

## АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (Ph.D.) по специальности  
«6D060700 – Биология»

**Амаловой Акерке Ыкласкызы**

на тему: «Идентификация локусов количественных признаков компонентов урожайности и качества зерна мягкой пшеницы на основе использования двуродительских картирующих популяций»

**Общая характеристика диссертационного исследования.** Исследование посвящено идентификации локусов количественных признаков адаптивности, компонентов урожайности и качества зерна мягкой пшеницы на основе использования двуродительских картирующих популяций.

**Актуальность исследования.** Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) является одним из самых богатых источников энергии и белков для населения мира. Увеличение производства мягкой пшеницы имеет важное значение для продовольственной безопасности в глобальном масштабе (Curtis & Halford, 2014). Казахстан является одним из крупнейших производителей зерна мягкой пшеницы в мире. Успех возделывания и производства мягкой пшеницы во многом зависит от сортового генофонда, агротехники и селекционных программ, направленных на создание высокопродуктивных сортов. Прогресс в генетическом улучшении злаков за последнее столетие был основан, в том числе, на использовании отдельных генов с относительно четкими эффектами на фенотип. Поскольку признаки урожайности и качества являются сложными, демонстрируют непрерывную изменчивость и контролируются многими генами (локусами), идентификация и картирование локусов количественных признаков (QTL, *quantitative traits loci*), создание новых информативных маркеров хозяйственно ценных признаков имеют большое значение для селекционно-генетических программ. Использование различных типов картирующих популяций и информативных ДНК-маркеров, включая KASP-маркеров (конкурентная аллель-специфическая полимеразная цепная реакция, *KBiosciences competitive allele specific PCR*) может служить эффективным инструментом при создании новых высокопродуктивных и высококачественных сортов.

**Объекты исследования:** Две двуродительские картирующие популяции яровой мягкой пшеницы: 1) 101 дигаплоидные линии популяции Avalon × Cadenza (A×C), 2) 94 рекомбинантно-инбредных линий популяции Памяти Азиева × Paragon (PA×P). Также для валидации KASP-маркеров использовано 95 сортов мягкой пшеницы, в том числе допущенных к использованию на территории Республики Казахстан.

**Предмет исследования.** Идентификация и картирование QTL, связанных с признаками адаптивности, компонентами урожайности и качества зерна мягкой пшеницы, на основе использования двух двуродительских картирующих популяций мягкой пшеницы.

**Цель исследования.** Идентифицировать и картировать локусы количественных признаков урожайности и качества зерна мягкой пшеницы на основе использования двуродительских картирующих популяций.

**Задачи исследования:**

1. Охарактеризовать генетические карты двух двуродительских картирующих популяций, построенных с использованием ДНК маркеров.

2. Изучить фенотипическую изменчивость двух двуродительских картирующих популяций, выращенных в условиях северного, центрального, южного и юго-восточного Казахстана.

3. Изучить уровень варибельности показателей качества зерна двух картирующих популяций, выращенных в условиях северного, центрального, южного и юго-восточного Казахстана.

4. Идентифицировать и картировать QTL компонентов урожайности и качества зерна мягкой пшеницы на основе использования двух двуродительских картирующих популяций.

5. Создать информативные KASP-маркеры для наиболее важных QTL, связанных с признаками адаптивности и компонентами урожайности мягкой пшеницы, для повышения эффективности селекции мягкой пшеницы для условий Казахстана.

**Методы исследования.** В работе использованы полевые эксперименты, биохимические, молекулярно-генетические, и статистические методы. Полевые эксперименты проведены в рамках комплексных исследований в следующих организациях: Карагандинской СХОС им. А. Ф. Христенко, Карабалыкская СХОС, Казахский НИИ рисоводства им. И. Жахаева, Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И. Бараева, Северо-Казахстанской СХОС и КазНИИЗиР. Определение качества зерна осуществлялось согласно ГОСТ РК в лаборатории биохимии и качества зерна КазНИИЗиР. Молекулярно-генетические исследования проводились с использованием соответствующих методологий и материально-технической базы лаборатории молекулярной генетики Института биологии и биотехнологии растений (ИББР) КН МНВО РК. Для генотипирования образцов мягкой пшеницы были использованы, методы выделения и очистки ДНК, полимеразной цепной реакции (ПЦР), современные методы ДНК-маркирования. QTL картирование с использованием двуродительских картирующих популяций осуществлено с применением прикладной генетико-статистической программы Windows QTL Cartographer v2.5 (Wang *et al.*, 2012). Для визуализации QTL на генетической карте использовались программы Windows QTL Cartographer v2.5 и MapChart v2.32 (Voorrips, 2002). Для статистической обработки полученных данных использованы программы: GenStat, GraphPad, SSPS, Rstudio.

**Научная новизна исследования** заключается в идентификации 1) 89 предположительно новых QTL и подтверждении 71 ранее известных QTL обнаруженных в других исследованиях, связанных с адаптивностью, урожайностью и качеством зерна мягкой пшеницы в условиях Казахстана, и 2) разработке и валидации 12 KASP-маркеров для выявления наиболее перспективных генотипов яровой мягкой пшеницы. Идентифицировано 864 QTL, ассоциированных с показателями адаптивности (время колошения, период от колошения до созревания, высота растения), урожайности (длина колоса, количество продуктивных колосьев, количество зерен на колос, масса 1000 зерен, урожайность на 1 м<sup>2</sup>) и качества зерна (натура, содержание белка в зерне, содержание клейковины, стекловидность, твердозерность, седиментация в уксусной кислоте). Из них 160 стабильные и 525 главные QTL были, а 89 являлись предположительно новыми. Впервые идентификация QTL осуществлена на основе использования двуродительских картирующих популяций Памяти Азиева × Paragon и Avalon × Cadenza в 4 регионах Казахстана.

**Теоретическая значимость исследования** заключается в идентификации QTL, связанных с адаптивностью, урожайностью и качеством зерна мягкой пшеницы на основе использования бипарентального генетического картирования с привлечением рекомбинантно-инбредной и дигаплоидной популяций в условиях различных агроклиматических зон возделывания мягкой пшеницы.

**Практическая значимость исследования** заключается в выделении 40 перспективных рекомбинантно-инбредных и 15 дигаплоидных линий из двух картирующих популяций, превосходящих сорта стандарты по ряду показателей урожайности и качества зерна. Данные линии включены в селекционный процесс в научно-исследовательских организациях: Карабалыкской СХОС, НЦПЗХ им. А.И. Бараева. Подтвержден предварительный набор из 12 KASP-маркеров, ассоциированных с отдельными показателями урожайности для использования на ранних этапах селекционного процесса.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Установлено, что две генетические карты двуродительских дигаплоидной (A×C, 3647 ДНК-маркеров) и рекомбинантно-инбредной (РА×Р, 4595 SNP-маркеров) картирующих популяций, имеют высокое разрешение для QTL картирования по комплексу признаков адаптивности, урожайности и качества зерна.

2. Выделенные в результате анализа двух картирующих популяций мягкой пшеницы по группе признаков урожайности и качества зерна были идентифицированы 40 рекомбинантно-инбредных и 15 дигаплоидных линий, как ценные генотипы для использования в селекционных программах по улучшению пшеницы в Казахстане.

3. Идентифицированные в результате QTL-анализа двух картирующих популяций 525 главных локусов количественных признаков, связанных с показателями адаптивности, урожайности и качества зерна, включая 160 стабильных QTL, представляют важную информацию для поиска генов, контролирующих сложные признаки.

4. 89 QTL, идентифицированные в двух картирующих популяциях, ассоциированные с показателями адаптивности, урожайности и качества зерна, являются предположительно новыми.

5. Создан набор KASP-маркеров, ассоциированных с признаками адаптивности и урожайности мягкой пшеницы. Подтверждена эффективность 12 KASP-маркеров, статистически достоверно ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками, для идентификации ценных генотипов яровой мягкой пшеницы.

#### **Основные результаты исследований и выводы:**

1. В работе охарактеризованы генетические карты двух двуродительских картирующих популяций мягкой пшеницы: 1) 94 рекомбинантно-инбредные линии Памяти Азиева × Paragon (РА×Р), 2) 101 дигаплоидная линия Avalon × Cadenza (A×C). При сравнении генетических карт двух двуродительских картирующих популяций выявлено, что общая длина генетической карты у A×C (3246,9 сМ) была больше, чем у РА×Р (2723,90 сМ). Две генетические карты (A×C, 3647 ДНК-маркеров и РА×Р, 4595 SNP-маркеров), которые имеют 222 общих SNP маркеров были использованы для QTL-картирования признаков адаптивности, урожайности и качества зерна.

2. В результате фенологического и фенотипического анализа картирующей популяции РА×Р выделены 63 РИЛ, превышающие сорта-стандарты по

урожайности на 1 м<sup>2</sup> (УМ2) в условиях НПЦЗХ им. А.И. Бараева (38 РИЛ), Северо-Казахстанской СХОС (6 РИЛ) и в условиях КазНИИЗиР (19 РИЛ). Две линии популяции РА×Р (РА×Р-01 и РА×Р-05) показали высокие значения УМ2 во всех трех областях. Также у картирующей популяции А×С, выращенной в четырех областях Казахстана были выделены наиболее урожайные 61 дигаплоидные линии в условиях Карабалыкской СХОС (9 ДГЛ), Карагандинской СХОС (22 ДГЛ), КазНИИ рисоводства (26 ДГЛ) и КазНИИЗиР (4 ДГЛ). Две линии А×С-52 и А×С-55, продемонстрировали наиболее высокую урожайность сразу в трех условиях (север, центр, юг), что свидетельствует о высоком генетико-селекционном потенциале данных генотипов.

3. В результате анализа картирующей популяции по показателям качества РА×Р, выращенной в Северо-Казахстанской области, был отмечен широкий спектр распределений по классам по следующим признакам: натура зерна, содержание белка в зерне, содержание клейковины, твердозерности. При анализе показателей качества дигаплоидной популяции А×С отмечен широкий диапазон распределения по классам по признаку натура зерна между четырьмя областями исследования. По показателям качества зерна выявлены 35 ценных и 12 сильных рекомбинантно-инбредных линий в популяции РА×Р и 12 ценных и 3 сильных дигаплоидных линий в популяции А×С. По результатам анализа признаков урожайности и качества зерна были идентифицированы 40 рекомбинантно-инбредных линий (РА×Р) и 15 дигаплоидных линий (А×С) как наиболее ценные генотипы для повышения эффективности селекции яровой мягкой пшеницы в Казахстане.

4. По результатам QTL-анализа картирующей популяции РА×Р для 14 показателей, связанных с адаптивностью, урожайностью и качеством зерна было идентифицировано 468 QTL, из них 229 главных и 68 стабильных QTL, а 38 QTL являются предположительно новыми. В результате QTL-анализа дигаплоидной картирующей популяции А×С было обнаружено 92 стабильных и 296 главных QTL из идентифицированных 482 локусов для 13 показателей, связанных с хозяйственно-ценными признаками. Среди 92 стабильных локусов 51 QTL являются предположительно новыми. При сравнении QTL, обнаруженных в двух картирующих популяциях (РА×Р и А×С), выявлено, что 6 локусов являются общими для двух популяций по следующим признакам: высота растения, длина главного колоса, количество продуктивных колосьев, масса 1000 зерен, локализованных на хромосомах 1А, 2D, 5А (3 QTL), 6А. Таким образом, в результате QTL-анализа двух картирующих популяций всего было идентифицировано 864 QTL, из которых 525 главные и 160 стабильные локусы, а 89 QTL являлись предположительно новыми и 71 ранее известные, обнаруженные в других исследованиях.

5. На основе QTL-анализа двух картирующих популяций был создан предварительный набор, состоящий из 17 SNP маркеров, которые были успешно трансформированы в KASP маркеры. По результатам генотипирования только 12 из 17 KASP маркеров были полиморфными для 95 образцов мягкой пшеницы. По результатам валидации 12 KASP-маркеров была выявлена статистически значимая разница между группами образцов в двух условиях с различными аллелями для 6 KASP-маркеров: *ipbb\_ta\_169* (урожайность с 1 м<sup>2</sup>), *ipbb\_ta\_171* (длина верхнего междоузлия, количество продуктивных колосьев, количество зерен с главного колоса, масса 1000 зерен), *ipbb\_ta\_184* (время колошения, вегетационный период), *ipbb\_ta\_185* (количество зерен с главного колоса, урожайность с 1 м<sup>2</sup>), *ipbb\_ta\_197*

(время колошения, вегетационный период, длина верхнего междоузлия), *ipbb\_ta\_199* (количество зерен и длина с главного колоса). Получен патент на полезную модель на основе набора из 6 эффективных KASP-маркеров.

**Связь с планом основных научных работ.** Диссертационная работа выполнена в рамках проектов грантового финансирования МОН (ныне МНВО) РК AP08855387 «Сгруппированное ассоциативное картирование для поиска генов и использования для повышения урожайности, качества, и устойчивости к болезням мягкой пшеницы» (2020-2022 г.г.), AP14871383 «Разработка KASP-маркеров с целью создания конкурентоспособных сортов мягкой пшеницы, твердой пшеницы и ячменя в Казахстане» (2022-2024 г.г.), и проекта «Создание новых ДНК-маркеров засухоустойчивости яровой мягкой пшеницы, выращиваемой в условиях Северного Казахстана» в рамках научно-технической программы по линии МСХ РК BR06249219 «Селекция и семеноводство засухоустойчивых, продуктивных, высококачественных сортов яровой пшеницы на основе классических методов селекции и современных подходов биотехнологии для условий Северного Казахстана» (2018-2020 г.г.). Научный руководитель проектов к.б.н, профессор Е.К. Туруспеков.

**Апробация работы.** Результаты диссертационной работы доложены и опубликованы на международных научно-практических конференциях: международном конгрессе «VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы» (Россия, 2019 г.); VI международной конференции PlantGen2021 (Россия, 2021 г.); международной научной конференции студентов и молодых ученых «Фараби Элемі» (Казахстан, 2019, 2020, 2021 г.); международной конференции по ветеринарии, сельскому хозяйству и науке о жизни (Турция, 2022 г.), IV международном конгрессе по селекции растений (Турция, 2022 г.). Основные результаты диссертационной работы ежегодно заслушивались на научно-техническом совете факультета «Биология и биотехнология», на заседаниях кафедры «Биоразнообразие и биоресурсов» КазНУ им. аль-Фараби, научных семинарах лаборатории молекулярной генетики, конференциях молодых ученых и Ученом Совете РГП на ПХВ «Институт биологии и биотехнологии растений». Результаты диссертационной работы частично включены в Отчет о научно-исследовательской работе по проектам BR06249219, AP08855387 и AP14871383.

**Публикации.** Основное содержание диссертации опубликовано в 16 печатных работах, в том числе 5 статей в международных рецензируемых журналах с импакт-фактором, индексируемых в Scopus и/или Web of Science; 3 статьи в изданиях, входящих в перечень изданий, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки (КОКСОН) МНВО РК; 1 патенте (полезная модель), 7 тезисов в материалах международных и республиканских конференций, из которых 4 зарубежные.

**Личный вклад докторанта в подготовку каждой публикации** заключался в сборе данных о предмете исследования, выполнении основного объема теоретических и экспериментальных исследований, включая анализ, интерпретацию и оформление полученных результатов, подготовке рукописей публикаций.

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена на 152 страницах и состоит из разделов, включающих обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения, заключение, список использованных источников из 230 наименований из них 179 на английском языке. Диссертационная работа содержит 41 таблицу, 40 рисунков, 6 приложений.