

УДК 575.174.015.3:633.15

ДОБІР ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ В СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН

© 2011 р. Н. Е. Кожухова

*Південний біотехнологічний центр в рослинництві
Національної академії аграрних наук України
(Одеса, Україна)*

В огляді наведено інформацію щодо стану та перспектив впровадження в традиційну селекцію рослин так званого добору за допомогою маркерів – Marker-Assisted Breeding (MAB) чи Marker-Assisted Selection (MAS). Представлено принципи MAS, охарактеризовано його переваги та недоліки. Наведено приклади конкретного використання молекулярного підходу при створенні сортів пшениці, рису, кукурудзи, проса, квасолі.

Ключові слова: ДНК-маркери, добір за молекулярними маркерами, Marker-Assisted Breeding, Marker-Assisted Selection

У новій європейській платформі «Рослини для майбутнього» до 2025 року у галузі геноміки та біотехнології рослин одним з пріоритетів визначено підвищення ефективності добору. Перспективним шляхом вирішення цієї проблеми є молекулярний підхід, а саме добір за допомогою маркерів (Marker-Assisted Breeding, MAB or Marker-Assisted Selection, MAS).

Термін «Marker-Assisted Selection» вперше вжито в літературі в 1986 році з описом можливого використання (Beckmann, Soller, 1986). Перша основна стаття про застосування MAS в селекції рослин з використанням ДНК-маркерів присвячена стійкості сої до нематоди (*Heterodera glycines* Ichinohe) (Concibido et al., 1996).

У російській та українській мовах немає усталеного еквівалента цього терміну. Д.б.н. Кудрявцев О.М., завідувач лабораторії генетики рослин Інституту загальної генетики ім. М.І. Вавилова (Москва, РФ) пропонує такий переклад: «маркер-опосередкована селекція» та дає визначення «це метод селекції, при якому добір необхідних ознак і індивідуумів ведеться

не за морфотипом організму, а безпосередньо за генотипом» (Кудрявцев, 2009). Згідно із «Словником термінів з біотехнології для виробництва продовольства і ведення сільського господарства» Продовольчої та сільськогосподарської Організації Об'єднаних Націй (The Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO), MAS – «маркерна селекція – використання ДНК-маркерів для підвищення ефективності селекційної роботи, яке базується на виявленні маркерів селекційних ознак» (Заид и др., 2008).

Принцип MAS такий. Якщо відома локалізація гена, що впливає на прояв агрономічно важливої ознаки, то за цією ознакою слідкують не за її власним проявом, але за спадковістю гена, який її контролює, чи за наявністю необхідного алеля в селекційному матеріалі.

Необхідною передумовою будь-якої програми MAS є наявність молекулярних маркерів. Молекулярним маркером може бути будь-який фрагмент ДНК, що використовується для виявлення поліморфізму та перебуває у тісному генетичному зв'язку з геном, який відповідає за аналізовану ознаку (Календарь, Глазко, 2002). Основні типи поліморфізму ДНК такі: 1) поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Причина – нуклеотидні відмінності в сайтах рестрикції; 2) мінісателіти. Причина – число, що варіює, тандемно повторених нукле-

Адреса для кореспонденції: Кожухова Наталія Едуардівна, Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААН України, Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна;
e-mail: natavolk@rambler.ru

отидних послідовностей ДНК з розміром повтору 10-100 нуклеотидів; 3) мікросателіти, або прості тандемні повтори, або повтори простих послідовностей. Причина – число, що варіює, тандемно повторених коротких нуклеотидних послідовностей ДНК з розміром повтору одиниць нуклеотидів; 4) поліморфізм фрагментів ДНК, ампліфікованих з довільними праймерами. Причина – нуклеотидні відмінності в сайтах зв'язування з праймерами; 5) поліморфізм довжини ампліфікованих фрагментів. Причина – нуклеотидні відмінності в сайтах рестрикції та сайтах, що їх фланкують; 6) однонуклеотидний поліморфізм. Причина – заміни окремих нуклеотидів в послідовності ДНК; 7) поліморфізм послідовностей, що експресуються. Причина – нуклеотидні відмінності в послідовностях, що експресуються; 8) поліморфізм ретро-транспозонів. Причина – вбудовування ретро-транспозону в нову ділянку геному. Наведені типи поліморфізму ДНК не вичерпують списку молекулярно-генетичних маркерів, опис різних типів молекулярних маркерів можна знайти у багатьох оглядах літератури (Алтухов, Салменкова, 2002; Сулимова, 2004; Weising et al., 2005). Бурхливий розвиток нових методів молекулярної біології, в тому числі автоматизація та комп'ютеризація різних процесів, розробка відповідних статистичних методів аналізу та програмного забезпечення, створення доступних баз даних, необхідних для дослідження поліморфізму ДНК, сприяють поповненню арсеналу молекулярних маркерів і все активнішому їх використанню в різних галузях фундаментальної та прикладної біології.

Останнє покоління молекулярних маркерів базується на прямому аналізі варіацій послідовностей у кожному зразку на відміну від непрямого аналізу з використанням зондів при ПДРФ-аналізі або праймерів при аналізі за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Зміни однієї основи у послідовності, названі однонуклеотидним поліморфізмом (single nucleotide polymorphisms, SNP), є найбільш поширеним джерелом мінливості геномів рослин і тварин. Саме прямий аналіз послідовностей є найбільш надійною формою аналізу варіювання геному. Таким чином, аналіз з використанням SNP маркерів має багато переваг порівняно з попередніми поколіннями маркерів, в тому числі завдяки високій ймовірності виявлення маркерів в межах цільового гена у зв'язку з високою концентрацією SNP у геномі (Syvanen, 2005).

Хоча не всі SNP будуть поліморфними в тій чи іншій селекційній популяції, висока концентрація цих маркерів збільшує ймовірність того, що принаймні один SNP буде поліморфним в цільовому гені чи поблизу. Це дає величезні переваги SNP в генетичних MAS програмах над попередніми маркерами, які були в кращому разі тісно зчепленими з необхідним локусом (але не в локусі), де це зчеплення може бути легко втрачене, коли маркер застосовується для інших популяцій з різними моделями рекомбінації. Не менш важлива легкість, з якою детекція за SNP маркерами може бути автоматизована, отже, пропускну спроможність аналізу може бути легко розширена до рівня, необхідного для застосування в селекційних програмах (Giancola et al., 2006). SNP маркери генів-кандидатів, пов'язаних фактично з усіма цільовими ознаками, стануть доступні найближчим часом для багатьох культур після широко-масштабного секвенування їх геномів (Lubberstedt et al., 2005).

Маркери для використання в рослинній селекції вперше популяризовано на початку 1980-х років, коли ізозимні маркери використано для прискорення інтрогресії моногенних ознак із екзотичної зародкової плазми в культурний фон (Tanksley, Rick, 1980; Tanksley, 1983). Кількома роками пізніше описано перше використання маркерів на основі ПДРФ у поліпшенні сільськогосподарських культур, включаючи теоретичні питання, пов'язані з маркер-опосередкованим беккросингом (marker-assisted backcrossing, MABC) для покращення якісних ознак (Beckmann, Soller, 1986). У 1990 році вперше проведено теоретичні дослідження MAS для кількісних ознак (Lande, Thompson, 1990), що призвело до серії досліджень протягом 1990-х років за допомогою моделювання (Zhang, Smith, 1992; 1993; Gimelfarb, Lande, 1994; 1995; Hospital, Charcosset, 1997; Whittaker, 1997). Вже у 21 столітті проведено додаткові теоретичні обговорення щодо застосування MAS, у тому числі з оптимізації систем MABC (Frisch, Melchinger, 2001; 2005; Hospital, 2002) та стратегій пірамідування необхідних алелів шляхом рекурентних схрещувань (Hospital et al., 2000; Servin et al., 2004; Bernardo et al., 2006). Ці теоретичні дослідження зробили великий внесок у розуміння багатьох основних генетичних питань, що стосуються розробки MAS систем, таких як тип популяції, розмір вибірки, розмір геному, кількість та тип маркерів (Avisé, 2004; Guimaraes et al., 2007).

ДОБІР ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ

На даний час завдяки, в основному, технологічному прориву в галузі секвенування геномів вищих організмів добір цільових ознак може бути досягнутий за допомогою молекулярних маркерів, які тісно зчеплені з основними генами або які були розроблені з фактичної послідовності гена. На даний час повністю просеквеновано ядерні геноми таких видів рослин: арабідопсису *Arabidopsis thaliana* (Klenk et al., 1997), рису *Oryza sativa ssp. indica* (Yu et al., 2002), тополі *Populus trichocarpa* (Tuskan et al., 2006), винограду *Vitis viniferaea* (Jaillon et al., 2007), папайї *Carica papaya* (Ming et al., 2008), сорго *Sorghum bicolor* (Paterson et al., 2009), огірка *Cucumis sativus* L. (Huang et al., 2009), сої *Glycine max* (Schmutz, 2010), кукурудзи *Zea mays* (Schnable, 2009), злакової трави *Brachypodium distachyon* (Vogel, 2010).

Тобто перший крок MAS – це картування гена або локусів кількісних ознак (QTL), що становлять інтерес, різними техніками. Маркери, які використовуватимуться, повинні бути близькими до цільового гена (<5 одиниць рекомбінації, cM) для того, щоб гарантувати, що тільки невелика частина окремих індивідуумів буде рекомбінантною. Як правило, не один маркер, а два маркери використовують для того, щоб зменшити ймовірність помилки за рахунок гомологічної рекомбінації. Надійність добору підвищується з 95% при використанні одного маркера до 99,5% при використанні двох фланкуючих маркерів і складає 100 %, якщо маркер знайдено в межах гена (Collard, Mackill, 2008). Частота рекомбінації між цільовим локусом і маркером 1 складає приблизно 5 % (5 cM). Таким чином, рекомбінація може відбутися між цільовим локусом і маркером приблизно у 5 % потомства. Ймовірність рекомбінації, що станеться і між маркером 1 і маркером 2 (тобто подвійний кросинговер), значно нижча, ніж для одного маркера (близько 0,4%). Таким чином, надійність відбору набагато вища при використанні фланкуючих маркерів.

Переваги та обмеження MAS

Розробку і використання MAS в селекції рослин обґрунтовують для чотирьох широких напрямів майже для всіх цільових культур (Ху, Crouch, 2008).

1. Ознаки, якими важко керувати за допомогою традиційного фенотипового добору через значну витрату коштів й часу для вимірювання або низьку пенетрантність чи складну спадковість.

2. Ознаки, добір яких залежить від конкретних умов навколишнього середовища або стадій розвитку, що впливає на прояв цільового фенотипу.

3. Підтримання рецесивних алелів при беккросингу або для прискорення беккросної селекції в цілому.

4. Пірамидування кількох моногенних ознак (таких, як стійкість до шкідників і хвороб або якісні ознаки) або кількох QTL для однієї цільової ознаки з комплексною спадковістю (таких, як посухостійкість або інші адаптивні ознаки).

Якщо у звичайних селекційних системах об'єднати одночасні добори за все більшою кількістю цільових ознак, це призведе до загальної втрати посилення селекції і збільшення числа циклів селекції, необхідних для отримання кінцевого продукту. В протилежність цьому MAS забезпечує потенційні можливості для побудови цільових ознак в тому ж генотипі точніше, з меншими втратами і у меншій кількості циклів добору. Можливості для поліпшення складніших ознак таких, як толерантність до абіотичних стресів, ускладнюються низькою спадковістю, великою кількістю додаткових генів з непередбачуваним епістатичним ефектом і ефектами різних екологічних чинників. Створення простих підходів для MAS цих ознак, як і раніше, залишається проблемою.

Спірним є питання вартості MAS-процедури. Існує точка зору, що вартість генотипування постійно зменшується, а вартість фенотипування зростає, особливо в країнах, що розвиваються. Це означає, що привабливість MAS продовжує підвищуватися. Водночас на думку інших дослідників, собівартість доборів за морфологічними ознаками, які залишаються основними в селекції рослин багатьох країн, в тому числі і в Україні, невисока порівняно з доборами за маркерами.

Щодо МАВС для більшості культур 90% рекурентних батьківських генотипів можуть бути відновлені протягом двох поколінь, коли використовується відповідна кількість маркерів (наприклад, один маркер кожні 10 cM) і достатня кількість потомства для фонового добору. Це дозволяє істотно економити час порівняно з традиційною беккросною селекцією. Молекулярні маркери, призначені для МАВС, можуть бути вибрані на основі їх геномного розподілу; індексів різноманітності гаплотипу та/або поліморфної інформації; їх асоціації з генами-

кандидатами та іншими агрономічними ознаками (за винятком цільової інтрогресивної ознаки) (Ху, 2003; Varshney et al., 2005). Показано, що МАС особливо цінний у випадках, де є багато хороших сортів, які повинні бути поліпшені тільки за однією ознакою простої спадковості, такою як стійкість до деяких шкідників чи хвороб, або за компонентною ознакою для підвищення адаптації чи толерантності до стресу (Cregan et al., 1999; Cahill, Schmidt, 2004; Johnson, 2004; Niebur et al., 2004; Eathington, 2005; Crosbie et al., 2006; Miklas et al., 2006; Ragot, Lee, 2007). З урахуванням останніх досягнень у створенні систем генотипування з високою роздільною здатністю МАС, ймовірно, ставатиме все більш економічно ефективним (Gunderson et al., 2005).

Інтрогресія і пірамидування кількох генів, що впливають на одну й ту саму ознаку, є серйозною проблемою для селекційних програм. Різні умови навколишнього середовища для цільових культур потребують поєднання стійкості до різних біотичних стресів, агрономічних і якісних ознак, толерантності до абіотичних стресів, щоб підвищити продуктивність, стабільність врожаю, визнання фермерами.

Найбільший ефект від МАС буде реалізований тільки тоді, коли селекційні програми будуть адаптовані так, щоб найкращим чином використовувати широкомасштабне генотипування для численних цільових ознак і генетичного фону. Найбільші вигоди від цього виду комплексного молекулярно-селекційного підходу повинні бути для досягнення такого ж селекційного прогресу в значно менший час, ніж за допомогою традиційної селекції, і від пірамидування комбінацій генів, які не можуть бути скомбіновані за допомогою інших засобів.

Однією з причин повільного впровадження МАС в селекцію є існуюча ситуація розподілу процесів розробки маркера та генетичного картування і селекційних робіт. Схематично роботи в галузі МАС-селекції можна розділити на два етапи: підготовчий, коли генетики накопичують знання щодо генетичного контролю ознаки, що цікавить селекціонера, та власне селекційний, який селекціонер веде роботу звичними для нього методами, але з використанням запропонованого генетиками інструментарію МАС (Кудрявцев, 2009). До першого етапу належать: розробка ДНК-маркерів; побудова геномних молекулярно-генетичних карт; пошук функціонально значущих генів-кандидатів, генів кількісних ознак, адаптивно

значущих генів, визначення локалізації цільового гена на карті, добір поліморфних ДНК-маркерів; аналіз генетичного різноманіття селекційного матеріалу, пошук унікальних алелів. Другий етап включає: тестування генів у вихідному матеріалі (добір донорів); беккросування з добором за маркерами; об'єднання алелів в потомстві, цілеспрямоване введення алелів в потомство – пірамідування; добір гомозигот за домінантними генами в потомстві. Тому слід підкреслити, що МАС-селекція можлива тільки за тісної кооперації генетиків і селекціонерів.

Приклади МАС

Істотні інвестиції зроблено з боку приватного сектора для розвитку інструментів геноміки для сільськогосподарських культур, що мають найбільший комерційний інтерес, в тому числі кукурудзи (*Zea mays* L.), сої (*Glycine max* (L.) Merr.), ріпаку (*Brassica* spp.), бавовни (*Gossypium hirsutum* L.), соняшнику (*Helianthus annuus* L.). Це посприяло розробці цілісних молекулярно-селекційних стратегій для створення сортів, спрямованих на отримання «ідеального» генотипу. Це включає одночасне МАС для кількох ознак, таких як урожайність, стійкість до біотичних та абіотичних стресів і атрибуту якості, деякі з яких полігенні за природою (Ragot et al., 2000). Використовуючи ці підходи, прибуток від комерційних селекційних програм можна отримати в два рази швидше за генетичним, ніж за фенотиповим добором.

Як очікується, перші комерційні продукти молекулярної селекції будуть випущені на ринок всіма великими транснаціональними селекційними компаніями у найближчому майбутньому. Перший сорт, розроблений шляхом МАС агрофірмою «Монсанто», випущений на ринок США в 2006 році. Підраховано, що до 2010 року більше 12 % комерційних культур у США буде отримано за молекулярною селекцією (Fraleay, 2006). Маркерну селекцію в своїй роботі широко використовують такі компанії лідери агропромислових технологій компанії, як «Advanta Seeds UK Ltd.» і «Syngenta».

МАС також використовується у державних селекційних програмах для інтрогресії та пірамидування генів, зокрема, стійкості до головних захворювань у культур первинної значущості, а також у культур, що мають менший інтерес для приватного сектора (Dwiwedi et al., 2007).

Пшениця (*Triticum aestivum* L.). Інтенсивно використовують МАС в селекційних про-

ДОБІР ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ

грамах пшениці у CIMMYT (William, 2007). Широкомасштабні MAS програми з залученням 20 генів чи хромосомних регіонів розроблено в Австралії для створення сортів пшениці (Eagles et al., 2001). Значний прогрес у здійсненні MAS стратегій розробки сортів досягнутий MAS Wheat Consortium у США, зокрема, завершено 80 MAS проектів. Цей консорціум засновано USDA National Institute of Food and Agriculture, з його досягненнями можна ознайомитися на сайті <http://maswheat.ucdavis.edu/>. Понад 300 додаткових беккросних програм в даний час здійснюються для включення 22 генів стійкості до різних хвороб і шкідників і 21 алеля, пов'язаного з бажаними хлібопекарськими якостями і якостями макаронних виробів (Dubcovsky, 2004). Проаналізовано з генетичної та економічної точок зору стратегію MAS для пшениці (Kuchel et al., 2005).

Рис (*Oryza sativa* L.). При виконанні MAS селекційних програм в США отримано два нових сорти Cadet та Jacinto, з унікальними якісними ознаками для приготування та обробки, включаючи вміст амілози (Hardin, 2000). В Індонезії створено два сорти – Angke і Conde, стійкі до бактеріальної іржи (збудник – *Xanthomonas oryzae* pv *Oryzae* (Xoo)). Вони мають на 20 % більшу урожайність, ніж IR64 (Bustamam et al., 2002). Пірамідування генів стійкості до пірикуляріозу (збудник – *Piricularia oryzae*) (Ильницькая, Мухина, 2004) та генів *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*, *Xa5*, *Xa10* стійкості до бактеріальної іржи (Joseph et al., 2004) в різних комбінаціях за допомогою молекулярних маркерів призвело до створення більш стійких сортів рису.

Квасоля (*Phaseolus vulgaris* L.). Зареєстрована лінія USPT-ANT-1, стійка до антракнозу (збудник – *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magn.) Bri. and Cav.), яка несе ген *Co-42* стійкості до всіх відомих північно-американських рас антракнозу в США (Miklas et al., 2003).

Просо (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). Батьківські лінії оригінального гібрида ННВ 67 покращено щодо стійкості до мілдьо (збудник – *Sclerospora graminicola* (Sacc.) Schroet.) шляхом MAS в поєднанні з традиційною беккросною селекцією з метою використання в Індії нового гібрида ННВ 67-2 (Navarro et al., 2006).

Кукурудза (*Zea mays* L.). MAS був з успіхом впроваджений в розробку нових генотипів в приватному секторі (Dreher et al., 2003; Morris et al., 2003). У CIMMYT проведено

МABC експеримент з поліпшення урожайності зерна тропічної кукурудзи за умов посухи (Ribaut, Ragot, 2007). Толерантність до посухи підвищено у лінії шляхом інтрогресії елітних алелів 5 QTL. В Ohio State University MAS використано для об'єднання в одному генотипі кукурудзи бажаних харчових властивостей зерна (білка з підвищеним вмістом лізину) та QTL стійкості до грибних захворювань (північної листової іржи та сірої плямистості) і вірусу *Maize streak virus* (Pratt, 2004). За використанням молекулярних маркерів, виявлено ae (amylose extender) алелі в беккросі та його другому поколінні більш ефективно (53,3 і 73,3% відповідно), ніж це було б можливо без маркерного добору, що свідчить про необхідність використання молекулярних маркерів як інструменту прискорення виведення нових сортів високоамілозної кукурудзи (Chen et al., 2010).

Марковано локуси господарсько-цінних (полігенних) ознак – складових габітусу рослини, морфології волоті, продуктивності та біохімічних показників та обґрунтовано використання специфіки їхнього зв'язку для підвищення ефективності традиційних методів добору в селекції кукурудзи (Доменюк, 2003). Розроблений алгоритм генетико-статистичного зв'язку між генетичними системами маркерів і QTL покладено в основу способу ДНК-прогнозу розвитку полігенних ознак, надійність якого в популяції (ГК26 х Мо17) F3 становить 40-83 %. Для генетичного поліпшення популяцій за комплексом агрономічних ознак пропонується метод прямого маркерного добору, експериментальний генетичний ефект якого в популяції (ГК26 х Мо17) F4 складає 9,1-17,6 % за один цикл добору. В Селекційно-генетичному інституті – НЦНС НААН України (Одеса, Україна) спільно з Південним біотехнологічним центром в рослинництві вперше в Україні і на теренах СНД створений гібрид Діалог (ФАО 360) з використанням добору за молекулярними маркерами. Потенціал зернової продуктивності 110-115 ц/га, рекомендований до вирощування у зонах Степу і Лісостепу. Новий гібрид включено до Реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні.

Висновки

Фундаментальна основа селекції рослин – добір конкретних рослин з бажаними ознаками. Добір звичайно включає в себе візуальну оцінку селекційної популяції за однією або кількома ознаками в польових або тепличних випробуваннях (наприклад, агрономічні ознаки, стій-

кість до хвороб і толерантність до стресів) або лабораторні випробування за допомогою хімічних тестів (наприклад, якість зерна). Мета селекції рослин – об'єднання якнайбільшої кількості бажаних комбінацій генів у нових сортів. При використанні загальноприйнятого методу педігрі добір бажаних рослин починається в ранніх генераціях за ознаками вищої спадковості. Однак, для ознак з низькою спадковістю добір часто відкладається доти, доки лінії стануть більш гомозиготними в пізніших поколіннях (F5 або F6). Цей процес потребує значних втрат часу (5-10 років для визнання елітних ліній) і ресурсів.

Чисельність і склад популяції є важливим чинником для селекційних програм. Чим більша кількість генів, що сегрегують в популяції, тим більший розмір популяції потрібен для виявлення конкретних комбінацій генів. У типових селекційних програмах зазвичай вирощують сотні або навіть тисячі популяцій і кілька тисяч або мільйони окремих рослин. Масштаби і складність добору, кількість і розмір популяцій в традиційних селекційних програмах потребують нових інструментів, до яких з впевненістю можна віднести MAS. Добір за молекулярними маркерами має величезний потенціал для підвищення ефективності та точності звичайної (традиційної) селекції рослин.

ЛІТЕРАТУРА

- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А.* Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 9. – С. 1173-1195.
- Доменюк В.П.* ДНК-маркери локусів кількісних ознак кукурудзи // Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – К., 2003. – 12 с.
- Заид А., Хьюз Х., Порчедду Э., Николас Ф.* Словарь терминов по биотехнологии для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства // Научно-исследовательский и технический документ ФАО: Продовольственная и сельскохозяйственная Организация Объединенных Наций. – Рим, 2008. – С. 132.
- Ильницкая Е.Т., Мухина Ж.М.* Пирамидирование генов устойчивости к пирикулярриозу риса Pi1, Pi2, Pi33 с использованием молекулярных маркеров // Рисоводство. – 2004. – № 5. – С. 32-34.
- Календарь Р.Н., Глазко В.И.* Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиология и биохимия культ. растений. – 2002. – Т. 34, № 4. – С. 279-296.
- Кудрявцев А.М.* Маркер-опосредованная селекция растений // Молекуляр. и прикл. генетика. – 2009. – Т. 9. – С. 28-31.
- Сулимова Г.Е.* ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи соврем. биологии. – 2004. – Т. 124, № 3. – С. 260-271.
- Avise J.C.* Molecular markers, natural history, and evolution. – Sunderland: MA, 2004. – 355 p.
- Bai S.-L.* A simple and reliable assay for detecting specific nucleotide sequences in plants using optical thin-film biosensor chips // Plant J. – 2007. – V. 49. – P. 354-366.
- Beckmann J.S., Soller M.* Restriction fragment length polymorphisms in plant genetic improvement // Oxf. Surv. Plant Mol. Cell Biol. – 1986. – V. 3. – P. 196-250.
- Bernardo R., Moreau L., Charcosset A.* Number and fitness of selected individuals in marker-assisted and phenotypic recurrent selection // Crop Sci. – 2006. – V. 46. – P. 1972-1980.
- Bustamam M.* Asian rice biotechnology network: Improving popular cultivars through marker-assisted backcrossing by the NARES // Abstr. Int. Rice Congr. – Beijing, 2002.
- Cahill D.J., Schmidt D.H.* Use of marker-assisted selection in a product development breeding program // New Directions for a Diverse Planet. Proc. 4th Int. Crop Sci. Congress, Brisbane, QLD, Australia. 26.09.-01.10.2004. Available at www.cropscience.org.au/icsc2004/ (verified 4 Feb. 2008).
- Chen F., Zhu S.W., Xiang Y., Jiang H.Y., Cheng B.J.* Molecular marker-assisted selection of the *ae* alleles in maize // Genet. Mol. Res. – 2010. – V. 9. – P. 1074-1084.
- Collard B., Mackill D.* Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century // Philos. Trans. R. Soc. London. Biol. – 2008. – V. 363. – P. 557-572.
- Concibido V.C., Denny R.L., Lange D.A. et al.* RFLP mapping and molecular marker-assisted selection of soybean cyst nematode resistance in PI 209332 // Crop Sci. – 1996. – V. 36. – P. 1643-1650.
- Cregan P.B.* Two simple sequence repeat markers to select for soybean cyst nematode resistance conditioned by the *rhg1* locus // Theor. Appl. Genet. – 1999. – V. 99. – P. 811-818.
- Crosbie T.M.* Plant breeding: Past, present, and future // Plant breeding: The Arnel R. Hallauer international symposium. – Blackwell: Ames, IA, 2006. – P. 3-50.

ДОБІР ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ

- DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications. – CRC Press, 2005. – 470 p.
- Dreher K., Khairallah M., Ribaut J.-M., Morris M.* Money matters (I): Cost of field and laboratory procedures associated with conventional and marker-assisted maize breeding at CIMMYT // *Mol. Breed.* – 2003. – V. 11. – P. 221-234.
- Dubcovsky J.* Marker-assisted selection in public breeding programs: The wheat experience // *Crop Sci.* – 2004. – V. 44. – P. 1895-1898.
- Dwivedi S.L.* The molecularization of public sector crop breeding: Progress, problems, and prospects // *Adv. Agron.* – 2007. – V. 95. – P. 163-318.
- Eagles E.* Implementation of markers in Australian wheat breeding // *Aust. J. Agric. Res.* – 2001. – V. 52. – P. 1349-1356.
- Eathington S.R.* Practical applications of molecular technology in the development of commercial maize hybrids // *Proc. of the 60th Annual Corn and Sorghum Seed Res. Conf.* – Chicago, 2005.
- European Technology Platform «Plants for the Future» Strategic Research Agenda 2025 // www.plantTP.com.
- Fraley R.* Presentation at Monsanto European Investor Day, 10.11.2006. Available at www.monsanto.com/investors/presentations.asp (verified 4 Feb. 2008).
- Frisch M., Melchinger A.E.* Marker-assisted backcrossing for simultaneous introgression of two genes // *Crop Sci.* – 2001. – V. 41. – P. 1716-1725.
- Frisch M., Melchinger A.E.* Selection theory for marker-assisted backcrossing // *Genetics.* – 2005. – V. 170. – P. 909-917.
- Giancola S.* Utilization of the three high-throughput SNP genotyping methods, the GOOD assay, Amplifluor and Taq-Man, in diploid and polyploidy plants // *Theor. Appl. Genet.* – 2006. – V. 112. – P. 1115-1124.
- Gimelfarb A., Lande R.* Marker-assisted selection and marker-QTL associations in hybrid populations // *Theor. Appl. Genet.* – 1995. – V. 91. – P. 522-528.
- Gimelfarb A., Lande R.* Simulation of marker-assisted selection for non-additive traits // *Genet. Res.* – 1994. – V. 64. – P. 127-136.
- Gimelfarb A., Lande R.* Simulation of marker-assisted selection in hybrid populations // *Genet. Res.* – 1994. – V. 63. – P. 39-47.
- Guimaraes E.P.* Marker-assisted selection, current status, and future perspectives in crops, livestock, forestry, and fish. – FAO, Rome, 2007.
- Gunderson K.L.* A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology // *Nature Genet.* – 2005. – V. 37. – P. 549-554.
- Hardin B.* Rice breeding gets marker assists // Available at www.ars.usda.gov/is/AR/archive/dec00/rice1200.pdf (verified 2 Feb. 2008). *Agric. Res. Dec.*: 11.2000.
- Hospital F.* Marker-assisted backcross breeding: A case study in genotype building theory // *Quantitative genetics, genomics, and plant breeding* / Ed. M.S. Kang. – N.Y.: Oxon, 2002. – P. 135-141.
- Hospital F., Charcosset A.* Marker-assisted introgression of quantitative trait loci // *Genetics.* – 1997. – V. 147. – P. 1469-1485.
- Hospital F., Goldringer I., Openshaw S.* Efficient marker-based recurrent selection for multiple quantitative trait loci // *Genet. Res.* – 2000. – V. 75. – P. 1181-1189.
- Huang S.* The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. // *Nature Genet.* – 2009. – V. 41. – P. 1275-1281.
- Jaillon O.* The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla // *Nature.* – 2007. – V. 449. – P. 463-467.
- Johnson G.R.* Marker-assisted selection // *Plant Breed. Rev.* – 2004. – V. 24. – P. 293-301.
- Joseph M.* Combining bacterial blight resistance and Basmati quality characteristics by phenotypic and molecular marker-assisted selection in rice // *Mol. Breed.* – 2004. – V. 13. – P. 1-11.
- Klenk H.* The complete genome sequence of the hyperthermophilic, sulphate-reducing archaeon *Archaeoglobus fulgidus* // *Nature.* – 1997. – V. 390, № 6658. – P. 364-370.
- Kuchel H., Ye G., Fox R., Jefferies S.* Genetic and economic analysis of a targeted marker-assisted wheat breeding strategy // *Mol. Breed.* – 2005. – V. 16. – P. 67-78.
- Lande R., Thompson R.* Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits // *Genetics.* – 1990. – V. 124. – P. 743-756.
- Lubberstedt T.* Development and application of functional markers in maize // *Euphytica.* – 2005. – V. 146. – P. 101-108.
- Miklas P.N.* Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to

- MAS breeding // *Euphytica*. – 2006. – V. 147. – P. 105-131.
- Miklas P.N., Kelly J.D., Singh S.P.* Registration of anthracnose-resistant pinto bean germplasm line USPTANT-1 // *Crop Sci.* – 2003. – V. 43. – P. 1889-1890.
- Ming R.* The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus) // *Nature*. – 2008. – V. 452. – P. 991-996.
- Morris M., Dreher K., Ribaut J.-M., Khairallah M.* Money matters (II): Cost of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker-assisted selection // *Mol. Breed.* – 2003. – V. 11. – P. 235-247.
- Mutant Germplasm Characterization using Molecular Markers. A Manual* // Prepared by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. International Atomic Energy Agency. – Vienna, 2002. – 87 p.
- Navarro R.L., Warriar G.S., Maslog C.C.* Genes are gems: Reporting agri-biotechnology. A sourcebook for journalists // *Int. Crops and Research Inst. for the Semi-Arid Tropics*. – Patancheru (Andhra Pradesh, India), 2006.
- Niebur W.S.* Applications of genomics technologies to enhance rate of genetic progress for yield of maize within a commercial breeding program // *New directions for a diverse planet. Proc. 4th Int. Crop Sci. Congress, Brisbane, Australia. 26.09.–01.10.2004.* Available at www.cropscience.org.au/icsc2004/ (verified 2008).
- Paterson T.* The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses // *Nature*. – 2009. – V. 457. – P. 551-556.
- Pratt R.* Molecular Marker-Assisted Selection (MAS) Procedures for Improvement of Quality Protein Maize (QPM) Germplasm // *Latin American and Caribbean Meeting on Agricultural Biotechnology "Biotechnology, generating prosperity while respecting life" Boca Chica (Dominican Republic), 2004.*
- Ragot M.* Efficient selection for the adaptation to the environment through QTL mapping and manipulation in maize // *Molecular approaches for the genetic improvement of cereals for stable production in water-limited environments* / Eds. J.-M. Ribaut, D. Poland. CIMMYT. – Mexico: D.F., 2000. – P. 128-130.
- Ragot M., Lee M.* Marker-assisted selection in maize: Current status, potential, limitations and perspectives from the private and public sectors // *Marker-assisted selection, current status and future perspectives in crops, livestock, forestry, and fish.* – FAO, Rome, 2007. – P. 117-150.
- Ribaut J., Ragot M.* Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives // *J. Exp. Bot.* – 2007. – V. 58. – P. 351-360.
- Schmutz J.* Genome sequence of the palaeopolyploid soybean // *Nature*. – 2010. – V. 463. – P. 178-183.
- Schnable P.* The B73 Maize Genome: Complexity, Diversity, and Dynamics // *Science*. – 2009. – V. 326, № 5956. – P. 1112-1115.
- Servin B., Martin O., Mezard M., Hospital F.* Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding // *Genetics*. – 2004. – V. 168. – P. 513-523.
- Syvanen A.C.* Toward genome-wide SNP genotyping // *Nature Genet.* – 2005. – V. 37. – P. S5-S10.
- Tanksley S.D.* Molecular markers in plant breeding // *Plant Mol. Biol. Rep.* – 1983. – V. 1. – P. 1-3.
- Tanksley S.D., Rick C.M.* Isozyme gene linkage map of the tomato: Applications in genetics and breeding // *Theor. Appl. Genet.* – 1980. – V. 57. – P. 161-170.
- Tuskan G.* The Genome of Black Cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray) // *Science*. – 2006. – V. 313, № 5793. – P. 1596-1604.
- Varshney R.K., Graner A., Sorrells M.E.* Genic microsatellite markers in plants: Features and applications // *Trends Biotechnol.* – 2005. – V. 23. – P. 48-55.
- Vogel J.* Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon* // *Nature*. – 2010. – V. 463. – P. 763-768.
- Weising K.* DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications. – 2005. – 470 p.
- Whittaker J.C., Haley C.S., Thompson R.* Optimal weighting of information in marker-assisted selection // *Genet. Res.* – 1997. – V. 69. – P. 137-144.
- William H.M., Trethowan R., Crosby-Galvan E.M.* Wheat breeding assisted by markers: CIMMYT's experience // *Euphytica*. – 2007. – V. 157. – P. 307-319.
- Xu Y.* Developing marker-assisted selection strategies for breeding hybrid rice // *Plant Breed. Rev.* – 2003. – V. 23. – P. 173-174.
- Xu Y., Crouch J.H.* Marker-Assisted Selection in Plant Breeding: From Publications to Practice // *Crop Sci.* – 2008. – V. 48. – P. 391-407.
- Yu J.* A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica) // *Science*. – 2002. – V. 296, № 5565. – P. 79-92.

ДОБІР ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ

Zhang W., Smith C. Computer simulation of marker assisted selection utilizing linkage disequilibrium // Theor. Appl. Genet. – 1992. – V. 83. – P. 813-820.

Zhang W., Smith C. Simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium: The effects of several additional factors // Theor. Appl. Genet. – 1993. – V. 86. – P. 492-496.

*Надійшла до редакції
02.11.2010 р.*

SELECTION USING MOLECULAR MARKERS IN PLANT BREEDING

N. E. Kozhukhova

*South Plant Biotechnology Center
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
(Odessa, Ukraine)*

The review informed about the status and prospects of implementation in traditional plant breeding so-called selection using markers – Marker-Assisted Breeding (MAB), or Marker-Assisted Selection (MAS). Principles of MAS, its advantages and disadvantages are demonstrated. The examples of molecular approaches using for varieties of wheat, rice, maize, millet, beans creating.

Key words: *DNA markers, selection by molecular markers, Marker-Assisted Breeding, Marker-Assisted Selection*

ОТБОР С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Н. Э. Кожухова

*Южный биотехнологический центр в растениеводстве
Национальной академии аграрных наук Украины
(Одесса, Украина)*

В обзоре представлена информация о состоянии и перспективах внедрения в традиционную селекцию растений так называемого отбора с помощью маркеров – Marker-Assisted Breeding (MAB) или Marker-Assisted Selection (MAS). Представлены принципы MAS, его преимущества и недостатки. Приведены примеры конкретного использования молекулярного подхода при создании сортов пшеницы, риса, кукурузы, проса, фасоли.

Ключевые слова: *ДНК-маркеры, отбор по молекулярными маркерами, Marker-Assisted Breeding, Marker-Assisted Selection*