

## Изучение коллекции озимой твердой пшеницы по генам, оказывающим прямое и опосредованное влияние на морозостойкость растений

А.А. Лаппо<sup>1\*</sup>, А.Г. Черноок<sup>1</sup>, В.А. Коробкова<sup>1</sup>, А.О. Блинков<sup>1</sup>, А.С. Зеленина<sup>1</sup>, А.В. Архипов<sup>1</sup>, А.С. Ермолаев<sup>1</sup>, И.В. Стрембовский<sup>1</sup>, А.С. Яновский<sup>2</sup>, Л.А. Беспалова<sup>2</sup>, А.Д. Воропаева<sup>2</sup>, Г.И. Карлов<sup>1</sup>, М.Г. Дивашук<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» (ФБГНУ НЦЗ им. П.П. Лукьяненко), Краснодар, Россия

\* nlap00@mail.ru

**Актуальность:** Озимая твердая пшеница демонстрирует значительно более высокую урожайность по сравнению с яровой, однако ее производство ограничивается риском вымерзания. Вымерзание является результатом совокупного воздействия различных абиотических и биотических стрессов, среди которых наибольшее влияние оказывают низкие температуры. Использование в производстве устойчивых, хорошо адаптированных морозостойких сортов позволит минимизировать риск гибели посевов.

**Цель:** Провести скрининг коллекции озимой твердой пшеницы по генам, которые вносят основной и косвенный вклад в формирование адаптации растений к холоду и оценили степень их влияния.

**Материалы и методы:** Объектом исследования стала коллекция озимой твердой пшеницы, состоящая из 234 сортов и перспективных линий как российской, так и зарубежной селекции. ДНК выделяли из перемолотого зерна с помощью набора реагентов «МагноПрайм® ГМО» на автоматизированной станции для массового выделения ДНК Auto-Pure 96 (Allsheng, КНР). Выборка состояла из 15–20 зерен на сортообразец. KASP ПЦР проводилась на приборах Bio-Rad CFX 96 и CFX 384 по рекомендуемым производителем условиям. Реакционная смесь включала Mastermix с карбоксифлуоресцеином и гексахлорфлуоресцеином в качестве флуоресцентных красителей объемом 5 мкл, а также смесь двух прямых и одного общего обратного праймеров с концентрацией 50 мМ в соотношении 1:1:2,5 объемом 0,14 мкл. ДНК анализируемой пробы добавлялась в объеме 5 мкл (концентрация 50 нг/мкл). В общей сложности для генотипирования было использовано 12 KASP маркеров. Оценку селекционного материала на морозостойкость проводили по методике государственного сортоиспытания в фитотронном комплексе НЦЗ им. П.П. Лукьяненко.

**Результаты:** Скрининг с использованием KASP-маркеров выявил однородность исследуемой коллекции по гену *Rht1*: 99,2% генотипов несли мутантный аллель, ассоциированный с короткостебельностью. Аналогично по гену *Gw2-6B* 99,2% генотипов имели аллель, связанный со снижением размеров зерновки. В то же время было выявлено генетическое разнообразие коллекции по генам *VrnA1*, *DRO1*, *CWI*, *SUS1*, *TaTGW6-A1*, *Gw2-6A* и локусу *Fr-A2*.

Анализ влияния аллелей изучаемых генов на признак морозостойкости выявил отсутствие значимого влияния генов *Rht1*, *CWI*, *Gw2-6A* и *Gw2-6B* на данный признак. Морозостойкость растений сильно коррелировала с потребностью в длительной яровизации (0,59), которая определялась аллелем *vrnA1b*. Была выявлена сильная положительная корреляция (0,63) между морозостойкостью и аллелем гена *DRO1*, который ассоциирован с развитием глубоко залегающей корневой системы. Это может объясняться повышенной устойчивостью к засухе у таких генотипов. Аллель *TGW6-A1b* гена *TaTGW6-A1*, связанный с пониженной массой 1000 зерен, оказывал незначительное влияние на признак морозостойкости и позитивно коррелировал с ее повышением (0,33), а аллель *TGW6-A1a*, наоборот, негативно коррелировал с морозостойкостью. Также была выявлена слабая отрицательная корреляция (-0,26) аллеля Нар-Т гена *SUS1*, отвечающего за повышенное накопление сахаров.

Для локуса *Fr-A2*, непосредственно отвечающего за морозостойкость, как и ожидалось, по всем трем нацеленным маркерам была зафиксирована высокая положительная корреляция аллелей толерантности с увеличением морозостойкости: S1077313 – 0,91, S1862541 – 0,90 и S2269949 – 0,90. Эти высокие значения корреляции косвенно подтверждают вклад локуса *Fr-A2* в морозостойкость и подчеркивают эффективность выбранных маркеров.

**Выводы:** Проведенный нами с использованием KASP-маркеров аллельный скрининг 234 сортов и перспективных линий озимой твердой пшеницы позволил выявить структуру изучаемой коллекции по генам *VrnA1*, *Rht1*, *DRO1*, *SUS1*, *CWI*, *TaTGW6-A1* и *Gw2*, оказывающим опосредованное влияние на признак морозостойкости и по локусу *Fr-A2*, непосредственно определяющему данный признак. Результаты аллельного скрининга подтвердили данные прямых оценок морозостойкости исследуемой коллекции.

**Финансирование:** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-16-00274, <https://rscf.ru/project/24-16-00274/>.