в клубнях, а также уровень накопления редуцирующих сахаров в условиях хранения при температуре 4 °С, являются одними из ключевых, определяющих товарные качества картофеля и пригодность его к дальнейшей переработке. При этом селекция новых сортов картофеля с заданными признаками затруднена благодаря особенностям его геномной организации: культивируемые сорта являются автотетраплоидами ($2n = 4x = 48$) с высокой степенью гетерозиготности, также в геноме присутствуют многочисленные дубликации и вариации числа копий генов. Ранее 77 генов, участвующих в метаболизме углеводов в растении картофеля, были описаны и локализованы на референсной геномной последовательности *Solanum tuberosum* (Van Harsseelaar et al., 2017). Доступность нуклеотидных последовательностей различных сортов картофеля делает возможной разработку новых молекулярно-генетических маркеров для генотипирования гибридного и сортового материала. Целью работы является изучение аллельного полиморфизма генов углеводного обмена у сортов картофеля отечественной селекции; а также разработка CAPS-маркеров (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) для выявления вариантов, связанных с повышенным либо пониженным содержанием крахмала и редуцирующих сахаров в клубнях картофеля.

Материалы и методы: Растения 20 сортов картофеля отечественной селекции из коллекции ГенАгро СибНИИРС выращивали в полевых условиях в течение 2 вегетационных периодов. Проведен анализ содержания крахмала и сухого вещества в свежих клубнях, а также редуцирующих сахаров в тканях клубней после длительного (180 дней) хранения при температуре +4 °С. Для изучения аллельного полиморфизма генов углеводного обмена на первом этапе работы проведен *in silico* анализ последовательностей 9 генов (кодирующих крахмалсинтазы, АДФ-глюкозо-пирофосфорилазы, сахарозосинтазу, бета-амилазу, крахмалфосфорилазу) из геномов 15 отечественных сортов картофеля, секвенированных методом *Illumina* в рамках работ Курчатковского геномного центра. Множественное выравнивание последовательностей проводилось с использованием программы MEGAX. К консервативным областям экзонов с помощью программы Primer3 подобраны специфичные праймеры, ограничивающие полиморфный участок внутри ампликона, содержащий SNP либо индели. Рестриктазы, позволяющие выявить найденные полиморфизмы с помощью молекулярно-генетических методов, подобраны программой NEBuilder. Разработанные таким образом CAPS-маркеры были использованы для анализа 64 образцов ДНК, выделенных из сортов коллекции ГенАгро, либо полученных от ФИЦ Биотехнологии РАН.

Результаты: По результатам биохимического анализа сорта картофеля были разбиты на группы с высоким (>16%), средним (14–16%), и низким (<14%) содержанием крахмала в клубнях. Разработаны 27 пар ПЦР-праймеров к 9 генам углеводного обмена; подобраны рестриктазы, выявляющие выявлять 67 различных SNP/инделей внутри ампликонов. Протестированы 16 CAPS-маркеров на 64 сортах картофеля, их них 14 маркеров показали полиморфный спектр фрагментов рестрикции между образцами. 4 CAPS-маркера, разработанные для 4 различных генов, показали спектры фрагментов, различающиеся для сортов с высоким и низким содержанием крахмала в клубнях.

Выводы: Таким образом, CAPS-маркеры, разработанные на основе геномных *Illumina* последовательностей 15 отечественных сортов картофеля, позволяют выявлять полиморфные SNP/индели у анализируемой выборки образцов. Кроме того, 4 CAPS-маркера из 16 протестированных позволяют выявлять аллельные варианты генов (содержащие соответствующие SNP), предположительно связанные с повышенным содержанием крахмала в клубнях.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, № 25-26-20116, <https://rscf.ru/project/25-26-20116/>.