

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И.ВАВИЛОВА» (ВИР)

На правах рукописи

Архимандритова (Теплякова) Серафима Борисовна

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
научно-квалификационной работы (диссертации)

Динамика метаболомных изменений в онтогенезе гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) как показатель адаптационного потенциала исходного материала для селекции

Направление 03.02.07 Генетика

Направленность (профиль) 06.06.01 Биологические науки

Санкт-Петербург, 2022 г.

Работа выполнена в ЦКП «Лаборатория искусственного выращивания и оздоровления генофонда растений» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»; руководитель отдела – **Ухатова Юлия Васильевна**, кандидат биологических наук, заместитель директора по научно-организационной работе

(подпись)

Научный
руководитель:

Вишнякова Маргарита Афанасьевна,

доктор биологических наук, профессор, руководитель и главный научный сотрудник отдела генетических ресурсов зерновых бобовых культур Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова».

(подпись)

Рецензенты:

Перчук Ирина Николаевна,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биохимии и молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»

(подпись)

Крылова Екатерина Александровна,

научный сотрудник лаборатории постгеномных исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»

(подпись)

Оглавление

Введение.....	4
Методология и методы исследования.....	10
1. Изучение амплитуды фотопериодической реакции изучаемых генотипов гуара.....	14
2. Изучение динамики метаболомных изменений рано цветущих и поздно цветущих генотипов гуара.....	15
2.1. Профилирование полярных метаболитов рано и поздно цветущих генотипов гуара с помощью ГХ-МС-метаболомного анализа.....	15
2.2. Определение различий в метаболомном профиле рано и поздно цветущих генотипов гуара.....	17
2.3 Биомаркеры, ассоциированные с ускоренным переходом к цветению у растений гуара.....	20
2.4. ГХ-МС-метаболомный анализ 3-го настоящего листа рано и поздно цветущих генотипов гуара (повтор эксперимента).....	21
3. Транскриптомно-метаболомный анализ.....	23
3.1. Транскриптомная сборка гуара.....	23
3.2. Расчет дифференциальной экспрессии генов рано и поздно цветущих генотипов гуара.....	24
3.3. Интеграция метаболомных и транскриптомных данных с построением генетической сети.....	25
3.3.1. Лактоза и ген <i>BGAL17</i>	28
3.3.2. 4-кумарат (коричная кислота) и ген <i>4CL3</i>	28
3.3.3. D-глицерат и ген <i>GLYK</i>	29
3.3.4. Цитрат и ген <i>ACL</i>	29
3.3.5. S-малат и ген <i>NAD-ME1</i>	30
3.3.6. Мио-инозитол и ген <i>ATGOLS1</i>	30
3.4. Мио-инозитол как биомаркер времени цветения.....	31
Заключение.....	36
Список литературы.....	38
Список работ, опубликованных по теме выпускной квалификационной работы.....	46

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Гуар *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. - однолетнее бобовое растение, традиционно возделывается в Индии и Пакистане как кормовая и овощная культура, а также используется как зеленое удобрение (Kuravadi et al., 2012). Повышенный интерес к гуару во всем мире в последние годы объясняется высоким содержанием в его семенах полисахарида галактоманнана, способного при низких концентрациях гидратироваться в холодной воде с образованием вязкого коллоидного раствора – гуаровой камеди, используемой в качестве загустителя и стабилизатора в пищевой, газовой и нефтяной промышленности. Отмечается, что различные отрасли экономики России ежегодно испытывают потребность в не менее чем 15 тыс. тонн гуаровой камеди, которая в настоящее время восполняется исключительно за счет импорта. В этой связи интродукция сельскохозяйственной культуры гуара, создание новых сортов, биологическое испытание их в различных регионах Российской Федерации является актуальной и востребованной темой (Старцев и др., 2017).

Главным препятствием для успешного возделывания гуара в странах умеренных широт, является слишком растянутый период вегетации растений, из-за чего уборка затягивается до наступления осенних дождей, что негативно сказывается на урожае (Gresta et al., 2018). Продолжительность вегетационного периода и, следовательно, скороспелость, в первую очередь определяется фотопериодической чувствительностью (ФПЧ) растения. Родина гуара — Индия, Пакистан и, возможно, Африка (Whistler, Nymowitz, 1979), поэтому гуар – растение короткого фотопериода (Lubbers, 1987). Длина светового дня в период вегетации гуара в провинции массового возделывания этой культуры Джодхпур (Индия) варьирует от 12,7 до 13,8 ч. В Краснодарском крае, куда предпринимаются попытки интродуцировать гуар, длина светового дня в мае–июне варьирует в пределах 14,3-15,6 ч. Между тем, критическая длина фотопериода у разных сортов гуара варьирует от 12-13 ч до 13-15 ч; при более длинном световом дне растения переходят к цветению с

сильной задержкой, хотя встречаются и генотипы, слабо чувствительные к фотопериоду (Lubbers, 1987). Отбор таких слабо чувствительных к фотопериоду генотипов из всего доступного для селекции генетического разнообразия может решить проблему успешной интродукции гуара в умеренные широты, подобно тому, как отбор генотипов сои (*Glycine max* (L.) Merrill) со слабой ФПЧ позволил расширить ареал этой короткодневной бобовой культуры. Ее современной северной границей можно считать 56-ю параллель северной широты в РФ (Федорина и др., 2022).

Степень разработанности темы исследования. До сих пор селекцию гуара проводили традиционными методами, на базе изучения морфологических признаков: массы тысячи семян, числа ветвей, биохимических показателей семян (Manivannan et al., 2015), агробиологических показателей: устойчивости к низким температурам почвы (Gresta et al., 2018), повышенной/пониженной влажности (Singla et al., 2016; Suthar et al., 2018), длинному световому дню, и связи этих признаков с конкретными генотипами (Kumara et al., 2015; Lokesha and Shivashankar, 1990; Paroda and Mehrotra, 1976; Paroda et al., 1977; Kumar et al., 2013; Manivannan et al., 2015), а также путем мутагенеза (Singh and Agarwal, 1986).

Также предпринимались попытки изучения физиологии различных генотипов гуара, в зависимости от времени сева семян растений, при этом измерялись следующие физиологические показатели: скорость фотосинтеза, скорость транспирации, индекс площади листа (LAI) и значения SPAD (содержание хлорофилла) с аппроксимацией их на генотипы растений (Singla et al., 2016). Исследования в данной области скорее были направлены на описание значимых характеристик изучаемых генотипов, чем на поиск причин, обуславливающих связь детектируемых фенотипов и конкретных генотипов (Sultan, 2015). Для повышения эффективности селекции гуара и поиска наиболее адаптивных форм гораздо более существенный вклад может принести детальное исследование причин формирования определенного физиологического ответа в ответ на действие экологических факторов. В

целом, в литературе отмечается острая нехватка молекулярных и геномных исследовательских ресурсов для развития направления маркер-вспомогательной селекции гуара, в отличие от других видов зернобобовых культур (Boghara et al., 2016). Отдельные работы посвящены клонированию небольшого числа «генов интереса» у гуара, в частности, клонированию гена галактоманнан-синтетазы из тканей семядолей гуара (Dhugga et al., 2004), а также изучению EST (Expressed Sequenced Tags) – функциональных кодирующих последовательностей ДНК, контролирующих процесс синтеза галактоманнана (Naoumkina et al., 2007).

Своеобразным научным прорывом в геномных исследованиях этой культуры явилось использование «омиксных» технологий, в частности, недавно опубликованная статья о секвенированном транскриптоме гуара (Tanwar et al., 2017). 62 тысячи уникальных кодирующих последовательностей гуара были расшифрованы и аннотированы с точки зрения их возможных функций. Сообщается, что самую высокую степень сходства секвенированные последовательности гуара показали с ортологами в геноме сои (*Glycine max* L.).

Следующим этапом явилась публикация Rawal et al. (2017), посвященная ткане-специфичному анализу транскриптома гуара методом RNAseq с использованием секвенатора Illumina. Анализировались транскрипты генов, экспрессирующихся в листьях, побегах и цветке. 127706 транскриптов были секвенированы, по результатам анализа сформирована база данных ClustergeneDB (<http://14.139.229.201/clustergenedb>). доступная для использования.

В отношении метаболомных исследований гуара следует отметить, что GC-MS анализ семян гуара проводился для исследования лекарственных свойств гуара (Surendran and Vijayalakshmi, 2011). При этанольной вытяжке удавалось экстрагировать инозитол, гликопиранозид и стигмастерол (Surendran and Vijayalakshmi, 2011). В зависимости от использованных

растворителей удавалось детектировать присутствие разных веществ в семенах гуара (Jain, 2018).

Ранее не проводились работы по сравнению метаболомов разных генотипов гуара в условиях стресса, ни для тканей семян, ни для тканей листьев. Предшествовавшие работы по изучению метаболитов семян гуара скорее имеют значение для развития знания биохимии этой культуры, нежели для возможности использования метаболомных данных в селекции. У других культур, с использованием метаболомного подхода были определены факторы, связанные с устойчивостью к вредителям у моркови (Leiss et al., 2013), томатов (Mirnezhad et al., 2010), ячменя (Patterson et al., 2009). С помощью метаболомного профилирования был осуществлен поиск различий между генотипами картофеля (Dobson et al., 2009), клоповника Мейена (*Lepidium meyenii*), выращенных в разных условиях, и обладающих разными морфологическими признаками (Zhao et al., 2012).

В настоящее время метаболомика находит все большее применение в изучении реакции организма на абиотические стрессоры, включая как абиотические факторы, такие как температура, влажность, засоленность, фотопериодические циклы, так и биотические и антропогенные факторы (Bundy et al., 2009). Одним из биотических факторов, являющихся для растения важнейшим сигналом развития, является продолжительность светового дня. Ее изменение служит сигналом для инициации различных реакций в организме от цветения до прекращения периода вегетации (Goodacre et al., 2003). В нашем исследовании нам впервые удалось выявить метаболомный «отклик» растений гуара на стрессовый фактор среды (длинный световой день) и зарегистрировать связь между выявленным метаболомным откликом и последующим физиологическим ответом организма (задержка цветения) (Arkhimandritova et al., 2020).

Цель и задачи исследования. Целью работы является исследование динамики метаболомных изменений в онтогенезе гуара (*Cyatopsis tetragonoloba* (L.) Taub.), как показателя адаптивного потенциала исходного

материала для селекции. Для достижения цели планировалось выполнение следующих задач:

- 1) оценка фотопериодической чувствительности генотипов гуара в стрессовых условиях длинного светового дня,
- 2) проведение серии экспериментов по выявлению и анализу метаболических профилей различных генотипов гуара, отражающих физическое состояние растения в процессе его возделывания в нетипичных условиях,
- 3) выявление генетических факторов, связанных с особенностями формирования и динамикой метаболических профилей, зафиксированной в ходе онтогенеза растения, исходя из гипотезы о том, что именно эта динамика отражает физическое состояние растения, выращиваемого в стрессовых условиях.

Научная новизна исследования Впервые, на растительном объекте *Cyatopsis tetragonoloba*, апробирован современный методический подход к поиску исходного материала для селекции растений, основанный на интеграции результатов транскриптомного и метаболомного анализа исходного материала. Впервые для диагностики физиологического состояния и адаптивного потенциала были использованы результаты метаболомного профилирования рано и поздно цветущих генотипов гуара. По результатам метаболомного анализа была показана корреляция концентрации 7 ключевых метаболитов со сроками цветения гуара. Разработанные в ходе проведенных нами экспериментов метаболитные маркеры являются принципиально новым инструментарием для интенсификации селекции гуара, с помощью которого можно диагностировать способность растения сохранять нормальные ритмы развития в стрессовых условиях – на длинном световом дне. Была проанализирована генетическая составляющая изменчивости метаболомных профилей генотипов гуара с разной фотопериодической чувствительностью и выявлены гены-кандидаты, контролирующие инициацию цветения у гуара.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследования представляют интерес для нефте- и газодобывающей

промышленности, а также для семеноводческих компаний, нацеленных на создание нового вида продукции на сельскохозяйственном рынке - растительного сырья отечественного производства (гуаровой камеди), которое до сих пор не производилось на территории РФ, а полностью импортировалось из-за рубежа. Поиск, отбор и изучение форм, обладающих ценным для селекции признаком – слабой фотопериодической чувствительностью (ФПЧ), обеспечит возможность возделывать культуру гуара на территории РФ с получением большого количества вызревших семян. На этой—основе разработанных нами метаболитных маркеров становится возможной разработка тест-системы, диагностирующей пороговую концентрацию маркерных веществ в листьях растений, что обеспечит выявление фотопериодической чувствительности и адаптивного потенциала селекционного материала на ранних стадиях развития.

Положения, выносимые на защиту:

- Коллекция образцов гуара (ВИР) представляет высокое генетическое разнообразие и включает как рано цветущие, так и поздно цветущие образцы.
- Быстрый ранний запуск цветения обусловлен повышением концентрации хиро-инозитола (RI 1953), мио-инозитола (RI 2088), тетрановой кислоты (RI 2115), 3, 4-дигидрокси коричной кислоты (RI 2134), неидентифицированного гликозида (RI 2311), ликвиритигенина (RI 2437), неидентифицированного метаболита (RI 2364) в листьях.
- Ключевые метаболиты, обнаруженные в метаболомном профиле растений гуара при переходе их к цветению, могут использоваться в качестве биомаркеров, позволяющих быстро проводить скрининг селекционного материала на потенциально рано цветущие генотипы
- Генами-кандидатами, регулирующими фотопериодическую чувствительность гуара и его адаптивный потенциал при выращивании в стрессовых условиях, можно считать *BGAL17*, *ATGOLS1*, *4CL3*, *GLYK*, *ACLA-1*, *NAD-ME1*, *NADP-MDH*, *SDP1*, *ASP1*, *NIT4*, *ATSERAT2*. У рано цветущих генотипов гуара сверхэкспрессированы гены, кодирующие фосфатазы,

катализирующие дефосфорилирование мио-инозитолфосфатов. а все гены с пониженной экспрессией у рано цветущих кодируют фосфаткиназы, ответственные за фосфорилирование мио-инозитола.

Апробация результатов. Результаты исследований по диссертации были представлены на 5th International Scientific Conference “Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology” (PlantGen2019, June 24-29, 2019, Новосибирск; получен Диплом 2 степени), Международной конференции «125 лет ВИР и 125 лет прикладной ботаники в России» (25-28 ноября 2019 года, ВИР, Санкт-Петербург, устный доклад), на конференции молодых ученых «биотехнологии в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (7-8 апреля 2020 г., Москва и 27–29 октября 2020, Москва), на Международном Конгрессе «VII Съезд ВОГиС, посвященном 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированных симпозиумах (18-22 июня 2019 г., Санкт-Петербург; постерный доклад).

Методология и методы исследования.

Для исследования было отобрано 96 генотипов гуара различного географического происхождения из коллекции ВИР. В данном образце были представлены местные сорта из Индии, известные сорта из США (Кинман, Льюис, Санта Круз), а также сорта отечественной селекции (Вавиловский 130, Кубанский, Скороспелый, Синус, Батайский, Ростовский, Вектор). Гуар является строгим самоопылителем. Отобранные 192 образца гуара были размножены на Кубанской опытной станции ВИР (Краснодар, Россия). Семенную репродукцию собирали с каждого растения в отдельности. Таким образом, каждый образец настоящего исследования представлял собой потомство одного растения (далее – генотип).

В 2018 г. по 8 семян каждого генотипа высевали в почву в горшках в теплице Пушкинского филиала ВИР (Санкт-Петербургская область, 59°53'39" с.ш.), где растения выращивали в равных условиях освещенности, влажности и температуры. В ходе опыта растения не подвергались никаким агробиологическим обработкам.

Длина светового дня в летние месяцы в северных широтах составляет 18,6-17,6 ч. (июнь – июль), в виду этого оценка фотопериодической чувствительности 192 генотипов гуара разного географического происхождения коллекции генетических ресурсов ВИР производилась в крайне стрессовых для этой культуры условиях. Была дана фенотипическая оценка адаптационного потенциала (скорость генеративного развития в условиях длинного фотопериода). Для всех растений в эксперименте индивидуально отмечалась дата появления всходов, дата появления первого настоящего листа, дата появления первого бутона, дата распускания первого бутона (собственно цветение).

В исследовании была осуществлена серия экспериментов по выявлению и анализу метаболических профилей 82 наиболее контрастных генотипов гуара из 192 генотипов (в 2018 году) и 20 генотипов гуара из отобранных 82 генотипов (в 2019 году, повтор эксперимента).

Скрининг метаболомных профилей был осуществлен с помощью газового хроматографа (Agilent 6850, USA) с масс-спектрометром (Agilent 5975B, USA) не менее чем в трех биологических и трех технологических повторностях для каждого генотипа. Разметку пиков и расчет относительных концентраций соединений в пробе производили с использованием программного обеспечения UniChrome 5.0.19.1162 (www.unichrom.com). Методами полуколичественного (semiquantitative) анализа производили расчет относительных концентраций соединений по отношению к концентрации используемого внутреннего стандарта Трикозан (1 мкг/мкл) и массе навески образца. Идентификацию веществ проводили в программе AMDIS 32 (<https://chemdata.nist.gov/>) с помощью библиотеки NIST/EPA/NIH 08 Mass Spectral Library (<http://www.nist.gov/srd>), базы данных масс-спектрометрической информации, созданной в Ботаническом институте им. Комарова и базы данных GolmMetabolome (<http://gmd.mpimpgolm.mpg.de/analysisinput.aspx>). Статистическую обработку метаболомных данных проводили с использованием платформы онлайн-

анализа MetaboAnalyst 4.0 (<http://www.metaboanalyst.ca>) методами многомерной статистики (Chong et al., 2018).

Для дальнейшего поиска генов-регуляторов цветения у гуара, коррелирующих с метаболомным откликом, для 15 генотипов, был произведен транскриптомный анализ (РНК-сек, SP NovaSeq 6000, одностороннее прочтения 1x100 п.о.). Для изучения метаболома и транскриптома рано и поздно цветущих генотипов гуара в едином молекулярно-биохимическом состоянии (единый момент времени), третий настоящий лист каждого образца был разделен на две равные части, первая использовалась для транскриптомного анализа, вторая - для метаболомного (Рис. 1). Образцы были собраны в 2019 году на стадии развития, предшествующей цветению,

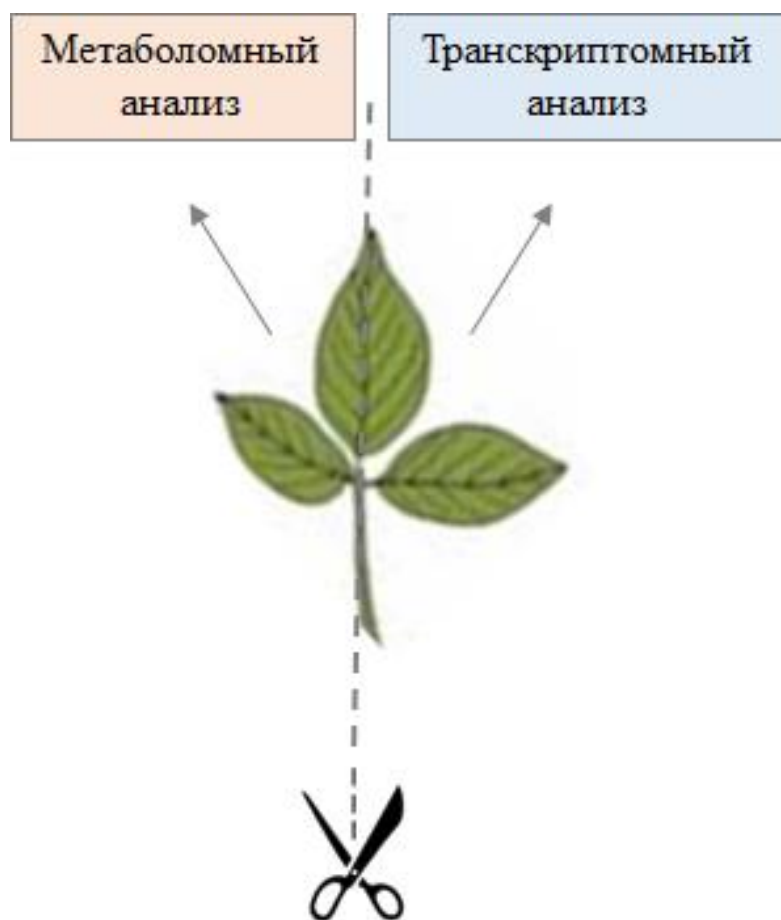


Рис. 1. Схема взятия материала третьего настоящего листа гуара для транскриптомно-метаболомного эксперимента, проведенного в 2019 году.

Сборка транскриптома de novo произведена с помощью инструмента Trinity V. 2.8.5. Дифференциальная экспрессия генов оценивалась с помощью

пакета DESeq2 V. 1.26.0 R (Love et al., 2014) с использованием статистической модели, учитывающей различия между двумя группами гуара. Для построения метаболомно-транскриптомной геновой сети была использована онлайн-программа Shiny GAM (<https://artyomovlab.wustl.edu/shiny/gam/>) (Sergushichev et al., 2016) на основе оценки графов.

1. Изучение амплитуды фотопериодической реакции изучаемых генотипов гуара

По результатам фенотипической оценки 192 генотипов гуара, были выявлены фотопериодически чувствительные (поздно цветущие) (рис. 2, группа № 4 и 5) и нечувствительные (рано цветущие) формы, способные перейти к цветению вне зависимости от продолжительности длины светового дня (рис. 2, группа №1 и 2) при длине светового дня 17-18 ч и 12-13 ч соответственно. При этом также выделилась промежуточная группа растений, у которых переход к бутонизации был зафиксирован при 15-и часовом световом дне (рис. 2, группа № 3).

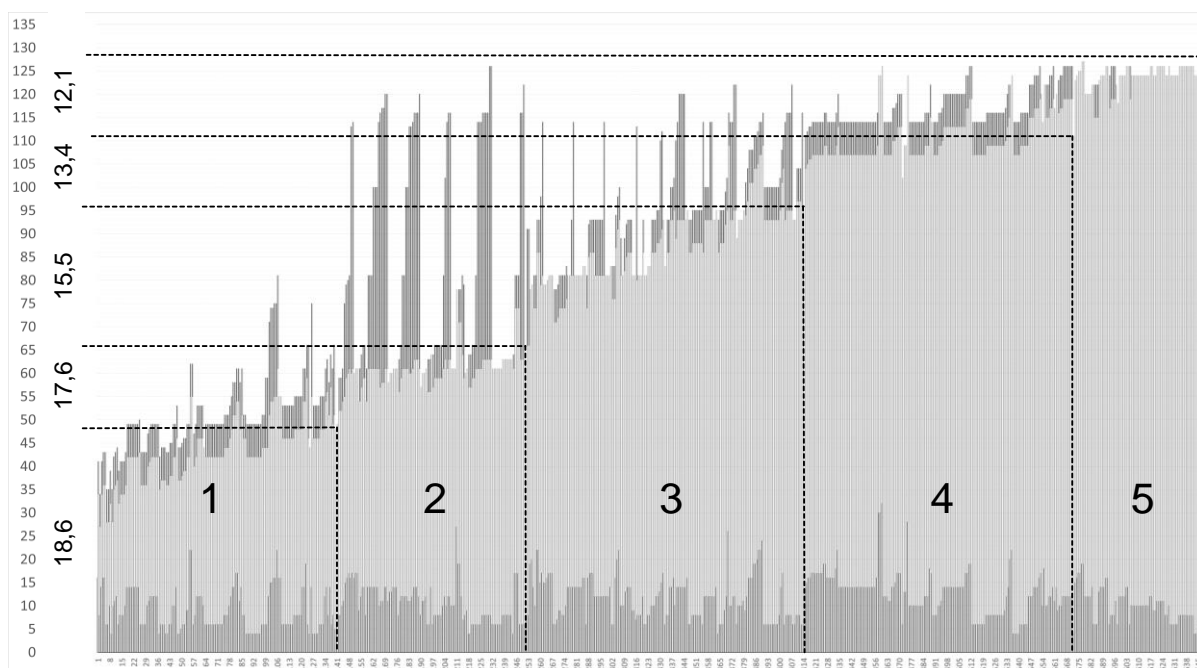


Рис. 2. Распределение генотипов гуара по группам №1-5 в зависимости от продолжительности этапов генеративного развития и чувствительности к фотопериоду. По горизонтальной оси расположены исследуемые генотипы гуара (в 7-8 биологических повторностях), результаты представлены для каждого растения (645 растений). По вертикальной оси отложены дни развития, начиная от даты всходов. Пунктирная линия отображает границы групп (значения длины светового дня приведены для каждой из групп). Серым цветом для каждого растения отмечен период развития от всходов до появления первого настоящего листа, светло-серым цветом – период от появления первого настоящего листа до формирования бутона, темно-серым цветом – период от формирования бутона до его распускания

Было отобрано 82 наиболее контрастных по признаку фотопериодической чувствительности генотипа: 30 нечувствительных (рано цветущие) генотипов гуара, способных к запуску генеративного развития (образованию бутонов) вне зависимости от продолжительности длины светового дня ($41 \pm 1,8$ день от появления первого настоящего листа до начала бутонизации) и 52 фотопериодически чувствительных (поздно цветущие) генотипов гуара ($95 \pm 1,7$ дней от появления первого настоящего листа до начала бутонизации).

2. Изучение динамики метаболомных изменений рано цветущих и поздно цветущих генотипов гуара

2.1. Профилирование полярных метаболитов рано и поздно цветущих генотипов гуара с помощью ГХ-МС-метаболомного анализа

Хроматографический анализ был проведен для отобранных 82 генотипов гуара, каждый из которых был представлен в 4-6 биологических повторностях. Было проанализировано не менее 3 технологических повторностей для каждой биологической повторности. Всего для каждого образца было детектировано не менее 244 веществ. Из общего числа всех детектированных метаболитов было идентифицировано 105 метаболитов, включая аминокислоты, сахара, гликозиды и сахароспирты, флавоноиды, жирные кислоты и органические кислоты.

По результатам метаболомного анализа зафиксированного третьего настоящего листа каждого генотипа гуара – стадии, предшествовавшей цветению гуара – было выявлено различие в концентрации 65 соединений у рано и поздно цветущих генотипов гуара (Табл. 1).

Таблица 1. 65 метаболитов, концентрация которых достоверно значимо различается между двумя группами рано цветущих и поздно цветущих генотипов гуара

№	Metabolite	p.value	$-\lg(p)$	FDR	Match	RI	RT (min)
1	Valine (2TMS)	* ²	4.9476	*	888	1210	12.7

2	Leucine (2TMS)	*	5.0271	*	893	1266	14.56
3	Glycerol (3TMS)	*	4.7319	*	943	1272	14.74
4	Butanoic acid, 4-amino- (2TMS)	*	8.4111	*	795	1294	15.96
5	Glyceric acid (3TMS)	*	5.1012	*	924	1325	16.47
6	Fumaric acid (2TMS)	*	4.3585	*	939	1350	17.19
7	Serine (3TMS)	*	7.4173	*	945	1356	17.48
8	Threonine (3TMS)	*	8.0893	*	928	1381	18.27
9	NA ¹	*	7.4123	*	<700	1431	19.86
10	Malic acid (3TMS)	*	5.009	*	955	1492	21.75
11	Butanoic acid, 4-amino- (3TMS)	*	11.456	*	837	1525	22.72
12	Malic acid, 3-isopropyl-, threo- (3TMS)	*	4.6907	*	780	1567	23.96
13	Arabitol (5TMS)	*	7.7387	*	903	1720	28.34
14	Lyxonic acid (5TMS)	*	8.0682	*	791	1747	29.04
15	NA	*	9.2616	*	<700	1762	29.44
16	Glutamine, DL- (3TMS)	*	7.6108	*	868	1770	29.68
17	NA	*	4.8582	*	<700	1780	29.94
18	SugarNA	*	5.2923	*	<700	1799	30.48
19	Citric acid (4TMS)	*	10.272	*	955	1819	30.94
20	SugarNA	*	10.294	*	<700	1823	31.56
21	NA	*	6.714	*	<700	1856	31.91
22	NA	*	4.5188	*	<700	1874	32.3
23	NA	*	8.4111	*	<700	1886	32.63
24	D-Xylopyranose (4TMS)	*	4.3174	*	<700	1888	32.7
25	α -Mannofuranose (5TMS)	*	11.451	*	<700	1896	32.97
26	Chiro-Inositol (6TMS)	*	18.098	*	756	1953	34.39
27	β -D-Galactopyranoside (4TMS)	*	7.3387	*	<700	1981	35.01
28	Myo-Inositol (6TMS)	*	16.488	*	886	2088	37.56
29	NA	*	12.079	*	<700	2091	37.67
30	Tetronic acid (TMS)	*	14.064	*	672	2115	38.15
31	Cinnamic acid, 3,4- dihydroxy (3TMS)	*	14.241	*	885	2134	38.54
32	NA	*	12.823	*	<700	2163	39.18
33	Octadecadienoic acid, n- (1TMS)	*	14.008	*	878	2213	40.33
34	GlycosideNA	*	14.606	*	<700	2311	42.53
35	SugarNA	*	6.6642	*	875	2315	42.52
36	NA	*	8.1334	*	<700	2357	43.46
37	NA	*	12.004	*	487	2358	43.45
38	Sugar NA	*	9.7115	*	<700	2373	43.75
39	Sugar NA	*	8.0369	*	<700	2374	43.75

40	Sugar NA	*	5.303	*	<700	2378	43.82
	Glucose-6-phosphate	*					
41	(6TMS)	*	11.629	*	809	2389	44.05
42	SugarNA	*	12.528	*	<700	2396	44.46
43	Liquiritigenin	*	14.446	*	<700	2437	45.08
44	Sugar NA	*	6.6187	*	721	2510	46.47
	Thymol- β -D-						
45	glucopyranoside (4TMS)	*	11.682	*	<700	2523	46.73
46	NA	*	9.8673	*	<700	2546	47.12
	α -D-Glucopyranoside- β -D-						
47	fructofuranosyl (8TMS)	*	9.3933	*	<700	2589	47.99
48	Sucrose (8TMS)	*	11.246	*	928	2634	48.85
49	NA	*	9.7399	*	<700	2646	49.06
50	Maltose	*	9.3483	*	773	2694	49.97
51	SugarNA	*	11.208	*	<700	2706	50.17
	D-Glucopyranose- β -D-						
52	galactopyranosyl (8TMS)	*	10.117	*	<700	2729	50.26
53	SugarNA	*	10.37	*	<700	2744	50.38
54	Scopolin (4TMS)	*	11.157	*	<700	2780	51.74
55	NA	*	5.6328	*	<700	2804	51.95
	D-Glucose- β -D-						
56	glucopyranosyl (8TMS)	*	8.9066	*	<700	2827	52.73
57	Sugar NA	*	10.617	*	<700	2844	53.58
58	D-Turanose (6TMS)	*	4.6639	*	<700	2875	53.74
	D-Fructose- α -D-						
59	glucopyranosyl (8TMS)	*	11.434	*	<700	2921	53.86
60	Sugar NA	*	4.9176	*	<700	2933	54.16
61	Maltose (8TMS)	*	6.1898	*	<700	2955	54.34
62	Melibiose (8TMS)	*	8.4685	*	<700	2977	54.62
63	Sugar NA	*	7.2345	*	<700	2992	55.24
64	Lactose (8TMS)	*	4.5843	*	<700	3032	55.56
65	NA	*	5.447	*	<700	3071	56.42

2.2. Определение различий в метаболомном профиле рано и поздно цветущих генотипов гуара

Затем была осуществлена кластеризация 82 генотипов гуара в соответствии с профилями 65 метаболитов с использованием тепловой карты. Как и ожидалось, рано цветущие и поздно цветущие генотипа гуара разделились на два отдельных кластера (рис. 7). Было несколько исключений: генотипа с ID 4, 13, 43, ранее признанные поздно цветущими, включились в группу рано цветущих. Фактически, метаболомный профиль ID 43 выглядит

идентично таковому в группе поздно цветущих (рис. 7). Растения генотипов ID 4 и ID 13 были поражены патогенами после сбора образцов листьев, поэтому они могли быть неправильно фенотипированы из-за пропущенных первых бутонов.

Метаболомный профиль рано цветущих генотипов гуара включал группу метаболитов с более высокой относительной концентрацией по сравнению с поздно цветущими генотипами. Среди них было идентифицировано 2 сахароспирта, 8 сахаров, 2 гликозида, 5 органических кислот, 1 флавоноид, 1 жирная кислота и 4 неидентифицированные молекулы (рис. 7, кластер 1). Вторая группа метаболитов, относительная концентрация которых была значительно повышена у поздно цветущих, включала 2 сахароспирта, 20 сахаров, 1 гликозид, 6 органических кислот, 5 аминокислот, 8 неидентифицированных метаболитов (рис. 7, кластер 2). Всего обнаруженные 65 метаболитов, имеющие большое значение для перехода гуара к цветению, включали 5 аминокислот, 11 органических кислот, 28 сахаров, 3 гликозида, 4 сахароспирта, 1 флавоноид, 1 жирную кислоту и 12 неидентифицированных метаболитов.

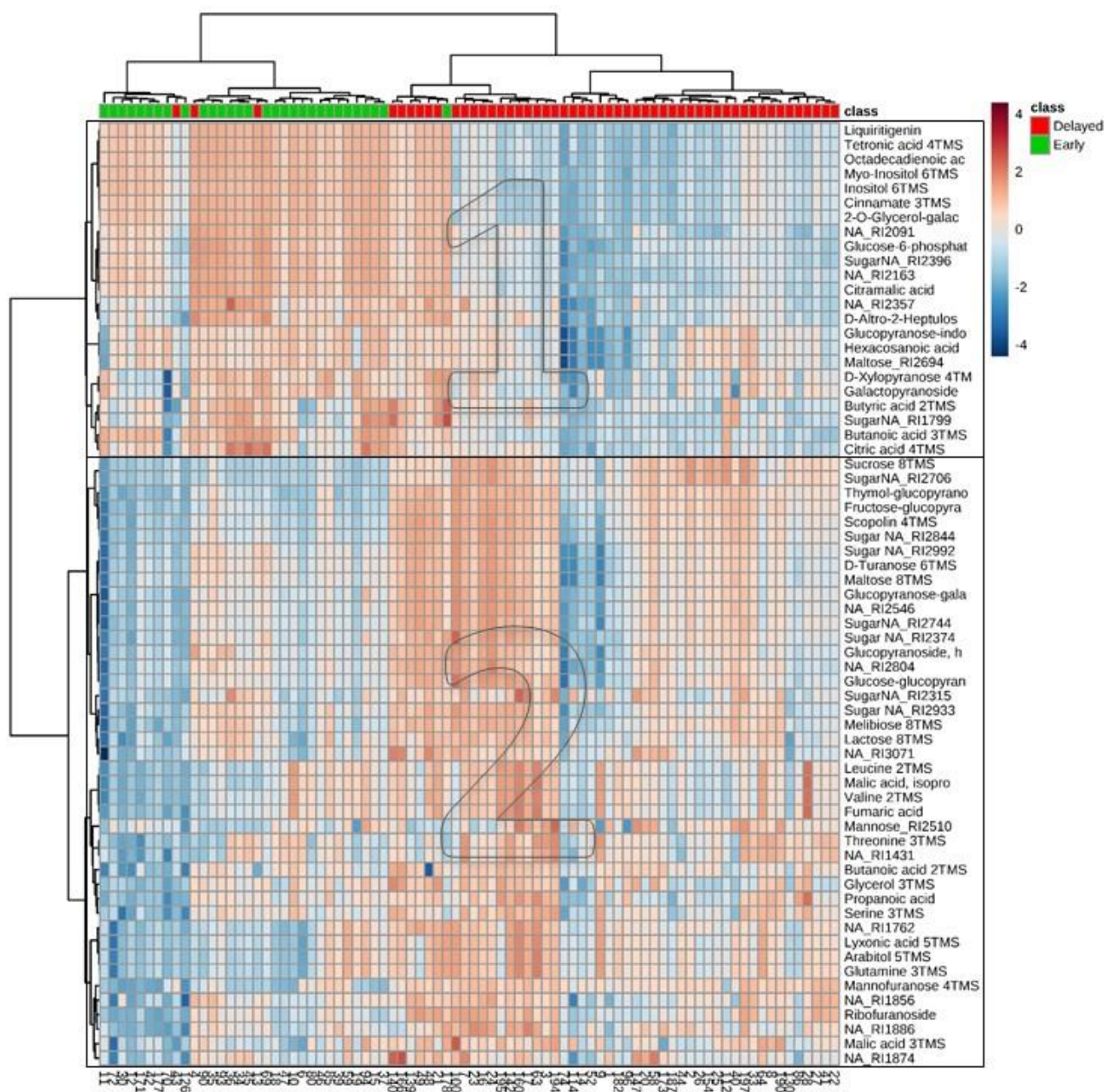


Рис. 3. Тепловая карта 65 метаболитов, достоверно различающихся по концентрации между рано цветущей (зеленый цвет) и поздно цветущей (красный цвет) группами генотипов гуара (2018г)

Методом PCA (главных компонент) анализа (на основе различий концентрации 244 детектированных метаболитов была построена модель, подтверждающая различия между двумя группами рано и поздно цветущих генотипов гуара. Выявленные различия между группами по главной компоненте 1 составили 50,3% дисперсии и главной компоненте 2 – 26,1% дисперсии (рис.4).

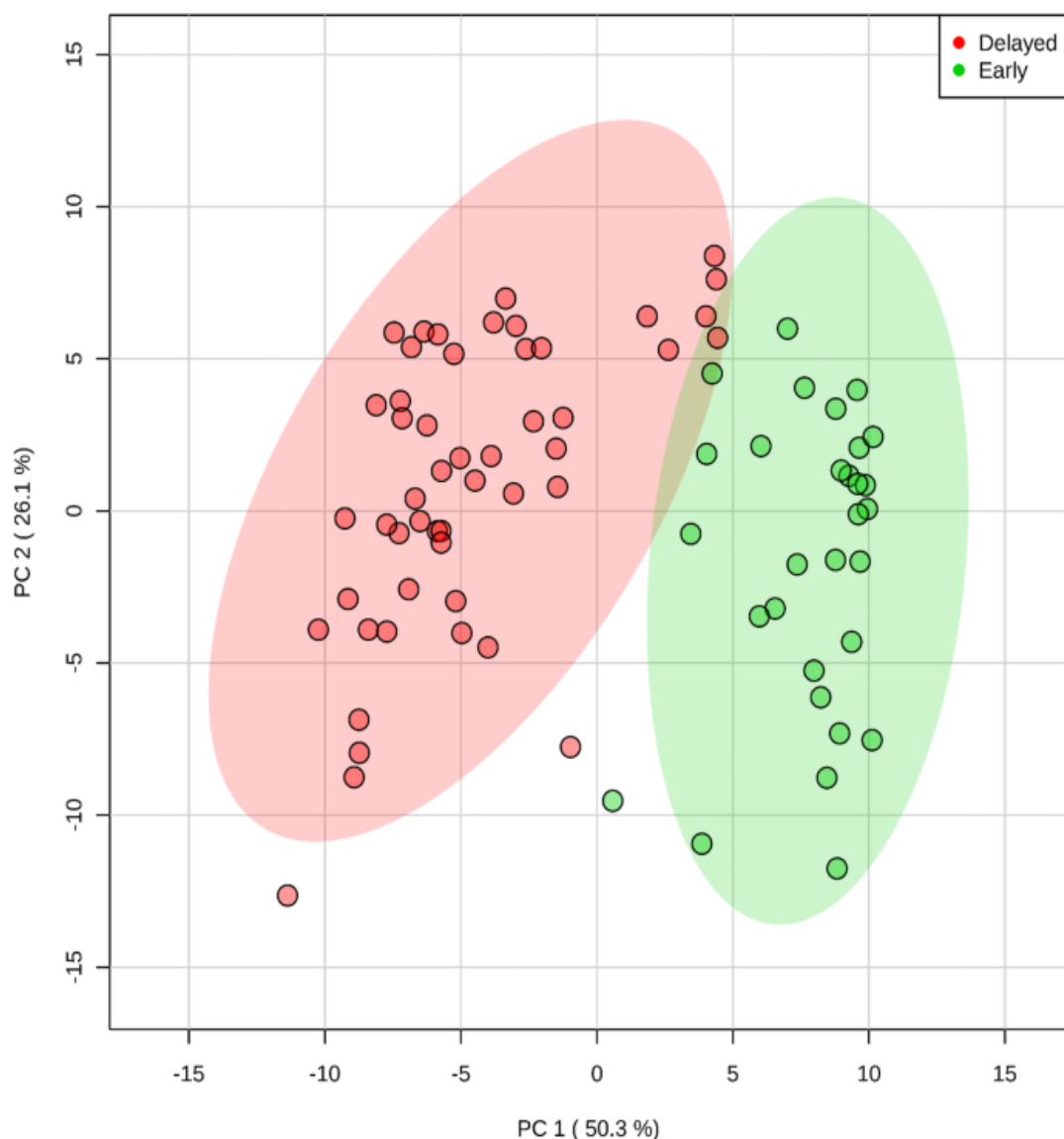


Рис. 4. Модель PCA анализа различий 30 рано цветущих и 52 поздно цветущих генотипов гуара, выращенных в 2018 году, на основе различий концентрации 244 метаболитов. Группы рано цветущих и поздно цветущих растений гуара обозначены зеленым и красным цветом, соответственно.

2.3 Биомаркеры, ассоциированные с ускоренным переходом к цветению у растений гуара

Для идентификации статистически значимых метаболитов – биомаркеров цветения, различающих рано цветущие и поздно цветущие генотипы, был сгенерирован S-график (Wiklund, 2008), показывающий весьма значимую отрицательную корреляцию (рис. 5). S-график визуализирует как ковариацию, так и корреляцию между значением концентрации метаболита и

принадлежностью к группе. В данном исследовании с помощью S-графика были выявлены соединения, являющиеся «ключевыми» метаболитами, ассоциированными с ранним переходом к цветению. Уровень концентраций 7 соединений в высокой степени коррелировал с группой растений. К этим веществам относятся хиро-инозитол, мио-инозитол, тетроновая кислота, неидентифицированный гликозид (RI 2311), коричная кислота, ликвиритигенин и неидентифицированный метаболит (RI 2364) (рис. 5.).

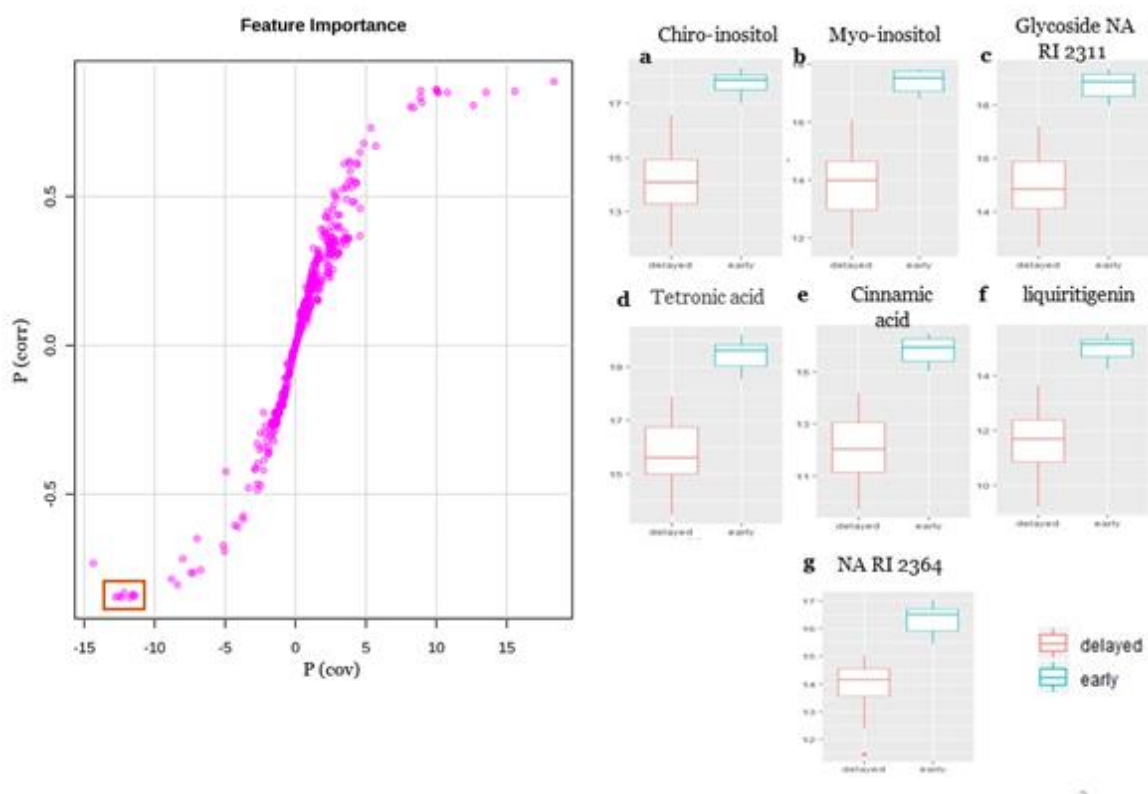


Рис. 5. Биомаркеры, ассоциированные с ускоренным переходом к цветению у растений гуара, выявленные с помощью S-графика

2.4. ГХ-МС-метаболомный анализ 3-го настоящего листа рано и поздно цветущих генотипов гуара (повтор эксперимента)

Для удостоверения в повторяемости результатов, был проведен проверочный эксперимент в 2019 году с теми же генотипами: в повторном эксперименте участвовало 20 генотипов гуара из 82 генотипов.

Полученные результаты метаболомного анализа подтверждали деление тех же самых генотипов на рано цветущие и поздно цветущие по метаболическим спектрам. При этом в списке ключевых метаболитов, значительно различающихся у рано цветущих и поздно цветущих групп присутствовали инозитол, мио-инозитол, тетрановая кислота, коричневая кислота, ликвиритигенин и гликозид (RI 2311) (Рис. 6).

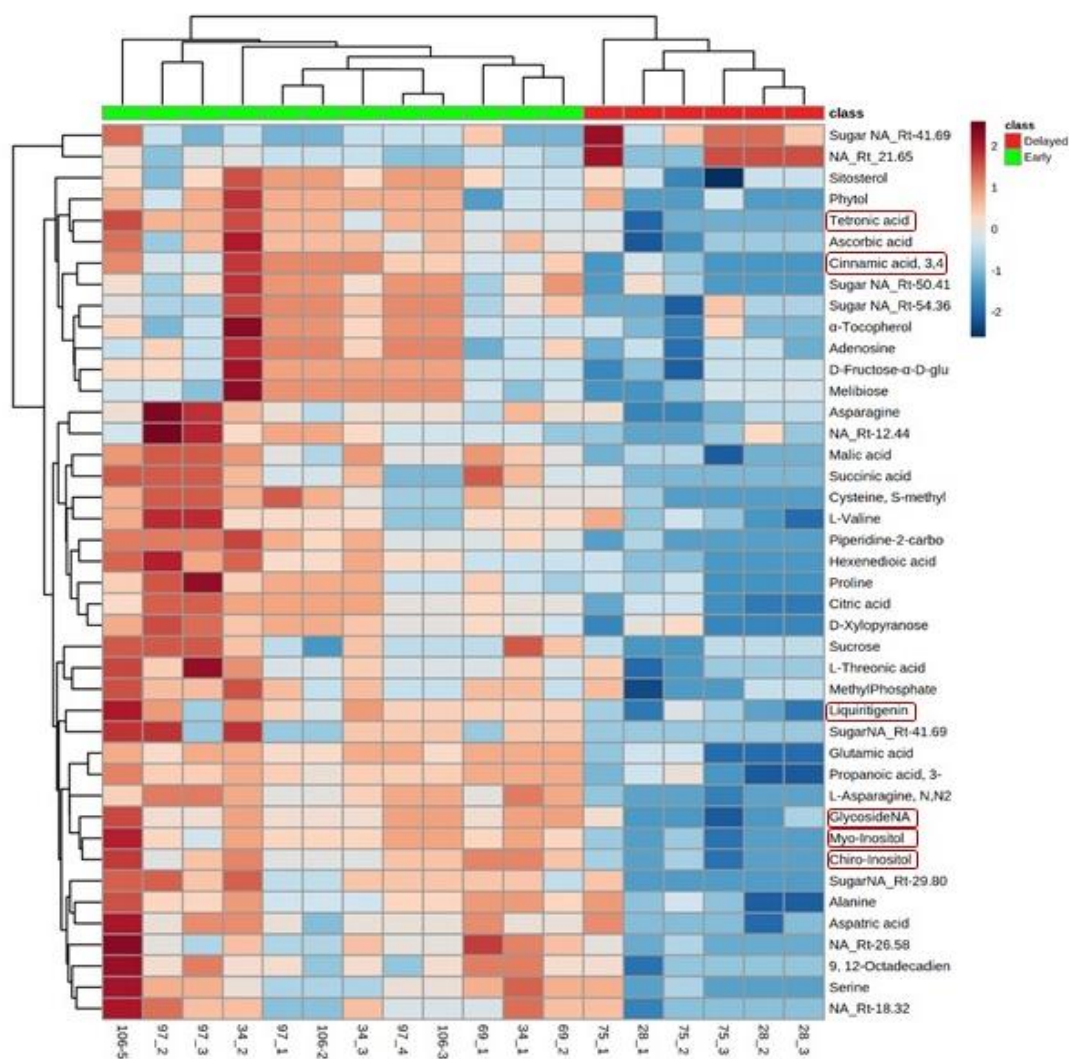


Рис. 6. Тепловая карта 42 метаболитов, достоверно различающихся по концентрации между рано й (зеленый цвет) и поздно й (красный цвет) группами генотипов гуара (2019г) с выделением ключевых метаболитов

3. Транскриптомно-метаболомный анализ

3.1. Транскриптомная сборка гуара

Для дальнейшего поиска генов-регуляторов цветения у гуара, коррелирующих с метаболомным откликом, для 15 генотипов (9 рано цветущих и 6 поздно цветущих), участвующих в эксперименте 2019 г., был произведен транскриптомно-метаболомный анализ.

По результатам РНК-секвенирования было получено более 492 млн. прочтений. Произведена сборка *de novo* с помощью инструмента Trinity. В результате сборки N50 всех прочтений составляет длину 1615 п.н. Количество собранных транскриптов (unigenes) составляет 80 тыс. К сожалению, для гуара еще не опубликована полногеномная сборка, поэтому функциональная аннотация была произведена с помощью базы данных Арабидопсиса.

PCA-plot (рис. 7), показывает распределение 15 образцов гуара, в соответствии с результатом оценки DESeq2 для всех 78 015 самых длинных изоформ. Такое распределение соответствует результатам фенотипирования данных генотипов гуара по срокам цветения. Первая группа состоит из 9 рано цветущих генотипов (ID 34, 69, 97), а вторая группа объединила 6 поздно цветущих генотипов (ID 75 и 28).

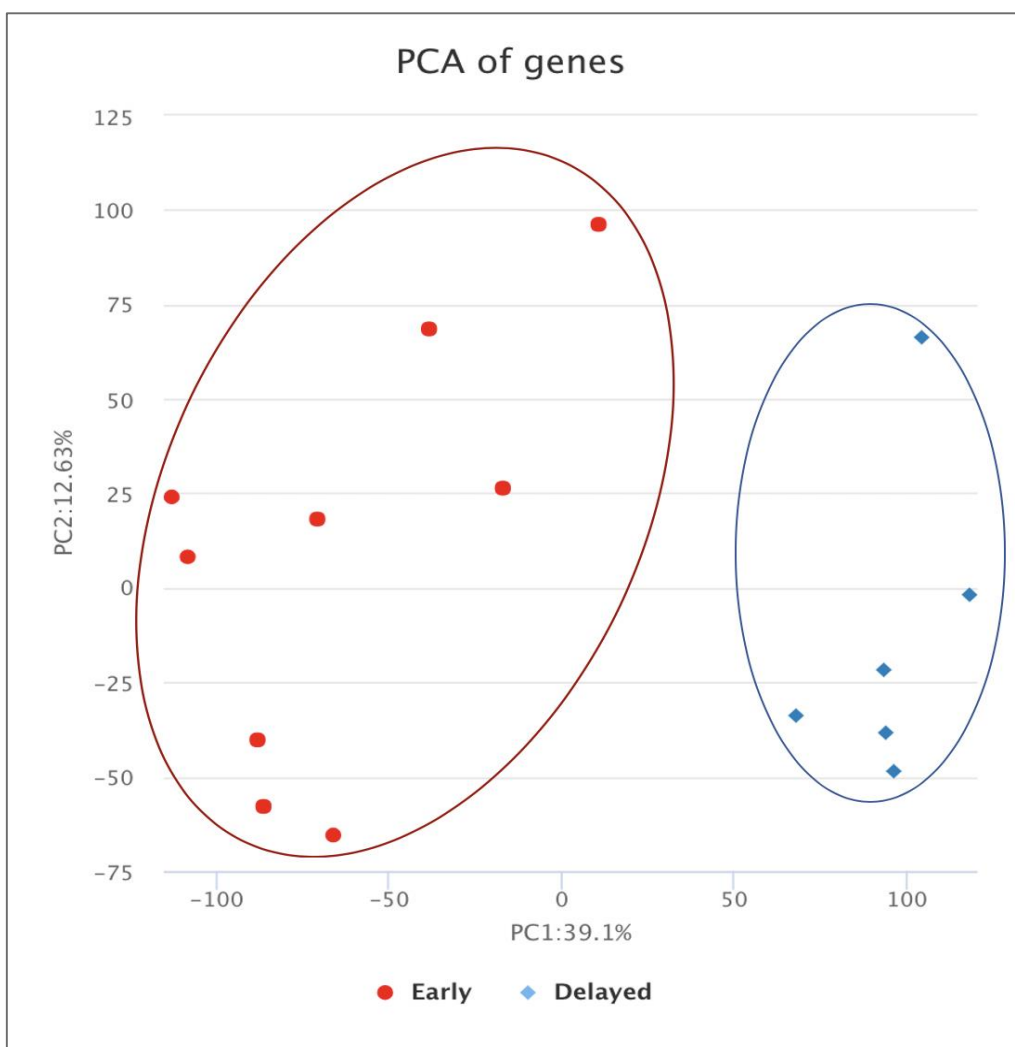


Рис. 7. PCA-plot, показывающий распределение 9 рано цветущих генотипов и 6 поздно цветущих генотипов в соответствии с результатом оценки DESeq2

3.2. Расчет дифференциальной экспрессии генов рано - и поздно цветущих генотипов гуара

Была оценена дифференциальная экспрессия генов между рано цветущими и поздно цветущими группами генотипов гуара. Дифференциально экспрессирующиеся (DE) транскрипты были идентифицированы на основе критериев $|\log_2\text{foldch доange}| \geq 0$ и $p\text{-value} < 0,05$, в результате чего был получен список генов из 1067 транскриптов, объединяющих 533 «up-regulated» и 534 «down-regulated» транскриптов у рано цветущих против поздно цветущих генотипов гуара (рис. 8).

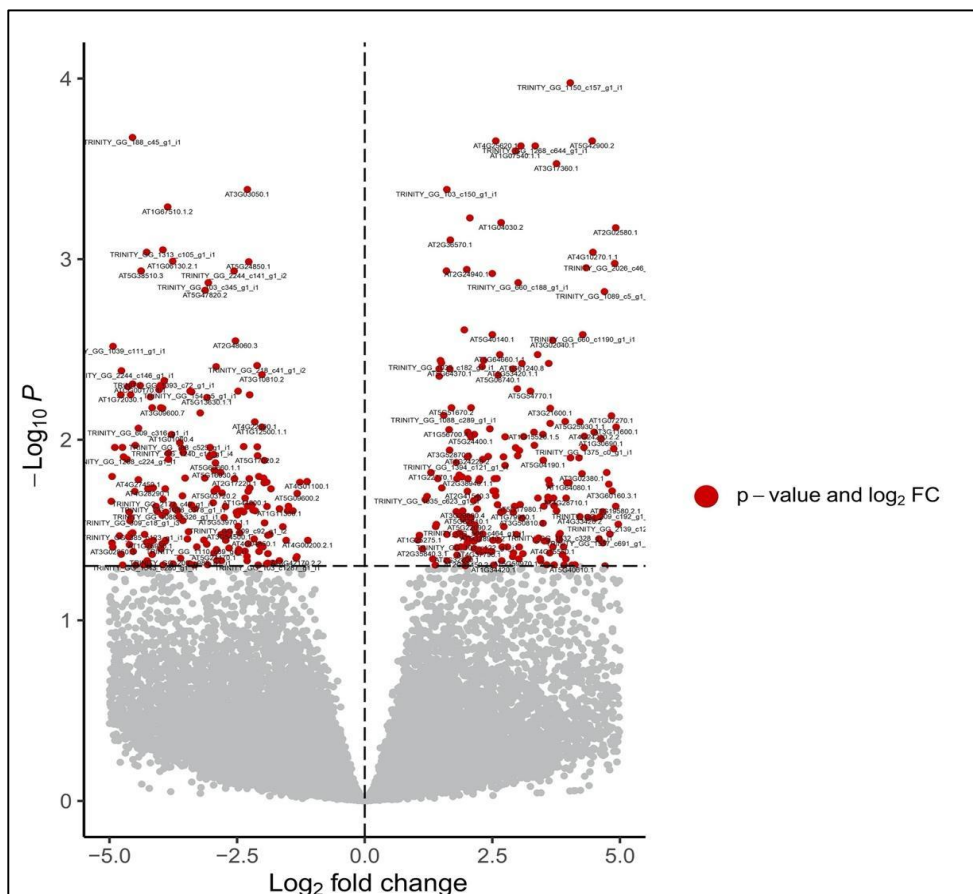


Рис. 8. Volcano plot для дифференциально экспрессирующихся транскриптов. Красным цветом обозначены транскрипты, для которых $|\log_2 \text{foldchange}| \geq 1.5$ и $p\text{-value} < 0.05$; серым обозначены не значимые транскрипты.

3.3. Интеграция метаболомных и транскриптомных данных с построением генетической сети

На основе матрицы из 11684 дифференциально экспрессирующихся транскриптов гуара и 63 идентифицированных метаболитов была построена интегрированная генная сеть из 98 узлов и 125 ребер (рис. 9). Было использовано п.о. Shiny GAM (Sergushichev et al., 2016), которое комбинирует данные метаболома и транскриптома, в единую интегрированную сеть, пытаясь связать метаболит с геном (генами), задействованным в ближайшей биохимической реакции, где данный метаболит принимает участие. Узлы в сети соответствуют метаболитам, ребра-генам. Из всех транскриптов и метаболитов в генной сети отображены только достоверно значимые, для

которых значение $p\text{-value} < 0.05$. Некоторые метаболиты участвуют в разных путях биосинтеза и связаны с разными генами, в связи с чем присутствуют на графике несколько раз. С другой стороны, некоторые метаболиты гуара не были включены в интегративный анализ, поскольку соответствующие транскрипты не были доступны в геномной сети для Арабидопсиса. В результате мы смогли проанализировать гены, связанные с 16 значимыми метаболитами, шесть из которых имели повышенную концентрацию у рано цветущих генотипов гуара по сравнению с поздно цветущими в двухлетних повторах эксперимента по профилированию метаболома.

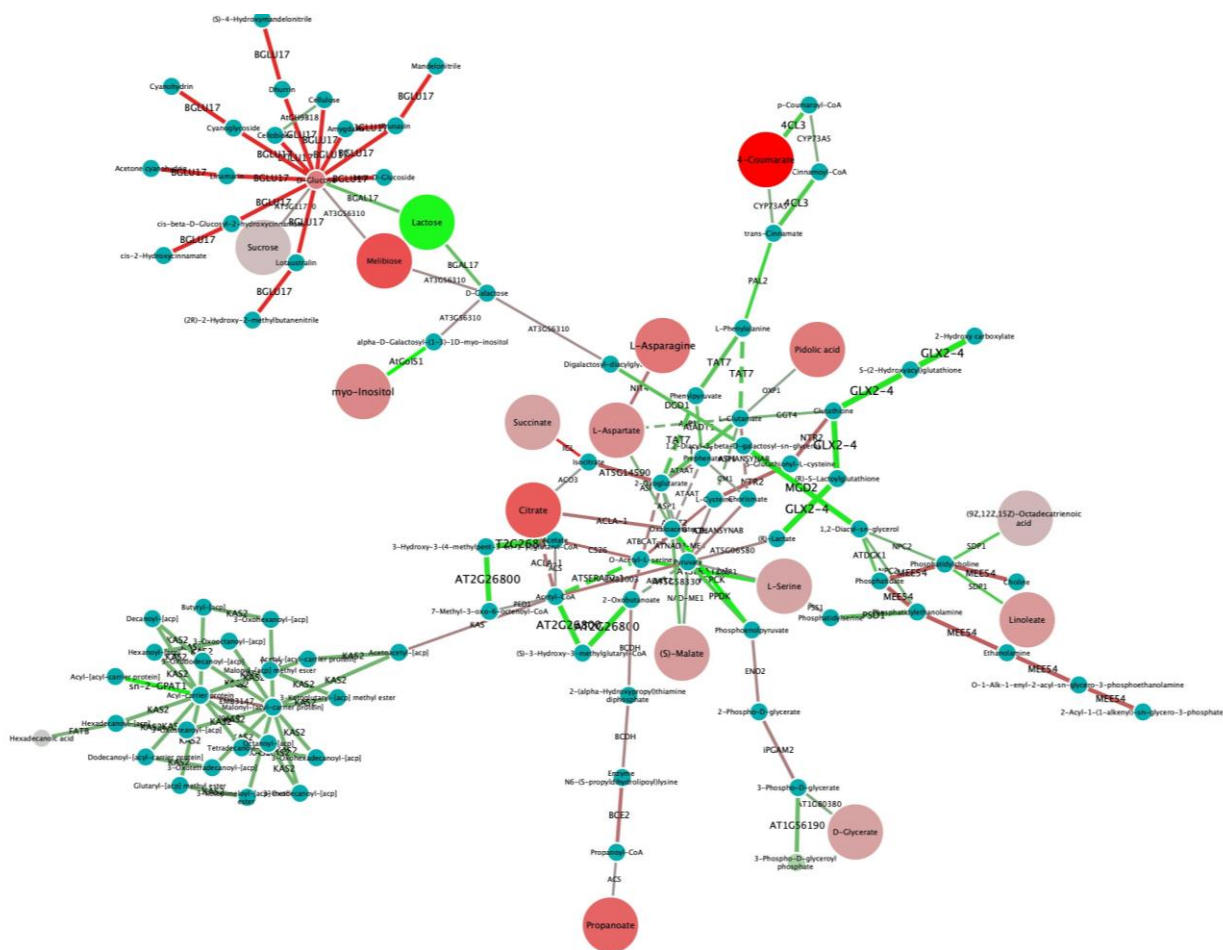


Рис. 9. Транскриптом-метаболомная сеть, полученная с помощью Shiny GAM. Зеленые ребра соответствуют пониженной экспрессии генов у рано цветущих генотипов гуара в отличие от поздно цветущих, красные - повышенной. Зеленые узлы соответствуют сниженной концентрации метаболитов у рано

цветущих генотипов гуара в отличие от поздно цветущих, красные - увеличению.

16 значимых метаболитов, имеющих более высокую концентрацию в листьях рано цветущих генотипов гуара представлены увеличенными кругами, а связующие их ребра отображают ассоциированные гены. И в том и в другом случае, красный цвет отражает повышение экспрессии гена (увеличение концентрации метаболита) у РЦ растений, а зеленый, соответственно, наоборот. Для 9 из 16 метаболитов, различающихся у растений с разными фенотипами цветения, были найдены ассоциированные дифференциально экспрессирующиеся гены, кодирующие ферменты, участвующие в ближайшей биохимической реакции (табл. 2). Наибольший интерес вызвали «ключевые» метаболиты, обнаруженные в исследованиях 2018 и 2019 годов, в которых изучались метаболиты, связанные со временем цветения в гуаре, и предложенные в качестве биомаркеров раннего цветения.

Табл. 2. Информация об ассоциации достоверно значимых метаболитов и транскриптов, представленных в сети Shiny GAM

Информация о метаболитах в сети			Информация о генах в сети		
Название метаболита (KEGG ID)	Значение $\log_2 fc$ (2019)	Значение p-value (2019)	Ассоциированный с метаболитом ген в сети	Значение $\log_2 fc$ (2019)	Значение p-value (2019)
Lactose (C00243)	-1.726	0.001	<i>AT1G72990 (BGAL17)</i>	- 0.711	0.001
Myo-inositol (C00137)	0.670	1.55 * 10^{-6}	<i>AT2G47180 (ATGOLS1)</i>	- 3.017	2.6* 10^{-10}
4-Coumarate (C00811)	2.243	5.62* 10^{-4}	<i>AT1G65060 (4CL3)</i>	- 1.034	2.36* 10^{-6}
D-Glycerate (C00258)	0.415	0.043	<i>AT1G80380 (GLYK)</i>	-0.303	0.039
Citrate (C00158)	1.119	1.36* 10^{-4}	<i>AT1G10670 (ACLA-1)</i>	0.497	0.001
S-Malate	0.467	9.87*	<i>AT2G13560 (NAD-</i>	- 0.220;	0.042;

(C00149)		10 ⁻⁵	<i>ME1</i>); <i>AT5G58330 (NADP-MDH)</i>	- 0.630	0.004
Linonate (C01595)	0.493	0.003	<i>AT5G04040 (SDP1)</i>	- 0.9	0.055
L-Aspartate (C00049)	0.621	0.009	<i>AT2G30970 (ASP1)</i> ; <i>AT5G22300 (NIT4)</i>	-0.386; 0.533	0.097; 0.006
L-Serine (C00065)	0.393	0.008	<i>AT1G55920</i> (<i>ATSERAT2;1</i>)	- 1.448	5.492* 10 ⁻⁵

3.3.1. Лактоза и ген *BGAL17*

Лактоза была единственным метаболитом с отрицательным логом \log_2fc у рано цветущих генотипов (Табл. 2). Этот метаболит связан с геном *BGAL17: AT1G72990*, кодирующий β -галактозидазу 17, участвующую в гидролизе лактозы. *BGAL* является одной из гликозидаз, проявляющих повышенную активность во время прорастания семян бобовых культур. Например, сообщалось об активности β -галактозидазы в процессе прорастания семян у маша (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), где она, возможно, участвует в мобилизации полисахаридов клеточной стенки: с 1-го дня после прорастания, приближалась к высокому уровню примерно к 5-му дню и оставалась примерно такой же до 9-го дня (Li et al., 2001). Поскольку экспрессия генов β -галактозидазы подвергается онтогенетической регуляции, мы предположили, что на стадии третьего настоящего листа у быстро развивающихся рано цветущих растений мобилизация полисахаридов клеточной стенки в семядолях уже завершилась, что привело к снижению экспрессии гена *BGAL17: AT1G72990*, а также концентрации лактозы. С другой стороны, существуют доказательства того, что у Арабидопсис гены *BGAL* регулируются абиотическими и биотическими стрессами (Ahn et al., 2007).

3.3.2. 4-кумарат (коричная кислота) и ген *4CL3*

4-Кумарат является основным субстратом для лигаз коэнзима А (КоА), участвующих в биосинтезе флавоноидов и многих других низкомолекулярных фенилпропаноидов, а также в образовании лигнина гваякола (Forkmann et al.,

1999). Таким образом, подавление экспрессии гена *4CL3: AT1G65060*, кодирующего 4-кумарат-КоА-лигазу, связано с более высокой концентрацией метаболита 4-кумарата, поскольку он отвечает за превращение 4-кумарата в р-кумароил-КоА (Liu et al., 2017). Помимо биосинтеза флавоноидов, 4-кумарат-КоА-лигаза (4CL) вместе с ферментом фенилаланинаммиаклиазой (PAL) участвует в фенилпропаноидном пути у растений. Гены, кодирующие эти ферменты, скоординированно активируются в ответ на сигналы развития (Soltani et al., 2006). В сети Shiny GAM у двух генов из фенилпропаноидного пути *4CL3:AT1G65060* (4-кумарат-КоА-лигаза) и *PAL2* наблюдалось снижение экспрессии у рано цветущих генотипов гуара, что приводило к ожидаемому более высокому накоплению метаболита 4-кумарата.

3.3.3. D-глицерат и ген *GLYK*

Для метаболита D-глицерат обнаружилась связь с геном, кодирующим ассоциированный ген D-glycerate 3-kinase (*GLYK*), которая в свою очередь, регулируется фитохромом (ген *phyB*), в зависимости от длины дня (Ushijima et al., 2017). Эта регуляция осуществляется путем альтернативного сплайсинга: на свету синтезируются длинные транскрипты глицерат киназы, аккумулирующиеся в хлоропластах (*ptGLYK*), а в ночное время суток – укороченные транскрипты, накапливаемые в цитоплазме (*cytGLYK*). D-Glycerate является субстратом для D-glycerate 3-kinase, его повышенная концентрация у рано цветущих генотипов может объясняться пониженной экспрессией гена *GLYK*.

3.3.4. Цитрат и ген *ACL*

ACL (АТФ-цитрат лиаза) находится в цитоплазме и отвечает за создание пула ацетил-КоА, катализируя АТФ- и КоА-зависимое расщепление цитрата (Zhong et al., 2020). *ACL* мутанты арабидопсис демонстрируют замедленное цветение по сравнению с растениями дикого типа. Индукция цветения у арабидопсис очень чувствительна к изменениям в *ACL*- ацетил-КоА метаболизме. Снижение активности *ACL* до 35% от уровня дикого типа порождает ярко выраженные изменения в фенотипе; такие растения не

цветут и поэтому не способны к генеративному размножению (Fatland et al., 2005). В наших экспериментах концентрация метаболита цитрат (лимонная кислота) была повышена у рано цветущих и экспрессия связанного гена *ACLA-1: AT1G10670* также была повышена. Поскольку АТФ-цитратлиаза катализирует биосинтез ацетил-КоА из цитрата, синтез последнего поддерживается на высоком уровне у рано цветущих генотипов.

3.3.5. S-малат и ген *NAD-ME1*

Повышенная концентрация S-малата у рано цветущих растений соответствовала пониженной экспрессии гена *NAD-dependent malic enzyme 1 (NADME1:AT2G13560)*. У *Arabidopsis* этот ген недавно был описан как «причинный» для метаболомного QTL (metQTL), который регулирует концентрацию целого спектра вторичных метаболитов и также зависит от циркадных ритмов растения, коэкспрессируясь с генами-регуляторами цветения (Francisco et al., 2021), а также генами ключевых компонентов комплекса циркадных осцилляторов CRY2 (криптохром 2) и PHYA (фитохром А) (Jiao et al., 2007).

3.3.6. Мио-инозитол и ген *ATGOLS1*

Один из ключевых метаболитов, а именно мио-инозитол, в настоящем исследовании описан нами как биомаркер раннего цветения гуара (Arkhimandritova et al., 2019). Повышение концентрации мио-инозитола у рано цветущих генотипов гуара коррелирует со снижением экспрессии гена *ATGOLS1: AT2G47180*, кодирующего галактинолсинтазу. Галактинолсинтаза - ключевой фермент в пути биосинтеза рафинозы, катализирующий синтез галактинола из UDP-галактозы и мио-инозитола (GolS или GAS, EC2.4.1.123). Кажется логичным, что снижение GolS приводит к увеличению содержания мио-инозитола. Было высказано предположение, что мио-инозитол может участвовать в индуцированной холодом транскрипции гена в *Medicago falcata (MfGolS1)*, обеспечивая устойчивость к абиотическим стрессорам (Zhuo et al., 2013). У нокаут-мутантов по *ATGOLS1* Арабидопсиса прорастание семян шло быстрее по сравнению с растениями дикого типа, из чего следует, что

галактинолсинтаза (ATGOLS1 у арабидопсиса негативно регулирует прорастание семян (Jang et al., 2018). В настоящем исследовании мы установили, что время цветения гуара зависит от генетических факторов, которые определяют скорость прорастания семян и формирование первого настоящего листа (Terlyakova et al., 2019). Таким образом, мы предполагаем, что различие в экспрессии гена *ATGOLS1: AT2G47180* может вносить вклад в разницу во времени цветения между рано цветущими и поздно цветущими генотипами гуара.

3.4. Мио-инозитол как биомаркер времени цветения

Данные дифференциальной экспрессии генов, взаимодействующих с мио-инозитолом были сопоставлены с путем фосфорилирования мио-инозитола KEGG (ath04070). Карта доступна для *A. thaliana* и также известна как **сигнальный путь фосфатидилинозитола** (<https://www.genome.jp/pathway/ath04070+AT5G61760>). Участвующие гены были окрашены на карте по значению \log_2fc (красный цвет – усиление экспрессии у рано цветущих растений по отношению к поздно цветущим, зеленый цвет – снижение экспрессии) (рис. 10).

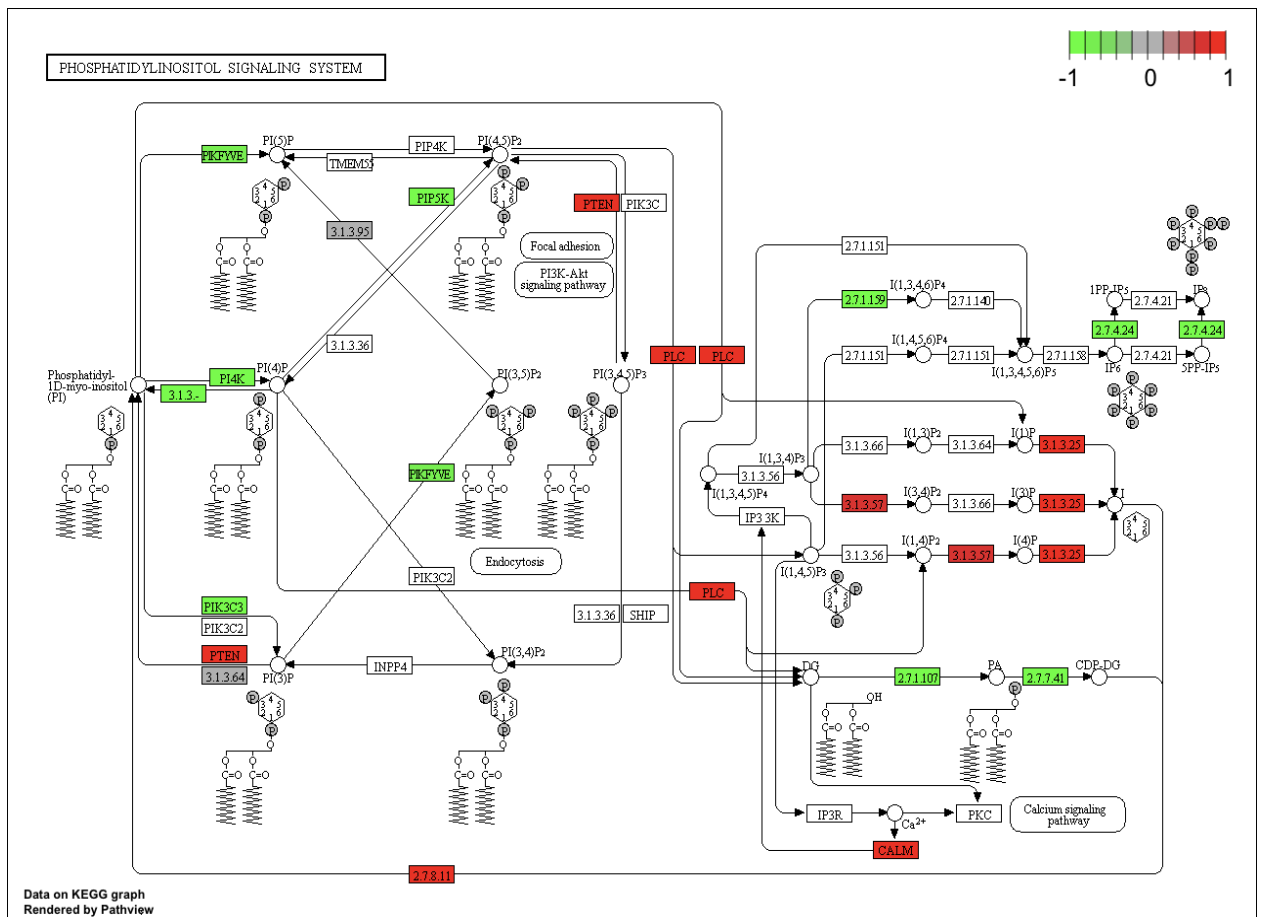


Рис. 10. KEGG карта с обозначением транскриптов, участвующих в метаболизме мио-инозитола (биохимический путь *ath04070*) у гуара, основанная на гомологии с *Arabidopsis thaliana*

Содержание шести ферментов было повышено у рано цветущих генотипов гуара (а именно, 3.1.3.25, PLC, PTEN, 3.1.3, 2.7.8, 3.1.3.57, окрашены красным на рис. 10), в то время как содержание других шести ферментов было снижено (а именно, PIKFYVE, PI4K, PIP5K, 2.7.1.107, 2.7.4.24, 2.7.1.59, отмечены зеленым) (рис. 15). У рано цветущих генотипов гуара сверхэкспрессированы почти все гены, кодирующие фосфатазы, катализирующие дефосфорилирование мио-инозитолфосфатов (InsP). И наоборот, все гены с пониженной экспрессией у рано цветущих кодируют фосфаткиназы, ответственные за фосфорилирование мио-инозитола. Среди шести ферментов содержание которых повышено у рано цветущих была фосфолипаза C (PLC: AT5G58670) - фермент, играющий важную роль в путях

передачи сигнала. При ферментативном расщеплении фосфолипазой С фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PIP2) образует два вторичных мессенджера – диацилглицерол и инозитол-1, 4, 5-трифосфат (InsP3) - ключевые сигнальные молекулы.

На рис. 15 обозначены конечные вещества, к синтезу которых приводит работа этой биохимической сети: миоинозитол в своей «свободной» форме (I) и фосфорилированная форма миоинозитола (IP8). Из этих двух компонентов на GC-MS хроматограммах мы видим именно свободную форму инозитола.

Таким образом, мы видим, что у рано цветущих генотипов гуара, готовых к цветению, активирован сигнальный механизм, который реализуется путем согласованного подавления киназ, осуществляющих фосфорилирование мио- инозитола и альтернативной активацией генов фосфатаз, отвечающих за дефосфорилирование фосфатидилинозитола до миоинозитола в его свободной форме, высокую концентрацию которого у рано цветущих растений мы и фиксируем на GC-MS хроматограммах. Взаимное преобразование состояний фосфорилирования фосфоинозитидов специфическими киназами и фосфатазами является универсальным сигнальным механизмом, регулирующим физиологию клетки (Nakada-Tsukui et al., 2019). Это начавшееся преобразование в клетках тканей рано цветущих растений гуара (но не поздноцветущих) мы и фиксируем по высокой концентрации сигнальной молекулы – мио-инозитола. Выявленный паттерн сигнального пути фосфатидилинозитола, который предположительно инициируется в РЦ растениях, готовых к цветению, скорее всего активируется благодаря повышенной экспрессии ключевого гена фосфолипазы С (PLC: AT5G58670) (Джамеев, 2014), что в конечном итоге и приводит к экспоненциальному увеличению количества мио-инозита в свободной форме.

Также среди шести ферментов, содержание которых понижено у рано цветущих, был PIP5K. Следует отметить, что ген, кодирующий PIP5K обладает плеiotропным эффектом. С одной стороны, с помощью участия PIP5K происходит фосфорилирование фосфатидилинозитола, после чего при

участии фосфолипазы С молекула инозитола переходит в состояние вторичного мессенджера. С другой стороны, показано, что PIP5K негативно влияет на инициацию цветения: у риса растения с down-регулируемой экспрессией *OsPIP5K 1*, гомологичной PIP5K у арабидопсиса имели более раннее цветение, нежели растения дикого типа. Однако механизм действия на данный момент не описан (Ma et al., 2004). Снижение экспрессии гена, кодирующего PIP5K у рано цветущих генотипов в нашем эксперименте свидетельствует о его роли в контроле цветения у гуара.

Было показано, что увеличение экспрессии *IPK2b* приводит к задержке цветения путем снятия блокировки транскрипции основного репрессора генеративного развития FLC. Репрессор FLC, блокирующий экспрессию генов цветения, известен как главный регулятор цветения арабидопсиса. Инозитол полифосфатная киназа IPK2b входит в состав комплекса, регулирующего транскрипцию FLC на уровне хроматина. Результатом повышенной экспрессии *IPK2b* является подавление накопления белков FVE и HDA6 (Histone Deacetylase 6), которые посредством метилирования ДНК и диацетилирования гистоновых белков препятствуют запуску транскрипции FLC (Sang et al., 2015). Недавнее исследование показало, что активность киназы AtIPK2β имеет важное значение в процессе полового размножения растений, в том числе в развитии пыльцы, контроле роста пыльцевой трубки и эмбриогенезе (Zhan et al., 2015). Также была предложена потенциальная роль AtIPK2β в транскрипционной регуляции, а именно контроле экспрессии ауксин-чувствительных генов (Xia et al., 2003; Zhang et al., 2007). Кроме того, эктопическая экспрессия *AtIPK2β* в табаке повышает толерантность трансгенных растений к абиотическим стрессам за счет стимуляции транскрипции стресс-чувствительных генов (Yang et al., 2008). Однако молекулярный механизм, посредством которого AtIPK2β опосредует транскрипционную регуляцию, до сих пор не известен (Sang et al., 2015). Семейство инозитол полифосфатных киназ играет ключевую роль в инозитол-фосфатном метаболизме и включает такие киназы как IPK1 и IPK2b (Chang

and Majerus, 2006; Resnick and Saiardi, 2008). Инозитол полифосфат киназа IPK1 входит в состав того же модуля KEGG ath_M00132, что и инозитол полифосфат киназа 2 бета (IPK2b). Продуктом фосфорилирования двух данных киназ являются аналогичные формы инозитола тетра- и пентафосфата. В нашем исследовании при анализе сборки транскриптома не было обнаружено транскриптов гена, кодирующего IPK2b, но было выявлено увеличения экспрессии гена, кодирующего IPK1. Можно предположить, что у гуара роль главного регулятора транскрипции FLC играет IPK1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

-Произведена фенотипическая оценка фотопериодической чувствительности 192 генотипов гуара различного географического происхождения из коллекции ВИР.

-Выполнен метаболомный анализ 82 генотипов (2018) гуара и метаболомно-транскриптомный анализ 15 наиболее контрастных генотипов гуара, принадлежащих к рано цветущим и поздно цветущим фенотипам, выращенным повторно в 2019 году:

-Проанализирован метаболомный профиль и произведена статистическая обработка метаболомных спектров образцов гуара. Найдено 7 ключевых метаболитов, ответственных за адаптацию гуара к условиям длинного дня (хиро-инозитол (RI 1953), мио-инозитол (RI 2088), тетрановая кислота (RI 2115), 3, 4-дигидрокси коричная кислота (RI 2134), неидентифицированный гликозид (RI 2311), ликвиритигенин (RI 2437), неидентифицированный метаболит (RI 2364)).

-Для целей идентификации генов-регуляторов цветения у гуара для 15 наиболее контрастных генотипов гуара, принадлежащих к рано цветущим и поздно цветущим фенотипам, произведен транскриптомно-метаболомный анализ (РНК-сек, SP NovaSeq 6000, односторонние прочтения 1x100 п.о.) В результате транскриптомного анализа было получено более 492 млн. прочтений;

-Произведена биоинформатическая обработка, оценка качества, фильтрация транскриптомных данных с последующей сборкой de novo. Выполнена функциональная аннотация blastx транскриптома гуара;

- Произведен расчет дифференциальной экспрессии генов у рано цветущих и поздно цветущих генотипов гуара на основе полученных транскриптомных данных. Выполнена интеграция метаболомных и транскриптомных данных с

построением генетической сети и обозначением ферментов, участвующих в метаболизме мио-инозитола на карте KEGG;

-Проведен поиск генов-кандидатов, регулирующих фотопериодическую чувствительность гуара и его адаптивный потенциал при выращивании в стрессовых условиях на основе анализа корреляции метаболом-транскриптом и литературных данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Aggarwal G. C., Sekhon N. K., Thind S. S. Response of four green manure crops to different moisture stress intensities // 1993

Ahn Y. O., Zheng, M., Cheng, C.-L. Functional genomic analysis of *Arabidopsis thaliana* glycoside hydrolase family 35 // *Phytochemistry*. – 2007. – Т. 68. – №. 11. – С. 1510-1520.

Arkhimandritova S., Shavarda A., Potokina E. Key metabolites associated with the onset of flowering of guar genotypes (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub) // *BMC plant biology*. – 2020. – Т. 20. – №. 1. – С. 1-10.

Boghara M.C., Dhaduk H.L., Kumar S., Parekh M.J., Patel N.J., Sharma R. Genetic divergence, path analysis and molecular diversity analysis in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub.) // *Industrial crops and products*. – 2016. – Т. 89. – С. 468-477.

Bundy, J. G., Davey, M. P., & Viant, M. R. Environmental metabolomics: a critical review and future perspectives // *Metabolomics*. – 2009. – Т. 5. – №. 1. – С. 3-21.

Chang S. C., Majerus P. W. Inositol polyphosphate multikinase regulates inositol 1, 4, 5, 6-tetrakisphosphate // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2006. – Т. 339. – №. 1. – С. 209-216.

Chong J, Soufan O, Li C, et al. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. // *Nucleic acids research*. – 2018. – Т. 46. – №. W1. – С. W486-W494.

Dhugga, K.S., R. Barreiro, B. Whitten, K. Stecca, J. Hazebroek, G.S. Randhawa, M. Dolan, A.J. Kinney, D. Tomes, S. Nichols, and P. Anderson. Guar Seed β -Mannan Synthase Is a Member of the Cellulose // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – Т. 115. – С. 788.

Dobson, G., Shepherd, T., Verrall, S. R., Griffiths, W. D., Ramsay, G., McNicol, J. W., ... & Stewart, D. A metabolomics study of cultivated potato (*Solanum tuberosum*) groups andigena, phureja, stenotomum, and tuberosum using

gas chromatography– mass spectrometry //Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2010. – T. 58. – №. 2. – C. 1214-1223.

Fatland, B.L.; Nikolau, B.J.; Wurtele, E.S. Reverse genetic characterization of cytosolic acetyl-CoA generation by ATP-citrate lyase in Arabidopsis //The Plant Cell. – 2005. – T. 17. – №. 1. – C. 182-203.

Fiehn O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes //Functional genomics. – 2002. – C. 155-171.

Forkmann G. Biosynthesis of flavonoids //Polyketides and other secondary metabolites including fatty acids and their derivatives. – 1999. – C. 713-748.

Francisco, M.; Kliebenstein, D.J.; Rodríguez, V.M.; Soengas, P.; Abilleira, R.; Cartea, M.E. Fine mapping identifies *NAD-ME1* as a candidate underlying a major locus controlling temporal variation in primary and specialized metabolism in Arabidopsis //The Plant Journal. – 2021. – T. 106. – №. 2. – C. 454-467.

Goodacre, R., York, E. V., Heald, J. K., & Scott, I. M. Chemometric discrimination of unfractionated plant extracts analyzed by electrospray mass spectrometry //Phytochemistry. – 2003. – T. 62. – №. 6. – C. 859-863.

Gresta, F., Cristaudo, A., Trostle, C., Anastasi, U., Guarnaccia, P., Catara, S., & Onofri, A. Germination of guar (*Cyamopsis tetragonoloba*(L.) Taub.) genotypes with reduced temperature requirements //Australian Journal of Crop Science. – 2018. – T. 12. – №. 6. – C. 954-960..

H. Ma, S.P. Xu, D. Luo, Z.H. Xu, H.W. Xue, *OsPIP1K1*, a rice phosphatidylinositol monophosphate kinase, regulates rice heading by modifying the expression of floral induction genes //Plant molecular biology. – 2004. – T. 54. – №. 2. – C. 295-310.

Jain, P. K., & Rijhwani, S. Comparative gc-ms analysis of *Cyamopsis tetragonoloba* fruit extracts //International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2018. – T. 9. – №. 10. – C. 4236-4242.

Jang, J.-H.; Shang, Y.; Kang, H.K.; Kim, S.Y.; Kim, B.H.; Nam, K.H. Arabidopsis galactinol synthases 1 (*AtGOLS1*) negatively regulates seed germination //Plant Science. – 2018. – T. 267. – C. 94-101.

Jiao, Y.; Lau, O.S.; Deng, X.W. Light-regulated transcriptional networks in higher plants //Nature Reviews Genetics. – 2007. – T. 8. – №. 3. – C. 217-230.

Kumar, S., Joshi, U. N., Singh, V., Singh, J. V., & Saini, M. L. Characterization of released and elite genotypes of guar [*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.] from India proves unrelated to geographical origin //Genetic resources and crop evolution. – 2013. – T. 60. – №. 7. – C. 2017-2032.

Kumara, B. N., Gangaprasad, S., & Sridhara, S. Genetic diversity studies in guar (*Cymopsis tetragonoloba* L.) genotypes //The Bioscan. – 2015. – T. 7. – C. 355-359.

Kuravadi, N. A., Verma, S., Pareek, S., Gahlot, P., Kumari, S., Tanwar, U. K., ... & Tripathi, S. K. Guar: An industrial crop from marginal farms //Agricultural sustainability: Progress and prospects in crop research. – 2013. – C. 47-60

Leiss, K. A., Cristofori, G., van Steenis, R., Verpoorte, R., & Klinkhamer, P. G. An eco-metabolomic study of host plant resistance to Western flower thrips in cultivated, biofortified and wild carrots //Phytochemistry. – 2013. – T. 93. – C. 63-70

.Li, S.-C.; Han, J.-W.; Chen, K.-C.; Chen, C.-S. Purification and Characterization of Isoforms of -Galactosidases in Mung Bean Seedlings //Phytochemistry. – 2001. T. 57. C. 349–359.

Liu, T.; Yao, R.; Zhao, Y.; Xu, S.; Huang, C.; Luo, J.; Kong, L. Cloning, Cloning, functional characterization and site-directed mutagenesis of 4-coumarate: coenzyme A ligase (4CL) involved in coumarin biosynthesis in *Peucedanum praeruptorum* Dunn //Frontiers in plant science. – 2017. – T. 8. – C. 4.

Lokesha, R., & Shivashankar, G. Analysis of genetic variability and character association in cluster bean //Mysore Journal of Agricultural Sciences. – 1990. – T. 24. – №. 3. – C. 316-320.

Love, M.I.; Huber, W.; Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 //Genome biology. – 2014. – T. 15. – №. 12. – C. 1-21.

Lubbers E.L. Characterization and inheritance of photoperiodism in Guar, *Cyamopsis Tetragonoloba* (L.) Taub. // 1987.

Manivannan, A., Anandakumar, C. R., Ushakumari, R., & Dahiya, G. S. Genetic diversity of guar genotypes (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) based on agro-morphological traits //Bangladesh Journal of Botany. – 2015. – T. 44. – №. 1. – C. 59-65.

Mirnezhad, M., Romero-González, R. R., Leiss, K. A., Choi, Y. H., Verpoorte, R., & Klinkhamer, P. G. Metabolomic analysis of host plant resistance to thrips in wild and cultivated tomatoes //Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques. – 2010. – T. 21. – №. 1. – C. 110-117.

Nakada-Tsukui, K.; Watanabe, N.; Maehama, T.; Nozaki, T. Phosphatidylinositol kinases and phosphatases in *Entamoeba histolytica* //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2019. – T. 9. – C. 150.

Naoumkina, M., Torres-Jerez, I., Allen, S., He, J., Zhao, P.X., Dixon, R.A., et al., Analysis of cDNA libraries from developing seeds of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub) //BMC Plant Biology. – 2007. – T. 7. – №. 1. – C. 1-12.

Paroda, R. S., & Mehrotra, N. (1976). An investigation of genotype-environment interactions for green fodder yield in clusterbean (*Cyamopsis Tetragonoloba* Taub.). – 1976.

Paroda, R. S., Saini, M. L., Jhorar, B. S., & Solanki, K. R. Genetic improvement of guar-problems and perspectives. In In First guar Research Workshop // Central Arid Zone Research Institute, Jodhpur, Rajasthan. – 1977.

Patterson, J. H., Newbiggin, E. D., Tester, M., Bacic, A., & Roessner, U. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance //Journal of experimental botany. – 2009. – T. 60. – №. 14. – C. 4089-4103.

Peterhansel, C.; Horst, I.; Niessen, M.; Blume, C.; Kebeish, R.; Kürkcüoğlu, S.; Kreuzaler, F. Photorespiration // Arab. Book. – 2010. - T. 8. - e0130.

Rawal, Hukam C., et al. High quality unigenes and microsatellite markers from tissue specific transcriptome and development of a database in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*, L. Taub) //Genes. – 2017. – T. 8. – №. 11. – C. 313.

Resnick AC, Saiardi A. Inositol polyphosphate multikinase: metabolic architect of nuclear inositides //Frontiers in Bioscience-Landmark. – 2008. – T. 13. – №. 3. – C. 856-866.

Sergushichev, A.A.; Loboda, A.A.; Jha, A.K.; Vincent, E.E.; Driggers, E.M.; Jones, R.G.; Pearce, E.J.; Artyomov, M.N. GAM: A Web-Service for Integrated Transcriptional and Metabolic Network Analysis. Nucleic Acids Research 2016, 44, W194–W200, doi:10.1093/nar/gkw266.

Sergushichev, A.A.; Loboda, A.A.; Jha, A.K.; Vincent, E.E.; Driggers, E.M.; Jones, R.G.; Pearce, E.J.; Artyomov, M.N. GAM: a web-service for integrated transcriptional and metabolic network analysis //Nucleic acids research. – 2016. – T. 44. – №. W1. – C. W194-W200.

Sihong Sang, Yao Chen, Qiaofeng Yang, Peng Wang. Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an H₂O₂ affair? //Journal of experimental botany. – 2011. – T. 62. – №. 8. – C. 2841-2854.

Singh V. P., Agarwal S. Induced high-yielding mutants in clusterbean //Indian Journal of Agricultural Science. – 1986. – T. 56. – №. 10. – C. 695-700.

Singla, S., Grover, K., Angadi, S. V., Begna, S. H., Schutte, B., & Van Leeuwen, D. Induced high-yielding mutants in clusterbean //Indian Journal of Agricultural Science. – 1986. – T. 56. – №. 10. – C. 695-700.

Soltani, B.M.; Ehlting, J.; Hamberger, B.; Douglas, C.J. Multiple cis-regulatory elements regulate distinct and complex patterns of developmental and wound-induced expression of Arabidopsis thaliana 4CL gene family members //Planta. – 2006. – T. 224. – №. 5. – C. 1226-1238.

Sultan, F. M. // Genetic Variability, Correlation and Path Coefficient Analysis in Some Guar Genotypes. Egyptian Journal of Plant Breeding. 2015. – T. 203(1899). - C. - 1-17.

Surendran, S., & Vijayalakshmi, K. (2011). GC-MS analysis of phytochemicals in *Cyamopsis tetragonoloba* fruit and *Cyperus rotundus* rhizome //Int J Pharmacogn Phytochem Res. – 2011. – T. 3. – C. 102-106.

Suthar, J. D., Rajpar, I., & Ganjegunte, G. K. Evaluation of Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) genotypes performance under different irrigation water salinity levels: Growth parameters and seed yield //Industrial Crops and Products. – 2018. – T. 123. – C. 247-253.

Tanwar U. K., Pruthi V., Randhawa G. S. RNA-Seq of guar (*Cyamopsis tetragonoloba*, L. Taub.) leaves: de novo transcriptome assembly, functional annotation and development of genomic resources //Frontiers in plant science. – 2017. – T. 8. – C. 91

Teplyakova, S.; Volkov, V.; Dzyubenko, E.; Potokina, E.K. Variability of photoperiod response in guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) genotypes of different geographic origin //Vavilov J of Genetics and Breeding. – 2019. – T. 23. – C. 730-737.

Undersander, D. J., Putnam, D. H., Kaminski, A. R., Kelling, K. A., Doll, J. D., Oplinger, E. S., & Gunsolus, J. L. Alternative Field Crops Manual. University of Wisconsin-Cooperative Extension Service, University of Minnesota Extension Service //Center for Alternative Plant and Animal Products, Madison <https://hort.purdue.edu/newcrop/afcm/guar.html>. – 1991.

Ushijima, T., Hanada, K., Gotoh, E., Yamori, W., Kodama, Y., Tanaka, H., ... & Matsushita, T. Light controls protein localization through phytochrome-mediated alternative promoter selection //Cell. – 2017. – T. 171. – №. 6. – C. 1316-1325. e12.

Watanabe S., Harada K., Abe J. Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean //Breeding Science. – 2012. – T. 61. – №. 5. – C. 531-543.

Whistler R.L., Hymowitz T. Guar: agronomy, production, industrial use, and nutrition. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana, 1979.

Whitmore J. S. Edible Legumes for Drought-Prone Regions //Drought Management on Farmland. – Springer, Dordrecht, 2000. – C. 98-105.

Wiklund S, Johansson E, Sjöström L, et al. Visualization of GC/TOF-MS-based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models //Analytical chemistry. – 2008. – T. 80. – №. 1. – C. 115-122.

Xia HJ, Brearley C, Elge S, Kaplan B, Fromm H, Mueller-Roeber B. Arabidopsis inositol polyphosphate 6-/3-kinase is a nuclear protein that complements a yeast mutant lacking a functional ArgR-Mcm1 transcription complex //The Plant Cell. – 2003. – T. 15. – №. 2. – C. 449-463.

Yang L, Tang R, Zhu J, Liu H, Mueller-Roeber B, Xia H, Zhang H. Enhancement of stress tolerance in transgenic tobacco plants constitutively expressing *AtIpk2β*, an inositol polyphosphate 6-/3-kinase from Arabidopsis thaliana //Plant Molecular Biology. – 2008. – T. 66. – №. 4. – C. 329-343.

Zhan H, Zhong Y, Yang Z, Xia H. 2015. Enzyme activities of Arabidopsis inositol polyphosphate kinases AtIPK2α and AtIPK2β are involved in pollen development, pollen tube guidance and embryogenesis //The Plant Journal. – 2015. – T. 82. – №. 5. – C. 758-771.

Zhang ZB, Yang G, Arana F, Chen Z, Li Y, Xia HJ. Arabidopsis inositol polyphosphate 6-/3-kinase (*AtIpk2β*) is involved in axillary shoot branching via auxin signaling //Plant Physiology. – 2007. – T. 144. – №. 2. – C. 942-951.

Zhao, J., Avula, B., Chan, M., Clément, C., Kreuzer, M., & Khan, I. A. Metabolomic differentiation of maca (*Lepidium meyenii*) accessions cultivated under different conditions using NMR and chemometric analysis //Planta medica. – 2012. – T. 78. – №. 01. – C. 90-101.

Zhong, R.; Cui, D.; Richardson, E.A.; Phillips, D.R.; Azadi, P.; Lu, G.; Ye, Z.-H. Cytosolic Acetyl-CoA generated by ATP-citrate lyase is essential for acetylation of cell wall polysaccharides //Plant and Cell Physiology. – 2020. – T. 61. – №. 1. – C. 64-75.

Zhuo, C.; Wang, T.; Lu, S.; Zhao, Y.; Li, X.; Guo, Z. A cold responsive galactinol synthase gene from *Medicago falcata* (*MfGolS1*) is induced by myo-

inositol and confers multiple tolerances to abiotic stresses //Physiologia plantarum.
– 2013. – Т. 149. – №. 1. – С. 67-78.

Джамеев, В. Ю. (2014). Фосфолипидный сигналинг у растений //Вісник
Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2014. –
№. 3. – С. 80-95.

Федорина Я.В., Хлесткина Е.К., Сеферова И.В., Вишнякова М.А.
Молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе продвижения
ареала возделывания сои к северу //
Экологическая генетика. - 2022. - Т. 20. - № 1.- С. 13-30.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

По материалам диссертации опубликованы 4 научных статьи в изданиях, рекомендованных ВАК и 6 научных работ в других изданиях

Публикации в рецензируемых журналах:

- **Теплякова СБ**, Шаварда АЛ, Шеленга ТВ, Дзюбенко ЕА, Потокина ЕК. Простой и эффективный метод экстракции полярных метаболитов из листьев гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) для GC-MS метаболомного анализа. Вавиловский журнал генетики и селекции. **2019**; 23:49-54. SCOPUS, Web of Science
- **Теплякова С.В.**, Volkov V.A., Dzyubenko E.A., Potokina E.K. Variability of the photoperiod response in guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) genotypes of different geographic origin. Vavilovskij žurnal genetiki i selekcii. **2019**; 23(6), 730-737. SCOPUS, Web of Science
- **Arkhimandritova S.**, Shavarda A., Potokina E. Key metabolites associated with the onset of flowering of guar genotypes (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.). BMC Plant Biol. **2020**; 20, 291. SCOPUS, Web of Science. IF 4,494
- Grigoreva E., Tkachenko A., **Arkhimandritova S.**, Beatovic A., Ulianich P., Volkov V., Karzhaev D., Cecile Ben, Laurent Gentzbittel, Potokina E. Dissection of Loci Underlying Flowering Time of Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) via Integrated Transcriptome-Metabolome Analysis. Genes. **2021**. 12(7), 952. SCOPUS, Web of Science. IF 3,331

Публикации тезисов:

- **С.Б. Архимандритова**, А.Л. Шаварда, П.С. Ульянич, Е.К. Потокина. Омиксные технологии в изучении биологии цветения новой интродуцированной бобовой культуры рф – гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.). Сборник конференции «125 лет ВИР и 125 лет прикладной ботаники в России». (с. 113). 2018.
- Н.А. Яговкина, **С.Б. Архимандритова**, Е.К. Потокина. Метаболомный подход в изучении линий гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) (Taub.)) различного географического происхождения. Сборник конференции «125 лет ВИР и 125 лет прикладной ботаники в России», с. 205. 2018.
- Григорьева Е.А., **Архимандритова С.Б.**, Беатович А., Потокина Е.К. Поиск генов-кандидатов связанных с фотопериодической чувствительностью гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) при помощи генетических сетей. Сборник конференции молодых ученых «биотехнологии в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии». 2020.
- **Теплякова С.Б.**, Шаварда А.Л., Потокина Е.К. Поиск биомаркеров повышенного адаптивного потенциала растений гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) на основе метаболомного анализа. Сборник

тезисов международного конгресса. «VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы». 2019

- **Терлякова С.В.**, Shavarda A.L., Potokina E.K. Delayed flowering of guar plants (*Cyamopsis tetragonoloba* L. (Taub.)) in terms of metabolome тезисы Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology. Материалы Международной конференции 5th International conference PlantGen2019
- Григорьева Е.А., **Архимандритова С.Б.**, Беатович А., Потокина Е.К. Поиск генов-кандидатов, определяющих сроки начала цветения гуара (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.), с использованием генетических сетей. Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии (с. 20-21). 2020.