

Формирование панели ДНК-маркеров для молекулярно-генетического анализа коллекции сои на аллельное состояние генов, отвечающих за синтез и накопление запасных белков сои (*Glycine max* L.)

И.В. Стрембовский, П.Ю. Крупин*, М.Г. Дивашук

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

* pavel-krupin@yandex.ru

Цель: Белок сои (*Glycine max* L.) находит все большее применение в пищевой и кормовой промышленности, что стимулирует селекционеров создавать новые высокобелковые гибриды и сорта сои. Из-за ограниченности семенного материала элитных растений селекционерами проводится отбор по признаку белковости на основании косвенных признаков, а точное установление содержания белка в зерне возможно только в конце селекционного процесса, когда генотип сортообразца уже изменить нельзя. Дополнительно процесс отбора ограничивается недостаточным количеством известных генетических маркеров на данный признак – количество разработанных за последние 10 лет функциональных маркеров на белковость сои заметно уступает количеству маркеров на другие признаки. Существующие же массивы маркеров на белковость сои разрознены и требуют систематизации. Поэтому для поддержания селекции сои по признаку белковости мы поставили себе задачу сформировать на основании литературных источников набор генетических маркеров и панелей, нацеленных на известные гены и гены-кандидаты синтеза и накопления запасных белков сои.

Материалы и методы: На основании анализа литературных источников была создана база данных из 147 генетических маркеров на признак белковости сои и 5 панелей для генотипирования сои, имеющих ассоциированные с накоплением белка точки (SNP). Валидацию маркеров проводили биоинформатически с использованием программ *disey* и *Unipro UGENE* на коллекции из 57 сортов и 137 линий сои. Секвенирование коллекции проводилось короткими ридами на приборе *HiSeq 2500* (Illumina). Выделение ДНК осуществлялось из кончиков листьев двухнедельных растений, предварительно измельченных в ступке с добавлением жидкого азота. Для выделения ДНК использовался модифицированный протокол *Lizardi* и *Engelberg*, адаптированный для работы с высокобелковыми культурами. Качество выделенной ДНК определяли спектрофотометрически на приборе *Nano Drop One C* и с помощью электрофореза в агарозном геле.

Результаты: Для повышения выхода ДНК была проведена оптимизация используемого протокола выделения ДНК. Из включенных в базу данных 147 маркеров 19 были непосредственно сцеплены с генами двух основных фракций запасных белков семени сои: 14 маркеров на гены *GY1-GY7* глицинина (глобулин 11S) и 5 на гены *CG1-CG4* β -конглицинина (глобулин 7S). Набор из 16 маркеров базы был нацелен на 11 генов-регуляторов накопления белка (гены транспортных белков и ферментов), а набор из 94 маркеров – сцеплен с 42 QTL (*PO3-1* – *PO3-4*, *PO5-1* – *PO5-5* и т. д.), вовлеченных в накопление и синтез запасных белков сои. Отдельно было отобрано 18 маркеров на гены, продукт которых негативно влияет на качество (гены трипсина) или количество (ингибиторы синтеза, негативные регуляторы) накапливаемого белка. В базу данных маркеров также вошло 5 панелей (*SoySNP618K*, *Axiom SoyaSNP 96*, *SoySNP50K iSelect BeadChip*, *GenoBaits Soy40K*, *NJAU 355K SoySNP Array*) для генотипирования сои, содержащих ассоциированные с накоплением белка точки. По типу отобранных маркеров база состояла из 71 *InDel*, 29 *SCAR*, 22 *SSR*, 16 *KASP*, 6 *CAPS* и 3 *IRAP*-маркеров. На основании результатов валидации из всего массива отобран набор из 93 уникальных маркеров, нацеленных на наиболее значимые гены и QTL и потенциально пригодных для маркер-опосредованной селекции сои по признаку белковости. В дальнейшем планируется провести GWAS (Genome-wide association studies) анализ коллекции сои, выявить однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), ассоциированные с признаком белковости, и провести аннотацию областей генома вокруг обнаруженных SNP для выявления генов-кандидатов синтеза и накопления запасных белков сои для их последующего маркирования.

Выводы: Собранная база данных из 147 генетических маркеров и 5 панелей для генотипирования сои охватывает широкий спектр маркеров на признак белковости сои. Отдельно отобранный набор из 93 уникальных маркеров признан потенциально пригодным к применению в маркер-опосредованной селекции сои.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственное задание FGUM-2025-0009.