

## АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (Ph.D.) по образовательной программе «8D05101 – Биология»  
Гениевской Юлии Анатольевны  
на тему: «**Полногеномный анализ ассоциаций признаков качества зерна ярового ячменя в Казахстане**»

**Актуальность исследования.** Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) является одной из важнейших зерновых культур в мире и в Казахстане. Стабильное увеличение производства высокоурожайного и высококачественного зерна ячменя, используемого для кормового и пищевого производства, а также пивоварения, важно для обеспечения продовольственной безопасности в мире и внутри страны. Современная селекционная наука и использование новых молекулярно-генетических технологий в процессе создания сортов могут дать толчок развитию данной отрасли. Мировой опыт внедрения молекулярно-генетических технологий в селекционные программы показывает существенное ускорение селекции зерновых культур и экономию соответствующих ресурсов. Однако, в Казахстане внедрение молекулярно-генетических технологий в селекцию пока недостаточно активное. В связи с этим очень важно изучать генетические ресурсы ячменя из казахстанских и зарубежных коллекций с использованием как традиционных методов селекции, так и современных методологий молекулярной генетики, геномики и маркерной селекции, а также разрабатывать новые молекулярные инструменты для отечественных селекционеров ячменя.

**Объекты исследования:** 1) мировая коллекция, состоящая из 406 сортов и линий двурядного ярового ячменя из США, Казахстана, Европы и Африки; 2) коллекция двурядного и шестирядного ярового ячменя, состоящая из 658 образцов из США и Казахстана; 3) 34 перспективные линии ярового ячменя (гибриды старшего поколения  $F_{>8}$ ) селекции Карабалыкской СХОС.

**Предмет исследования.** Локусы количественных признаков (*quantitative trait loci*, QTL) и маркеры типа KASP (*kompetitive allele specific PCR* – конкурентная аллель-специфичная ПЦР), связанные с признаками качества зерна ячменя.

**Цель исследования.** Идентификация локусов количественных признаков (QTL), связанных с признаками качества зерна ярового ячменя, выращенного в Казахстане.

### **Задачи исследования.**

1. Оценить изменчивость признаков качества зерна в коллекциях ярового ячменя, выращенных в четырех областях Казахстана.

2. Изучить генетическое разнообразие и охарактеризовать генетическую структуру коллекций ярового ячменя, включающих образцы из США, Казахстана, Европы и Африки, с использованием маркеров однонуклеотидного полиморфизма (*single nucleotide polymorphism*, SNP).

3. Идентифицировать локусы количественных признаков для шести показателей качества зерна с использованием коллекций ярового ячменя и методологии полногеномного анализа ассоциаций (*genome-wide association study*, GWAS).

4. Разработать ДНК-маркеры для конкурентной аллель-специфичной ПЦР (*kompetitive allele-specific PCR*, KASP), связанные с признаками качества зерна ячменя, и подтвердить их эффективность.

5. Отобрать перспективные для селекции линии ячменя с использованием ДНК-маркеров типа KASP, связанных с признаками качества зерна.

**Методы исследования.** В работе использовались молекулярно-генетические методы, методики полевого опыта, методы оценки признаков качества зерна ячменя, а также статистические методы. Молекулярно-генетические методы включали выделение и очистку ДНК, SNP- и KASP-генотипирование (в том числе полимеразную цепную реакцию). Полевые опыты проводились совместно с Казахским научно-исследовательским институтом земледелия и растениеводства (КазНИИЗиР, п. Алмалыбак, Алматинская область), Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станцией (с. Научное, Костанайская область), Карагандинской сельскохозяйственной опытной станцией имени А.Ф. Христенко (с. Центральное, Карагандинская область) и Казахским научно-исследовательским институтом рисоводства имени И. Жахаева (г. Кызылорда, Кызылординская область) в течение нескольких лет. Анализ качества зерна проводился в лаборатории качества зерна ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства». В перечень изученных признаков качества зерна ячменя вошли содержание в зерне сырого белка (GPC, %), крахмала (GSC, %), жиров (GLC, %) и клетчатки (GCC, %), а также экстрактивность (EX, %). Данные показатели были оценены с помощью анализатора зерна инфракрасной спектроскопии DS2500 (FOSS, Дания). Натура зерна (TWL, г/л) определялась согласно ГОСТу 10840-2017. Статистические методы включали GWAS с использованием пакета GAPIT для R и смешанной модели с множественными локусами (*multi locus mixed model*, MLM), анализ структуры популяции с использованием анализа главных компонентов (*principal component analysis*, PCA) и кластеризации методом объединением соседей (*neighbor joining*, NJ), метод Байесовской цепи Маркова Монте-Карло (*Markov chain Monte Carlo*, MCMC) в программе STRUCTURE. Другая статистика включала дисперсионный анализ, корреляционный анализ по Пирсону, тест Стьюдента и визуализацию результатов с использованием пакетов для RStudio. В 2023 году докторант прошла научную стажировку по теме исследования в Джон Иннес Центре, Норидж, Великобритания, под руководством зарубежного научного консультанта.

**Научная новизна исследования** заключается в выявлении новых QTL, связанных с признаками качества зерна ячменя, с использованием современных геномных технологий для повышения эффективности селекционных исследований в Казахстане. Впервые с использованием SNP-

маркеров проведено сравнение генетического профиля сортов ячменя Казахстана с зарубежными сортами. QTL, связанные с признаками качества зерна ячменя, были идентифицированы с помощью GWAS на основе фенотипических данных, собранных в условиях северного, центрального, юго-восточного и южного Казахстана. Всего было идентифицировано 64 QTL для шести признаков качества зерна ячменя. Среди них 11 новых QTL, идентифицированных для содержания белка, крахмала, клетчатки, жиров, натуры зерна и экстрактивности, которые ранее не были описаны в литературе, включая 3 QTL для нескольких признаков, стабильных для различных регионов Казахстана в течение нескольких лет. Четырнадцать стабильных QTL были идентифицированы в двух или более регионах страны, демонстрируя сходство с генами и/или QTL ячменя, описанными в литературе. Используя результаты GWAS, были разработаны 28 новых маркеров типа KASP для шести показателей качества зерна ячменя. Восемь из них успешно прошли валидацию на ассоциации с содержанием белка, крахмала, натурой зерна и экстрактивностью и рекомендованы для маркер-опосредованной селекции (*marker-assisted selection*, MAS) ячменя в Казахстане.

**Практическая значимость исследования** связана с усилением местных селекционных программ в Казахстане, направленных на улучшение качества зерна ячменя с использованием новых геномных технологий. По результатам GWAS было разработано и запатентовано (патент на полезную модель № 6643) 28 маркеров типа KASP. Восемь из них успешно прошли валидацию и могут быть рекомендованы для MAS ячменя в Казахстане. С помощью этих маркеров были выявлены 4 перспективные линии ячменя для пивоварения с высоким качеством зерна и 3 линии, пригодные для производства кормов. Эти линии рекомендованы для выведения новых высококачественных пивоваренных и кормовых сортов. Совместно с Карабалыкской СХОС на основе методов классической и молекулярной селекции создан высококачественный и продуктивный сорт ярового ячменя «Атлет».

**Теоретическая значимость** исследования включает новые и подтвержденные QTL для шести важных показателей качества зерна ячменя, выявленных с использованием фенотипических данных, полученных в северном, центральном, юго-восточном и южном Казахстане. Все они имеют потенциал для дальнейшего изучения и возможной идентификации генов-кандидатов. Анализ литературы показал, что ранее в Казахстане не проводились GWAS для признаков качества зерна ячменя. Результаты, полученные в данном исследовании, служат основой для разработки новых стратегий повышения эффективности селекции ячменя, в том числе MAS, направленных на создание новых конкурентоспособных сортов для внутреннего и внешнего рынков.

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

1. Широкая фенотипическая изменчивость показателей качества зерна в коллекциях ярового ячменя, включающих образцы из США, Казахстана, Европы и Африки, выявленная в результате многолетних полевых опытов в

четырёх регионах Казахстана, соответствует необходимым критериям GWAS. Для каждого региона отобраны наиболее высококачественные образцы, рекомендуемые для использования в селекционных программах, направленных на улучшение качества ячменя в соответствии с типами конечного использования зерна.

2. Высокое генетическое разнообразие и структура популяции коллекций ярового ячменя, выявленные с помощью SNP-генотипирования, соответствуют критериям GWAS.

3. Генетическое сходство образцов ячменя из Казахстана с образцами из Африки, Европы и Западной Азии, обнаруженное с помощью данных SNP генотипирования, подтверждает использование сортов из этих регионов в селекции современных сортов ячменя в Казахстане.

4. Идентифицированные в результате GWAS-анализа 64 высоко значимых QTL ( $P < 3,14E-05$ ) для признаков содержание белка, крахмала, клетчатки, жиров, натура зерна и экстрактивность, включающие 14 стабильных, 8 предположительно новых и 3 предположительно новых стабильных QTL, являются источником новых знаний и имеют практическую ценность для маркерной селекции ячменя.

5. Создан набор из 28 маркеров типа KASP для наиболее значимых QTL ( $P < 1,00E-6$ ), связанных с содержанием белка, крахмала, клетчатки, жиров, натурой зерна и экстрактивностью ячменя.

6. Подтверждена значимость ( $P < 0,05$ ) и получен патент на 8 маркеров типа KASP для ассоциаций с содержанием белка, крахмала, натурой зерна и экстрактивностью, обнаруженными в GWAS.

7. Разработанные KASP-маркеры позволили идентифицировать 7 наиболее перспективных линий для селекции ярового ячменя: 3 линии пищевого и кормового направления и 4 линии – для пивоваренного направления.

8. Совместно с Карабалыкской СХОС на основе методов классической и молекулярной селекции создан высококачественный и продуктивный сорт ярового ячменя «Атлет».

**Связь с планом основных научных работ.** Диссертация выполнена в рамках гранта № AP08052804 «Создание и подтверждение эффективности KASP маркеров для ключевых признаков продуктивности и качества зерна двурядного ярового ячменя» на 2020–2022 гг. и Научно-технической программы BR18574149 «Создание высокопродуктивных сортов и линий сельскохозяйственных культур на основе инновационных биотехнологий» (Задача 2: Создание высокопродуктивного сорта ярового ячменя на основе сочетания классических и молекулярных методов селекции) на 2023–2024 гг. от Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

**Личный вклад докторанта в подготовку каждой публикации включает** сбор данных по теме исследования, выполнение теоретических и экспериментальных исследований, в т.ч. анализ, интерпретацию и представление результатов, а также подготовку статей к публикации.

**Апробация научно-исследовательской работы.** Результаты

исследований были опубликованы и доложены на международных научно-практических конференциях «VI PlantGen» (Россия, 2021 г.) и «Фараби әлемі» (Казахстан, 2022 г.). Основные результаты диссертации ежегодно представлялись на научно-техническом совете факультета биологии и биотехнологии, на заседаниях кафедры молекулярной биологии и генетики КазНУ им. аль-Фараби, научных семинарах лаборатории молекулярной генетики Института биологии растений и биотехнологии (ИББР), а также конференциях молодых ученых ИББР. Результаты диссертационной работы включены в ежегодные отчеты о НИР по проекту AP08052804 (2020–2022 гг.) и Научно-технической программе BR18574149 (2023–2024 гг.).

**Публикации.** Основные результаты диссертационной работы представлены в 12 научных публикациях, в том числе 3 статьях в рецензируемых изданиях, входящих в Q1 (1-ый квартиль) по базе Web of Science; 4 статьях в отечественных научных журналах, включенных в перечень Комитета по обеспечению качества в сфере образования Министерства науки и высшего образования РК, 1 патенте (полезная модель), 2 тезисах в материалах международных конференций зарубежом (Россия) и в Республике Казахстан, 1 монографии и 1 методических рекомендациях.