

Разработка и внедрение в селекцию сои маркеров устойчивости к растрескиванию бобов, низкого содержания антипитательных компонентов в семенах сои

Исполнители:

Ведущий научный сотрудник	Булатова К.М.
Старший научный сотрудник	Мазкират Ш.
Научный сотрудник	Халбаева Ш. А.
Старший лаборант	Еспембетова А. М.
Старший лаборант	Тукенов А.Е.
Старший лаборант	Козыбакова А.

План работ

Наименование задач и мероприятий по их реализации	Ожидаемые результаты реализации проекта (в разрезе задач и мероприятий), форма завершения
<p>MAS селекция по признакам растрескиваемости бобов</p> <p>- Введение данных структурного анализа и наблюдений по вегетативному развитию растений урожая 2024 г. в компьютерную базу данных. (100 образцов, 3 повторности, 2 срока сева), математическая обработка данных.</p> <p>Подготовка семян к посеву , посев в два срока (100 образцов, 3 повторности), уход, фенологические наблюдения за развитием растений, отметка фаз развития, уборка растений, структурный анализ.</p> <p>Биоинформатический анализ результатов ДНК микрочипирования</p>	<p>Будет создана база данных по 7 структурным элементам урожайности и длительности фаз развития 100 образцов сои контрольного (оптимального) и позднего сроков сева</p> <p>Будет проведен расчет необходимого количества семян для посева 100 образцов сои в трех повторностях, в два срока сева, их пакетирование, составление посевных ведомостей, проведен посев в 2 срока (оптимальный и поздний), получены данные структурного анализа по элементам урожайности и фенологическим наблюдением,</p> <p>Будут выявлены и аннотированы важные SNP, связанные с растрескиванием бобов, а также с другими важными селекционными признаками.</p>

MAS селекция по содержанию питательных и антипитательных компонентов семян сои

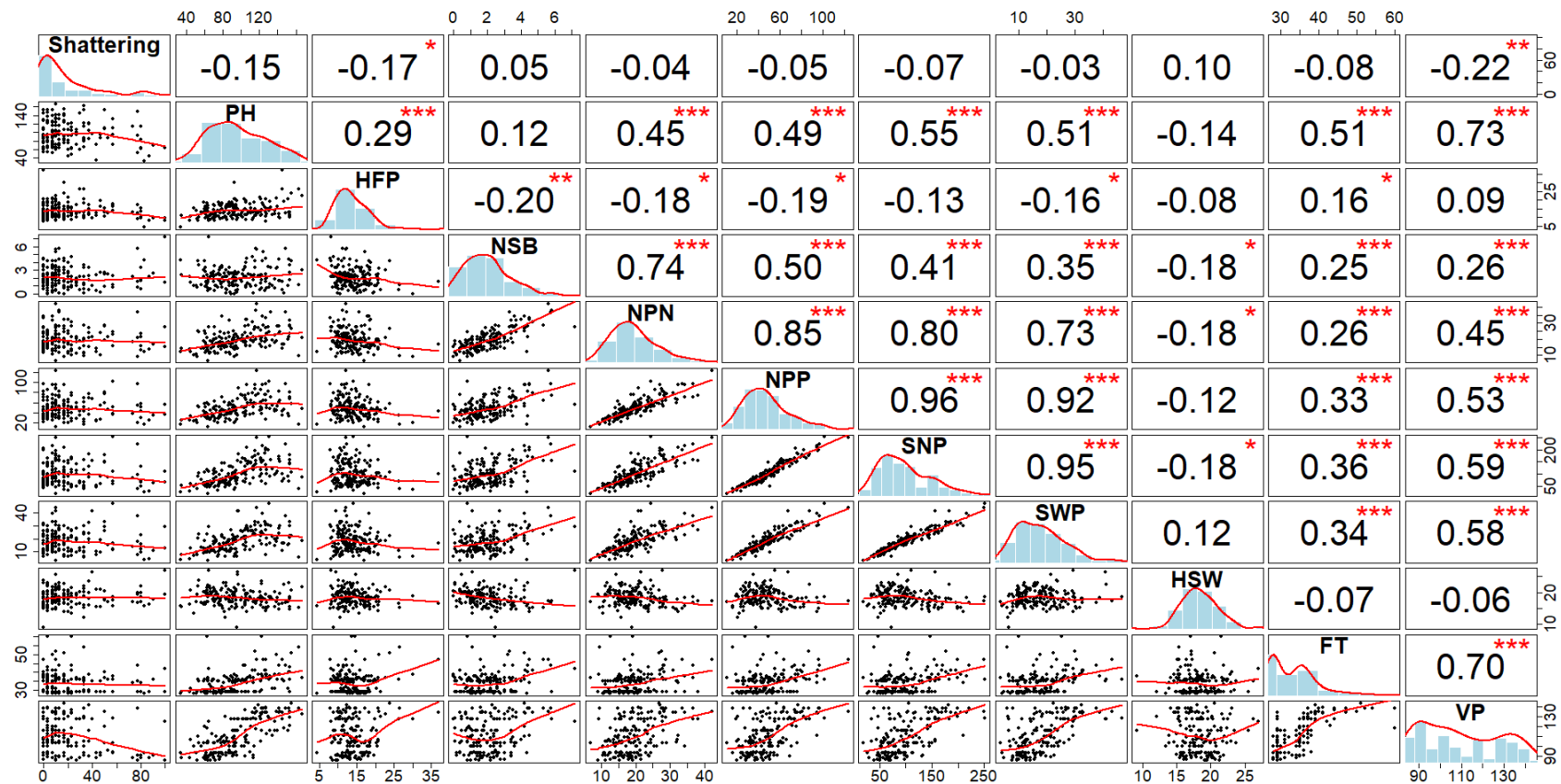
<p>MAS селекция по содержанию питательных и антипитательных компонентов семян сои (25 селекционных линий ур. 2024 г.).</p> <p>Подготовка экстрактов полифенолов, танина, липоксигеназы из семян сои: размол семян, подготовка растворов согласно прописи.</p> <p>Выделение ДНК из семян для проведения ПЦР анализов, проверка качества ДНК, подготовка растворов для выделения и для электрофореза.</p> <p>Определение концентрации полифенолов, танинов, липоксигеназы в семенах сои (30 образцов).</p> <p>ПЦР анализ ДНК селекционных линий сои с SSR маркерами генов <i>kti</i> и <i>lox</i></p>	<p>Будут получены экстракты, растворы ДНК для маркирования селекционных линий с низким содержанием антипитательных веществ</p> <p>Будут выделены линии с низким содержанием антипитательных веществ.</p> <p>Будут выделены линии с – носители нулевых аллелей локусов <i>Kti</i> и <i>Lox</i></p>
---	---

Объекты и методы исследований

Материалы и методы: 115 коллекционных и 77 селекционных линий сои.

- Генотипирование DArTseq и контроль качества маркеров. ДНК была выделена из молодой листовой ткани 170 соевых образцов с использованием набора DNeasy Plant Mini (Qiagen, Хильден, Германия). Полученную ДНК разбавляли до концентрации 100 нг/мкл, и по 50 мкл высококачественной ДНК от каждого генотипа отправляли в компанию Diversity Arrays Technology (DArT Pty Ltd, Канберра, Австралия) (<https://www.diversityarrays.com>).
- Анализ GWAS, локусы количественных признаков (QTL). Для выявления SNP, значительно связанных с изучаемыми признаками урожайности сои, был проведён GWAS с использованием инструмента Genome association – Prediction integrated tool (GAPIT) версии 3.
- Для MAS-селекции по содержанию питательных и антипитательных компонентов семян сои: объектами исследований являлись 213 селекционных линий сои: СП1-25 линий, СП 2-30 линий, КП1- 42 линии, КП2-12 линий , КСИ -30 линий, а также линий F2-F7 поколений -72, линий питомника, сформированного из линий F7-F9, выделенных по отсутствию ингибитора трипсина кунитца в семенах (74 образца) и семена гибридов F2, F3 (70 шт.), полученных при скрещивании Эврика x Hilario (20 шт.), Viktory x Askasuby (20 шт.) и Viktory x Hilario (30 семян).
- Выделение запасных белков - глицининов велось фосфатным буфером, электрофоретическое разделение белков велось в нативной среде [Davis et al., 1964].
- Определение полифенолов в семенах сои вели с использованием реактива Фолина – Чокальтеу. Определение танинов вели методом Перуанского и др. 1989 [Перуанский и др., 1989].

Результаты



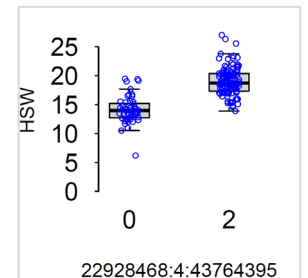
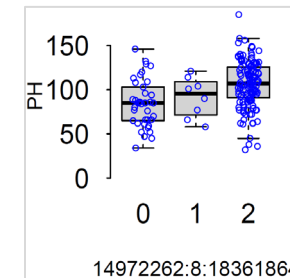
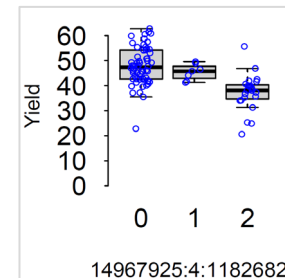
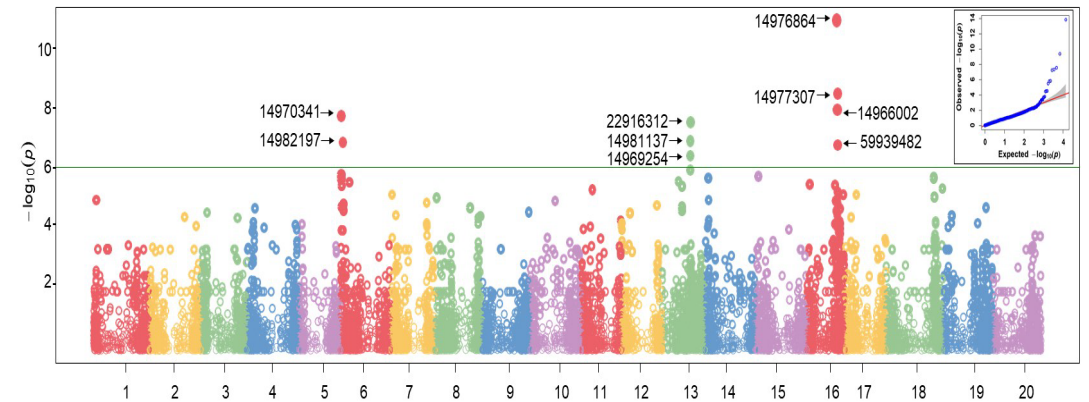
Корреляционный анализ взаимосвязи между степенью растрескивания бобов и хозяйственно ценными признаками сои.

Сокращения: Shattering - растрескивание бобов, PH - Высота растений, HFP - Высота прикрепления нижних бобов, NSB - Кол-во боковых ветвей, NPN - Кол-во продуктивных узлов, NPP - Кол-во бобов с растения, SNP - количество семян с растения, SWP - Масса семян с растения, HSW - Масса 100 семян, FT - период цветения, VP - Вегетационный период.

Результаты GWAS-анализа, выявившего SNP-маркеры, ассоциированные с растрескиванием бобов и элементами урожайности у 100 образцов сои.

SNP	Chrom.	Position	p.value	MAF
Растрескивание бобов				
14970341	6	2681905	2.173984e-06	0.199367089
50681264	13	20716886	5.431598e-07	0.158227848
14969254	13	30123808	2.141566e-07	0.278481013
50681234	16	31931399	5.889056e-08	0.063291139
59939482	16	31931399	6.043163e-07	0.151898734
14976864	16	32601555	2.745292e-07	0.091772152
Высота растений, см				
14972628	4	8190466	3.277750e-06	0.392405063
14972629	4	8190466	1.609814e-06	0.395569620
Количество боковых ветвей, шт.				
14969930	6	52139071	5.914776e-07	0.098101266
Количество продуктивных узлов, шт.				
100195074	2	204566	5.436545e-08	0.015822785
14969930	6	52139071	1.402267e-07	0.098101266
Количество бобов с растения, шт.				
100195074	2	204566	1.071700e-08	0.015822785
14970561	10	33409344	1.590102e-06	0.025316456
Количество семян с растения, шт				
100195074	2	204566	2.412915e-08	0.015822785
Масса семян с растения, гр				
100195074	2	204566	1.236146e-06	0.015822785
Вегетационный период, дней				
24387645	1	50407608	3.584972e-06	0.149390244
50667993	2	54418820	4.305634e-07	0.118902439

DArTseq analysis yielded a total of 59,850 molecular markers including 18,540 Silico-DArT and 41,310 DArT-SNPs. After quality control, 13,765 Silico-DArT and 16,914 DArT-SNP markers remained for further research

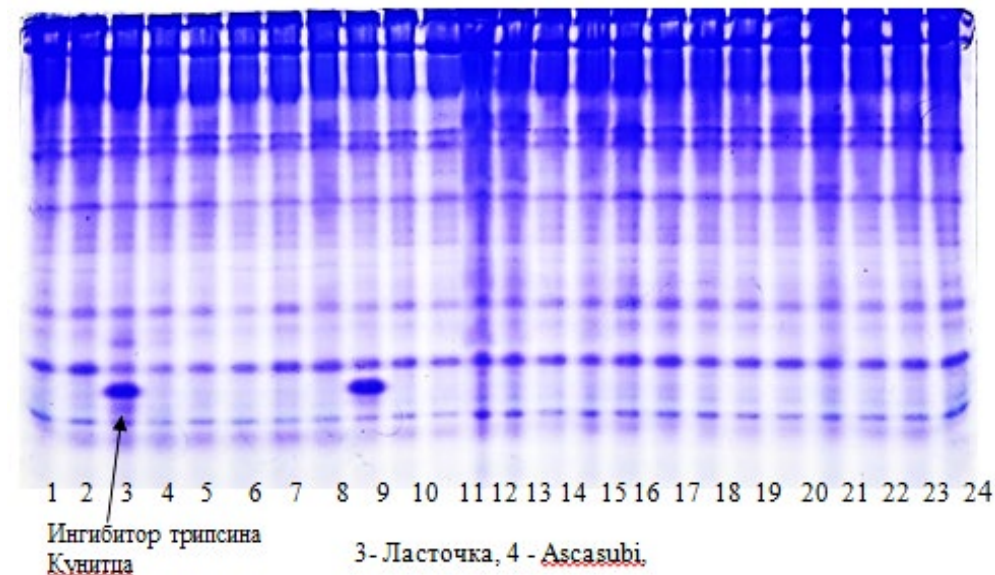


Питомник селекционных линий сои с null аллелью локуса *Ti3*

Из анализированных 74 гибридных линий, несущих нулевую аллель локуса ингибитора трипсина Кунитца (*Ti3*) большая часть была выделена из комбинации Ласточка/Hilario.

Гибридные комбинации и число линий с null аллелью локуса *Ti3*

№	Происхождение	Число линий	Краткое обозначение
1	Бірлік /Hilario (F7)	1	BH
2	Ласточка/Hilario(F7)	2	LH
3	Зара/ Hilario (F7)	2	ZH
4	Зара/ Ascasuby(F8)	3	ZA
5	Ласточка/Ascacubi(F9)	3	LA
6	Ласточка/Hilario(F9)	63	LH

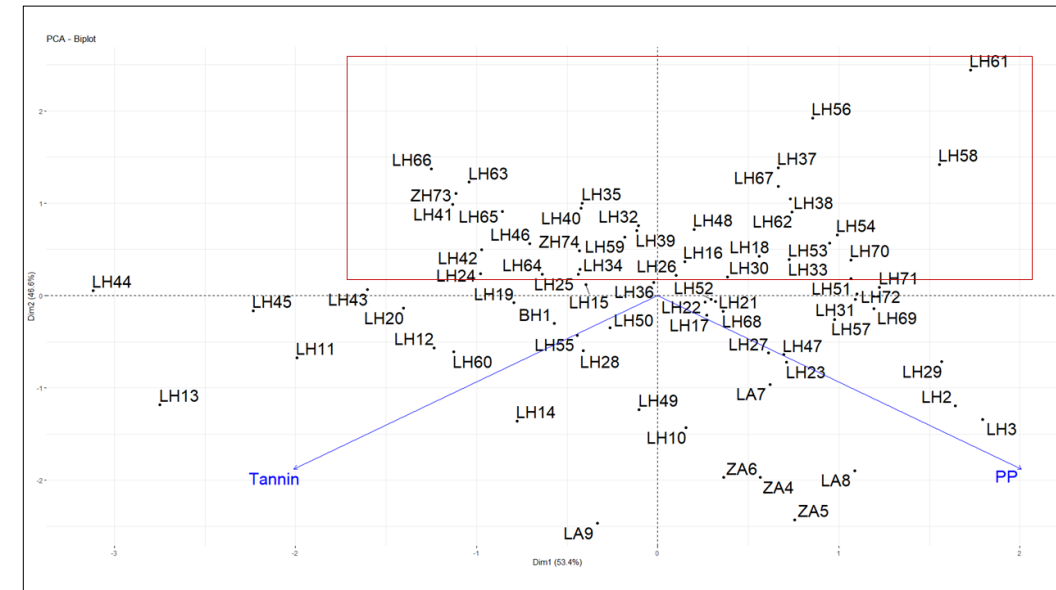


Характеристика линий селекционных питомников по антипитательным веществам семян

№п/п	Питомники, популяции, линии, сорта	Кол-во	Антипитательные вещества		
			ti3/Ti3	Танин (GAE mg/g)	Полифенолы (GAE mg/g)
1.	СП1	25	24/1	1,003-1,754	1,830-2,827
2	СП2	30	0/30	1,061-1,898	2,126-2,725
3	КП 1	42	7/35	1,499-2,208	1,861-3,395
4	КП 2	12	1/11	2,204-2,897	2,204-2,897
5	КСИ	30	8/22	1,300-2,141	2,149-3,270

Анализ наличия линий с null аллелью локуса *Ti3* в селекционных питомниках показал, что в СП1 преобладают образцы с отсутствием ингибитора трипсина Кунитца (таблица 3. В питомники КП1, КП2 и КСИ включены линии с нулевой аллелью локуса *Ti3*, что свидетельствует о их конкурентоспособностью по другим селекционным признакам с другими линиями, имеющими доминантную аллель этого локуса.

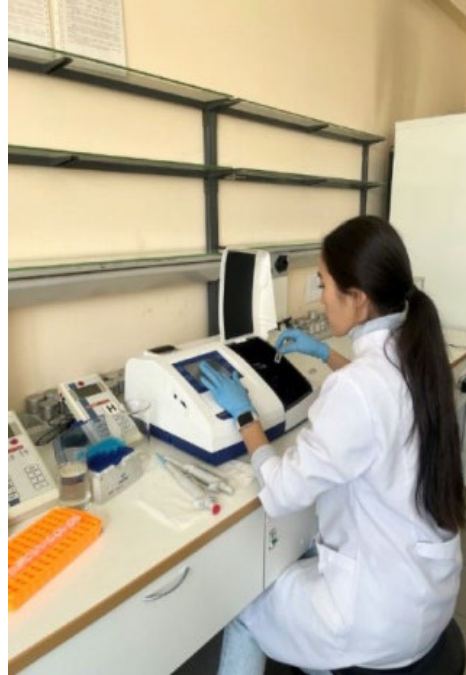
Анализ главных компонент количественных показателей содержания танина (Tannin) и полифенолов (PP) гибридных линий сои.



Выводы

- Полногеномный анализ ассоциаций (GWAS) был проведён с использованием одно- и мультилокусных моделей для выявления QTL, связанных с урожайностью и признаками, влияющими на урожайность у сои. Были идентифицированы важные локусы, которые могут быть использованы для отбора с применением маркеров (MAS) в селекции сои.
- Селекционные линии сои с не транскрибируемой аллелью локуса *Ti3* (отсутствие ингибитора трипсина Кунитца) варьируют по содержанию полифенолов и танина в семенах. Выделены линии перспективные для селекции сортов с низким содержанием антипитательных веществ.

Спасибо за внимание!



Лаборатория молекулярно-биологического анализа растений

2025