

## АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (Ph.D.)  
по специальности «6D070100-Биотехнология»

**Әнуарбек Шынар Нұрланқызы**

на тему: «Идентификация локусов количественных признаков  
компонентов урожайности твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) на основе  
методологии полногеномного анализа ассоциаций»

**Общая характеристика диссертационного исследования.** Работа посвящена идентификации локусов количественных признаков компонентов урожайности твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с использованием методологии полногеномного поиска ассоциаций.

**Актуальность темы исследования.** Твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.) является одной из важных зерновых культур в мире и Казахстане (ФАО, 2019). Стабильное увеличение производства высококачественного зерна твердой пшеницы, являющейся стратегической и экспортной зерновой культурой, является одним из важных направлений для обеспечения продовольственной безопасности, как в мире, так и внутри страны (КазахЗерно, 2019). Распространение современных знаний и использование новых технологий в генетике и селекции является важным фактором успеха внедрения результатов научных исследований в прикладную науку. Мировой опыт внедрения молекулярно-генетических технологий в селекцию является положительным примером для Казахстана, что позволяет значительно ускорить и модернизировать селекционный процесс для создания высокопродуктивных и качественных сортов. В связи с этим, весьма актуальным является изучение генетических ресурсов твердой пшеницы Казахстана и зарубежной коллекции с использованием как традиционных методов селекции, так и современных методологий молекулярной генетики, геномики и маркер-опосредованной селекции.

**Объекты исследования:** 300 сортов и линий твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) различного происхождения.

**Предмет исследования.** Анализ ассоциаций «маркер-признак» на основе использования SNP-маркеров, связанных с хозяйственно-ценными признаками адаптивности и урожайности твердой пшеницы.

**Цель исследования.** Идентификация локусов количественных признаков (QTL, *quantitative trait loci*), связанных с адаптивностью и компонентами урожайности твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.), на основе использования фенотипических данных, генотипирования высокой плотности изучаемой коллекции и метода ассоциативного картирования генов.

**Задачи исследования:**

1. Фенотипическое изучение коллекции твердой пшеницы, состоящей из 300 отечественных и зарубежных сортов и линий, в условиях Северо-Казахстанской и Алматинской области Казахстана.

2. Оценка генетического разнообразия коллекции твердой пшеницы на основе использования SSR- и SNP-маркеров.

3. Идентификация QTL хозяйственно-ценных признаков твердой пшеницы на основе использования метода ассоциативного картирования генов.

4. Создание KASP-маркеров с использованием идентифицированных SNP-маркеров хозяйственно-ценных признаков твердой пшеницы.

**Методы исследования.** Агротехнологические работы проведены в рамках комплексных исследований с Северо-Казахстанской СХОС МСХ РК (СК СХОС) и КазНИИЗиР (Алматинская область). Оценивались следующие фенологические фазы (количество дней при 50 % проявлении признака): всходы, фаза четырех листочков, кущение, фаза элонгации стебля, появление флагового листа, трубкование, колошение, цветение, созревание. Осуществлен анализ образцов коллекции твердой пшеницы по следующим показателям: высота растений (см), длина верхнего междоузлия (см), количество продуктивных колосьев на растение (шт), длина главного колоса (см), число зерен главного колоса (шт), масса зерен главного колоса (г), масса зерен с растения (г), масса 1000 зерен (г), урожайность (г/м<sup>2</sup>). Для генотипирования использованы SSR, SNP и KASP (*KBiosciences competitive allele specific PCR*) маркеры, выделение ДНК, полимеразная цепная реакция (ПЦР), электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ). Поиск QTL осуществлен на основе использования метода ассоциативного картирования генов (GWAS). Для статистической обработки полученных данных использованы пакеты программ GenStat, GraphPad, GenAlEx 6.5, STRUCTURE 2.3.4, TASSEL 5.0, GAPIT R.

**Научная новизна исследования** заключается в идентификации новых информативных ДНК-маркеров, связанных с адаптивностью и компонентами урожайности твердой пшеницы на основе использования современных геномных технологий, направленных на повышение эффективности селекционных исследований в Казахстане. Впервые на основе использования полногеномного анализа ассоциаций (ПГАА или GWAS – genome-wide association study), идентифицированы QTL, связанные с урожайностью твердой пшеницы, в условиях севера и юго-востока Казахстана. Идентифицированы 32 QTL, не встречавшиеся ранее в исследованиях твердой пшеницы, среди которых 8 локусов признаков адаптивности (время колошения, высота растения) и 24 локуса компонентов урожайности (длина колоса, количество продуктивных колосьев, масса 1000 зерен). На основе результатов GWAS, разработаны KASP-маркеры, контролирующие компоненты урожайности твердой пшеницы в условиях севера и юго-востока Казахстана.

**Практическая значимость исследования** связана с усилением отечественных селекционных программ по повышению урожайности твердой пшеницы, на основе использования новых геномных технологий. В частности, для селекционных организаций страны отобраны ценные зарубежные перспективные сорта и линии с высоким уровнем урожайности, предложены новые информативные ДНК-маркеры для экспресс-анализа потенциала урожайности сортов и линий твердой пшеницы на ранних стадиях отбора ценного селекционного материала. Выделено 30 перспективных сортов и линий твердой пшеницы. Созданы ДНК-паспорта коммерческих сортов и перспективных линий

твердой пшеницы Казахстана с использованием двух классов ДНК-маркеров – SSR и KASP, связанных с показателями адаптивности и урожайности пшеницы.

**Теоретическая значимость** данного исследования заключается в том, что выявлены QTL, связанные с повышением урожайности твердой пшеницы в условиях Казахстана. Анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что ранее в Казахстане не проводились аналогичные работы на молекулярно-генетическом уровне по изучению генетики твердой пшеницы, включая GWAS. Перспективность фундаментального характера состоит в подготовке важной платформы для выработки новых стратегий по усилению эффективности селекционного процесса твердой пшеницы, в том числе маркер-ориентированной селекции, направленной на создание новых конкурентоспособных сортов.

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

1. Экологически испытанные в северном и юго-восточном регионах Казахстана сорта и линии мировой коллекции твердой пшеницы, ранжированные по признакам адаптивности и урожайности, являются ценными источниками для селекционных программ Казахстана.

2. Идентифицированные в результате полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) 59 локусов количественных признаков (QTL), ассоциированы с 5 важными показателями адаптивности и урожайности твердой пшеницы (время колошения, высота растения, длина колоса, количество продуктивных колосьев, масса 1000 зерен) при использовании 16425 SNP-маркеров, в условиях двух зон выращивания – в северном и юго-восточном зерносеющих регионах Казахстана.

3. Среди идентифицированных QTL 32 локуса являются предположительно новыми, статистически достоверно связанными с хозяйственно-ценными признаками твердой пшеницы в Казахстане.

4. Генетические паспорта перспективных сортов и линий твердой пшеницы Казахстана по SSR- и SNP-маркерам могут быть использованы для идентификации ценных генотипов и в маркер-опосредованной селекции твердой пшеницы.

5. Создан набор KASP-маркеров, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками, как способ идентификации селекционно-ценных линий твердой пшеницы (*T. durum* Desf.).

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

1. Мировая коллекция твердой пшеницы, состоящая из 300 образцов, впервые была изучена в полевых условиях северного и юго-восточного Казахстана в 2018-2020 гг. Средние показатели по трем годам полевых испытаний по признаку «урожайность на квадратный метр» (г/м<sup>2</sup>) в северном Казахстане позволили идентифицировать 52 образца мировой коллекции, которые превосходили показатели урожайности отечественного стандартного сорта «Дамсинская янтарная», что свидетельствует о высокой ценности зарубежных образцов твердой пшеницы для селекционных исследований в Казахстане.

2. В соответствии с фенотипическим анализом и анализом «генотип-среда» (GGE), наиболее перспективными образцами в Алматинской области (выше или на уровне сорта-стандарта) являлись сорта Aghrass-1, Ainzen-1, Appio,

Berillo, Bronte, Cosmodur, Fiore, Granizo, Lesina, Pedroso, Quadrato, Strongfield, Trinakria, Алтайка, Алтайский янтарь, Харьковская 46. В качестве наиболее перспективных (выше или на уровне сорта-стандарта) для Северо-Казахстанской области выделены: AC Navigator, Barcarol, Cappelli, Lloyd, Taganrog, Tiziana, Waskana, Г2409, Г2607, Г2611, Г2638, Кустанайская 1, Оренбургская 10, Саратовская 31.

3. Выявлена положительная корреляция между высотой растения и длиной верхнего междоузлия ( $r = 0,9^{***}$  (КазНИИЗиР);  $r = 0,8^{***}$  (Северо-Казахстанская СХОС)); количеством продуктивных колосьев и массой зерен на растение ( $r = 0,7^{***}$  (КазНИИЗиР);  $r = 0,6^{***}$  (Северо-Казахстанская СХОС)); числом зерен на колос и массой зерен на растение ( $r = 0,5^{***}$  по данным двух областей).

4. Дисперсионный анализ (ANOVA) на основе полевых данных трех годов позволил установить, что вклад фактора «окружающая среда» в суммарную дисперсию признаков «время колошения», «время цветения», «число зерен главного колоса» и «урожайность», статистически значимо превышал вклад фактора «генотип», что свидетельствует о важности учета влияния окружающей среды на вариацию данных признаков.

5. Коллекция, состоящая из 29 сортов яровой твердой пшеницы Казахстана, России и Украины (в том числе, включенные в госреестр РК) и 15 образцов КСИ селекции Карабалыкской СХОС охарактеризована с использованием 9 полиморфных SSR-маркеров. Созданы генетические паспорта сортов и перспективных линий твердой пшеницы по 9 SSR-маркерам, который может быть использован как для отбора пар для скрещивания, в маркерной селекции, так и для защиты прав селекционеров.

6. На основании филогенетического анализа коллекции сортов твердой пшеницы с использованием 16425 полиморфных SNP-маркеров, сорта пшеницы Казахстана (Гордеиформе 254, Костанайская 12, Костанайская 52, Черноколосая 20) сформировали одну группу с сортами России (Алмаз, Омский рубин, Саратовская 31), Украины (Харьковская 46) и США (Langdon).

7. При изучении коллекции твердой пшеницы с использованием GWAS, идентифицировано 59 стабильных QTL для 5 признаков (время колошения, высота растения, длина колоса, количество продуктивных колосьев, масса 1000 зерен).

8. Сравнение 59 идентифицированных QTL с ранее опубликованными работами по GWAS твердой пшеницы позволило выявить 32 предположительно новых (ранее не известных) QTL.

9. Двадцать SNP-маркеров твердой пшеницы, выделившиеся на основе использования GWAS, конвертированы в KASP-маркеры. Данный набор KASP-маркеров, связанный с различными хозяйственно-ценными признаками, может быть рекомендован для использования в селекционных программах.

10. Проведена валидация 20 KASP-маркеров на 44 образцах твердой пшеницы. Статистическую значимость с изучаемыми признаками показали 5 KASP-маркеров: *ipbb\_td\_106* (количество продуктивных колосьев), *ipbb\_td\_107*

(количество продуктивных колосьев), *ipbb\_td\_116* (длина колоса), *ipbb\_td\_117* (длина колоса), *ipbb\_td\_119* (масса 1000 зерен).

**Связь с планом основных научных работ.** Диссертация выполнялась в рамках проекта: «Картирование QTL хозяйственно-ценных признаков твердой пшеницы *Triticum durum* Desf. на основе полногеномных исследований ассоциаций» (Номер государственной регистрации: 0118РК00250, 2018-2020 гг.) по бюджетной программе МОН РК 217 «Развитие науки», подпрограммы 102 «Грантовое финансирование научных исследований» на 2018-2020 гг. Приоритет: 4. Наука о жизни и здоровье. Подприоритет: 4.1 Фундаментальные и прикладные исследования в области биологии. – Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы жизнедеятельности растений, животных и человека, их адаптации к биотическим и абиотическим факторам среды обитания.

**Апробация работы.** Результаты исследований были доложены и опубликованы на международных научно-практических конференциях: «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» (Россия, 2018 г.), «From Seed to Pasta» (Италия, 2018 г.), международный конгресс «VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы» (Россия, 2019 г.), «VI Международные Фарабиевские чтения» (Казахстан, 2019 г.). Основные результаты диссертации ежегодно заслушивались на научно-техническом совете факультета «Биология и биотехнология», на заседаниях кафедры «Биотехнология» КазНУ им. аль-Фараби, научных семинарах лаборатории молекулярной генетики и Ученом Совете РГП на ПХВ «Институт биологии и биотехнологии растений». Результаты диссертационной работы включены в Отчет о научно-исследовательской работе по проекту AP055131328 (2018, 2019, 2020 гг.).

**Публикации.** Основное содержание диссертации отражено в 11 печатных работах, включая 2 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science или Scopus с ненулевым импакт-фактором; 1 кратком сообщении, входящим в базу данных Scopus; 2 статьях в республиканских научных журналах, включенных в перечень КОКСОН МОН РК, 1 патенте (полезная модель), 5 тезисах в материалах международных конференций, проведенных в дальнем зарубежье (Италия), ближнем зарубежье (Россия) и Республике Казахстан.

**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 111 страницах и состоит из обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, заключения, списка использованных источников из 248 наименований. Содержит 33 таблицы, 30 рисунков, 3 приложения.