

Әнуарбек Ш.¹, Абуғалиева С.², Туруспеков Е.³

¹студентка PhD-докторантуры Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, научный сотрудник, e-mail: shinar_anuar92@mail.ru

²доктор биологических наук, ассоциированный профессор, главный научный сотрудник, e-mail: absaule@yahoo.com

³кандидат биологических наук, ассоциированный профессор, e-mail: yerlant@yahoo.com

^{1,2,3}лаборатория молекулярной генетики Института биологии и биотехнологии растений, Казахстан, г. Алматы

**ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СОРТОВ
ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM DURUM* DESF.)
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ**

Твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.) является важной культурой как в мире, так и в Казахстане, используется как ценное сырье в макаронном производстве. Эффективные селекционные стратегии требуют наличия знаний по уровню генетического разнообразия сортов. Полиморфизм двадцати девяти сортов твердой пшеницы изучен с использованием 7 полиморфных микросателлитных (SSR-) маркеров. Для семи вовлеченных в анализ SSR-маркеров всего идентифицировано 20 аллелей, со средним эффективным количеством аллелей, равным 2,8 аллеля на локус. Уровень генетического разнообразия оказался сравнительно высоким. Среднее значение индекса информативности маркеров (PIC) составило 0.3658; варьировавшее от 0.1267 у Xgwm219 до 0.5457 у Xgwm247. Рассчитаны индексы генетического разнообразия Шеннона и Нея, равные 0.7174 и 0.4243, соответственно. Определены генетические расстояния между анализированными сортами. В результате был проведен кластерный анализ исследуемых сортов. Результаты исследования позволили оценить уровень генетического полиморфизма в изученных сортах и указывают на то, что использованные маркеры являются информативными. Были отобраны полиморфные маркеры для следующих работ по изучению генетического разнообразия твердой пшеницы мировой коллекции. Полученная информация будет использована в селекционных программах, направленных на повышение урожайности и адаптивности твердой пшеницы.

Ключевые слова: *Triticum durum*, генетические ресурсы, генетическое разнообразие, микросателлиты, SSR.

Anuarbek Sh.¹, Abugalieva S.², Turuspekov Ye.³

¹PhD-student of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: shinar_anuar92@mail.ru

²doctor of biological sciences, associate professor, chief researcher, e-mail: absaule@yahoo.com

³candidate of biological sciences, head of laboratory, e-mail: yerlant@yahoo.com

Molecular genetics laboratory of Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

**Assessment of the genetic diversity of durum wheat cultivars
(*Triticum durum* Desf.) using microsatellite markers**

Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) is an important crop both in the world and in Kazakhstan. Durum wheat is used as a valuable raw material in bakery and pasta production. Effective breeding strategies require knowledge of the genetic diversity level of cultivars. Polymorphism of the twenty-nine durum cultivars was analyzed using 7 microsatellite markers. The total number of alleles was 20 and the effective allele number was an average of 2.8. The average polymorphic information content (PIC) value was 0.3658 and ranged from 0.1267 in Xgwm219 to 0.5457 in Xgwm247. The genetic diversity indices of Shannon and Nei were equal to 0.7174, 0.4243, respectively. The level of genetic diversity

was relatively high. The genetic distance between cultivars was calculated. Also, with the help of microsatellite markers, a cluster analysis of the studied cultivars was conducted. The results of the study make it possible to assess the level of genetic polymorphism in the studied cultivars and indicate that the used markers are informative. Polymorphic markers were selected for the following studies on the durum genetic diversity. The obtained information will be used in breeding programs aimed at increasing yield and adaptability of durum wheat.

Key words: *Triticum durum*, genetic resources, genetic diversity, microsatellites, SSR.

Әнуарбек Ш.¹, Абуғалиева С.², Туруспеков Е.³

¹әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің PhD-докторантураның студенті, ғылыми қызметкер, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: shinar_anuar92@mail.ru

²биология ғылымдарының докторы, қауымдастырылған профессор, бас ғылыми қызметкер, e-mail: absaule@yahoo.com

³биология ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, зертхана меңгерушісі, e-mail: yerlant@yahoo.com

Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының молекулалық генетика зертханасы, Қазақстан, Алматы қ.

Микросателлиттік маркерлерді пайдалану арқылы қатты бидай (*Triticum durum* Desf.) сорттарының генетикалық алуантүрлілігін бағалау

Қатты бидай (*Triticum durum* Desf.) әлемде, сонымен қатар, Қазақстанда да маңызды дақыл болып табылады. Бидайдың қатты сорттары нан пісіру және макарон өндірісінде құнды шикізат ретінде қолданылады. Тиімді селекциялық стратегияларды іске асыру сорттардың генетикалық алуантүрлілік деңгейі туралы білімді қажет етеді. Микросателлиттік маркерлердің 7 түрін қолдану арқылы қатты бидайдың жиырма тоғыз сорттарының полиморфизмі анықталды. Жеті SSR-маркерлер үшін 20 аллель айқындалды, аллельдердің орташа тиімді мөлшері бір микросателлиттік локусқа 2,8 аллель. Маркерлердің информативтік индексінің (PIC) орташа мәні 0,3658 болды; Xgwm219 үшін 0,1267 бастап Xgwm247 үшін 0.5457 дейін өзгеріп отырды. Шеннон және Ней генетикалық алуантүрлілік индекстері есептелді, 0.7174; 0.4243, сәйкесінше. Генетикалық алуантүрлілік деңгейі салыстырмалы жоғары болды. Сорттар арасындағы генетикалық алуантүрлілік анықталды. Сонымен қатар, микросателлиттік маркерлер арқылы зерттелген сорттардың кластерлік талдауы жасалды. Зерттеу нәтижелері зерттелген сорттардағы генетикалық полиморфизм деңгейін анықтауға мүмкіндік береді және пайдаланылған маркерлердің информативтілігін көрсетеді. Қатты бидайдың генетикалық алуантүрлілігін ары қарай зерттеу үшін полиморфтық маркерлер бөлініп алынды. Алынған мәліметтер қатты бидайдың өнімділігін және бейімделу қабілетін арттыруға бағытталған селекциялық бағдарламаларда қолданылады.

Түйін сөздер: *Triticum durum*, генетикалық ресурстар, генетикалық алуантүрлілік, микросателлиттер, SSR.

Введение

Твердая пшеница (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*, $2n = 4x = 28$; **ААВВ геном, 7 гомеологических групп, 13 м.п.о.**), является тетраплоидным видом пшеницы В мировом масштабе посевная площадь под данной культурой занимает около 17 млн.га, а производство составляет 37 млн т. (Zaim, 2017: 219; Kabbaj, 2017: 1). Несмотря на то, что твердая пшеница выращивается на 10% от всего объема посевных площадей пшеницы, она особенно ценится производителями макаронных изделий. В 2017 году производство твердой пшеницы в стране составило 540 тыс. тонн (<https://agrosektor.kz>).

Однако, в феврале 2017 года была принята госпрограмма развития Агропромышленного Комплекса (АПК) РК, где поставлена задача

уменьшить посевные площади под пшеницей и расширить под масличными и фуражными культурами, бобовыми. Однако не было уделено внимания необходимости более широкого внедрения твердых сортов пшеницы. На мировом рынке потребность в твердой пшенице только растет, а массовое производство возможно лишь в нескольких странах и Казахстан – одна из них. Необходимо отметить, что Всемирный банк в 2003 году подготовил программу «Повышение конкурентоспособности сельского хозяйства Казахстана», где прогнозируется риск снижения рентабельности производства мягкой пшеницы в стране. Это связано с растущей конкуренцией производства с соседними странами, а также дороговизной транспортировки зерна на экспорт. Эксперты видели выход в расширении производства твердой пшеницы, переработкой

ее на месте и выпуском макарон с последующим экспортом в Европу (<https://forbes.kz/>). Так как расширение посевных площадей затруднено, наиболее эффективным путем снабжения необходимым объемом зерна казахстанской твердой пшеницы является увеличение урожайности и качества зерна. По всему миру проводится активная работа по улучшению сортов пшеницы по урожайности и качеству зерна (Sukumagan S., 2018), устойчивости к болезням (Qureshi, 2018), засухоустойчивости (Ashe, 2017). Селекция является длительным процессом и ДНК-технологии могут оказать помощь в преодолении трудностей и открыть путь для более быстрых и эффективных селекционных стратегий (Tester, 2010: 821).

Молекулярные маркеры играют все более важную роль в селекции сельскохозяйственных культур, так как позволяют отобрать большое количество растений на ранних этапах селекции, сокращая работу по выведению нового сорта на несколько лет. Разработаны и успешно применяются различные типы молекулярных маркеров для изучения разнообразия сортов и линий рода *Triticum* L. Маркеры на основе (полимеразная цепная реакция) ПЦР, такие как RAPD, AFLP и SSR, являются широко используемыми инструментами для изучения генетического разнообразия и дискриминации сортов твердой и мягкой пшеницы (Kudriavtsev, 2003: 1237-46; Melloul, 2014: 479-488; Yildirim, 2011: 3915-3920, Абуғалиева, 2012: 35-45). Как и все эукариотические геномы, геном пшеницы содержит класс специфических нуклеотидных последовательностей, называемых микросателлитами, также известными как простые повторяющиеся последовательности (SSR) (Tautz, 1989: 6463-6471). SSR маркеры имеют много преимуществ, являясь высокополиморфными, кодоминантными и информативными (Vieira, 2016: 313), вследствие этого используются для изучения генетического разнообразия, в генетическом картировании и др. (Roder, 1998: 2007-2023; Yildirim, 2011: 3915-3920).

В настоящее время работы по изучению полиморфизма твердой пшеницы проводятся по всему миру. Так, Henkrar F. с соавт. (Henkrar, 2016: 134-141) провели оценку генетического разнообразия 21 сорта твердой пшеницы селекции Марокко, а также пяти экзотических сортов, используемых в селекционных программах, с использованием 13 SSR маркеров. Общее число аллелей и количество уникаль-

ных аллелей было наивысшим у сортов, выведенных до 1990 года и уменьшалось у сортов, созданных в течение 1990-2000-х годов, что свидетельствует об уменьшении аллельного разнообразия в последние годы. Использование экзотических линий твердой пшеницы в селекционных программах может увеличить генетическое разнообразие сортов. Полиморфизм местных сортов Турции изучен с использованием 12 SSR-маркеров (Yildirim, 2011: 3915-3920). М. Massafferri с соавт. (Massafferri, 2003: 783-797) оценили генетическое разнообразие сортов твердой пшеницы Италии, Франции, США, СЮМ-МУТ, Туниса по 70 микросателлитным локусам. В России была генотипирована коллекция, состоящая из 45 сортов твердой пшеницы с использованием 28 SSR-маркеров. Каждый сорт показал уникальную аллельную комбинацию, что позволило использовать данные SSR-маркеры для идентификации сортов (Kudryavtsev, 2004: 1102-1110). Так, Mohler V. с соавт. (Mohler, 2013: 259-263) картировали ген устойчивости к мучнистой росе, **Pm50, расположенный дистально** по отношению к микросателлитному маркеру *Xgwm294* на длинном плече хромосомы 2A. В исследовании Li с соавт. (Li, 2015: 1-15) было показано, что маркер *Xgwm148-2B* ассоциирован с проявлениями признаков «масса тысячи семян», «индекс урожайности колоса» и «масса зерен на колос». Geng H. с соавт. (Geng, 2012: 568-576) изучали влияние липооксигеназной активности на цвет и качество пшеницы. **LOX ген (обозначаемый также как TaLox-B1) расположен на хромосоме 4BS**. OTL-анализ показал, что TaLox-B1 тесно связан с SSR локусом *Xgwm251*, расположенным на расстоянии 1,8 см. В результате картирования локусов количественных признаков (QTL) твердой пшеницы (*Triticum turgidum* L.) M. Golabadi с соавт. (Golabadi, 2011: 207-221) показали, что маркер *Xcfa2114-6A* был ответственен за 20% фенотипической вариации индекса урожайности и массы тысячи зерен в различных условиях среды. В работе Zhang B. с соавт. (Zhang, 2013: 327-338) показано, что локус *Xgwm11-1B* является значимым ($P < 0.001$) для высоты растения. Существует необходимость оценки генетического разнообразия сортового генофонда твердой пшеницы, возделываемой в Казахстане.

Целью настоящего исследования было оценить и описать полиморфизм 29 сортов и линий твердой пшеницы Казахстана по 7 полиморфным SSR локусам.

Материалы и методы исследования

В анализе были использованы 29 сортов яровой твердой пшеницы (*T. durum* Desf.), возделываемых в Казахстане. Среди них 11 сортов, зарегистрированных в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию в Республике Казахстан (Таблица 1 – Характеристика сортов пшениц, использованных в анализе). Семена были предоставлены Актюбинской и Карабалыкской СХОС (сельскохозяйственная опытная станция) МСХ РК.

Выделение ДНК

Геномную ДНК выделяли из индивидуальных 4-х-дневных проростков пшеницы (8 проростков на сорт) согласно Dellaporta (Dellaporta, 1985: 19–21). Качество и количество ДНК оценивали с использованием спектрофотометра Bio Rad SmartSpec Plus (Bio-Rad, США) и агарозного электрофореза в 1% геле.

Микросателлитный анализ

В настоящем исследовании было использовано 7 пар праймеров (Таблица – 2. Характеристика SSR-маркеров, использованных в анализе).

ПЦР проводили в термоциклере модели Veriti (Applied Biosystems, США). Реакционная смесь (10 мкл) содержала 2,5 мкл 10xTaq буфера, 0,2 мМ каждого dNTP, 1,5 мМ MgCl₂, 250 мкМ каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы (Promega, США) и 50 нг геномной ДНК.

Программа амплификации включала следующие циклы: 94 °С – 3 мин; 40 циклов: 94 °С – 1 мин; температура отжига (55 или 60 °С в зависимости от праймера) – 1 мин; 72 °С – 2 мин; и 72 °С – 10 мин. ПЦР-продукты разделяли 6 % полиакриламидном геле в 0,5x TBE-буфере.

Гели окрашивали в бромистом этидии и визуализировали в УФ-трансиллюминаторе Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Таблица 1 – Характеристика сортов твердой пшеницы, использованных в микросателлитном анализе

Наименование сорта/линии	Год допуска (реестр)	Область допуска	Оригинатор
Алмаз	*	Северо-Казахстанская обл.	СибНИИСХ (Омская обл.)
Алтайка	1981	Северо-Казахстанская обл. (СКО)	Алтайский НИИ земледелия и селекции с.-х. культур
Алтайский янтарь	2006	Восточно-Казахстанская	Алтайский НИИ земледелия и селекции с.-х. культур
Алтын дала	2010	Костанайская, СКО	Карабалыкская СХОС
Асангали 20	2015	Восточно-Казахстанская, Костанайская	Карабалыкская СХОС
Гордеиформе 254	2003	Алматинская	КазНИИЗиР, Карагандинская СХОС
Каргала 9	2005	Актюбинская, Атырауская	Актюбинская СХОС, КазНИИЗиР
Каргала 34	*	*	Актюбинская СХОС, КазНИИЗиР
Каргала 66	*	*	Актюбинская СХОС
Каргала 69	*	Западно-Казахстанская обл., Актюбинская область	Актюбинская СХОС
Каргала 70	*	*	Актюбинская СХОС
Каргала 71	*	Западно-Казахстанская обл., Центральный Казахстан	Актюбинская СХОС
Каргала 1409	*	*	Актюбинская СХОС
Каргала 1411	*	*	Актюбинская СХОС
Каргала 1514	*	*	Актюбинская СХОС
Кустанайская 1	*	*	Карабалыкская СХОС
Костанайская 12	2004	Костанайская	Карабалыкская СХОС
Костанайская 52	2000	Костанайская	Карабалыкская СХОС
Назаровка	*	*	*
Нурлы	*	*	Карабалыкская СХОС

Наименование сорта/ линии	Год допуска (реестр)	Область допуска	Оригинатор
Оренбургская 10	1990	Актюбинская, Павлодарская	Оренбургский НИИСХ
Омский рубин	1991	Акмолинская	Сибирский НИИСХ
СИД 88	1993	Акмолинская, Костанайская, Карагандинская, СКО	Карабалыкская СХОС
Саратовская 31	*	*	*
Харьковская 9	*	*	Ин-т растениеводства им. В.Я. Юрьева НААН
Харьковская 46	1957	Уральский регион	ОАО «Элитные семена Южного Урала» и ГНУ Башкирский НИИСХ
Харьковская 90	*	*	Ин-т растениеводства им. В.Я. Юрьева НААН
Целиноградская 75	*	*	*
Чернокося 20	*	*	*
Примечание – * – нет данных			

Таблица 2 – Характеристика SSR-маркеров, использованных в анализе

Локус SSR	Хромосома	Мотив	Последовательность праймера (5'-3')	Т отжига (°C)
Xgwm294	2A	(GA)9TA(GA)15	F: 5' GGATTGGAGTTAAGAGAGAACCG 3' R: 5' GCAGAGTGATCAATGCCAGA 3'	55
Xcfa-2114	6A	(CA)32	F: 5' ATTGGAAGGCCACGATACAC 3' R: 5' CCCGTCGGGTTTTATCTAGC 3'	60
Xgwm11	1B	(TA)6CATA(CA)19(TA)6	F: 5' GGATAGTCAGACAATTCTTGTG 3' R: 5' GTGAATTGTGTCTTGTATGCTTCC 3'	50
Xgwm148	2B	(CA)22	F: 5' GTGAGGCAGCAAGAGAGAAA 3' R: 5' CAAAGCTTGACTCAGACCAA 3'	60
Xgwm247	3B	(GA)24	F: 5' GCAATCTTTTTCTGACCACG 3' R: 5' ATGTGCATGTCGGACGC 3'	55
Xgwm251	4B	(CA)28	F: 5' CAACTGGTTGCTACACAAGCA 3' R: 5' GGGATGTCTGTCCATCTAG 3'	55
Xgwm219	6B	(GA)35	F: 5' GATGAGCGACACCTAGCCTC 3' R: 5' GGGTCCGAGTCCACAAC 3'	60
Примечание – F – прямой, R – обратный				

Статистическая обработка результатов

Уровень генетического разнообразия оценивали по Nei и Shennon, с использованием программы POPGENE (версия 1.32; Yeh F.C., 1997). Значения PIC-индекса (Polymorphism information content) рассчитывали с использованием формулы:

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^k P_i^2 \right) - \frac{1}{k-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \frac{1}{2} P_i^2 P_j^2,$$

где k – число аллелей, P_i и P_j – частота соответственно i-го и j-го аллеля в популяции.

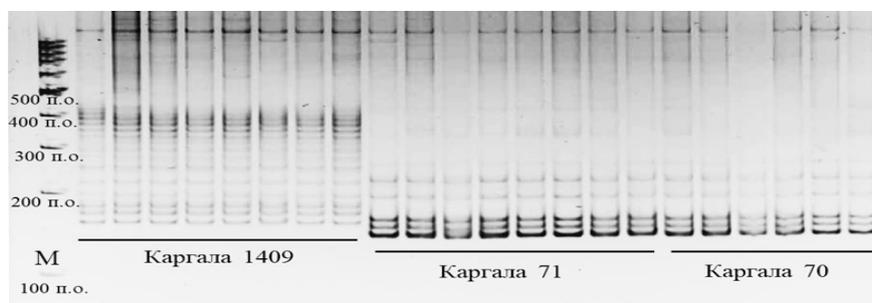
На основе генетических расстояний построена дендрограмма с использованием метода *Neighbor-joining* (NJ) (Saitou, 1987:406–25) в программе MEGA6 (Tamura, 2011: 2725–2729).

Результаты исследования и их обсуждение

Для 7 SSR-маркеров А- и В- генома всего идентифицировано 20 аллелей, со средним значением 2,8 аллеля на локус (Таблица 3. Аллели SSR локусов, идентифицированные у 29 сортов

твёрдой пшеницы). На рисунках 1 (Рисунок 1. Электрофореграммы сортов твёрдой пшеницы по SSR-маркеру *Xgwm247*) и 2 (Рисунок – 2.

Электрофореграммы сортов твёрдой пшеницы по SSR-маркеру *Xcfa-2114*) представлены примеры электрофореграмм.



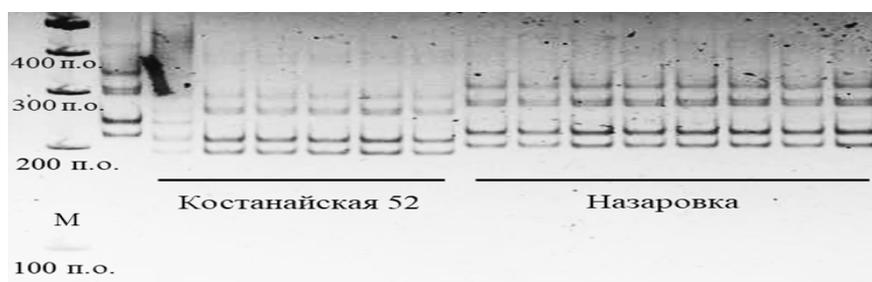
М – маркер молекулярного веса, п.о. – пар оснований

Рисунок 1 – Электрофореграмма сортов твёрдой пшеницы по SSR-маркеру *Xgwm247*

Количество аллелей варьировало от 2 (*Xgwm148*, *Xgwm294*) до 4 (*Xgwm247*). При этом количество эффективных аллелей варьировало от 0,49 до 2,45 со средним значением 1,85 (Таблица 4 – Оценка уровня генетического разноо-

бразия SSR-локусов у 29 сортов и линий твёрдой пшеницы).

По локусам *Xgwm251* и *Xgwm148* был обнаружен внутрисортной полиморфизм у Каргала 34 и Назаровка, соответственно.



М – маркер молекулярного веса, п.о. – пар оснований

Рисунок 2 – Электрофореграммы сортов твёрдой пшеницы по SSR-маркеру *Xcfa-2114*

Таблица 3 – Аллели SSR локусов, идентифицированные у 29 сортов твёрдой пшеницы

Сорт	Маркеры						
	<i>Xgwm148</i>	<i>Xgwm11</i>	<i>Xcfa-2114</i>	<i>Xgwm251</i>	<i>Xgwm219</i>	<i>Xgwm247</i>	<i>Xgwm294</i>
Оренбургская 10	b	c	c	b	a	c	a
Каргала 1514	b	c	b	a	a	a	a
Каргала 1411	b	b	a	a	a	a	b
Каргала 1409	b	b	c	b	a	c	a
Каргала 71	b	b	a	a	a	a	b
Каргала 70	b	b	a	a	a	a	b

Сорт	Маркеры						
	Xgwm148	Xgwm11	Xcfa-2114	Xgwm251	Xgwm219	Xgwm247	Xgwm294
Каргала 66	b	b	c	a	a	c	a
Каргала 69	b	b	c	a	a	c	a
Каргала 34	a	a	c	b/c	b	c	b
Каргала 9	b	c	c	b	a	d	b
Алмаз	b	a	a	b	a	b	a
Алтайка	b	b	c	b	a	a	b
Алтайский янтарь	a	b	c	c	d	b	a
Алтын дала	a	b	c	b	a	a	a
Асангали 20	b	b	c	b	a	a	b
Горденформе 254	b	b	c	c	a	b	a
Костанайская 12	a	b	c	b	a	a	b
Кустанайская 1	b	b	c	a	a	b	a
Костанайская 52	b	b	a	a	a	a	b
Назаровка	a/b	b	b	b	a	a	a
Нурлы	b	b	c	b	a	a	a
Омский рубин	b	c	c	b	a	b	a
СИД 88	b	b	c	b	a	a	b
Саратовская 31	a	b	c	b	a	a	a
Харьковская 46	b	b	a	a	a	a	b
Харьковская 9	b	b	a	a	a	a	b
Харьковская 90	b	b	c	a	a	a	b
Целиноградская 75	a	b	c	c	a	d	b
Чернокося 20	b	b	c	b	a	a	b
Количество аллелей	2	3	3	3	3	4	2

Информационный индекс Шеннона варьировал в пределах 0.2988-1.1037, со средним значением – 0.7174 (Таблица 4 – Оценка уровня генетического разнообразия SSR-локусов у 29 сортов и линий твердой пшеницы).

Индекс генетического разнообразия Нея в среднем составил 0,4243. Это значение было ниже в данной работе, в сравнении с другими публикациями по твердой пшенице с использованием SSR (Pasqualone, 1999: 144-147; Marzario, 2014: 571-575; Henkrar F., 2016: 134-141). Это различие, вероятно, может быть объяснено близкородственным происхождением изучаемых сортов и линий казахстанской селекции, и небольшим количеством использованных маркеров.

Среднее значение индекса информативности маркеров (PIC) составило 0.3658; варьирующее от 0.1267 (Xgwm219) до 0.5457 (Xgwm247).

В работе итальянских ученых Pasqualone A. с соотр. (Pasqualone, 1999: 144-147) и Marzario S. с соотр. (Marzario, 2014: 571-575) среднее значение PIC равнялось 0.46 и 0.49, соответственно; в исследовании генетического разнообразия коллекции твердой пшеницы Туниса (Medini, 2005: 21-31) данный индекс составил 0.72. Полученное среднее значение PIC предполагает, что использованные SSR являются эффективными маркерами; учитывая, что маркеры со значением $PIC > 0,5$ считаются высокоинформативными; $0,5 > PIC > 0,25$ – информативными; $PIC \leq 0,25$ – незначительно информативными (Botstein D., 1980: 314-331).

Дендрограмма, построенная с помощью NJ-метода, сгруппировала генотипы на 5 групп (Рисунок – 3. Дендрограмма сходства и различия 29-ти сортов твердой пшеницы по 7 SSR локусам).

Таблица 4 – Оценка уровня генетического разнообразия SSR-локусов у 29 сортов и линий твердой пшеницы

Локус	na*	ne*	I*	Nei*	PIC*
Xgwm148	2	1,5333	0,5321	0,3478	0.2873
Xgwm11	3	1,5319	0,6415	0,3472	0.3171
Xcfa-2114	3	1,8565	0,7838	0,4614	0.4010
Xgwm251	3	2,4483	0,9695	0,5916	0.5082
Xgwm219	3	1,1505	0,2988	0,1308	0.1267
Xgwm247	4	2,4519	1,1037	0,5922	0.5457
Xgwm294	2	1,9976	0,6926	0,4994	0.3747
Mean	2.8571	1,8529	0,7174	0,4243	0.3658
St. Dev	0,6901	0,4887	0,2687	0,1639	0.1412

Примечание: * – na – количество аллелей на локус; ne – эффективное количество аллелей; I – информационный индекс Шеннона; Nei – индекс разнообразия Нея; PIC – индекс информативности маркеров; Mean – среднее значение; St.Dev. – стандартное отклонение

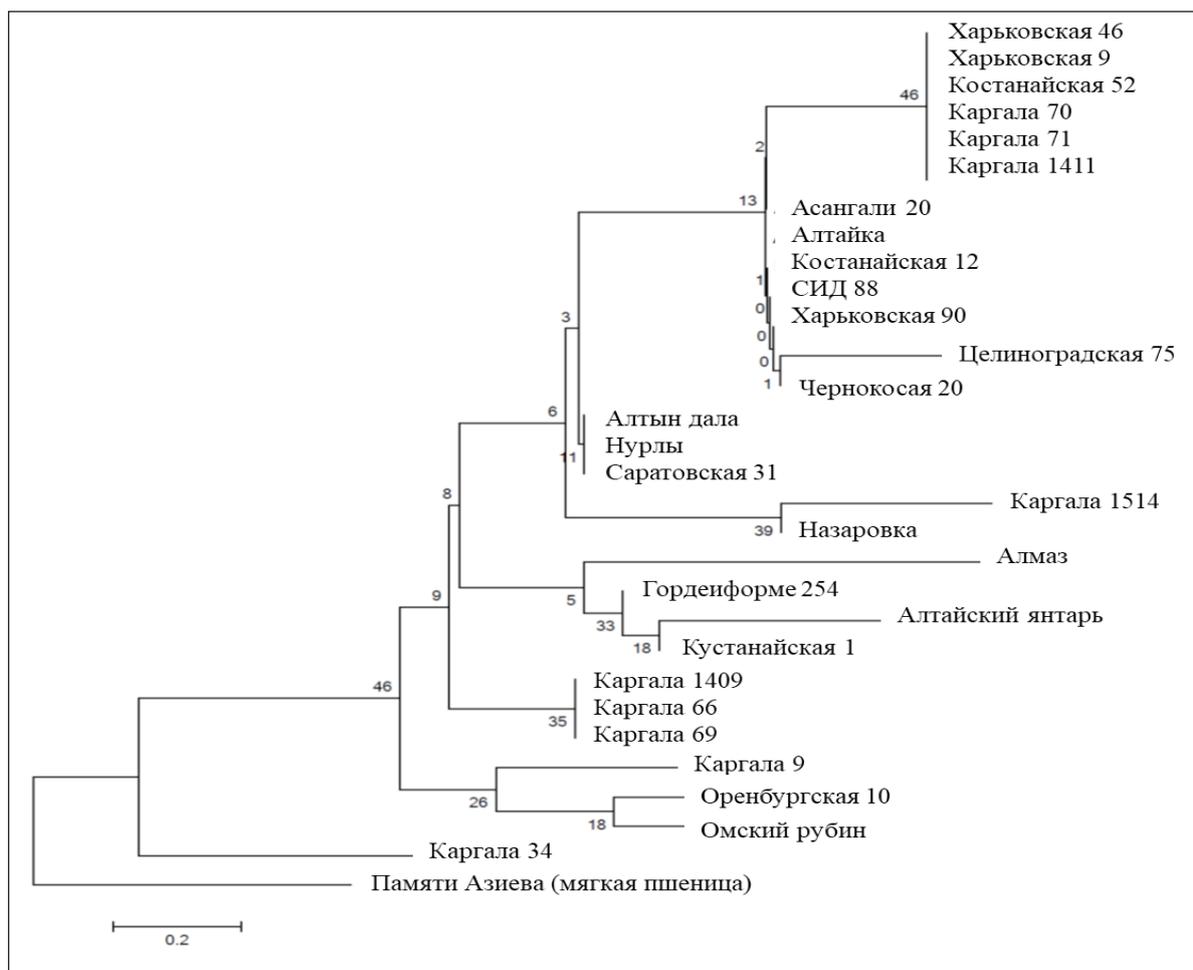


Рисунок 3 – Дендрограмма сходства и различия 29-ти сортов твердой пшеницы по 7 SSR локусам

Экспериментальные исследования показали, что SSR-маркеры твердой пшеницы достаточно полиморфны и могут быть использованы в качестве инструмента для идентификации сортов. Они играют важную роль в изучении чистоты и гетерогенности сортов. SSR-маркеры применяются для генетической паспортизации сортового генофонда, что может быть использовано в области охраны интеллектуальной собственности на селекционные достижения и защиты прав селекционеров, повышения конкурентоспособности сортов. Несомненно, необходимы дальнейшие исследования по генетическим ресурсам твердой пшеницы отечественной (сортовой генофонд и перспективные линии) и зарубежной селекции с привлечением большего количества информативных ДНК-маркеров.

Заключение

Таким образом, коллекция твердой пшеницы Казахстана, состоящая из сортов государственного реестра селекционных достижений и пер-

спективных сортов, была генотипирована с использованием 7 полиморфных информативных SSR маркеров. Были рассчитаны индексы генетического разнообразия Шеннона, Нея и PIC; построено филогенетическое древо. Результаты данной работы могут быть применены для генетической паспортизации, в селекционных программах по повышению урожайности и качества зерна твердой пшеницы. Данное исследование является начальным этапом нашей работы по генотипированию и идентификации локусов количественных признаков компонентов урожайности твердой пшеницы (*Triticum durum* L.), где будут использоваться другие ДНК-маркеры, в том числе SNP-маркеры, для выявления корреляции «маркер-признак» на основе методологии полногеномного анализа ассоциаций.

*Работа выполнена в рамках проекта AP05131328 «Картирование QTL хозяйственно-ценных признаков твердой пшеницы *Triticum durum* Desf. на основе полногеномных исследований ассоциаций» на 2018-2020 гг.*

Литература

- Ashe P., Shaterian H., Akhrov L., Kulkarni M., Selvaraj G. Contrasting Root and Photosynthesis Traits in a Large-Acreage Canadian Durum Variety and Its Distant Parent of Algerian Origin for Assembling Drought/Heat Tolerance Attributes // *Front Chem.* – 2017. – Vol. 5, No. 121. doi: 10.3389/fchem.2017.00121.
- Botstein D., White R.L., Skolnik M., Davis R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // *Am J Hum Genet.* – 1980. – Vol. 32, No 3. – P. 314–331.
- Dellaporta S. L., Wood J., Hicks J. B. A Plant DNA Miniprep: Version II // *Plant Molecular Biology Reporter.* – 1983. – Vol. 1, No 4. -P. 19–21.
- Geng H., Xia Xi., Zhang L., Qu Ya., He Zh. Development of Functional Markers for a Lipoxigenase Gene TaLox-B1 on Chromosome 4BS in Common Wheat // *Crop science.* – 2011. – Vol. 52, No. 2. – P. 568–576. doi:10.2135/cropsci2011.07.0365.
- Golabadi M., Arzani A., Mirmohammadi Maibody S.A.M., Sayed Tabatabaei B. E., Mohammadi S. A. Identification of microsatellite markers linked with yield components under drought stress at terminal growth stages in durum wheat // *Euphytica.* – 2011. – Vol. 177, No 2. – P. 207–221. doi: 10.1007/s10681-010-0242-8.
- Guyomarc'h H., Sourdille P., Charmet G., Edwards K.J., Bernard M. Characterization of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D genome of bread wheat // *Theor Appl Genet.* – 2002. – Vol.104. – P. 1164–1172.
- Henkrar F., El-Haddoury J., Ouabbou H., Nsarellah N., Iraqi D., Bendaou N., Mahabala U.S. Genetic diversity reduction in improved durum wheat cultivars of Morocco as revealed by microsatellite markers // *Sci. Agric.* – 2016. – Vol.73, No 2. – P. 134–141. doi: 10.1590/0103-9016-2015-0054.
- Kabbaj H., Sall A.T., Al-Abdallat A., Geleta M., Amri A., Filali-Maltouf A., Belkadi B., Ortiz R., Bassi F.M. Genetic Diversity within a Global Panel of Durum Wheat (*Triticum durum*) Landraces and Modern Germplasm Reveals the History of Alleles Exchange // *Front Plant Sci.* – 2017. – Vol. 8, No 1277.
- Kudriavtsev A.M., Martynov S.P., Brodzhno M., Pukhal'skii V.A. Evaluation of the relevance of using RAPD-analysis for revealing the phylogenetic connections between cultivars of durum wheat (*T. durum* Desf.) // *Genetika.* – 2003. – Vol. 39, No 9. – P. 1237-46.
- Kudryavtsev A., Martynov S., Broggio M., Buiatti M. Evaluation of Polymorphism at Microsatellite Loci of Spring Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Varieties and the Use of SSR-Based Analysis in Phylogenetic Studies // *Russian Journal of Genetics.* – 2004. – Vol. 40, No. 10. – P. 1102–1110.
- Li W., Zhang B., Li R., Chang Xi., Jing R. Favorable Alleles for Stem Water-Soluble Carbohydrates Identified by Association Analysis Contribute to Grain Weight under Drought Stress Conditions in Wheat // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, No 3. – P. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0119438.
- Maccaferri M., Sanguineti M. C., Donini P., Tuberosa R. Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm // *Theor Appl Genet.* – 2003. – Vol. 107. – P. 783–797. doi: 10.1007/s00122-003-1319-8.

Marzario S., Gioia T., Logozzo G., Spagnoletti Zeuli P.L. Evaluation of *Triticum durum* Desf. germplasm for the improvement of local products // Proceedings of the International Symposium on Genetics and breeding of durum wheat. Options Méditerranéennes. – 2014. – No 110. – P. 571-575.

Medini M., Hamza S., Rebai A., Baum M. Analysis of genetic diversity in Tunisian durum wheat cultivars and related wild species by SSR and AFLP markers // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2005. – Vol. 52, No 1. – P. 21–31. doi: 10.1007/s10722-005-0225-0.

Melloul M., Iraqi D., El Alaoui M., Erba G., Alaoui S., Ibriz M., Elfahime E. Identification of Differentially Expressed Genes by cDNA-AFLP Technique in Response to Drought Stress in *Triticum durum* // Food Technol Biotechnol. – 2014. – Vol. 52, No 4. – P. 479-788. doi: 10.17113/ftb.52.04.14.3701.

Mohler V., Bauer C., Schweizer G., Kemp H., Hart L. Pm50: a new powdery mildew resistance gene in common wheat derived from cultivated emmer // J Appl Genet. – 2013. – Vol. 54, No 3. – P. 259–63. doi: 10.1007/s13353-013-0158-9.

Pasqualone A., Lotti C., Blanco A. Identification of durum wheat cultivars and monovarietal semolinas by analysis of DNA microsatellites // Eur Food Res Technol. – 1999. – Vol. 210, No 2. – P. 144–147. doi: 10.1007/s002170050551.

Qureshi N., Bariana H., Kumran V.V., Muruga S., Forrest K.L., Hayden M.J., Bansal U. A new leaf rust resistance gene Lr79 mapped in chromosome 3BL from the durum wheat landrace Aus26582 // Theor Appl Genet. – 2018. doi: 10.1007/s00122-018-3060-3.

Roder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. Microsatellite Map of Wheat // Genetics. – 1998. – Vol. 149, No 4. – P. 2007–2023.

Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol Biol Evol. – 1987. – Vol. 4, No 4. – P. 406-25. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.

Sukumaran S., Reynolds M.P., Sansaloni C. Genome-Wide Association Analyses Identify QTL Hotspots for Yield and Component Traits in Durum Wheat Grown under Yield Potential, Drought, and Heat Stress Environments // Front. Plant Sci. – 2018. – Vol. 9, No 81.

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipinski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 // Mol Biol Evol. – 2013. – Vol. 30, No 12. – P. 2725–2729.

Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers // Nucleic Acids Res. – 1989. – Vol. 17, No 16. – P. 6463–6471.

Tester M., Langridge P. Breeding Technologies to Increase Crop Production in a Changing World // Science. – 2010. – Vol. 327, No 5967. – P. 818-822. doi: 10.1126/science.1183700.

Vieira M.L.C., Santini L., Diniz A.L., Munhoz C. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful // Genetics and Molecular Biology. – 2016. – Vol. 39, No 3. – P. 312-328. doi: http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027.

Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J., Ye Z.H., Mao J.X. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada. – 1997.

Yildirim A., Sönmezoğlu Ö., Gökmen S., Kandemir N., Aydın N. Determination of genetic diversity among Turkish durum wheat landraces by microsatellites // African Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10, No 19. – P. 3915-3920. doi: 10.5897/AJB10.2240.

Zaïm M., El Hassouni Kh., Gamba F., Filali-Maltouf A., Belkadi B., Sourour A., Amri A., Nachit M., Taghouti M., Bassi F.M. Wide crosses of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) reveal good disease resistance, yield stability, and industrial quality across Mediterranean sites // Field Crops Research. – 2017. – Vol. 214. – P. 219-227.

Zhang B., Shi W., Li W., Chang Xi., Jing R. Efficacy of pyramiding elite alleles for dynamic development of plant height in common wheat // Mol Breeding. – 2013. -Vol. 32. – P. 327–338. doi: 10.1007/s11032-013-9873-5.

Абуғалиева С.И., Волкова Л.А., Ермакбаев К.А., Туруспеков Е.К. Генотипирование коммерческих сортов яровой мягкой пшеницы Казахстана с использованием микросателлитных ДНК-маркеров // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – № 2. – С. 35-45. doi: 10.11134/btp.2.2012.4.

References

Abugalieva S., Volkova L., Yermekbayev K., Turuspekov Ye. (2012) Genotipirovaniye kommercheskikh sortov yarovoy myagkoy pshenitsy Kazakhstana s ispol'zovaniyem mikrosatellitnykh DNK-markerov [Genotyping of commercial spring wheat cultivars from Kazakhstan based on use of DNA microsatellite markers]. Biotehnologiya. Teoriya i praktika. (Biotechnology. Theory and Practice), no 2, pp. 35–45. doi: 10.11134/btp.2.2012.4.

Ahmet Y., Sönmezoğlu Ö., Gökmen S., Kandemir N., Aydın N. (2011) Determination of genetic diversity among Turkish durum wheat landraces by microsatellites. African Journal of Biotechnology, vol. 10, no 19, pp. 3915-3920, doi: 10.5897/AJB10.2240.

Ashe P., Shaterian H., Akhova L., Kulkarni M., Selvaraj G. (2017) Contrasting Root and Photosynthesis Traits in a Large-Acreage Canadian Durum Variety and Its Distant Parent of Algerian Origin for Assembling Drought/Heat Tolerance Attributes. Front Chem., vol. 5, no 121, doi: 10.3389/fchem.2017.00121.

Botstein D., White R.L., Skolnik M., Davis R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet., vol. 32, no 3, pp. 314–331.

Dellaporta S. L., Wood J., Hicks J.B. (1983) A Plant DNA Miniprep: Version II. Plant Molecular Biology Reporter, vol. 1, no 4, pp. 19–21.

Geng H., Xia Xi., Zhang L., Qu Y., He Zh. (2011) Development of Functional Markers for a Lipoygenase Gene TaLox-B1 on Chromosome 4BS in Common Wheat. Crop science, vol. 52, no. 2, pp. 568–576, doi:10.2135/cropsci2011.07.0365.

- Golabadi M., Arzani A., Mirmohammadi Maibody S. A. M., Sayed Tabatabaei B. E., Mohammadi S. (2011) A. Identification of microsatellite markers linked with yield components under drought stress at terminal growth stages in durum wheat. *Euphytica*, vol. 177, no 2, pp 207–221, doi: 10.1007/s10681-010-0242-8.
- Guyomarc'h H., Sourdilhe P., Charmet G., Edwards K.J., Bernard M. (2002) Characterization of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D genome of bread wheat. *Theor Appl Genet*, vol.104, pp. 1164–1172.
- Henkrar F., El-Haddoury J., Ouabbou H., Nsarellah N., Iraqi D., Bendaou N., Mahabala U.S. (2016) Genetic diversity reduction in improved durum wheat cultivars of Morocco as revealed by microsatellite markers. *Sci. Agric.*, vol.73, no 2, pp.134–141, doi: 10.1590/0103-9016-2015-0054.
- Kabbaj H., Sall A. T., Al-Abdallat A., Geleta M., Amri A., Filali-Maltouf A., Belkadi B., Ortiz R., Bassi F. M. (2017) Genetic Diversity within a Global Panel of Durum Wheat (*Triticum durum*) Landraces and Modern Germplasm Reveals the History of Alleles Exchange. *Front Plant Sci.*, vol. 8, article 1277.
- Kudriavtsev A.M., Martynov S.P., Brodzhno M., Pukhal'skiĭ V.A. (2003) Evaluation of the relevance of using RAPD-analysis for revealing the phylogenetic connections between cultivars of durum wheat (*T. durum* Desf.). *Genetika*, vol. 39, no 9, pp. 1237-46.
- Kudriavtsev A.M., Martynov S.P., Broggio M., Buiatti M. (2004) Evaluation of Polymorphism at Microsatellite Loci of Spring Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Varieties and the Use of SSR-Based Analysis in Phylogenetic Studies. *Russian Journal of Genetics*, vol. 40, no. 10, pp. 1102–1110.
- Li W., Zhang B., Li R., Chang Xi., Jing R. (2015) Favorable Alleles for Stem Water-Soluble Carbohydrates Identified by Association Analysis Contribute to Grain Weight under Drought Stress Conditions in Wheat. *PLoS One*, vol. 10, no 3, pp. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0119438.
- Maccaferri M., Sanguineti M. C., Donini P., Tuberosa R. (2003) Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theor Appl Genet.*, vol. 107, pp. 783–797, doi: 10.1007/s00122-003-1319-8.
- Marzario S., Gioia T., Logozzo G., Spagnoletti Zeuli P.L. (2014) Evaluation of *Triticum durum* Desf. germplasm for the improvement of local products. *Proceedings of the International Symposium on Genetics and breeding of durum wheat. Options Méditerranéennes.*, no 110., pp. 571-575.
- Medini M., Hamza S., Rebai A., Baum M. (2005) Analysis of genetic diversity in Tunisian durum wheat cultivars and related wild species by SSR and AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 52, no 1, pp. 21–31, doi: 10.1007/s10722-005-0225-0.
- Melloul M., Iraqi D., El Alaoui M., Erba G., Alaoui S., Ibriz M., Elfahime E. (2014) Identification of Differentially Expressed Genes by cDNA-AFLP Technique in Response to Drought Stress in *Triticum durum*. *Food Technol Biotechnol.*, vol. 52, no 4, pp.479-788, doi: 10.17113/ftb.52.04.14.3701.
- Mohler V., Bauer C., Schweizer G., Kemp H., Hart L. (2013) Pm50: a new powdery mildew resistance gene in common wheat derived from cultivated emmer. *J Appl Genet.*, vol. 54, no 3, pp. 259–63, doi: 10.1007/s13353-013-0158-9.
- Pasqualone A., Lotti C., Blanco A. (1999) Identification of durum wheat cultivars and monovarietal semolinas by analysis of DNA microsatellites. *Eur Food Res Technol.*, vol. 210, no 2, pp. 144–147, doi: 10.1007/s002170050551.
- Qureshi N., Bariana H., Kumran V.V., Muruga S., Forrest K.L., Hayden M.J., Bansal U. (2018) A new leaf rust resistance gene Lr79 mapped in chromosome 3BL from the durum wheat landrace Aus26582. *Theor Appl Genet.*, doi: 10.1007/s00122-018-3060-3.
- Roder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. (1998) Microsatellite Map of Wheat. *Genetics*, vol. 149, no 4, pp. 2007–2023.
- Saitou N., Nei M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.*, vol. 4, no 4, pp. 406-25, doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
- Sukumaran S., Reynolds M.P., Sansaloni C. (2018) Genome-Wide Association Analyses Identify QTL Hotspots for Yield and Component Traits in Durum Wheat Grown under Yield Potential, Drought, and Heat Stress Environments. *Front. Plant Sci.*, vol. 9, no 81.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol Biol Evol.*, vol. 30, no 12, pp. 2725–2729.
- Tautz D. (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.*, vol. 17, no 16, pp. 6463–6471.
- Tester M., Langridge P. (2010) Breeding Technologies to Increase Crop Production in a Changing World. *Science*, vol. 327, no 5967, pp. 818-822, doi: 10.1126/science.1183700.
- Vieira M.L.C., Santini L., Diniz A.L., Munhoz C. (2016) Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*, vol. 39, no 3, pp. 312-328, doi: http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027.
- Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J., Ye Z.H., Mao J.X. (1997) POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.*
- Zaim M., El Hassouni Kh., Gamba F., Filali-Maltouf A., Belkadi B., Sourour A., Amri A., Nachit M., Taghouti M., Bassi F.M. (2017) Wide crosses of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) reveal good disease resistance, yield stability, and industrial quality across Mediterranean sites. *Field Crops Research*, vol. 214, pp. 219-227.
- Zhang B., Shi W., Li W., Chang Xi., Jing R. (2013) Efficacy of pyramiding elite alleles for dynamic development of plant height in common wheat. *Mol Breeding*, vol. 32, pp. 327–338, doi: 10.1007/s11032-013-9873-5.