

## **Геномные области, связанные с массой тысячи зерен твердой пшеницы, в условиях Западной Сибири**

*Юсов В.С.\*, к.с.-х. наук, в.н.с., зав. лабораторией селекции твердой пшеницы;  
Евдокимов М.Г., д.с.-х. наук, г.н.с. лаборатории селекции твердой пшеницы.*

*Омский аграрный научный центр, г. Омск, Россия*

*\*email: yusov@anc55.ru*

*Крупность зерна имеет важное значение в селекционной программе по улучшению твердой пшеницы, так как она влияет на выход семолины. Исследование было направлено на использование GWAS для определения геномных областей твердой пшеницы в Западной Сибири, связанных с массой 1000 зерен. Были идентифицированы 11 QTL, из них 2 новые для увеличения массы 1000 зерен.*

*Ключевые слова: твердая пшеница, сорт, масса 1000 зерен, GWAS.*

## **Genomic regions associated with thousand grain weight of durum wheat in the conditions of Western Siberia**

*Yusov V.S., Evdokimov M.G.*

*FSBSI "Omski Agricultural Scientific Center ", Omsk, Russia*

*\*email: yusov@anc55.ru*

*Grain size is important in the breeding program to improve durum wheat, as it is related to the quantity of semolina. The study aimed to use GWAS to determine the genomic regions of durum wheat in Western Siberia associated with a weight of 1000 grains. 11 QTLs were identified, of which 2 were new to increase the weight of 1000 grains.*

*Keywords: durum wheat, variety, weight of 1000 grains, GWAS.*

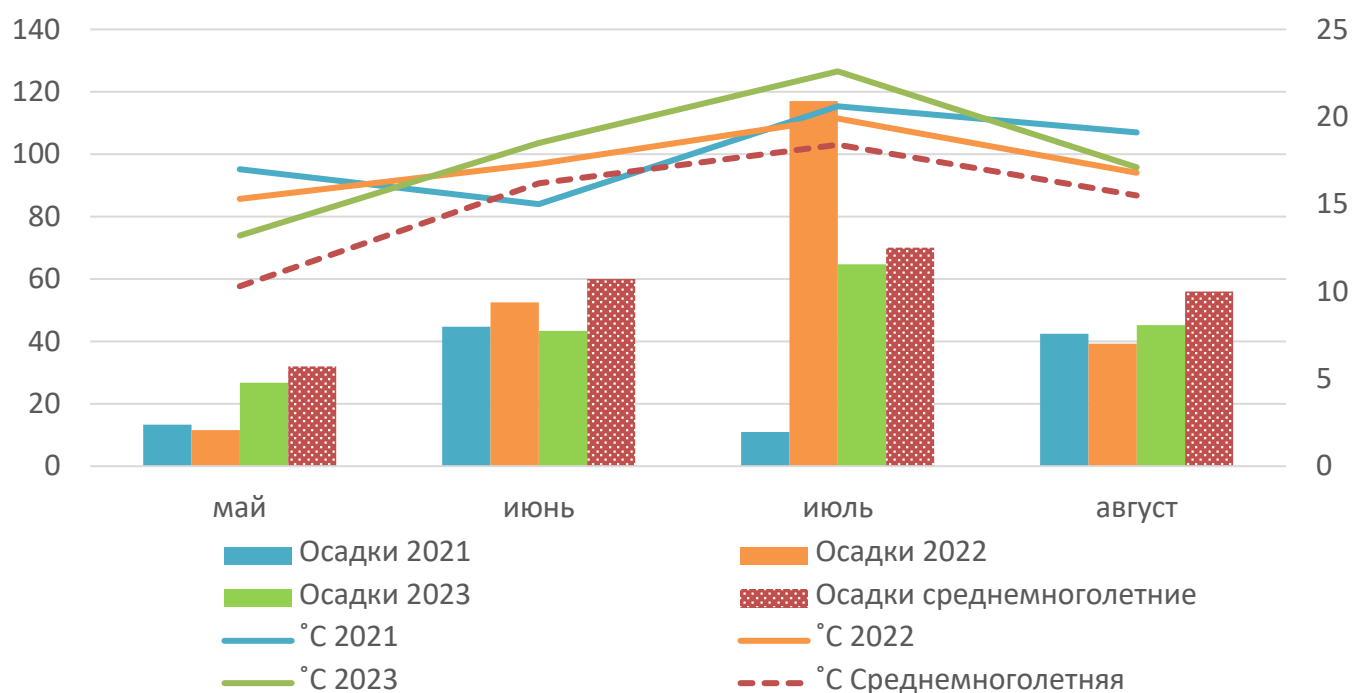
Основное назначение твердой пшеницы – сырье для изготовления макаронных изделий, которые сохраняются длительный срок и содержат хорошо сбалансированный белок. Основной ареал возделывания твердой пшеницы в Западной Сибири – степная и южная лесостепная зоны. Это типичный аридный регион, с недобором осадков и высокими температурами в отдельные периоды вегетации, что зачастую является причиной резкого снижения урожайности [1–3]. В Западной Сибири урожайность сортов твердой пшеницы складывается из следующих компонентов: количества продуктивных побегов, количества зерен в колосе, массы зерна в колосе и массы 1000 зерен. Кроме того крупность зерна при размоле напрямую влияет на выход количества семолины. Варьирование массы 1000 зерен зависит от генотипа сорта и погодных условий, складывающихся в период налива и созревания зерна твердой пшеницы. Идентификация генов устойчивости и локусов количественных признаков являются ключевыми элементами успешной селекционной программы. Общегеномные исследования ассоциаций (GWAS) были успешно использованы для

картирования генетических локусов и анализа геномных областей, лежащих в основе нескольких жизненно важных признаков в пищевых культурах, таких как ячмень, мягкая пшеница. По твердой пшенице результаты GWAS получены для урожайности, устойчивости к патогенам, засухоустойчивости, архитектуры корневой системы [4–6]. Все эти исследования были проведены на Европейских, Африканских и Американских континентах. В Западной Сибири такие исследования не проводились.

Основными слагающими успешного создания новых сортов являются: наличие исходного материала с генетическим разнообразием; целенаправленный подбор родительских компонентов при гибридизации; эффективный отбор генотипов в поколениях. В связи с этим остро стоит проблема поиска новых генов и разработка способов их использования. Последний аспект приобретает все большее значение в связи с возможностями молекулярной селекции.

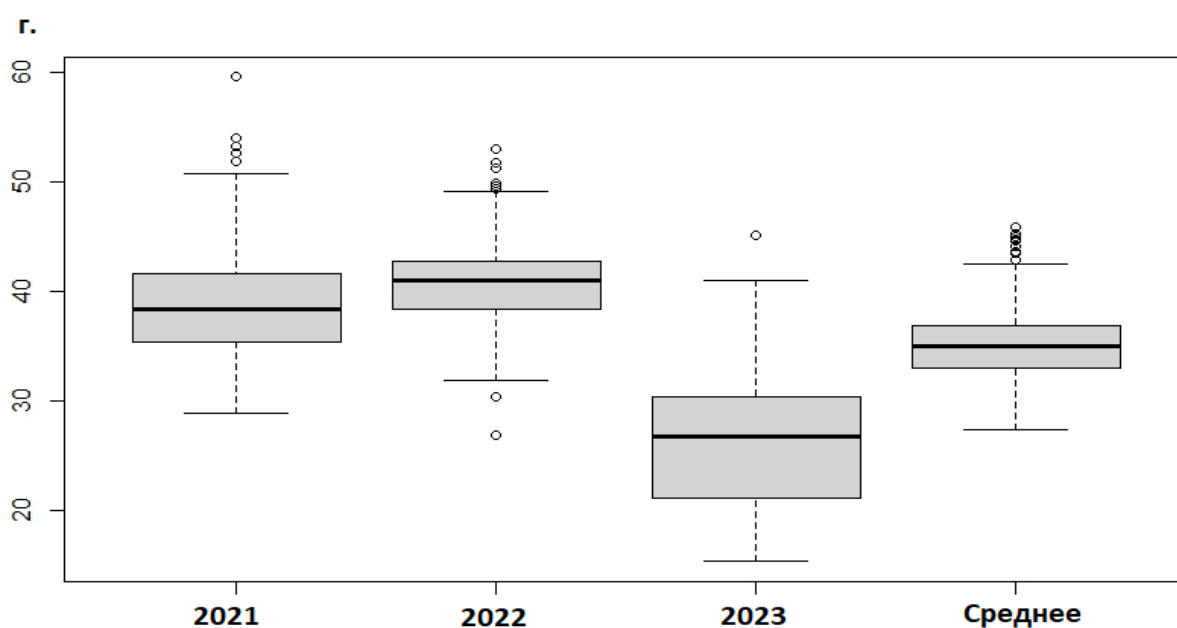
Работа проведена в рамках Гранта «Хлеба России». Объектом исследований служили 149 образцов яровой твердой пшеницы. Полевые опыты проводились в 2021–2023 гг. на опытных полях Омского АНЦ по чистому пару в полном соответствии с требованиями и рекомендациями [7, 8]. Площадь делянок 3 м<sup>2</sup>. Почва опытного поля – чернозем слабо выщелоченный, среднегумусный (6,2 %), тяжелосуглинистый, РН водной вытяжки 6,5. Содержание нитратного азота в слое 0–40 см среднее (16,4 мг/кг по Грандваль-Ляжу), обеспеченность фосфором высокая – 157 мг/кг почвы, калием – очень высокая – 324 мг/кг. Экстракцию ДНК проводили из 7-дневных проростков зерен пшеницы с помощью готового набора реактивов «ДНК-Экстран-3». Концентрацию измеряли на флуориметре Maxlife. Секвенирование ДНК было выполнено в Курчатовском геномном центре на приборе Novaseq 6000 с использованием протокола Illumina. Выравнивание было проведено в центре вычислительной биологии, Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого по референсному геному Svevo.v1[9], в результате было получено 81035 локусов. Общегеномный анализ ассоциаций проводили по шести моделям, которые включали модель с одним локусом: смешанную линейную модель (MLM) и пять мультилокусных моделей, а именно байесовскую модель неравновесия информации и связей с итеративно вложенным ключевым каналом (BLINK), смешанную линейную модель с несколькими локусами (MLMM), фиксированную и случайную модели объединения вероятности циркуляции (FarmCPU), расчет MLM при прогрессивно исключаящих отношениях (SUPER) с использованием “GAPIT” в пакете R и 3-компонентная мультилокусная смешанная линейная модель со случайным SNP-эффектом (*3VmrMLM*) [10, 11].

Метеорологические условия в годы исследований были засушливые. Основным лимитирующим фактором в период исследования была влагообеспеченность растений (рис. 1). Наиболее контрастным был 2022 г. (от сильной засухи в мае до избыточного увлажнения в июле). Сильный недобор осадков, повышенная температура и суховеи наблюдались в 2021 и 2023 гг.



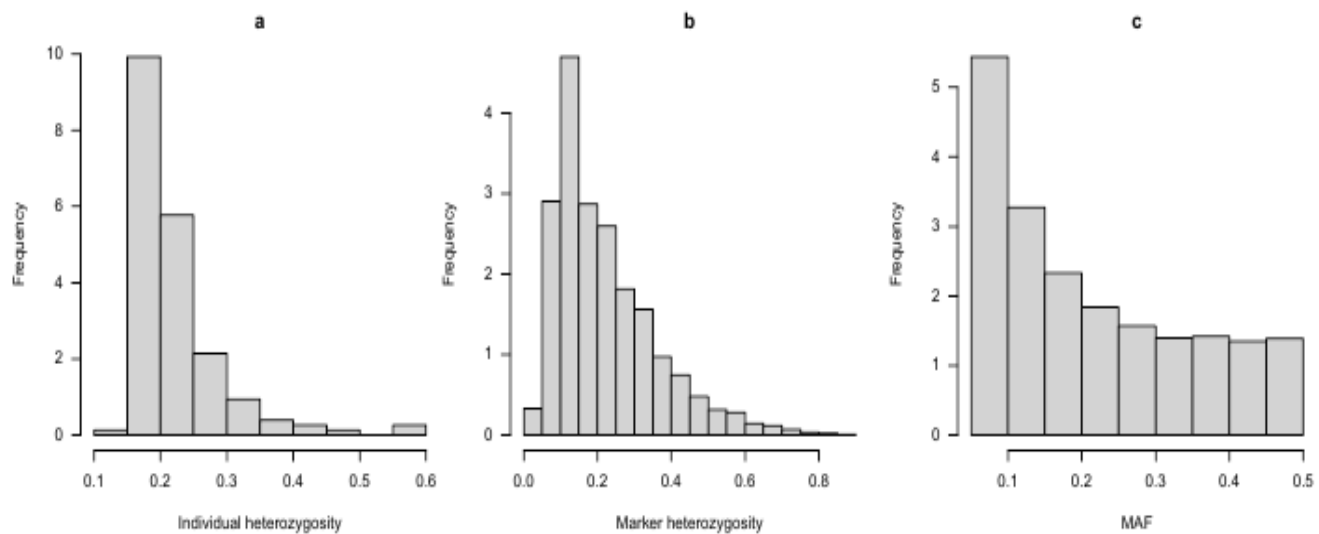
**Рис. 1.** Температура и осадки, 2021–2023 гг., май–август

Среднее значение признака по опыту составило 35,2 г и изменялось от 27,3 до 45,8 г (рис. 2). По годам вариация составила 28,8–59,5 г в 2021 г., 26,8–52,9 в 2022 г. и 15,2–45,0 г в 2023 г. Крупное зерно формировали сорта: Жемчужина Сибири, Омский циркон, Омский малахит, Горд.14-32-1, Таганрог, Воронежская 13, Гусельская, Безенчук-Орловская 1, Золотая, Целинница, Ясенка, Донская элегия, Безенчукская золотистая, Николаша, Памяти Янченко, Луч 25, Безенчукская 205 – 40,2–45,8 г.



**Рис. 2.** Бокс-плот массы 1000 зерен по годам

Наблюдаемая частота минорных аллелей (MAF) была смещена в сторону аллелей с  $MAF < 0,25$ , отмечено преобладание мономорфных маркеров и представленность SNP с  $MAF$  менее 0,25 (рис. 3). На долю редких ( $MAF < 0,05$ ) пришлось около 5,5 % от общего числа полиморфных аллелей.



**Рис. 3.** Распределение частот гетерозиготности и MAF (минорных аллелей) твердой пшеницы

Вышеупомянутые методы выявили 69 QTN, идентифицированных на протяжении всего эксперимента (табл. 1), наибольшее их количество обнаружено в хромосомах 2В, 3В, 4А 7А.

*Таблица 1* – Распределение значимых QTN по хромосомам

| Хромосома | Число QTN | Число QTN, идентифицированных несколькими моделями | R <sup>2</sup> (%) |
|-----------|-----------|----------------------------------------------------|--------------------|
| 1А        | 3         | 0                                                  | 1,8–3,3            |
| 1В        | 6         | 0                                                  | 1,2–5,0            |
| 2А        | 4         | 0                                                  | 3,1–3,6            |
| 2В        | 11        | 1                                                  | 2,1–7,7            |
| 3А        | 1         | 0                                                  | 4,3                |
| 3В        | 7         | 0                                                  | 1,7–4,9            |
| 4А        | 7         | 0                                                  | 2,1–4,5            |
| 4В        | 5         | 0                                                  | 1,6–3,0            |
| 5А        | 2         | 1                                                  | 1,3–4,0            |
| 5В        | 4         | 0                                                  | 2,1–4,4            |
| 6А        | 4         | 0                                                  | 2,2–4,4            |
| 6В        | 4         | 0                                                  | 2,0–5,6            |
| 7А        | 7         | 1                                                  | 1,8–5,5            |
| 7В        | 4         | 0                                                  | 2,6–6,0            |

Все модели показали хорошие результаты в контроле популяционных и семейных структур, что подтверждается соответствующими графиками Q-Q. Два QTN в хромосомах 2В и 5А были обнаружены несколькими моделями, а один в 7А всеми моделями. Значения R<sup>2</sup> для QTN были равны 1,8–7,7, и они указывают на уровень фенотипической изменчивости.

Гены-кандидаты, участвующие в различных процессах, связанных с изменением массы 1000 зерен, представлены в таблице 2. Согласно информации о распаде LD для каждой хромосомы, геномная область из десяти Мбит вокруг каждого значимого SNP (пять Мбит вниз по течению и пять Мбит вверх по течению от значимого SNP) считается QTL. На основе этого подхода было идентифицировано 11 QTL. Идентифицированные гены-кандидаты были разделены на две группы: гены с функциональными аннотациями и гены без функциональных аннотаций. Среди них, 2 в хромосомах 2В и 5А являются новыми QTL, поскольку ранее не сообщалось об этих геномных областях для их связи с массой 1000 зерен. Остальные QTL связаны с генами, кодирующими компоненты клеточной мембраны, регуляторами передачи сигнала, функциями связывания металлов, связывание АТФ, активности киназы. Также можно отметить ген *TRITD\_7Av1G273230*, позицию которого определили все модели GWAS анализа.

Таблица 2 – Гены-кандидаты, расположенные вблизи стабильных QTN

| Хромосома | Позиция   | P.value  | Стабильные QTN           | Протеин (функция)                                      |
|-----------|-----------|----------|--------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1A        | 7757300   | 6.56E-06 | <i>TRITD_1Av1G003590</i> | Cellular component membrane                            |
| 1A        | 539125202 | 1.03E-08 | <i>TRITD_1Av1G206790</i> | Cellular component membrane                            |
| 2A        | 137627939 | 1.34E-06 | <i>TRITD_2Av1G060750</i> | Golgi-associated olfactory signaling regulator 1 hit   |
| 2B        | 57613667  | 1.20E-09 |                          | Ранее не идентифицированы                              |
| 2B        | 701120399 | 4.41E-25 | <i>TRITD_2Bv1G231880</i> | Molecular function metal ion binding                   |
| 3B        | 58620484  | 2.72E-07 | <i>TRITD_3Bv1G022700</i> | Cysteine protease family c1-related 1 hit              |
| 3B        | 765801481 | 6.35E-10 | <i>TRITD_3Bv1G254020</i> | F-box domain containing protein-related 1              |
| 4A        | 627137841 | 2.46E-15 | <i>TRITD_4Av1G262440</i> | P-loop containing nucleotide triphosphate hydrolases 1 |
| 5A        | 153826356 | 8.02E-07 |                          | Ранее не идентифицированы                              |
| 7A        | 709182549 | 4.59E-17 | <i>TRITD_7Av1G273230</i> | ATP binding, kinase activity                           |
| 7B        | 23741284  | 2.01E-07 | <i>TRITD_7Bv1G009010</i> | Cellular component membrane                            |

Таким образом, на основе оценки разнообразной зародышевой плазмы твердой пшеницы в условиях Западной Сибири, были идентифицированы новые QTL, что подтверждает отличие изученного генофонда твердой пшеницы от других. Идентифицированные новые QTL предполагают потенциальное использование в качестве маркеров твердой пшеницы для увеличения массы 1000 зерен.

#### Список литературы

- 1 Евдокимов М. Г., Юсов В. С. Яровая твердая пшеница в Сибирском Прииртышье. Омск. Сфера. 2008. 160 с.
- 2 Розова М.А., Янченко В.И., Мельник В.М. Экологическая пластичность яровой твёрдой пшеницы в условиях Алтая: монография. Барнаул: Азбука. 2010. С. 18–30.
- 3 Савицкая В.А., Синицин С.С., Широков А.И. Твердая пшеница в Сибири. М.: Агропромиздат. 1987. 112 с.
- 4 Fiedler J. D., Salsman E., Liu Y., Michalak de Jiménez M., Hegstad J. B., Chen B., et al. Ge-

- nome-wide association and prediction of grain and semolina quality traits in durum wheat breeding populations. *Plant Genome*. 2017.10(3).doi: 10.3835/plantgenome2017.05.0038.
- 5 Maccaferri M., Harris N. S., Twardziok S. O., Pasam R. K., Gundlach H., Spannagl M., et al. Durum wheat genome highlights past domesticationsignatures and future improvement targets. *Nat. Genet.* 2019. 51. P. 885–895. doi: 10.1038/s41588-019-0381-3.
- 6 Wang S., Xu S., Chao S., Sun Q., Liu S., Xia G. A genome-wide association study of highly heritable agronomic traits in durum wheat. *Front. Plant Sci.* 2019. 10. 919. doi: 10.3389/fpls.2019.00919.
- 7 Мережко А.Ф., Удачин Р.А., Зуев В.Е. Методические указания по изучению мировой коллекции пшеницы, эгилопса и тритикале / С.-Петербург: ВИР им. Н.И. Вавилова. 1997. 59 с.
- 8 Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М.: ООО «Группа Компаний Море». 2019. Вып. 1. 384 с.
- 9 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA\\_900231445.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_900231445.1)
- 10 Li Mei, Zhang Ya-Wen, Zhang Ze-Chang, Xiang Yu, Liu Ming-Hui, Zhou Ya-Hui, Zuo Jian-Fang, Zhang Han-Qing, Chen Ying, Zhang Yuan-Ming. A compressed variance component mixed model for detecting QTNs, and QTN-by-environment and QTN-by-QTN interactions in genome-wide association studies. *Molecular Plant*. 2022. 15(4). P. 630–650.
- 11 Wang Jiabo & Zhang Zhiwu. GAPIT Version 3: Boosting Power and Accuracy for Genomic Association and Prediction. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2021. 19. doi: 10.1016/j.gpb.2021.08.005.

DOI 10.18699/GPB2024-110

### **Физиологическое развитие коллекционных сортообразцов яровой твердой пшеницы**

*Юсова О.А. \*, к.с.-х.н., в.н.с.; Юсов В.С., к.с.-х.н., в.н.с.; Глушаков Д.А., м.н.с.*

*Омский аграрный научный центр, г. Омск, Россия*

*\*email: yusova@anc55.ru*

*Приведена сравнительная характеристика сортов яровой твердой пшеницы по общей ассимиляционной поверхности растений, накопления сухой биомассы, фотосинтетического потенциала, чистой продуктивности фотосинтеза в фенологических фазах кущения, выхода в трубку и цветения.*

*Ключевые слова: сорт, фотосинтез, сухая биомасса, урожайность.*

### **Physiological development of collection varieties of spring durum wheat**

*Yusova O.A. \*, Yusov V.S., Glushakov D.A.*

*FSBSI "Omski Agricultural Scientific Center ", Omsk, Russia*

*\*email: yusova@anc55.ru*

*A comparative description of spring durum wheat varieties is given for the total assimilation surface of plants, accumulation of dry biomass, photosynthetic potential, net photosynthetic productivity in the phenological phases of tillering, booting and flowering.*

*Key words: variety, photosynthesis, dry biomass, yield.*