

## Молекулярно-генетическая характеристика данных дистанционно-оптических методов в целях эффективного отбора генотипов для селекции растений

Н. В. Кочерина

*Агрофизический научно-исследовательский институт  
Санкт-Петербург, 195220, Россия  
E-mail: alle007@mail.ru*

Описывается факт применения данных, полученных с помощью дистанционно-оптических методов — индексов диффузного отражения листьев культурного растения, для дальнейшего их анализа в молекулярно-генетическом картировании так называемых локусов количественных признаков индексов отражения в контролируемых условиях выращивания. Картирование локусов хромосом, вовлечённых в проявление изучаемых физиологических признаков отражения листовой пластинки, помимо локализации на хромосомах идентифицированных локусов количественных признаков, позволяет установить, какой родительской формой был внесён тот или иной аллель, а также процент фенотипической изменчивости, определяемый выявленным и картированным локусом количественного признака. Это позволяет наиболее эффективно проводить выявление перспективных генотипов с желательными хозяйственно ценными признаками. Однако такой подход применим с картирующими популяциями растений, чей геном насыщен молекулярными маркерами. Неинвазивные оптические методы дают возможность с высокой пропускной способностью оценивать интенсивность фотосинтетического аппарата растений и могут быть применены для продуктивного отбора перспективных генотипов при селекции культурных растений по хозяйственно ценным параметрам не только в контролируемых условиях агроэкополигона, но и в дальнейшем в полевых условиях. Кроме того, знание о детерминантах, определяющих проявление различного рода хозяйственно ценных признаков растений, позволяет более эффективно управлять продуктивностью растений в рамках реализации программ точного земледелия.

**Ключевые слова:** неинвазивные оптические методы, картирование локусов количественных признаков, индексы отражения, контролируемые условия регулируемой агроэкосистемы, отбор генотипов для селекции

Одобрена к печати: 10.03.2019

DOI: 10.21046/2070-7401-2019-16-3-105-109

В настоящее время высокие технологии интенсивно внедряются в практику сельскохозяйственного производства и существенную роль в обеспечении информации занимают технологии дистанционного зондирования. Данные, полученные таким образом, могут активно использоваться в других отраслях, в том числе и в биологических исследованиях. Очевидно, что при решении задач по повышению продуктивности культурных растений наиболее результативен комплексный междисциплинарный подход, и к технологиям точного земледелия, облачных сервисов управления сельскохозяйственным производством и другим методикам присоединяются аспекты эколого- и молекулярно-генетических достижений в области селекции растений.

Такие молекулярно-генетические подходы на сегодня становятся своеобразным мостом между генотипом растений и физиологическим проявлением на фенотипическом уровне его адаптивного потенциала в системе «генотип – окружающая среда», что, в свою очередь, даёт в руки исследователей прямые рычаги управления проявлением хозяйственно ценных признаков как на уровне отдельного растения, так и на уровне популяций. Последнее крайне важно для реализации систем M-V (Morphology-Viability) у растений, поскольку обеспечивается морфологическое проявление программ жизнеобеспечения и продуктивности растений, которые дают эволюционно закреплённое преимущество в обеспечении генотипов семенным потомством, являющемся в сельском хозяйстве одним из признаков урожайности

возделываемых культур. Не стоит сбрасывать со счетов и вопросы специализированного создания сортов, которые целенаправленно использовались бы в системе точного земледелия и на основе методов неинвазивного оптического сканирования в технологии дистанционного зондирования позволяли бы направленно и точно управлять активностью генома растений, тем самым более эффективно, с большей отдачей повышать продуктивность и урожайность сельскохозяйственных растений.

Прежде всего, нужно отметить, что ранее в молекулярно-генетических исследованиях было установлено существование отдельных ключевых генов (локусов) на хромосомах (Tanksley, 1993), которые вносят свой вклад в формирование определённого количественного признака, хотя мера этого вклада регламентируется внешней средой. Такие генетические локусы, названные локусами количественных признаков (QTL — Quantitative Trait Loci), и составляют главный интерес современного молекулярного подхода к селекции полигенных признаков растений, в том числе маркерной помощи селекционному отбору (Чесноков, 2013; Tanksley, 1993).

Для того чтобы получить необходимую информацию о месторасположении QTL в геноме, проводят их молекулярно-генетическое картирование, в результате которого определяют не только их локализацию, но и то, от какого родителя получен тот или иной аллель QTL, процент фенотипической изменчивости, определяемый каждым из выявленных QTL, и, конечно же, молекулярные маркеры, с которыми сцеплены идентифицированные локусы на группах сцепления (хромосомах). Заметим, что одним из важнейших требований для картирования QTL является возможность производить обмеры и статистический анализ вариантов исследуемых признаков для установления достоверной статистической связи между QTL и тем или иным маркером (Чесноков, 2009; Kocherina et al., 2011).

Также дополним, что условиями определения QTL являются наличие картирующей популяции, проявляющей генетическую изменчивость по изучаемым признакам, установление групп генетического сцепления для данной популяции путём анализа уровня рекомбинации между чётко выраженными молекулярными маркерами, а также возможность определять месторасположение идентифицированных QTL на группах сцепления. Построение генетических карт с использованием для этих целей молекулярных маркеров и применение созданных карт для анализа ассоциаций «маркер — признак» (Чесноков, Артемьева, 2011) являются ступенями на пути реализации маркер-вспомогательной селекции растений. Таким образом, найденная генетическая информация, её анализ и выявленные особенности могут быть активно использованы в дальнейших этапах исследования.

Примером использования данных дистанционного зондирования в генетико-селекционных работах является поиск в геномах растений ключевых локусов количественных признаков показателей отражения листьев культурных растений, полученных с помощью неинвазивных оптических методов. На сегодняшний момент было проведено картирование QTL-индексов диффузного отражения листовой пластинки, определяющих содержание хлорофилла, отношение каротиноидов к хлорофиллу, фотохимическую активность фотосинтетического аппарата, содержание антоцианов, меру рассеяния света листом, а также площади листовой ассимилирующей поверхности яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), которые проявляются в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы биополигона в отсутствие азотного удобрения и при его внесении (Чесноков и др., 2019).

Необходимо добавить, что агроэкобиополигон, помимо оснащённости системами строгого контроля и регуляции микроклимата, а также соответствующим вегетационно-облучательным оборудованием различного типа для круглогодичного интенсивного выращивания растений различной высоты, позволяет исключить влияние перепадов температуры, неравномерного выпадения осадков и варьирования влажности почвы на локализацию QTL-признаков, связанных с морфофизиологическими особенностями, темпами роста и продуктивностью растений. Кроме того, строго контролируемые условия агроэкобиополигона, в отличие от полевых и полуконтролируемых условий выращивания, позволяют эффективно применять специализированную аппаратуру для дистанционной и контактной диагностики морфофизиологического состояния вегетирующих растений.

Ещё одной отличительной особенностью условий регулируемой агроэкосистемы является то, что она позволяет вычленить отдельные компоненты внешней среды при неизменности остальных факторов воздействия на вегетирующие растения. Известно, что фенотипическое проявление признака зависит как от физиолого-генетических составляющих, так и от внешних факторов воздействия на развитие растений. Согласно модели эколого-генетического контроля признаков продуктивности (Драгавцев и др., 1984), число и спектр генов, детерминирующих среднюю величину и генотипическую дисперсию количественных признаков, определяются лимитирующим фактором внешней среды. Смена лимитирующего фактора влечёт за собой смену спектра генов, влияющих на количественный признак. Вероятно, смена спектров генов под сложным признаком при смене лимитирующего фактора внешней среды — это «самый верхний этаж» эпигенетических явлений в онтогенезе растений. При этом крайне важна роль физиологической составляющей, обеспечивающей морфофизиологическое проявление того или иного признака, что, в свою очередь, является необходимым условием для проведения оценки оптическими неинвазивными средствами дистанционного зондирования с использованием методов дистанционной и контактной диагностики состояния растений.

В наше время используемые полуавтоматические методы фенотипирования с повышенной пропускной способностью — неинвазивная визуализация, спектроскопия, анализ фотографических образов и высокопроизводительных вычислений — основаны на получении и обработке изображений объектов исследований. Цветные изображения позволяют оценить биомассу и структуру растений, предоставляют данные о фенологии и состоянии листьев. Снимки, полученные в ближнем инфракрасном диапазоне, предназначены для определения содержания воды в тканях растений и в почве, температуры растительного покрова или листьев растений; флуоресцентные изображения позволяют оценить физиологическое состояние фотосинтетического аппарата (Furbank, Tester, 2011; Walter et al., 2012). Качественные и количественные изменения физиолого-биохимического внутриклеточного состава и внутренней морфофизиологической структуры листьев растений в неблагоприятных условиях среды, а также при адаптации растений к условиям произрастания сопровождаются изменением их оптических характеристик. Направленность и степень таких изменений характеризуют физиолого-генетическую устойчивость растений и позволяют изучить механизм ответной реакции на действие стрессора. Регистрация оптических характеристик не требует разрушения тканей листа и может быть выполнена как контактно, так и дистанционно (Kanash, Osipov, 2009; Kanash et al., 2013, Yakushev et al., 2017).

Картирование локусов хромосом, вовлечённых в проявление изучаемых физиологических признаков отражения листовой пластинки, позволяет установить не только группы сцепления, на которых расположены идентифицированные QTL, но и то, какой формой — отцовской или материнской — был привнесён тот или иной аллель, а также процент фенотипической изменчивости, определяемый выявленным и картированным QTL. Необходимо отметить, что все изучаемые в экспериментальной работе (Чесноков и др., 2019) физиологические показатели отражения листовой пластинки, как и следовало ожидать, проявили нестабильность в их локализации на группах сцепления в зависимости от того, вносилось или нет азотное удобрение. По данным QTL-анализа, проявление всех изученных оптических показателей зависело от внесения азотного удобрения, что указывает на физиологическую роль привнесённого минерального азота и его влияние на показатели отражения листовой пластинки яровой гексаплоидной пшеницы. Полученные таким образом результаты свидетельствуют, что применённые неинвазивные оптические методы позволяют оценить интенсивность фотосинтетического аппарата растений и могут быть использованы для отбора перспективных генотипов пшеницы (Канаш и др., 2018). Данные подходы актуальны и для полевых условий, но наиболее продуктивно они могут быть использованы в условиях регулируемого агроэкобиополигона, обеспечивая высокую пропускную способность при анализе фенотипических признаков, исследовании взаимосвязи генотипа и фенотипа, а также их изменчивости при реализации эволюционно-адаптивного и физиолого-генетического взаимодействия «генотип — среда». Включение информации о генетических детерминантах,

определяющих проявление хозяйственно значимых признаков, в систему точного земледелия и цифровые технологии методов дистанционного зондирования Земли будет являться следующим важным и неизбежным шагом с целью повышения эффективности современного сельского хозяйства и конкурентоспособности агропромышленного комплекса страны в современных условиях глобальной рыночной экономики.

## Литература

1. Драгавцев В. А., Литун П. П., Шкель И. М., Нечипоренко Н. Н. Модель эколого-генетического контроля количественных признаков растений // Доклады АН СССР. 1984. Т. 274. № 3. С. 720–723.
2. Канааш Е. В., Мирская Г. В., Русаков Д. В., Чесноков Ю. В. Оптические критерии количественной оценки активности фотосинтетического аппарата и идентификации генотипов пшеницы по высокой эффективности использования азота // Применение средств дистанционного зондирования в сельском хозяйстве. СПб., 2018. С. 131–138.
3. Чесноков Ю. В. Картирование локусов количественных признаков у растений. СПб.: ВИР, 2009. 100 с.
4. Чесноков Ю. В. Молекулярно-генетические маркеры и их использование в предселекционных исследованиях. СПб.: АФИ, 2013. 116 с.
5. Чесноков Ю. В., Артемьева А. М. Ассоциативное картирование у растений // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 5. С. 3–16.
6. Чесноков Ю. В., Канааш Е. В., Мирская Г. В., Кочерина Н. В., Русаков Д. В., Ловассер У., Бёрнер А. Картирование QTL индексов диффузного отражения листьев яровой гексаплоидной пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Физиология растений. 2019. Т. 66. № 1. С. 46–57.
7. Kanash E. V., Osipov Yu. A. Optical signals of oxidative stress in crops physiological state diagnostics // Proc. 7<sup>th</sup> European Conf. Precision Agriculture (ECPA 2009). Wageningen, 2009. P. 81–89.
8. Kanash E. V., Panova G. G., Blokhina S. Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations // Acta Horticulturae. 2013. V. 1009. P. 37–44.
9. Kocherina N. V., Artemyeva A. M., Chesnokov Yu. V. Use of LOD-score technology in mapping quantitative trait loci in plants // Russian Agricultural Sciences. 2011. V. 37. P. 201–204.
10. Tanksley S. D. Mapping polygenes // Annual Reviews of Genetics. 1993. V. 27. P. 205–233.
11. Yakushev V., Kanash E., Rusakov D., Blokhina S. Specific and non-specific changes in optical characteristics of spring wheat leaves under nitrogen and water deficiency // Proc. 11<sup>th</sup> European Conf. Precision Agriculture (ECPA 2017). Edinburgh, UK, 2017. V. 8. Spec. Iss. 2. P. 229–232.

## Molecular genetic characterization of remote-optical methods data for effective selection of genotypes for plant breeding

N. V. Kocherina

*Agrophysical Research Institute, Saint Petersburg 195220, Russia  
E-mail: alle007@mail.ru*

The paper describes the use of data obtained using remote-optical methods, diffuse reflection indices of the leaves of a cultivated plant for further analysis in the molecular-genetic mapping of the so-called loci of quantitative traits (QTL) of reflection indexes under controlled growing conditions. The mapping of chromosome loci involved in the manifestation of the studied physiological traits of leaf plate reflection allows establishing not only localization of identified QTLs on chromosomes, but also which parental form was introduced by one or another allele, as well as the percentage of phenotypic variability determined by the identified and mapped QTL. This allows the most effective identification of promising genotypes with the desired economically valuable traits. This approach is applicable only to mapping populations of plants whose genome is saturated with molecular markers. The use of non-invasive optical methods makes it possible with high throughput to estimate the intensity of the photosynthetic apparatus of plants and can be used for productive selection of promising genotypes in

the selection of cultivated plants for economically valuable parameters not only under controlled conditions of agroecobio polygon, but also further in field conditions. In addition, knowledge of the determinants that determine the manifestation of various types of economically valuable plant traits makes it possible to more efficiently manage plant productivity as part of the implementation of precision agriculture programs.

**Keywords:** non-invasive optical methods, mapping of quantitative trait loci, reflection indexes, controlled conditions of controlled agroecosystem, selection of genotypes for breeding

Accepted: 10.03.2019

DOI: 10.21046/2070-7401-2019-16-3-105-109

## References

1. Dragavtsev V. A., Litun P. P., Shkel I. M., Nechiporenko N. N., Model' ekologo-geneticheskogo kontrolya kolichestvennykh priznakov rastenii (Model of ecological and genetic control of quantitative traits of plants), *Doklady AN SSSR*, 1984, Vol. 274, No. 3, pp. 720–723.
2. Kanash E. V., Mirskaya G. V., Rusakov D. V., Chesnokov Yu. V., Opticheskie kriterii kolichestvennoi otsenki aktivnosti fotosinteticheskogo apparata i identifikatsii genotipov pshenitsy po vysokoi effektivnosti ispol'zovaniya azota (Optical criteria for quantifying the activity of the photosynthetic apparatus and identifying wheat genotypes on high efficiency of use of nitrogen), In: *Primenenie sredstv distantsionnogo zondirovaniya v selskom khozyaistve* (Application of remote sensing techniques in agriculture), Saint Petersburg, 2018, pp. 131–138.
3. Chesnokov Yu. V., *Kartirovanie lokusov kolichestvennykh priznakov u rastenii* (Mapping of quantitative trait loci in plants), Saint Petersburg: VIR, 2009, 100 p.
4. Chesnokov Yu. V., *Molekulyarno-geneticheskie markery i ikh ispol'zovanie v predseleksionnykh issledovaniyakh* (Molecular genetic markers and their use in preselection research), Saint Petersburg: AFI, 2013, 116 p.
5. Chesnokov Yu. V., Artemyeva A. M., Assotsiativnoe kartirovanie u rastenii (Associative mapping in plants), *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2011, No. 5, pp. 3–16.
6. Chesnokov Yu. V., Kanash E. V., Mirskaya G. V., Kocherina N. V., Rusakov D. V., Lohwasser U., Börner A., Kartirovanie QTL indeksov diffuznogo otrazheniya list'ev yarovoi geksaploidnoi pshenitsy (*Triticum aestivum* L.) (Mapping of QTL of diffuse reflection indexes of leaves of spring hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.)), *Fiziologiya rastenii*, 2019, Vol. 66, No. 1, pp. 46–57.
7. Kanash E. V., Osipov Yu. A., Optical signals of oxidative stress in crops physiological state diagnostics, *Proc. 7<sup>th</sup> European Conf. Precision Agriculture (ECPA 2009)*, Wageningen, 2009, pp. 81–89.
8. Kanash E. V., Panova G. G., Blokhina S. Yu., Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations, *Acta Horticulturae*, 2013, Vol. 1009, pp. 37–44.
9. Kocherina N. V., Artemyeva A. M., Chesnokov Yu. V., Use of LOD-score technology in mapping quantitative trait loci in plants, *Russian Agricultural Sciences*, 2011, Vol. 37, pp. 201–204.
10. Tanksley S. D., Mapping polygenes, *Annual Reviews of Genetics*, 1993, Vol. 27, pp. 205–233.
11. Yakushev V., Kanash E., Rusakov D., Blokhina S., Specific and non-specific changes in optical characteristics of spring wheat leaves under nitrogen and water deficiency, *Proc. 11<sup>th</sup> European Conf. Precision Agriculture (ECPA 2017)*, Edinburgh, UK, 2017, Vol. 8, Special Issue 2, pp. 229–232.