

БИОЛОГИЯ**BIOLOGY**

УДК 633.111.1:631.523.4

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-214-221>

Поступило в редакцию 26.09.2022

Received 26.09.2022

**В. А. Лемеш¹, академик С. И. Гриб², Е. В. Лагуновская¹, В. Н. Кипень¹,
А. А. Булойчик¹, В. Н. Буштевич², В. И. Сакович¹**

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по земледелию,
Жодино, Республика Беларусь

**KASP-ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЛОКУСОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРИЗНАКОМ
«МАССА 1000 ЗЕРЕН» МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

Аннотация. С использованием технологии KASP определен аллельный состав локусов *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, *TaGs3-D1*, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», у 25 сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции. Подобраны аннотированные ДНК последовательности для моделирования и синтеза праймеров KASP. Показано, что исследованные генотипы несут как благоприятные аллели, ассоциированные с увеличением массы 1000 зерен, так и аллели, оказывающие негативное влияние на исследуемый признак. Выделено 6 образцов пшеницы белорусской селекции, несущих комплекс аллелей, положительно коррелирующих со значением массы 1000 зерен: сорт Весточка-17, сортообразцы Э-2318, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2695.

Ключевые слова: мягкая яровая пшеница, масса 1000 зерен, молекулярные маркеры, ген, локус, аллель, KASP-генотипирование

Для цитирования. KASP-генотипирование локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен» мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / В. А. Лемеш [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 214–221. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-214-221>

**Valiantsina A. Lemesh¹, Academician Stanislau I. Gryb², Alena V. Lagunovskaya¹, Viachaslau N. Kipen¹,
Andrei A. Bulochik¹, Victor N. Bushtevich², Valiantsina I. Sakovich¹**

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Arable Farming,
Zhodino, Republic of Belarus

**KASP GENOTYPING OF LOCI ASSOCIATED WITH THE “1000-GRAIN WEIGHT” TRAIT
IN COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

Abstract. Using the KASP technology, the allelic composition of *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, and *TaGs3-D1* loci associated with the 1000-grain weight trait was identified in 25 varieties and variety accessions of the common wheat of Belarusian and foreign breeding. Annotated DNA sequences were selected for modeling and synthesis of KASP primers. It was demonstrated that the examined genotypes had carried both favorable alleles associated with 1000-grain weight, and the alleles producing a negative effect on the trait under study. Six wheat accessions of Belarusian breeding were identified. They carried a complex of alleles positively correlating with the 1000-grain weight trait: variety Vestochka-17, accessions E-2318, E-2263, E-2298, E-1569, and E-2695.

Keywords: common wheat, 1000-grain weight, molecular markers, a gene, a locus, allele, KASP genotyping

For citation. Lemesh V. A., Gryb S. I., Lagunovskaya A. V., Kipen V. N., Bulochik A. A., Bushtevich V. N., Sakovich V. I. KASP genotyping of loci associated with the “1000-grain weight” trait in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 3, pp. 214–221 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-3-214-221>

Введение. Один из подходов в современной селекции растений – идентификация в селекционном материале генов, отвечающих за хозяйственно важные признаки. Генотипическая характеристика селекционного образца является частью практически каждого эксперимента, связанного с направленным отбором растений. Понимание функций генов и доступ к полногеномным последовательностям ДНК открыли новые аспекты для улучшения сельскохозяйственных культур [1]. В основе маркирования генов, идентификации их различных аллельных вариантов и разработки технологий ускоренного и направленного отбора исходного и селекционного материала лежит полиморфизм ДНК (маркер-ассоциированная и геномная селекция). Аллельные вариации в геноме одного и того же вида можно разделить на три основные группы: различия в количестве tandemных повторов в определенном гене, сегментные вставки/делеции и однонуклеотидные полиморфизмы [2]. К настоящему времени разработано множество молекулярных маркеров для обнаружения полиморфизмов, возникающих в результате этих трех типов генетических изменений. Маркеры однонуклеотидного полиморфизма (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) оказались наиболее универсальными и распространенными формами генетической изменчивости среди особей одного и того же вида [3]. Хотя SNP менее полиморфны, чем маркеры SSR, из-за своей диаллельной природы, они компенсируют этот недостаток тем, что являются многочисленными, повсеместными и поддающимися автоматизации при генотипировании с высокой пропускной способностью.

Конкурентная аллель-специфическая ПЦП (KASP – Kompetitive Allele Specific PCR) считается эталоном для генотипирования SNP для целей селекции из-за высокой производительности, чувствительности, специфичности, сравнительно низкой стоимости и простоты использования [4]. Технология позволяет проводить биаллельную оценку однонуклеотидных полиморфизмов, а также вставок и делеций в определенных генах. Ключевое свойство технологии KASP – использование системы детекции на основе FRET-кассет (Fluorescence Resonant Energy Transfer). В реакции KASP применяются аллель-специфичные праймеры с заданной концевой последовательностью, которые соответствуют одной из двух FRET-кассет: один меченый красителем FAM, другой – HEX. Распознавание биаллельных полиморфизмов осуществляется за счет конкурентного связывания двух аллель-специфичных прямых праймеров. Технология KASP-генотипирования имеет существенные преимущества в стоимости, и, в сочетании с микрообъемами реакционной смеси, представляет собой исключительно точное, гибкое и экономичное решение для генотипирования и, следовательно, может широко использоваться в селекционной практике.

Многочисленные исследования по разработке функциональных маркеров KASP и создание соответствующих баз данных сделало их легко доступными для использования в маркер-ассоциированной селекции растений [5; 6]. В частности, за последнее десятилетие разработано множество функциональных маркеров KASP для генотипирования аллельных вариаций, которые ассоциированы с экономически важными признаками пшеницы [4; 7; 8]. Технология KASP весьма эффективна для мягкой пшеницы, поскольку среди злаков геном пшеницы оценивается как один из наименее полиморфных.

Признак «масса 1000 зерен» является одним из основных количественных показателей, определяющих урожайность пшеницы. Он позволяет оценить содержание запасных питательных веществ в зерне, а также рассчитать оптимальную норму посева. Данный показатель находится под контролем различных генов, контролирующих как морфометрические параметры (длина, ширина и толщина зерновки), так и активность различных ферментов растений, в частности, ключевых энзимов, участвующих в углеводном обмене. Ряд локусов, связанных с массой зерна и урожайностью у пшеницы, являются ортологами генов риса. Эти локусы обеспечивают генетическую основу для накопления благоприятных аллелей, лежащих в основе признака «масса 1000 зерен» [9]. К генам, контролирующим массу 1000 зерен, относятся, в частности, *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, *TaGs3-D1*. Установлено, что определенные SNP, инсерции и делеции в последовательностях этих генов оказывают значительное влияние на активность кодируемых ими ферментов, и, как следствие, величину параметра «масса 1000 зерен» [10]. Проведение KASP-генотипирования пшеницы по генам, ассоциированным с признаком «масса 1000 зерен»

с целью выявления генотипов с благоприятными аллелями и включения их в систему скрещиваний, позволит ускорить получение высокоурожайных сортов пшеницы.

Цель данной работы состояла в изучении аллельного состава локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», у сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы с использованием высокопроизводительной технологии KASP для ускоренного выявления новых доноров и селекционно ценных форм.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследований служили 25 сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции (табл. 1), представленные РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию».

Т а б л и ц а 1. Генотипы мягкой яровой пшеницы, исследуемые по аллельному составу генов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен»

Table 1. Common wheat genotypes studied according to the allelic composition of genes associated with the 1000-grain weight trait

Сорт Variety	Сортообразец Variety sample		
KWS Akvilon	Э-2334	Э-2946	Л. 19
KWS Sunny	Э-2318	Э-2925	
Kitri	Э-1665	Э-2695	
Тоссата	Э-2263	Э-2911	
Любава	Э-2298	Э-2810	
Вена	Э-1420	Э-2518	
Восточка-17	Э-1569	636/17	
Зорка	Э-2492	Л. 15-77	

Выделение ДНК у пшеницы проводили из пяти индивидуальных зерновок стандартным фенол-хлороформным методом [11]. Отбирали зерновки, типичные для конкретного образца. Анализ качества и количества выделенной ДНК проверяли в 1 %-ном агарозном геле, а также с использованием спектрофотометрии. Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре N50-Touch (Implen, Германия).

KASP-генотипирование образцов проводили по четырем локусам, влияющим на признак «масса 1000 зерен» (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Локусы, ассоциированные с признаком «масса 1000 зерен» у пшеницы

Table 2. Loci associated with the 1000-grain wheat trait

Локус Locus	Хромосома Chromosome	Белок // контролируемый параметр Protein // controlled parameter
<i>TaTGW6-A1</i>	3A	ИУК-гликозилгидролаза // масса зерна
<i>TaGASR7-A1</i>	7A	Сигнальный белок Snakin/GASA // длина зерновки и масса зерна
<i>TaCKX6-D1</i>	3D	Цитокинооксидаза/дегидрогеназа // размер зерновки
<i>TaGs3-D1</i>	7D	Гетеротримерный G-белок сигнального комплекса // размер зерновки

Для определения аллельных вариантов отобранных генов методом KASP-генотипирования с использованием различных баз данных (GenBank, GrainGenes, Gramene, European Wheat Database) и литературных источников нами подобраны аннотированные ДНК последовательности для моделирования и синтеза KASP праймеров.

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 10 мкл, содержащей следующие компоненты: 30x KASP by Design Primer Mix (содержит аллель-специфичные праймеры: 3 KASP праймера, специальным образом синтезированных для анализа целевого участка с SNP или вставкой/делецией (LGC Biosearch Technologies, Великобритания)) – 0,14 мкл; KASP Master mix LGC Biosearch Technologies (Великобритания) – 2x/5,0 мкл; ДНК исследуемых генотипов пшеницы 15–30 нг / 2 мкл, бидистиллированная вода – до конечного объема. Для проведения амплификации с детекцией в режиме реального времени программировали прибор CFX96 Real-time PCR Detection System

(Bio-Rad, США) следующим образом: 94,0 °С – 15 мин, [94,0 °С – 20 с, 61,0 °С – 60 с (–0,6 °С/цикл)] – 10 циклов, [94,0 °С – 20 с, 55,0 °С – 60 с] – 26 циклов, шаг считывания флуоресцентного сигнала на 37 °С в течение 1 мин.

Пост-ПЦР (плавление ампликона) проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, включающей: ПЦР-смесь – 10 мкл, флуоресцентный интеркалирующий краситель EvaGreen 500 мкМ / 0,05 мкл, бидистиллированную воду – 9,95 мкл. Условия плавления ампликона: 95,0 °С – 30 с; 60,0 °С – 1 мин; повышение температуры с 65,0 до 95,0 °С с приращением в 0,5 °С/шаг и одновременным считыванием флуоресцентного сигнала в канале FAM/SYBR в течение 10 с. Для каждого гена установлена температура плавления ампликона. Вывод о накоплении специфического продукта ПЦР делали на основании анализа графиков плавления ампликона на пост-ПЦР стадии: пик, характеризующий температуру плавления специфического ампликона для каждого гена, должен соответствовать определенной температуре, а интенсивность значения $d(RFU) / dT$ (характеризует изменение уровня флуоресцентного сигнала с изменением температуры) должна быть не менее 300 ед.

Визуализацию результатов осуществляли с использованием программы CFX Maestro™, BioRad. Результаты генотипирования оценивали на основании анализа 2D-графика аллельной дискриминации, на котором по оси X показаны стандартизованные данные финального уровня флуоресценции для первого флуорофора FAM (RFU¹, относительные единицы флуоресценции), по оси Y – для второго флуорофора HEX (RFU²).

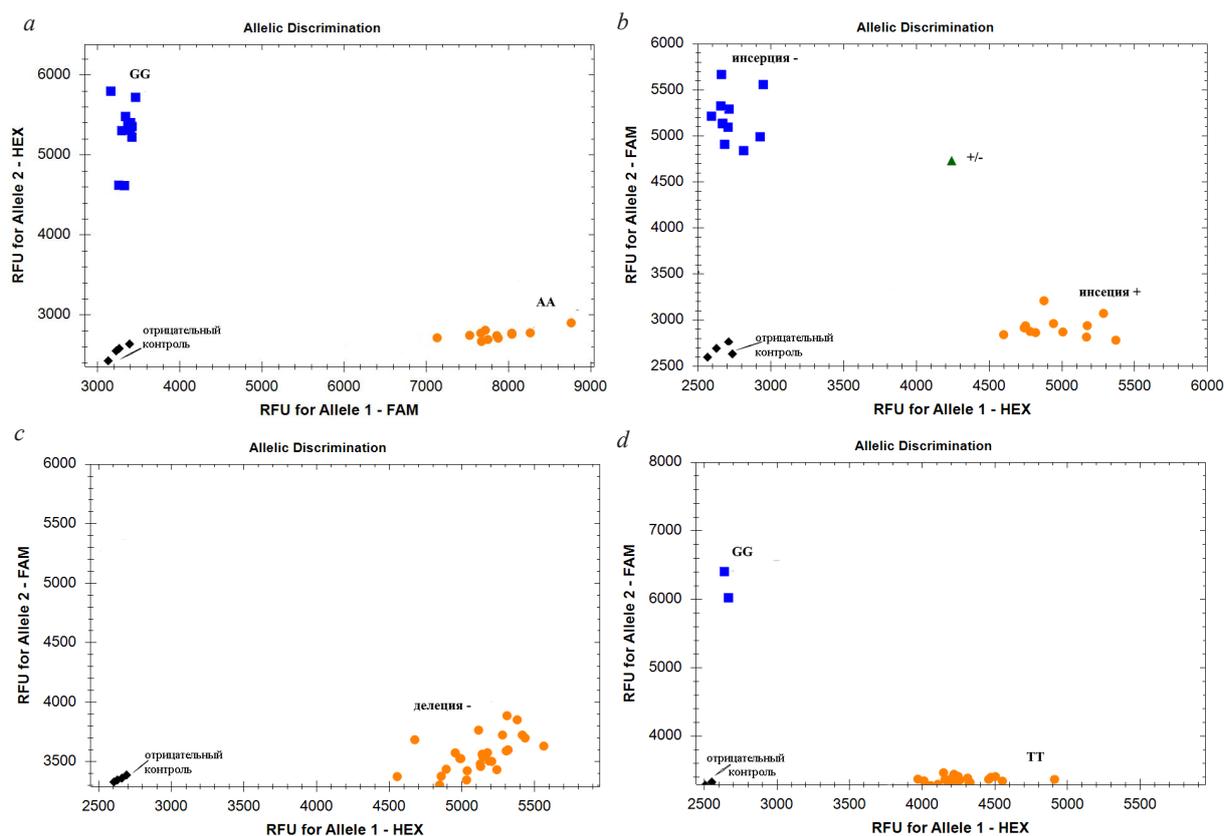
На первом этапе исследования каждая проба представляла собой пул из ДНК пяти индивидуальных растений одного генотипа. Если в результате генотипирования проба определялась как гетерозигота, проводили повторное генотипирование с использованием ДНК каждого индивидуального растения в отдельности. В зависимости от значений уровней флуоресценции RFU¹ и RFU², а также от соотношения RFU¹/RFU² для каждого исследуемого образца пшеницы устанавливали определенный генотип.

Результаты и их обсуждение. Для выявления сортов и сортообразцов пшеницы, несущих благоприятные аллели генов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», проведено KASP-генотипирование исследуемых образцов по локусам *TaTGW6-A1*, *TaGASR7-A1*, *TaCKX6-D1*, *TaGs3-D1*.

Локус *TaTGW6-A1* у пшеницы расположен на длинном плече хромосомы 3A и кодирует фермент ИУК-гликозил-гидролазу. Выявлено три SNP между сортами с более высокой и низкой массой 1000 зерен, которые в результате образуют два аллеля: *TaTGW6-A1a* и *TaTGW6-A1b*. Наличие аллеля *TaTGW6-A1a* коррелирует с увеличением массы 1000 зерен [12]. При генотипировании может быть определен генотип: G/G (благоприятный аллель *TaTGW6-A1a*, повышающий массу 1000 зерен), G/A (гетерозигота, несущая оба аллеля), A/A (неблагоприятный аллель *TaTGW6-A1b*, снижающий массу 1000 зерен). Среди исследуемых генотипов обнаружены как образцы с генотипом G/G (аллель *TaTGW6-A1a*), так и образцы с генотипом A/A (аллель *TaTGW6-A1b*). Гетерозигот не выявлено. Благоприятный аллель *TaTGW6-A1a* несли 14 образцов: 4 сорта (Любава, KWS Akvilon, Вена, Зорка) и 10 сортообразцов (Э-2334, Э-2318, Э-2263, Э-1420, Э-1569, Э-2492, Э-2695, Э-2911, Э-2810, Э-2518) (рис. а).

Локус *TaGASR7-A1* является гомологом гена *GASR7* риса, связанного с длиной зерновки. У пшеницы располагается на хромосоме 7A, влияет как на длину зерновки, так и на массу 1000 зерен. Описаны 2 основных гаплотипа (*H1c* и *H1g*), различающихся наличием либо отсутствием инсерции размером 1495 п. н. в 5'-проксимальной области в положении 124 п. н. перед стартовым кодоном. Гаплотип *H1c* коррелирует с большей длиной зерновки и увеличением массы 1000 зерен [13]. Для каждого образца может быть определен генотип, несущий инсерцию размером 1475 п. н. в 5'-проксимальной области (благоприятный гаплотип *H1c*, увеличивающий длину зерновки и повышающий массу 1000 зерен); генотип, несущий оба аллеля (гетерозигота); генотип, у которого отсутствует инсерция размером 1475 п. н. (неблагоприятный гаплотип *H1g*, уменьшающий длину зерновки и снижающий массу 1000 зерен).

Благоприятный гаплотип *H1c* нами выявлен у 14 генотипов: 4 сортов (KWS Sunny, Toccata, Kitri, Восточка-17) и 10 сортообразцов (Э-2318, Э-1665, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2946, Э-2695,



2D-график аллельной дискриминации: *a* – для однонуклеотидной замены G>A в локусе *TaTGW6-A1*; *b* – для наличия/отсутствия инсерции в локусе *TaGASR7-A1*; *c* – для наличия/отсутствия делеции в локусе *TaCKX6-D1*; *d* – для однонуклеотидной замены G>T в локусе *TaGs3-D1*

2D-diagram of allele discrimination: *a* – for single nucleotide substitution of G>A in the *TaTGW6-A1* locus; *b* – for the presence/absence of insertion in the *TaGASR7-A1* locus; *c* – for the presence /absence of deletion in the *TaCKX6-D1* locus; *d* – for single nucleotide substitution of G>T in the *TaGs3-D1* locus

636/17, Л. 15-77, Л. 19). Неблагоприятный гаплотип *Hlg* выявлен у 10 образцов. Сортообразец Э-1420 был неоднороден, что подтверждено отдельным генотипированием каждого индивидуального растения. Четыре из пяти проанализированных индивидуальных растений несли инсерцию (гаплотип *Hlc*), у одного растения она отсутствовала (гаплотип *Hlg*). На 2D-графике аллельной дискриминации этот сортообразец представлен как гетерозигота (обозначен треугольником) (рис. *b*).

Локус *TaCKX6-D1* расположен на хромосоме 3D пшеницы. Мультигенные семейства генов *CKX* кодируют белки цитокининоксидазы/дегидрогеназы, которые регулируют содержание цитокининов в органах развивающихся растений. Подтверждено, что они играют важную роль в продуктивности растений. В зависимости от наличия/отсутствия делеции во втором интроне выделяют 2 аллеля *TaCKX6-D1a* и *TaCKX6-D1b*. Благоприятным аллелем, влияющим на увеличение массы 1000 зерен, является *TaCKX6-D1a* [14]. Для каждого образца может быть определен генотип, несущий делецию 18 п. н. (благоприятный аллель *TaCKX6-D1a*, увеличивающий массу 1000 зерен); генотип, не несущий указанную делецию (неблагоприятный аллель *TaCKX6-D1b*, снижающий массу 1000 зерен), и генотип, несущий оба аллеля. В нашем исследовании не выявлены образцы с благоприятным аллелем *TaCKX6-D1a* (рис. *c*).

Локус *TaGs3-D1* также является гомологом гена риса, расположен на хромосоме 7D пшеницы и контролирует размер зерновки. Наличие SNP приводит к возникновению двух аллелей *TaGs3-D1a* и *TaGs3-D1b*. Благоприятным аллелем, влияющим на увеличение массы 1000 зерен, является аллель *TaGs3-D1a* [15]. При генотипировании для каждого образца может быть определен генотип: G/G (благоприятный аллель *TaGs3-D1a*, увеличивающий размер зерновки и повышающий

массу 1000 зерен), G/T (гетерозигота), T/T (неблагоприятный аллель *TaGs3-D1b*, уменьшающий размер зерновки и снижающий массу 1000 зерен). Нами были обнаружены 2 образца с генотипом G/G (благоприятный аллель *TaGs3-D1a*) – сорт Восточка-17 и сортообразец Э-2298. Гетерозигот не выявлено (рис. d).

В табл. 3 представлены суммарные данные по каждому локусу для отдельных сортов и сортообразцов.

Т а б л и ц а 3. Аллельный состав локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», у сортов и сортообразцов яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции

Table 3. Allelic composition of loci associated with the 1000-grain wheat trait in varieties of common wheat of Belarusian and foreign breeding

Сорт/сортообразец Variety/Variety sample	Локус, ассоциированный с признаком «масса 1000 зерен» Locus associated with the trait “mass of 1000 grains”			
	<i>TaTGW6-A1</i>	<i>TaGASR7-A1</i>	<i>TaCKX6-D1</i>	<i>TaGs3-D1</i>
Любава	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
KWS Akvilon	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
KWS Sunny	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Kitri	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Тоската	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Вена	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Восточка-17	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1a</i>
Зорка	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2334	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2318	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-1665	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2263	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2298	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1a</i>
Э-1420	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c/H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-1569	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2492	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2946	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2925	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2695	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2911	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2810	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Э-2518	<i>TaTGW6-A1a</i>	<i>H1g</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
636/17	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Л. 15-77	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>
Л. 19	<i>TaTGW6-A1b</i>	<i>H1c</i>	<i>TaCKX6-D1b</i>	<i>TaGS3-D1b</i>

Анализ полученных результатов показал, что генотипы, несущие благоприятные аллели одних генов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен», могут нести неблагоприятные аллели по другим генам, контролирующим этот сложный количественный признак. Нами выделено 6 образцов пшеницы белорусской селекции, несущих комплекс аллелей, положительно коррелирующих с признаком «масса 1000 зерен»: сорт Восточка-17, сортообразцы Э-2318, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2695.

Заключение. В связи с тем, что признак «масса 1000 зерен» определяет крупность зерна и вносит существенный вклад в урожайность яровой пшеницы, для создания новых сортов необходимо иметь источники, характеризующиеся высокой выраженностью этого признака. Установлено значительное количество локусов, ассоциированных с параметром «масса 1000 зерен» у пшеницы, позитивное или негативное влияние которых на конкретный морфометрический параметр зависит от определенных изменений в структуре этих генов.

Полученные нами данные позволили установить аллельный состав четырех локусов, ассоциированных с признаком «масса 1000 зерен» у 25 сортов и сортообразцов мягкой яровой пшеницы белорусской и зарубежной селекции. Выделены образцы, несущие аллели, положительно коррелирующие с массой 1000 зерен. По локусу *TaTGW6-A1* аллель *TaTGW6-A1a*, положительно влияющий на исследуемый признак, несли 14 образцов (сорта Любава, KWS Akvilon, Вена, Зорка, сортообразцы Э-2334, Э-2318, Э-2263, Э-1420, Э-1569, Э-2492, Э-2695, Э-2911, Э-2810,

Э-2518). По локусу *TaGASR7-A1* благоприятный гаплотип *H1c* выявлен у 14 генотипов: 4 сортов (KWS Sunny, Тоската, Китри, Восточка-17) и 10 сортообразцов (Э-2318, Э-1665, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2946, Э-2695, 636/17, Л. 15-77, Л. 19). По локусу *TaGs3-D1* благоприятный аллель *TaGs3-D1a* несли 2 образца – сорт Восточка-17 и сортообразец Э-2298. В итоге, выделено 6 образцов белорусской селекции, несущих комплекс аллелей, положительно коррелирующих с признаком «масса 1000 зерен» (сорт Восточка-17 и сортообразцы Э-2318, Э-2263, Э-2298, Э-1569, Э-2695).

Таким образом, KASP-генотипирование пшеницы по генам, ассоциированным с признаком «масса 1000 зерен», позволяет достаточно быстро и точно выявлять генотипы с благоприятными аллелями, что ускоряет отбор растений по целевым генам для включения их в систему скрещиваний с последующей маркерсопутствующей селекцией и, в конечном итоге, создание новых высокоурожайных сортов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках мероприятия 5 «Разработать методику генотипирования KASP и применить в селекции мягкой яровой пшеницы при создании нового сорта» подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии» ГП «Научно-технологические технологии и техника» на 2021–2025 годы.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgement. The work was carried within the framework of program 5 “To develop the KAST genotyping methods and use them during selection of common wheat when creating a new variety” according to subprogram 1 “Innovation biotechnologies” of the State Program “High Technologies and Engineering” for the years 2021–2025.

Список использованных источников

1. Abiotic stress signaling in wheat – an inclusive overview of hormonal interactions during abiotic stress responses in wheat / K. Abhinandan [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 734. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00734>
2. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding / J. Mammadov [et al.] // *Int. J. Plant Genomics.* – 2012. – Vol. 2012. – Art. 728398. <https://doi.org/10.1155/2012/728398>
3. Morgil, H. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Plant Genetics and Breeding / H. Morgil, Y. Gercek, I. Tulum // *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms.* – 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91886>
4. Utilization of KASP technology for wheat improvement / B. Kaur [et al.] // *Cereal Res. Commun.* – 2020. – Vol. 48, N 4. – P. 409–421. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00057-6>
5. Global status of 47 major wheat loci controlling yield, quality, adaptation and stress resistance selected over the last century / J. Zhao [et al.] // *BMC Plant Biol.* – 2019. – Vol. 19, N 1. – Art. 5. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1612-y>
6. Molecular Characterization of 87 Functional Genes in Wheat Diversity Panel and Their Association with Phenotypes under Well-Watered and Water-Limited Conditions / M. Khalid [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00717>
7. Mapping quantitative trait loci for peroxidase activity and developing gene-specific markers for TaPod-A1 on wheat chromosome 3AL / J. Wei [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2015. – Vol. 128, N 10. – P. 2067–2076. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2567-0>
8. MASWheat [Electronic resource]. – Mode of access: <https://maswheat.ucdavis.edu/>. – Date of access: 06.09.2022.
9. Variation in allelic frequencies at loci associated with kernel weight and their effects on kernel weight-related traits in winter wheat / T. Li [et al.] // *Crop. J.* – 2019. – Vol. 7, N 1. – P. 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.08.002>
10. Genome-Wide Association Study of Kernel Traits Using a 35K SNP Array in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) / P. Wang [et al.] // *Front. Plant Sci.* – 2022. – Vol. 13. – Art. 905660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.905660>
11. Дорохов, Д. Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д. Б. Дорохов, Э. Клоке // *Генетика.* – 1997. – Т. 33, № 4. – С. 443–450.
12. TaGW6-A1, an ortholog of rice TGW6, is associated with grain weight and yield in bread wheat / M. Hanif [et al.] // *Mol. Breed.* – 2016. – Vol. 36, N 1. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0425-z>
13. Natural variation of TaGASR7-A1 affects grain length in common wheat under multiple cultivation conditions / L. Dong [et al.] // *Mol. Breed.* – 2014. – Vol. 34, N 3. – P. 937–947. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0087-2>
14. Specificity of expression of TaCKX family genes in developing plants of wheat and their co-operation within and among organs / H. Ogonowska [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14, N 4. – Art. e0214239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214239>
15. Cloning, characterization of TaGS3 and identification of allelic variation associated with kernel traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Yang [et al.] // *BMC Genet.* – 2019. – Vol. 20, N 1. – Art. 98. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0800-6>

References

1. Abhinandan K., Skori L., Stanic M., Hickerson N. M. N., Jamshed M., Samuel M. A. Abiotic stress signaling in wheat – an inclusive overview of hormonal interactions during abiotic stress responses in wheat. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, art. 734. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00734>

2. Mammadov J., Aggarwal R., Buyyarapu R., Kumpatla S. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 2012, vol. 212, art. 728398. <https://doi.org/10.1155/2012/728398>
3. Morgil H., Gercek Y., Tulum I. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Plant Genetics and Breeding. *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91886>
4. Kaur B., Mavi G. S., Gill M. S., Saini D. K. Utilization of KASP technology for wheat improvement. *Cereal Research Communications*, 2020, vol. 48, no. 4, pp. 409–421. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00057-6>
5. Zhao J., Wang Z., Liu H., Zhao J., Li T., Hou J., Zhang X., Hao C. Global status of 47 major wheat loci controlling yield, quality, adaptation and stress resistance selected over the last century. *BMC Plant Biology*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 5. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1612-y>
6. Khalid M., Afzal F., Gul A., Amir R., Subhani A., Ahmed Z., Mahmood Z., Xia X., Rasheed A., He Z. Molecular Characterization of 87 Functional Genes in Wheat Diversity Panel and Their Association with Phenotypes under Well-Watered and Water-Limited Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, art. 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00717>
7. Wei J., Geng H., Zhang Y., Liu J., Wen W., Zhang Y., Xia X., Chen X., He Z. Mapping quantitative trait loci for peroxidase activity and developing gene-specific markers for TaPod-A1 on wheat chromosome 3AL. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, vol. 128, no. 10, pp. 2067–2076. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2567-0>
8. *MASWheat* (2022) Available at: <https://maswheat.ucdavis.edu> (accessed 6 September 2022).
9. Li T., Liu H., Mai C., Yu G., Li H., Meng L., Jian D., Yang L., Zhou Y., Zhang H., Li H. Variation in allelic frequencies at loci associated with kernel weight and their effects on kernel weight-related traits in winter wheat. *The Crop Journal*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.08.002>
10. Wang P., Tian T., Ma J., Liu Y., Zhang P., Chen T., Shahinnia F., Yang D. Genome-Wide Association Study of Kernel Traits Using a 35K SNP Array in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2022, vol. 13, art. 905660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.905660>
11. Dorokhov D. B., Klocke E. A rapid and economic technique for rapid analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*, 1997, vol. 33, no. 4, pp. 358–365.
12. Hanif M., Gao F., Liu J., Wen W., Zhang Y., Rasheed A., Xia X., He Z., Cao S. TaTGW6-A1, an ortholog of rice TGW6, is associated with grain weight and yield in bread wheat. *Molecular Breeding*, 2016, vol. 36, art. 1. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0425-z>
13. Dong L., Wang F., Liu T., Dong Z., Li A., Jing R., Mao L., Li Y., Liu X., Zhang K., Wang D. Natural variation of TaGASR7-A1 affects grain length in common wheat under multiple cultivation conditions. *Molecular Breeding*, 2014, vol. 34, no. 3, pp. 937–947. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0087-2>
14. Ogonowska H., Barchacka K., Gasparis S., Jablonski B., Orczyk W., Dmochowska-Boguta M., Nadolska-Orczyk A. Specificity of expression of TaCKX family genes in developing plants of wheat and their co-operation within and among organs. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 4, art. e0214239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214239>
15. Yang J., Zhou Y., Zhang Y., Hu W., Wu Q., Chen Y., Wang X., Guo G., Liu Z., Cao T., Zhao H. Cloning, characterization of TaGS3 and identification of allelic variation associated with kernel traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genetics*, 2019, vol. 20, no. 1, art. 98. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0800-6>

Информация об авторах

Лемеш Валентина Александровна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.lemesh@igc.by.

Гриб Станислав Иванович – академик, д-р с.-х. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по земледелию (ул. Тимирязева, 1, 222160, Минская обл., г. Жодино, Республика Беларусь). E-mail: triticale@tut.by.

Лагуновская Елена Владимировна – ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.antonenko@igc.by.

Кипень Вячеслав Николаевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.kipen@igc.by.

Булойчик Андрей Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.buloichik@igc.by.

Буштевич Виктор Николаевич – канд. с.-х. наук, доцент, заведующий лабораторией. НПЦ НАН Беларуси по земледелию (ул. Тимирязева, 1, 222160, Минская обл., г. Жодино, Республика Беларусь). E-mail: triticale@tut.by.

Сакович Валентина Ивановна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.sakovich@igc.by.

Information about the authors

Lemesh Valiantsina A. – Ph. D. (Biology), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.lemesh@igc.by.

Stanislav Gryb – Academician, D. Sc. (Agrarian), Professor, Chief Researcher. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming (1, Timiryazev Str., 222160, Zhodino, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: triticale@tut.by.

Lahunovskaya Alena V. – Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.antonenko@igc.by.

Kipen Viachaslau N. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.kipen@igc.by.

Buloichik Andrei A. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.buloichik@igc.by.

Bushtevich Victor N. – Ph. D. (Agrarian), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming (1, Timiryazev Str., 222160, Zhodino, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: triticale@tut.by.

Sakovich Valiantsina I. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.sakovich@igc.by.