

УДК: 575.113; 575.116.4

УЛУЧШЕНИЕ ПРИЗНАКОВ КАЧЕСТВА ВОЛОКНА СРЕДНЕВОЛОКНИСТОГО ХЛОПЧАТНИКА (*G. HIRSUTUM*) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАС ТЕХНОЛОГИИDOI: [10.31618/ESU.2413-9335.2019.1.65.260](https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2019.1.65.260)**Дарманов Мухтор мухаммадович***PhD по биология,**Центр геномики и биоинформатики АН РУз,**Узбекистан, Ташкентская область.***Макамов Абдусалом Хасанбаевич***PhD по биология,**Центр геномики и биоинформатики АН РУз,**Узбекистан, Ташкентская область.***Тураев Озод Суннаталиевич***PhD по биология,**Центр геномики и биоинформатики АН РУз,**Узбекистан, Ташкентская область.***Туланов Акмал Абборович***Младший научный сот,**Центр геномики и биоинформатики АН РУз,**Узбекистан, Ташкентская область.***Камбурова Венера Сейтумеровна***Кан. био наук, Зав. лаборатория,**Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Узбекистан,**Ташкентская область.***Буриев Забардаст Тожибаевич***Док. био наук, Зам. директор по научной работ,**Центр геномики и биоинформатики АН РУз,**Узбекистан, Ташкентская область.***Абдурахмонов Иброхим Юлчиевич***Док. Био наук, академик, директор**Центр геномики и биоинформатики АН РУз,**Узбекистан, Ташкентская область.***АННОТАЦИЯ**

Улучшение показателей качества волокна средневолокнистого хлопчатника (*G. hirsutum*), на долю которого приходится 95% мировых посевных площадей, занятых этой культурой, является одной из главных задач мировой селекционной программы по хлопчатнику. Это, в свою очередь, требует получения новых перспективных сортов хлопчатника путем внедрения в селекцию хлопчатника инновационных разработок, в частности, технологии маркер-ассоциированной селекции (МАС).

В данной статье описаны результаты молекулярно-генетического анализа и оценки параметров качества волокна у гибридной комбинации BC₂F₁ (Султон × Л-141), полученной с использованием программы МАС. Было обнаружено, что показатели качества волокна в геноме беккросс гибрида значительно улучшились по сравнению со аналогичными показателями реципиентного сорта Султона. Кроме того, была изучена корреляция признаков качества волокна у гибридов BC₂F₁.

ABSTRACT

Improving the fiber quality indicators of upland cotton (*G. hirsutum*), which is planted on 95% of the world sown area under this crop, is one of the main tasks of the global cotton breeding program. This aim requires obtaining new promising cotton varieties by introducing innovative developments into the cotton selection, in particular, marker-associated selection (MAS) technology.

This article describes the results of molecular genetic analysis and assessment of fiber quality parameters in a hybrid combination BC₂F₁ (Sulton × L-141), obtained using the MAS program. It was found that the indicators of the fiber quality in the genome of the backcross hybrid have significantly improved compared to those of the recipient variety Sulton. In addition, the correlation of signs of the fiber quality in BC₂F₁ hybrids was studied.

Ключевые слова: МАС, ДНК-маркеры, QTL локусы, аллель, ПЦР, хлопчатник, гибрид, беккросс.

Key words: MAS, DNA-markers, QTL, allele, PCR, cotton, hybrid, backcross.

ВВЕДЕНИЕ

Хлопчатник является одной из ведущих мировых товарных непродовольственных культур. При этом средневолокнистый хлопчатник (*G. hirsutum*) является наиболее культивируемым, на его долю приходится около 95% всего мирового производства хлопкового волокна [1]. Однако

следует отметить, что на сегодняшний день хлопчатник отстает от многих других культур по применению подходов маркер-ассоциированной селекции (МАС) в связи с наличием низкого уровня молекулярных полиморфизмов в сортовых гермоплазмах, вызванных «генетическим эффектом бутылочного горлышка» при

одомашнивании хлопчатника [2].

Несмотря на эту сложность, для повышения конкурентоспособности хлопкового волокна на мировом рынке существует необходимость в разработке сортов средневолокнистого хлопчатника с улучшенными показателями качества волокна, повышенной урожайностью, ранним созреванием, и устойчивостью к болезням и вредителям, что является целью многих селекционных программ хлопководства [2]. В связи с этим основной задачей этих селекционных программ является мобилизация генов донорного родителя в геном элитного родителя, что обычно осуществляется с помощью методов традиционной селекции. Несмотря на то, что методы традиционной селекции являются эффективными при работе с признаками, контролируемые одним или группой генов, они малоэффективны, дорогостоящи и занимают много времени при селекции комплексных количественных признаков, контролируемых множественными генами. Поэтому традиционная селекция дополняется новыми подходами и технологиями, которые повышают ее эффективность и ускоряют процесс селекции и создания сортов сельскохозяйственных культур.

Одним из таких эффективных подходов является применение в процессе селекции молекулярных ДНК маркеров. Молекулярные маркеры, связанные с интересующими геномными областями, позволяют селекционерам проводить отбор не только по фенотипическим признакам, но и на основании генотипа. Использование MAS позволяет революционизировать процесс создания сортов сельхозкультур, уменьшая полевые испытания на раннем этапе селекции. Такой подход очень полезен в случаях, когда интересующий признак является комплексным и трудоемким для оценки. Таким образом, селекционер с помощью ДНК маркеров может избавиться от проблемы переноса от донора нежелательных генов, что часто имеет место во время скрещивания [3, 4].

В связи с вышеизложенным, с целью улучшения качества волокна сортов средневолокнистого хлопчатника, выращиваемых в Узбекистане, в данной работе мы продолжили наши предыдущие исследования [5] по внедрению в хлопчатник технологии MAS с использованием ДНК-маркеров, которые генетически ассоциированы с важными признаками качества волокна. При этом основной целью этого исследования являлся молекулярный и статистический анализ данных по качеству волокна у беккросс гибридов BC_2F_1 , полученных с помощью технологии MAS.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования. В качестве объектов исследования мы использовали беккросс гибриды BC_2F_1 , а также родительские генотипы «L-141» (в качестве донорной линии) и «Султон» (в качестве реципиентного генотипа). Семена беккроссного гибрида BC_2F_1 вместе с родительскими генотипами и элитным хлопковым сортом Мехнат высевались

одновременно с тремя повторами по схеме участка $90 \times 25 \times 1$.

В 2018 году было собрано 20 коробочек от каждой копии всех генотипов для анализа агрономических признаков и параметров качества волокна. Количественные признаки гибридов, такие как длина волокна, масса коробочки, масса 1000 семян и выход волокна, у BC_2F_1 , Султон, L-141 и Мехнат были проанализированы в лаборатории.

ДНК-маркеры и ПЦР-анализ. Перед последующим скрещиванием проводили ПЦР-скрининг геномных ДНК первого поколения беккроссного гибрида (BC_1) с использованием ДНК-маркера BNL1604, связанного с длиной и прочностью волокна [6]. Геномная ДНК из растений каждого поколения беккроссных гибридов и родительских линий выделялась СТАВ методом. Микросателлитное генотипирование проводили по методике Reddy et al [7]. Генотип, аналогичный генотипу реципиента, был помечен как «а», генотип, аналогичный генотипу донора – как «b», и гетерозиготный генотип – как «h». Положительные гибриды, которые несут интересующие целевые генные аллели, подвергались дальнейшему беккросс скрещиванию.

Анализ качественных показателей волокна. Анализ качественных показателей волокна, таких как длина волокна (UHM), прочность (STR), микронейр (MIC), удлинение (ELO), однородность (UI), проводилась на оборудовании HVI (High Volume Instrumentation) в центре сертификации качества волокна «СИФАТ» Ташкент, Узбекистан. Первоначальный анализ фенотипических и генотипических данных проводился с использованием программы Microsoft® Office EXCEL 2013.

Статистический анализ. Для изучения наследуемости и развития количественных признаков проводился дисперсионный и статистический анализ (корреляция Пирсона, ANOVA, Two-Sample T-Test) с использованием SOFA версии 1.4.5 [8] и NCSS 2003 [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Родительский реципиентный генотип «Султон» был скрещен с донорной линией «L-141». В результате данного скрещивания были получены гибриды F_1 (Sulton \times L-141). Далее полученные F_1 гибриды были повторно скрещены с реципиентным генотипом в течение следующих двух поколений. Беккросс гибриды подвергали скринингу с помощью ПЦР в каждом беккросс поколении с использованием ДНК-маркера BNL1604, который ассоциирован с длиной и прочностью волокна. В общей сложности в беккросс комбинации BC_2F_1 (Sulton \times L-141) скринингу были подвергнуты 95 образцов.

Проведенный молекулярно-генотипический анализ выявил, что из 95 образцов 49 образцов были гетерозиготными, что подтверждает присутствие QTL аллелей как донора, так и реципиента, а 45 сходны с аллелями реципиента.

Для дальнейших экспериментов были отобраны только гибриды, несущие целевые аллели (рис. 1).

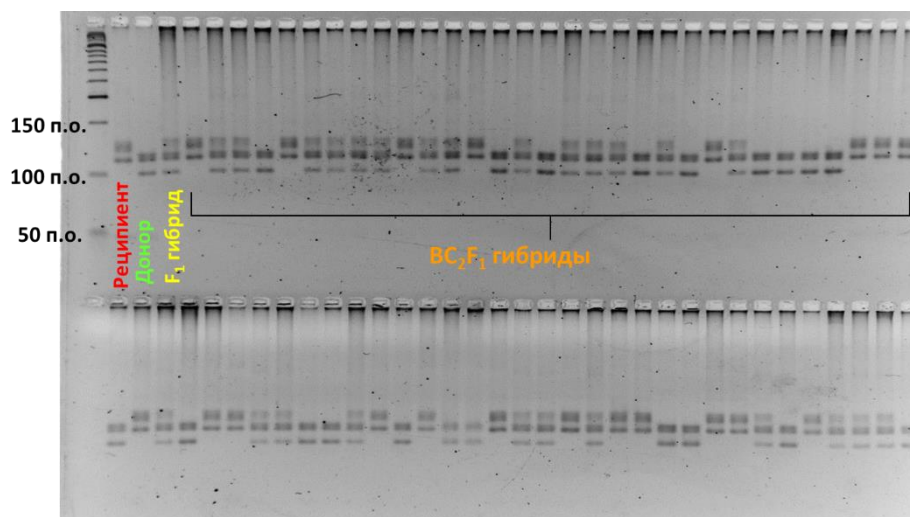


Рисунок 1: Результаты амплификации ДНК BC₂F₁ беккросс гибридов с использованием ДНК-маркера BNL1604.

Качественные характеристики волокна (длина волокна (UHM), прочность волокна (STR), микронейр (MIC), удлинение волокна (ELO), однородность волокна (UI)) беккроссных гибридов BC₂F₁ и их родительских образцов были протестированы с помощью HVI (High Volume Instrumentation) тестов в центре тестирования волокна «СИФАТ».

Результаты анализа качества волокна поколения BC₂F₁ показали, что у данных гибридов средний микронейр составлял 4,7, длина волокна – 1,18 дюйма, прочность – 34,9 г / текс, удлинение

волокна – 7,0% и однородность волокна 84,2%. Полученные параметры значительно выше, чем у реципиентного генотипа Sulton, у которого микронейр составляет 5,3, длина волокна – 1,07 дюйма, прочность – 31,0 г / текс, удлинение волокна – 9,0% и однородность волокна 82,3% (табл.1). Таким образом, наблюдаемые результаты свидетельствуют о том, что применение технологии MAC позволило значительно улучшить качество волокна у гибридов BC₂F₁ по сравнению с реципиентным генотипом «Султон», который имеет низкое качество волокна.

Таблица 1

СВОДНАЯ СТАТИСТИКА ПО ПРИЗНАКАМ КАЧЕСТВА ВОЛОКНА У ГИБРИДОВ ВС И РЕЦИПИЕНТНОГО СОРТА СУЛТОН

Показатель	Средний		Макс		Мин	
	BC гибриды	Султон	BC гибриды	Султон	BC гибриды	Султон
Mic	4,7	5,3	4,9	5,5	4	5,0
Str	34,9	31	40,2	34,6	32,4	29,0
Len	1,18	1,07	1,23	1,11	1,14	1,0
Unf	84,2	82,3	86,3	84,6	82,3	79,8
SFI	5,4	5,9	7,7	9,1	4,1	4,0
Elg	7,0	6,3	7,9	6,7	6,5	6,0

В связи с тем, что в поколении BC₂F₁ наблюдались изменения показателей качества волокна по сравнению с аналогичными параметрами реципиентного генотипа и по сравнению с контрольным образцом (стандартный сорт - Мехнат), для определения эффектов QTL в улучшении основных качественных характеристик волокна, а также для определения корреляции между интересующими признаками был проведен

статистический анализ. Результаты дисперсионного анализа (ANOVA - Analysis of Variation) показали, что основные параметры качества волокна (микронейр, прочность, длина, однородность и удлинение) были улучшены по сравнению с реципиентом, а также были отмечены значительные различия по сравнению с контрольным генотипом (рис. 2).

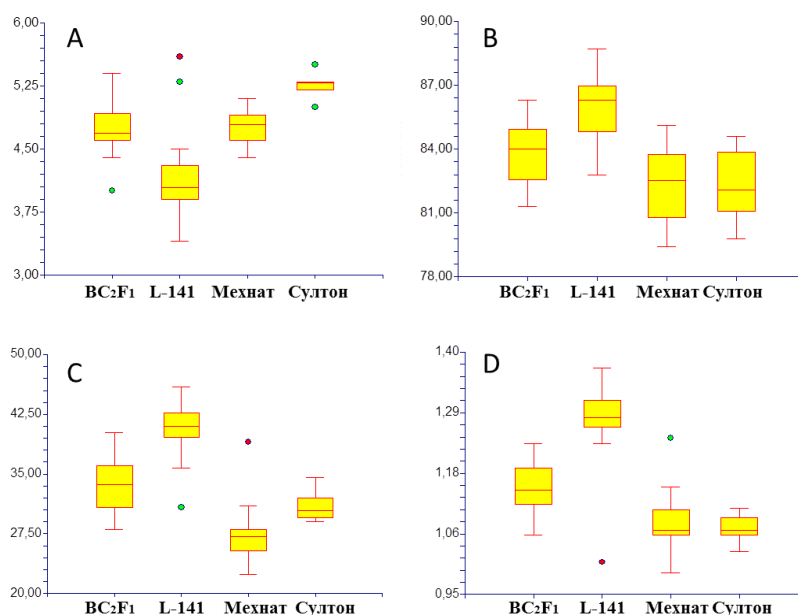


Рисунок 2. Дисперсионный анализ (F -Test, $\alpha = 0,05$) основных параметров качества волокна гибридов BC_2F_1 . А-микронейр, В- однородность, С- прочность и D- длина.

Так, например, показатель микронейра волокна у гибридов BC_2F_1 укладывался в диапазон 4,0 – 4,9 со средним значением 4,7, в то время как среднее значение данного параметра у рецессионного сорта Султон составляло 5,3, а у контрольного генотипа Мехнат – 4,8. Наряду с этим, параметр длины волокна у гибридов BC_2F_1 находился в диапазоне 1,06 – 1,235 дюйма со средним значением 1,18 дюйма. Аналогичный показатель для сорта Султон составил 1,07 дюйма, а для сорта Мехнат – 1,08 дюйма.

Кроме того, были определены генетические корреляции между основными признаками качества волокна BC_2F_1 гибридов с использованием коэффициента «корреляции Пирсона». Результаты статистического анализа показали, что существует

значительная положительная корреляция ($p < 0,001$, $r = 0,516$) между прочностью волокна и длиной волокна. Существенно положительная корреляция наблюдалась в отношении прочности волокна ($p < 0,001$, $r = 0,549$) и длины волокна ($p < 0,001$, $r = 0,370$) между однородностью волокна, в то время как у других признаков качества волокна была обнаружена отрицательная или слабая положительная корреляция между этими двумя показателями (табл.2). Отрицательные корреляции были определены среди следующих пар сравнения: микронейр волокна и длина волокна ($p < 0,001$, $r = -0,248$), микронейр волокна и прочность ($p < 0,001$, $r = -0,159$), микронейр волокна и однородность волокна ($p < 0,001$, $r = -0,183$).

Таблица 2

ЗНАЧЕНИЕ R СОГЛАСНО КОРРЕЛЯЦИИ ПИРСОНА

Показатели	Len	Mic	Unf	Elg
Прочность волокна (STR)	0,516***	-0,159**	0,549***	-0,120***
Длина волокна (Len)		-0,248**	0,370**	-0,008*
Микронейр (Mic)			-0,183**	0,122**
Однородность волокна (Unf)				-0,034*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что параметры качества волокна у гибридов BC_2F_1 , которые получены с помощью МАС технологии, были улучшены до типа III по сравнению с качеством волокна типа V исходного рецессионного сорта средневолокнистого хлопчатника «Султон».

В настоящее время проводятся дальнейшие исследования гибридов BC_2F_1 . При этом генотипы с наилучшими показателями качества волокна

используются в последующей селекционной работе.

В заключении следует отметить, что в этом исследовании мы выделили ряд возможностей для обеспечения постоянного улучшения качества хлопкового волокна, а также предложили стратегию селекции будущих желательных свойств волокон и продемонстрировали, что возможны молекулярные подходы к непосредственному изменению свойств волокон.

Список использованной литературы

1. Zhang T, Qian N, Zhu X, Chen H, Wang S, Mei H, Zhang Y (2013) Variations and transmission of QTL alleles for yield and fiber qualities in upland cotton cultivars developed in China. PLoS One 8:e57220
2. Abdurakhmonov IY., et al. 2016. RNA interference for functional genomics and improvement of cotton (*Gossypium* spp.). Frontiers in Plant Science. 7: Article 202.
3. Zeven, A. C., D.R. Knott, R. Johnson. 1983. Investigation of linkage drags in near isogenic lines of wheat by testing for seedling reaction to races of stem rust, leaf rust and yellow rust. Euphytica 32:319–27
4. Abdurakhmonov, I.Y., Z.T. Buriev, S.E. Shermatov, A. Abdurakhmonov, S. Saha, J.N. Jenkins, R.J. Kohel, J.Z. Yu, A.E. Pepper. 2010. Molecular diversity and population structure analysis in a global set of *G. hirsutum* exotic and variety germplasm resources and association mapping of the main fiber quality traits. S10. pg.22. Proceedings of International Cotton Genome Initiative conference, Canberra, Australia, 2010.
5. Abdurakhmonov I.Y., S. Saha, J.N. Jenkins, Z.T. Buriev, S.E. Shermatov, B.E. Scheffler, A.E. Pepper, J.Z. Yu, R.J. Kohel, and A. Abdurakhmonov. 2009. Linkage disequilibrium based association mapping of fiber quality traits in *G. hirsutum* L. variety germplasm. Genetica 136:401–417.
6. Abdurakhmonov IY, Kohel RJ, Yu JZ, Pepper AE, Abdullaev AA, Kushanov FN, Salakhutdinov IB, Buriev ZT, Saha S, Scheffler BE, Jenkins JN, Abdurakhmonov A (2008) Molecular diversity and association mapping of fiber quality traits in exotic *G. hirsutum* L. germplasm. Genomics 92:478–487.
7. Reddy O.U.K., Pepper A.E., Abdurakhmonov I.Y., Saha S., Jenkins J.N., Brooks T.D., Bolek Y. and El-Zik K.M. The identification of dinucleotide and trinucleotide microsatellite repeat loci from cotton *G. hirsutum* L, J. Cotton Sci. (Memphis), 2001. – No 5. – pp. 103–113.
8. Grant Paton-Simpson, "SOFA - Statistics Open For All". Linux Journal 201: 40–41. January 2011.
9. Jerry L. Hintze // NCSS Statistical System // Kaysville, Utah 2007.

**НОВЫЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИЧИНОК ВОСКОВОЙ МОЛИ ПРИ СОЗДАНИИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК**

Колосова Светлана Федоровна

к.с.-х.н., доцент кафедры биологии

Китанбаева Алмаи Анаибаевна

к.б.н., доцент кафедры биологии

Кашкарова Ирина Владимировна

магистр кафедры инженерии и технологий

Алипина Куралай Бауржановна

магистр кафедры биологии ВКГУ им. С. Аманжолова

г. Усть-Каменогорск

АННОТАЦИЯ

В статье приведены результаты по использованию нетрадиционных продуктов пчеловодства (личинок восковой моли) для приготовления биологически активных добавок. Дано теоретическое обоснование подбора компонентов биологически активной добавки «Супермед».

ABSTRACT

The article presents the results on the use of non-traditional bee products (wax moth larvae) for the preparation of dietary supplements. Theoretical substantiation of selection of components of biologically active additive "Supermed" is given.

Ключевые слова: восковая моль, мед, прополис, гомогенизация, биологически активные добавки

Key words: wax moth, honey, propolis, homogenization, biologically active additives

Введение. Интерес к продуктам пчеловодства, как к источникам биологически активных веществ не только не ослабевает, но с каждым годом растет. Употребление продуктов пчеловодства среди населения, проживающего и работающего на экологически неблагоприятных территориях, показано не только с лечебной, но и профилактической целью.

В последнее десятилетие пристальное внимание привлекли к себе и нетрадиционные продукты пчеловодства (в частности, личинки восковой моли) ранее изучаемые и, в какой-то период, несправедливо забытые.

Восковая моль (*Galleria mellonella*) одно из немногих живых существ, эволюционно приспособленных к обитанию в пчелином улье [2]. Свое название она получила за уникальную способность переваривать и усваивать пчелиный воск. Развиваясь в улье, личинки разрушают соты и повреждают расплод пчел, а массовое размножение

этого насекомого способно опустошить склад воскового сырья. По этой причине восковая моль не пользуется любовью у пчеловодов. Однако, мало кому известны ее лечебные свойства, способные перекрыть наносимый ущерб. А между тем личинки большой восковой моли уже давно используются в народной медицине для лечения многих заболеваний, в том числе туберкулеза.

Установлено, что личинки большой восковой моли содержат не только разрушающие воск ферменты, но и биологически активные вещества, стимулирующие рост некоторых лимфоидных