

# КАРТИРОВАНИЕ QTL, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКОВ ЗЕРНОВОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

Г.В. Мирская, Е.В. Канаш, Н.В. Кочерина, Н.А. Рушина, Д.В. Русаков,  
Ю.В. Чесноков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Агрофизический  
научно-исследовательский институт”, Санкт-Петербург, Россия, [galinanm@gmail.com](mailto:galinanm@gmail.com)

**Аннотация.** С использованием картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) был проведен QTL (quantitative trait loci) анализ основных признаков зерновой продуктивности при двух уровнях азотного питания в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы. Для каждого изученного признака установлены QTL, эффекты действия выявленных QTL, доли фенотипической изменчивости, определяемой каждым QTL, и молекулярные маркеры, генетически сцепленные с идентифицированными QTL. Найденные молекулярные маркеры могут служить для использования в селекционных программах по улучшению существующих сортов пшеницы, адаптированных для усвоения азотных удобрений.

**Ключевые слова:** пшеница, QTL, генетическое картирование, продуктивность, азот

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-527-530

Определение влияния азотных удобрений на различные генотипы, является перспективным подходом для достижения высокой продуктивности у пшеницы [Bogard et al., 2011]. Растения, способные с большей отдачей поглощать и ассимилировать азотные удобрения, в перспективе могут дать больший урожай зерна с повышенным качеством белка. Эффективность усвоения азотных удобрений – сложный признак, контролируемый множеством генов. Одним из способов изучения генетической изменчивости таких признаков может служить картирование локусов количественных признаков (QTL). На сегодняшний день известно целый ряд исследований, в которых у пшеницы (*Triticum aestivum* L.), идентифицировали QTL усвоения азотных удобрений в различных условиях выращивания, провели картирование QTL урожайности и связанных с потреблением азота признаков [Guo et al., 2012; Xu et al., 2014].

Цель данной работы состояла в проведении QTL анализа и выявлении молекулярных маркеров, генетически сцепленных с QTL, определяющих проявление признаков зерновой продуктивности у картирующей популяции ITMI яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при различных уровнях азотного питания в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы.

Объектом исследования для QTL анализа служили рекомбинантные инбредные линии картирующей популяции ITMI яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [Чесноков и др., 2018].

Выращивание и оценка растений выполнена в контролируемых условиях биополигона ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт». При культивировании растений основные параметры жизнеобеспечения были постоянными: температура – 25-26 °С - день/ 20-21 °С ночь, фотопериод - 16 часов, облученность на уровне верхних листьев -  $50 \pm 0,5$  Вт/м<sup>2</sup> ФАР. Растения выращивали в вегетационных сосудах объемом 2 л (по 2 растения в каждом). Повторность для каждой линии и каждой родительской формы – 2-кратная.

В качестве корнеобитаемой среды использовали дерново-подзолистую легко суглинистую почву. Опыт включал два варианта, отличающихся по уровню азотного

питания: вариант 1 – азотные удобрения во время вегетации растений не вносили, вариант 2 – выполнена 2-кратная подкормка мочевиной перед посевом и в фазу онтогенеза «выход в трубку». Всего в два приема при удобрении было внесено 0,321 мг мочевины на кг почвы. На протяжении всего периода вегетации растений влажность почвы поддерживали равной 70-80% от полной влагоемкости при ежедневном поливе водой. При завершении вегетационных опытов для каждого индивидуального растения определяли основные признаки зерновой продуктивности.

QTL анализ, идентификацию и локализацию на группах сцепления, установление степени варьирования признаков ( $R^2$ ), которые объясняются данным QTL, для каждого признака выполняли с помощью компьютерных программ: MAPMAKER/EXP 3.0, QGENE и STATISTICA 6.0, как это было описано ранее [Чесноков и др., 2018]. Достоверность взаимосвязи между выявленными локусами полиморфизмом по тому или иному признаку оценивали на основе порогового значения логарифма шансов LOD-score (logarithm of odds) [Кочерина и др., 2011].

В результате проведенных исследований нами выявлены QTL, контролирующие изученные признаки зерновой продуктивности (таблица). Признаки “длина колоса”, “число колосьев” и “число колосков в колосе”, “число зерен в колосе и в колоске”, а также “масса зерна с колоса”, проявили зависимость от того было или нет внесено азотное удобрение.

Таблица.

**QTL, выявленные у картирующей популяции ITMI в контролируемых условиях агроэкобиополигона, в отсутствие (Опыт 1) и при внесении (Опыт 2) азотного удобрения**

Признак	Сим-вол	Опыт 1*			Опыт 2*		
		Хромосома	Маркер	$R^2$	Хромосома	Маркер	$R^2$
Длина колоса	SpL	4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	12.48	4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	24.98
					4A (120.7)	<i>Xbcd1670a</i>	24.81
					1B (182.7)	<i>Xbcd12</i>	15.02
Число колосков в колосе	NSpt	5A (47.3)	<i>Xabg391</i>	13.47	4A (124.4)	<i>Xmwig549b</i>	25.73
		4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	9.97	4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	17.71
Число зерен в колосе	NSeSpt	4B (121.9)	<i>Xgwm856</i>	14.62	1A (144.1)	<i>Xbcd1072</i>	12.59
		2D (300.0)	<i>Xcdo456d</i>	12.67	7A (154.1)	<i>Xgwm573b</i>	11.19
Число зерен в колосе	NSeSp	2D (300.0)	<i>Xcdo456d</i>	17.54	7D (60.6)	<i>Xfba204a</i>	18.61
		7B (377.0)	<i>Xgwm661</i>	12.07	3A (70.0)	<i>Xcdo638</i>	13.63
		4A (120.7)	<i>Xbcd1670a</i>	9.89	4A (120.7)	<i>Xbcd1670a</i>	10.52
Масса зерна с колоса	GMSp	2D (300.0)	<i>Xcdo456d</i>	21.35	1B (229.3)	<i>Xgwm33b</i>	18.13
		7B (377.0)	<i>Xgwm661</i>	14.92	7D (60.6)	<i>Xfba204a</i>	17.93
Масса 1000 зерен	TGW	3B (146.5)	<i>XATPaseb</i>	15.77	5D (240.7)	<i>Xmwig561c</i>	10.82
		7B (257.3)	<i>Xgwm1173</i>	13.17	3D (11.6)	<i>Xmwig11b</i>	10.67
		5D (130.8)	<i>Xbcd450a</i>	7.98	3B (245.6)	<i>Xtam61b</i>	8.89
Число колосьев	NStS	5A (89.0)	<i>Xrz395b</i>	14.92	2A (172.9)	<i>Xfba178</i>	13.86
		3D (254.8)	<i>Xgwm71c</i>	11.86	5D (140.5)	<i>Xgwm271b</i>	13.67

\* жирным шрифтом выделены маркеры со значениями  $LOD > 3$ ; обычный шрифт – маркеры с  $LOD \geq 2,5 < 3$ ,  $R^2$  – процент фенотипической изменчивости, определяемый данным QTL

Процент фенотипической изменчивости для этих признаков варьировал от 9.89 (признак “число зерен в колосе”) до 21.35 (“масса зерна с колоса”) в опыте без внесения

удобрения, и от 10.52 (признак “число зерен в колосе”) до 25.73 (признак “число колосков в колосе”) в опыте с внесением азотного удобрения. Признак “масса 1000 зерен” проявил стабильность идентификации, определяющих его QTL, на группах сцепления (3В и 5D), но при этом локализация выявленных QTL существенно различалась в зависимости от того вносилось или нет азотное удобрение. Так, для группы сцепления 3В QTL были определены в позиции 146.5 сМ (опыт без внесения удобрения) и в позиции 246.5 сМ (опыт с внесением удобрения), а для группы сцепления 5D – в позиции 130.8 сМ (опыт без внесения удобрения) и в позиции 240.7 сМ (опыт с внесением удобрения).

Установлено, что QTL признаков урожайности проявляли нестабильность, меняли свое месторасположение и формировали кластеры на группах сцепления в зависимости от того вносилось или нет азотное удобрение. QTL признаков “длина колоса”, “число колосьев” и “число колосков в колосе”, “число зерен в колосе и в колоске”, а также “масса зерна с колоса” в опыте без внесения азотного удобрения, были идентифицированы на 2D, 3D, 4A, 4B, 5A и 7B, а в опыте с внесением азотного удобрения – на 1A, 1B, 2A, 3A, 4A, 7A и 7D группах сцепления. Еще один признак продуктивности – “масса 1000 зерен”, в обоих экспериментах образовывал по два кластера на хромосомах 3В и 5D, но в зависимости от того добавлялось или нет азотное удобрение в разных экспериментах выявленные кластеры на этих группах сцепления располагались в разных позициях.

Поскольку линии картирующей популяции насыщены молекулярными маркерами [Ganal, Röder, 2007], то это дает возможность не только устанавливать позиции QTL, отвечающих за проявление того или иного признака, находить процент фенотипической изменчивости, определяемый каждым из идентифицированных QTL, но и выявлять молекулярные маркеры, генетически сцепленные с установленными QTL [Ganal, Röder, 2007; Чесноков и др., 2012]. Проведенное нами картирование QTL позволило установить конкретные локусы отдельных групп сцепления (молекулярные маркеры), вовлеченные в реализацию исследуемых признаков зерновой продуктивности в зависимости от того вносилось или нет азотное удобрение. В общей сложности было определено 40 маркеров, достоверно сцепленных с изученными нами признаками. Установленная взаимосвязь между идентифицированными локусами хромосом и полиморфизмом по тому или иному признаку в ответ на внесение азотного удобрения дает возможность для проведения дальнейшей маркер-опосредованной селекции у пшеницы.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00311a.*

#### Литература

Кочерина Н.В., Артемьева А.М., Чесноков Ю.В. Использование лод-оценки в картировании локусов количественных признаков у растений // Доклады Россельхозакадемии. – 2011. – № 3. – С. 14–17.

Чесноков Ю.В., Гончарова Э.А., Почепня Н.В., Ситников М.Н., Кочерина Н.В., Ловассер У., Бёрнер А. Идентификация и картирование QTL физиолого-агрономических признаков яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в градиенте доз азотного питания // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 3. – С. 47–60.

Чесноков Ю.В., Мирская Г.В., Канаш Е.В., Кочерина Н.В., Русаков Д.В., Ловассер У., Бёрнер А. Идентификация и картирование QTL у яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в контролируемых условиях агроэкобиополигона в отсутствии и при внесении азотного удобрения // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 1. – С. 80–93.

Bogard M., Jourdan M., Allard V., Martre P., Perretant M. R., Ravel C., Heumez E.,

Orford S., Snape J., Griffiths S., Gaju O., Foulkes J., Le Gouis J. Anthesis date mainly explained correlations between post-anthesis leaf senescence, grain yield, and grain protein concentration in a winter wheat population segregating for flowering time QTLs // J. Exp. Bot. – 2011. – V. 62. – P. 3621–3636.

Ganal M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding // Genomics Assisted Crop Improvement: Genomics Applications in Crops / Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. Springer. – 2007. – V. 2. – P. 1–24.

Guo Y., Kong F.-M., Xu Y.-F., Zhao Y., Liang X., Wang Y.-Y., An D.-G., Li S.-S. QTL mapping for seedling traits in wheat grown under varying concentrations of N, P and K nutrients // Theor. Appl. Genet. – 2012. – V. 124. – P. 851–865.

Xu Y., Wang R., Tong Y., Zhao H., Xie Q., Liu D. Mapping QTLs for yield and nitrogen-related traits in wheat: influence of nitrogen and phosphorus fertilization on QTL expression // Theor. Appl. Genet. – 2014. – V. 127. – P. 59–72.

### **QTL MAPPING THAT DETERMINE TRAITS OF GRAIN PRODUCTIVITY IN SOFT SPRING WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) UNDER DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN NUTRITION**

G.V. Mirskaya, E.V. Kanash, N.V. Kocherina, N.A. Rushina, D.V. Rusakov,  
Yu.V. Chesnokov

Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia, *galinanm@gmail.com*

**Abstract.** Quantitative trait loci (QTL) of agriculturally valuable traits of ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) mapping population of soft spring wheat (*Triticum aestivum* L.) were mapped in two experiments with two levels of nitrogen nutrition under the controlled conditions. QTL, the effects of the actions identified by QTL, the proportion of phenotypic variability determined by each QTL, and molecular markers genetically linked to the identified QTL were determined for each studied trait. The molecular markers found can be used in breeding programs to improve the existing varieties of wheat adapted for the assimilation of nitrogen fertilizers.

**Keywords:** *Triticum aestivum*, QTL mapping, traits of grain productivity, nitrogen fertilizers, controlled conditions of agroecological