

ОБЗОРЫ

УДК 577.11: 633.1: 631.524.85

doi: 10.30766/2072-9081.2018.64.3.04-12

Использование маркерной селекции в создании моделей сортов зерновых культур, устойчивых к абиотическим стрессам*

Е.М. Лисицын

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», г. Киров, Российская Федерация

В условиях постоянно изменяющихся требований производства и ухудшающейся экологической обстановки является необходимым постоянное обновление моделей сортов сельскохозяйственных культур. При создании моделей сорта требуется проведение генотипирования родительских растений (на первом этапе разработки модели) и наиболее подходящих растений из гибридных расщепляющихся популяций (на третьем этапе). MAS-селекция позволяет существенно сократить время и трудоемкость подобной работы по сравнению с традиционной технологией оценки генотипа по фенотипическому проявлению признака. В обзоре рассматриваются имеющиеся на сегодняшний день маркеры признаков, желательных для включения во вновь создаваемые сорта: морфологические, физиолого-биохимические (алюзиновые) и различные типы молекулярных (микросателлиты и локусы количественных признаков). Дана характеристика наиболее распространенных методов маркер-вспомогательного отбора, рассмотрены причины популярности MAS-селекции среди частных и государственных селекционных компаний, приведены примеры успешного использования молекулярных маркеров в работах по повышению уровня устойчивости зерновых культур к засухе, повышенной кислотности и содержанию ионов алюминия. Отдельно рассматриваются причины относительно слабого успеха в создании сортов, устойчивых к абиотическим стрессам по сравнению с селекцией на устойчивость к различным болезням. Особое внимание уделено генетической сложности контроля количественных признаков, влиянию факторов внешней среды на проявление сцепленности локусов количественных признаков и маркируемых ими генов. Делается вывод о высокой перспективности использования молекулярных маркеров в исследовательских проектах по разработке и созданию моделей сортов сельскохозяйственных культур, сочетающих высокую урожайность и качество продукции с устойчивостью к стрессовым абиотическим факторам среды.

Ключевые слова: популяция, локус количественного признака, беккроссинг, рекуррентный отбор, засуха, алюмоустойчивость, фенотипирование

В настоящее время практически каждый селекционер, независимо от места работы и изучаемой культуры, имеет свою собственную модель нового сорта, что демонстрирует насущную потребность в подробно разработанных селекционных программах, учитывающих факторы внешней среды, наиболее характерные для места выведения сорта или места его предполагаемого выращивания. Модель создаваемого сорта должна научно обосновывать морфо-физиологические параметры растения и составляющих его признаков, позволяющих наилучшим образом удовлетворять требования производства в данном конкретном месте выращивания [1, 2].

Разработка агроэкологических моделей сортов должна идти непрерывно [3], поскольку требования к возделываемой культуре постоянно меняются, конкретизируются генетические и физиологические основы онтогенеза растений. Кроме того, постоянно изменяются агроэкологические условия выращивания. Как отмечают [4], из 132,2 млн га пашни Российской Федерации 73

млн га закислено, 40 млн га засолено и осолонцовано, 26 млн га переувлажнено и заболочено. При этом разные типы снижения плодородия почвы могут присутствовать одновременно. Аналогичные изменения происходят и в остальном мире, где за счет отчуждения, загрязнения и деградации потери почвенных ресурсов происходят со скоростью 20 млн га/год [5].

При разработке модели сорта в традиционной селекции обычно выделяют три этапа [6]. На первом этапе проводится генетический и физиолого-экологический анализ исходного материала с учетом конкретных почвенно-климатических условий, для которых планируется выведение нового сорта, и составляется программа скрещиваний. На втором этапе при проведении скрещиваний ведутся генетические исследования, изучаются закономерности наследования признаков. И, наконец, на третьем этапе в гибридных потомствах осуществляется отбор растений, сочетающих запрооектированные признаки и свойства модельного генотипа.

*По материалам доклада на IV Международной научно-практической конференции «Методы и технологии в селекции растений и растениеводстве» (3-4 апреля 2018 г., ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, г. Киров)

Первый и третий этапы основываются на фенотипическом отборе лучших экземпляров в расщепляющихся популяциях гибридных линий. Простые признаки (содержание белка, жира или сахара, размер отдельных органов) достаточно легко определяются визуально или с помощью простейших измерительных приборов. Более сложные параметры (устойчивость к болезням или к абиотическим стрессорам) определить гораздо сложнее. Тем не менее, успешность применения традиционных подходов показывает, например, тот факт, что с 2007 по 2014 гг. в африканских странах было создано более 100 засухоустойчивых гибридов и сортов кукурузы в рамках программы «Drought Tolerant Maize for Africa» [7]. Но, несмотря на значительные успехи подобного подхода, этот процесс достаточно трудоемок и длителен, особенно учитывая фактор взаимодействия генотип x среда. В среднем время создания одного сорта зерновых культур занимает от 8 до 10 лет. Естественно, селекционеры и практики сельского хозяйства заинтересованы в том, чтобы это время значительно сократить, а эффективность самого процесса селекции – значительно повысить.

Идея применения маркеров в селекции растений появилась в 1923 году [8], когда было обнаружено, что один моноген, контролирующий окраску семян фасоли, сцеплен с одним или двумя полигенами, определяющими массу семян. В 1961 году [9] предпринял попытку картировать полигены, влияющие на морфологические признаки растений, с помощью моногенных маркеров; однако практическим ограничением этой работы было наличие всего нескольких пригодных маркеров. В начале 1980-х годов было предложено использовать аллозимные маркеры вместо морфологических [10, 11, 12]. Аллозимные маркеры основаны на полиморфизме белков, разделяются с помощью электрофореза и определяются по характерному окрашиванию. Преимуществом таких маркеров стали дешевизна, техническая простота и их кодоминантная природа. Но, как и в предыдущем случае, в распоряжении селекционеров было ограниченное число подходящих аллозимных локусов; кроме того, было необходимо использовать сырые ткани, отобранные на правильной стадии развития растений.

В конце двадцатого века были разработаны теоретические основы использования молекулярных маркеров, что с энтузиазмом

встретили практики сельскохозяйственной науки – ожидалось, что подобные подходы наконец-то позволят преодолеть ключевые лимиты традиционной селекции [13, 14]. Обнаружив маркеры, постоянно сцепленные, например, с устойчивостью к болезням, можно избежать необходимости тестирования каждого отдельного растения в гибридной популяции традиционными методами – достаточно оценить наличие маркера быстрым ДНК-тестом и сделать вывод о степени устойчивости каждого растения. Сама ДНК при этом не изменяется, никакие посторонние гены в геном растения не вносятся – используются только созданные заранее генетические карты растений. В целом, по сравнению с традиционной селекцией, повышается скорость и аккуратность оценки. Генетические методы, основанные на анализе ДНК, позволили идентифицировать огромное множество маркеров, распределенных по генетическому материалу хозяйственно полезных видов растений и использовать их для выявления ассоциации с желаемыми агрономическими характеристиками, что и положило начало так называемому «маркер-вспомогательному отбору» (marker assisted selection, MAS) [15]. Молекулярные маркеры могут быть использованы в широком спектре современных селекционных программ. В настоящее время выделяют четыре основные направления их использования [16].

Маркер-вспомогательный беккроссинг (Marker-assisted backcrossing, MABS) – простейшая форма MAS, наиболее широко и успешно применяемая на практике [17], используется для привнесения одного или нескольких генов/QTL из местных сортов или диких родственников в современные высокоурожайные сорта. Этот тип MAS применяют для улучшения существующих сортов по отдельным специфическим параметрам.

Маркер-вспомогательное пирамидирование генов (Marker-assisted gene pyramiding, MAGP) – стратегия, направленная на объединение в одном генотипе желаемых генов или QTL из разных родительских сортов. В основном используется для повышения устойчивости к болезням и стрессорам.

Маркер-вспомогательный рекуррентный отбор (Marker-assisted recurrent selection, MARS) – стратегия, с помощью которой желаемые гены или QTL могут быть перенесены в схему селекции из самых разных источников. Особенно эффективен этот подход в селекции на комплексные показатели

[18], поскольку позволяет использовать те гены или QTL, которые имеют только минимальное проявление в фенотипе.

Геномный отбор (Genomic selection, GS)

– один из современных подходов, позволяющих вести одновременный отбор на много (десятки, сотни и тысячи) маркеров, покрывающих весь геном [19].

Интерес к использованию ДНК-маркеров для скрининга и отбора растений в селекционной программе основывается на тех преимуществах, которые новая технология имеет перед традиционной селекцией [16, 20]:

- ДНК-маркеры основаны на генотипе, поэтому их можно получить из любой ткани растения уже на стадии проростков или даже семян;

- целевые аллели, которые трудно, дорого или долго оцениваются фенотипически, могут быть отобраны с помощью ДНК-маркеров;

- отбор может работать на уровне отдельного растения, а не популяции, как при традиционной селекции. Низкая наследуемость не представляет проблемы при использовании ДНК-маркеров;

- для признаков с комплексной наследуемостью (эпистазом) каждый индивидуальный генетический компонент, вносящий вклад в развитие признака, может быть отобран отдельно;

- рецессивные гены могут быть сохранены без необходимости анализа потомков, так как гомо- и гетерозиготные растения легко различаются. Таким образом, можно снизить количество примесей вокруг целевого гена;

- при выборе родителей для скрещивания ДНК-маркеры позволяют как максимизировать разнообразие, т.е. способствовать использованию гетерозиса, так и минимизировать его для сохранения комплекса генов в элитной инбредной популяции.

Поэтому не вызывает удивления тот факт, что в начале XXI века фирма Монсанто анонсировала, что более 35% ее программ по селекции будет основываться на MAS-селекции [21], а фирма Сингента декларировала, что будет использовать эту методику при создании более чем 120 новых сортов сельскохозяйственных культур для коммерческого использования ежегодно¹.

В то же время, оценивая достигнутый реальный прогресс селекции растений с использованием MAS за 15 лет, прошедшие с момента первого использования данного термина, [22] отмечали, что отсутствие дешевых и высоко-

производительных методик обработки крупных сегрегирующих популяций сильно ограничивает использование молекулярных маркеров в селекции растений, а их правильное место в селекции растений еще не найдено.

С тех пор прошло еще пятнадцать лет, но в научной литературе все еще имеется гораздо больше публикаций о детектировании/создании маркеров, чем публикаций, в которых бы анонсировали успешное использование MAS в селекции, а не только возможности их использования. Например, [23] проанализировал более чем 1200 работ, посвященных картированию QTL у основных сельскохозяйственных культур, и пришел к выводу, что подавляющая часть желаемых аллелей этих идентифицированных QTL осталась в журналах, а не в сортах, которые были бы улучшены при использовании этих QTL аллелей.

По многим причинам точное число сортов, полученных с использованием MAS, и масштабы их использования в сельском хозяйстве в настоящее время не известно. Обзор литературных источников подтверждает, что этот подход используется и частными компаниями, и в государственных селекционных программах. Так, к 2015 году было зарегистрировано 136 подобных сортов сельскохозяйственных культур [24], хотя анонсированные фирмой Сингента 120 сортов в год должны были дать к этому времени величину около 1 500 сортов. Подавляющая часть этих сортов была выведена с целью повышения уровня болезнеустойчивости – в этом отношении MAS-селекция действительно продемонстрировала высокую эффективность: повышена устойчивость к бактериальным пятнистостям риса и бобов, ржавчинам на пшенице, *Striga hermonthica* у сорго, к вирусу мозаики у кассавы [25] и т.д. Эффективность этого подхода была показана в работе [26], где авторы рассмотрели 83 публикации о применении маркеров в селекции растений за 1995-2011 гг. и нашли только несколько публикаций об успешном применении MAS в целях улучшения продуктивности (8 статей), показателей качества (6 статей) и устойчивости к абиотическим стрессорам (5 статей). Остальные работы были связаны с повышением болезнеустойчивости (64 статьи). Преобладание работ по применению MAS в селекции на болезнеустойчивость [27] объясняется монокотным характером их кодирования, тогда

¹Syngenta. Annual report 2004. [электронный ресурс] // URL: www.syngenta.com/global/corporate/SiteCollectionDocuments/pdf/reports/ar/syngenta-ar2004-en.pdf

как урожайность и показатели качества или устойчивость к абиотическим стрессорам чаще всего являются полигенными признаками.

Что касается устойчивости к абиотическим стрессорам, изначально казалось, что MAS-селекция и тут даст быстрые положительные результаты. Однако, несмотря на то, что в последние годы значительно возросло число маркеров для генов устойчивости к различным абиотическим факторам, только отдельные из них успешно применены в селекционных программах [28]. В основном эти работы касаются устойчивости к затоплению, засухе и высокому содержанию солей у вновь создаваемых сортов риса. Кроме того, можно отметить отдельные работы по повышению засухоустойчивости у кукурузы и сорго, солеустойчивости твердой пшеницы, алюмоустойчивости ячменя [29, 30, 31, 32].

Конечно, успешность применения MAS-селекции напрямую зависит от наличия генов или QTL, кодирующих устойчивость, но не обладающих специфичностью к определенным локальным средам и не сцепленных с нежелательными признаками [33]. Генетико-физиологическое регулирование, к примеру, засухоустойчивости сложно и многогранно. Стресс засухи запускает экспрессию множества генов, влияющих на метаболизм нескольких ключевых ферментов, факторов транскрипции, гормонов, аминокислот и углеводов. В их число входят такие молекулы, как абсцизовая кислота, пролин, триптофан, трегалоза, маннитол, супероксид-дисмутаза. Эти биомолекулы вовлечены в процессы избегания дегидратации или устойчивости к ней – осморегуляция, стабилизация мембран, антиоксидантная активность, гашение активных форм кислорода, регуляция генов и т.д. [34]. В то же время специфических ответных механизмов и функций у большинства этих биомолекул не выявлено.

Методами функциональной геномики и транскриптомики установлено множество генов, вносящих свой вклад в проявление интегрального признака. Некоторые из этих генов локализованы как QTL, проявляющие аддитивные и неаддитивные эффекты. Детальная информация о QTLs, связанных с засухоустойчивостью зерновых культур, есть на сайтах 'Gramene' (<http://www.gramene.org>), 'GrainGenes' (<http://wheat.pw.usda.gov/GG3/>) и 'Plant Stress' (www.plantstress.com/files/qtls_for_resistance.htm). Из-за полигенного наследования и генотип x средового взаимодействия наследование признака засухоустойчивости в

целом достаточно низкое. Кроме того, отсутствует стандартизированная техника фенотипирования.

Знание фенотипических показателей, вносящих вклад в повышение урожайности в стрессовых условиях, является основанием для понимания комплексных физиологических и генетических механизмов устойчивости к засухе. Среди важнейших целевых показателей: снижение высоты растений, что связано с высоким уборочным индексом; уменьшение продолжительности периода до цветения и спелости, что позволяет избежать продолжительного температурного стресса; архитектура корневых систем – распространение и длина корней, позволяющих эффективно получать влагу из почвы [35]. С засухоустойчивостью коррелируют уровни развития таких параметров листьев, как высокая устьичная проводимость и транспирация, что связано с получением воды из глубоких горизонтов почвы, низкой температурой полого листьев. Однако успех селекции будет связан с тем, сможет ли генотип интегрировать свои адаптивные механизмы, а не использовать только один из них.

Положительные стороны, связанные с возможностью применения QTL в разработке засухоустойчивых сортов [36], остаются пока не до конца использованными, поскольку большинство технических приемов работы с молекулярными маркерами приводят только к качественной оценке, показывающей присутствие какого-либо гена в исследуемом материале, без какой-либо дальнейшей информации – будет ли этот ген экспрессироваться или нет, каков будет уровень его экспрессии и влияния на развитие комплексного признака, есть ли другие гены, которые могут влиять на экспрессию данного гена и т.д.

На сегодняшний день существует несколько примеров создания засухоустойчивых сортов сельскохозяйственных культур с использованием MAS-селекции. В 2009 г. в Индии был создан сорт риса Birsa Vikas Dhan 111 путем интрогрессии четырех QTLs признаков корневых систем (на хромосоме 9 присутствуют маркеры RM242 – RM201, сцепленные с повышенной длиной корня в условиях засухи) из широко распространенного филиппинского сорта Azucena в индийский сорт Kalinga III [37]. В этой же стране созданы засухоустойчивые сорта риса MAS 946-1 (2007 г.) и MAS-26 (2008 г.), на 60% превышающие по урожайности традиционные [38]. Во Вьетнаме в Cuu Long Delta Rice Research Institute в ходе вы-

полнения MAS-проектов по пирамидированию QTLs в высокоурожайные сорта [39] выведены сорта OM6161, OM6162 (2010), Om7347 (2011). Засухоустойчивый сорт кукурузы Sirdamaize 113 был выведен в Зимбабве в 2009 г. [24].

Успехи в создании сортов сельскохозяйственных культур, устойчивых к другим типам абиотических стрессов, намного скромнее. Можно отметить работу сотрудников вьетнамского Cuu Long Delta Rice Research Institute, которые скрестили местный дикий рис, *Oryza rufipogon*, с сортом IR64. Разработав беккроссную программу с использованием молекулярных маркеров, ими был выведен кислотоустойчивый сорт AS996 (2004 г.), который сейчас широко возделывается во Вьетнаме. Далее из этого сорта вывели еще три кислотоустойчивых сорта – MNR 3, MNR 4 и OM6677 (2012 г.). Там же выведены и три солеустойчивых сорта риса – OM4900 (2009 г.), OM5629 и OM2009 (2012 г.) [24].

В работе [32] показаны результаты применения MAB-стратегии для интрогрессии гена *HvAACT1*, связанного с алюмоустойчивостью ячменя (*Hordeum vulgare* L.). С использованием микросателлитов (SSR), сцепленных с геном *HvAACT1*, и основанной на SSR карты сцеплений авторам удалось сократить время работы до 18 месяцев и создать гомозиготные (BC_3F_2) Al-устойчивые линии, содержащие 98,7% генома рекуррентного родителя. По результатам полевых опытов, при 12%-ном насыщении алюминием устойчивые линии превосходили изогенные линии по количеству зерен на 21%. Но до создания нового сорта дело пока не дошло. Немного позже авторы отметили полезность маркеров *ALMT1-4*, *WMC331* и *WMC457* для преобразования селекционной линии Kumpria INIA в Al-устойчивый сорт [40].

Сотрудничество фирм InterGrain и Syngenta в пре-бридинге генофонда ячменя с целью выделения генотипов, имеющих повышенную устойчивость к низкой почвенной pH и высокому содержанию алюминия, закончилось созданием в 2013 г. алюмоустойчивого сорта Litmus, который на кислых почвах Австралии имел урожайность на 42% выше, чем стандартный сорт Stirling [41].

Что же мешает успешному широкомасштабному применению молекулярных маркеров в работе по повышению устойчивости к абиотическим стрессорам? По мнению [16], можно выделить следующие факторы:

1. Технология получения и выделения ДНК-маркеров пока еще находится на ранней стадии своего развития. Большинство пригод-

ных для использования ПЦР-маркеров стали широко использоваться лишь в последние 7-10 лет, поэтому и заметных результатов пока мало.

2. К настоящему времени основные публикации по применению ДНК-маркеров касаются их выделения и генетической характеристики, а не использования в практической селекции; ученые часто не имеют мотивации для проверки того, насколько выявленные ими маркеры признаков могут быть использованы в практической работе.

3. Множество факторов оказывают действие на точность оценки локусов количественных признаков, что критично для успеха MAS – например, если размер картируемой популяции менее 200 растений, то точность определения QTL резко падает; ошибки в отборе образцов приводят к ошибкам в оценке эффекта QTL, особенно в популяциях небольшого размера.

4. Недостаточно сильная связь маркера и гена/QTL. Иногда наблюдается рекомбинация между геном и маркером, что приводит к потере сцепления между ними.

5. Ограниченный полиморфизм маркера в селекционном материале. Маркер должен показывать четкие различия между сортами, которые проявляют какой-либо признак и сортами, не проявляющими его. На практике ДНК-маркеры часто оказываются не диагностичными.

6. Эффект генетического фона. Отмечено, что часто QTL, идентифицированные в какой-либо картирующей популяции, оказываются неэффективными в других популяциях.

7. Взаимодействие QTL x среда. Часто оказывается, что широта и даже направление эффекта QTL значительно варьирует в разных экологических условиях. Особенно это характерно для QTL малых эффектов. Кроме того, в отличающихся экологических условиях для одного и того же признака могут проявляться разные локусы количественных признаков.

8. Высокая стоимость MAS. Стоимость MAS-селекции по сравнению с традиционной может значительно варьировать, что зависит от таких факторов, как наследуемость признака, метод фенотипической оценки, стоимость вегетационных, полевых тестов и их трудоемкость. Необходимы значительные предварительные затраты на оборудование, на его поддержание, использование авторских прав, лицензионная стоимость продукта. Выход здесь – в тесных контактах с большими лабораториями и ВУЗами.

9. Различия в научной подготовке молекулярных биологов и селекционеров. Технологии создания ДНК-маркеров, теория QTL

и статистическая методология QTL анализа развивается очень быстро. Концепции и жаргон молекулярных биологов часто непонятны селекционерам. И наоборот, фундаментальные концепции селекционеров не всегда понимаются молекулярными биологами, что в сумме резко снижает уровень интеграции исследований.

Тем не менее, большие потенциальные возможности метода маркерной селекции, активная разработка генетической картины кодирования устойчивости к стрессам, а самое главное – наличие уже созданных сортов, имеющих повышенную устойчивость к кислотности, засухе, затоплению, говорит о том, что в скором времени все большее число селекционных центров России будет использовать MAS-селекцию при проведении первого и третьего этапов разработки моделей сортов зерновых культур с повышенной устойчивостью к абиотическим факторам.

Список литературы

1. Кумаков В.А. Физиологическое обоснование моделей сортов пшеницы. М.: Агропромиздат, 1985. 270 с.
2. Гребенникова И.Г., Алейников А.Ф., Степочкин П.И. Построение модели сорта яровой тритикале на основе современных информационных технологий // Вычислительные технологии. 2016. Т. 21. С. 53-64.
3. Новоселов С.Н. Философия идеотипа сельскохозяйственных культур. I. Методология и методика [электронный ресурс] // Научный журнал КубГАУ, 2006. №24(8). Режим доступа <http://ej.kubagro.ru/2006/08/pdf/27.pdf> (дата обращения: 11.04.2018).
4. Иващенко В.Г., Павлюшин В.А. Интенсификация растениеводства и эколого-продукционный баланс агроэкосистем: снижение плодородия почв и фитосанитарная дестабилизация // Вестник защиты растений. 2017. № 3. С. 5-16.
5. Керженцев А. Почвенный кризис и пути его преодоления [электронный ресурс] // Regnum. Информационное агентство. 2018. URL: <https://regnum.ru/news/innovatio/2368395.html> (дата обращения: 11.04.2018).
6. Швидченко А.В., Савин Т.В., Тысленко А.М., Зуев Д.В., Соловьев О.Ю. Разработка предварительных параметров оптимальной модели сорта яровое тритикале для климатических условий сухой степи Северного Казахстана // Вестник Науки Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина. 2016. № 3(90). С. 94-102.
7. Gilbert N. Cross-bred crops get fit faster // Nature. 2014. no 513. 292 p. DOI:10.1038/513292a.
8. Sax K. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris* // Genetics. 1923. V. 8. P. 552-560.
9. Thoday J.M. Location of polygenes // Nature. 1961. no 191. P. 368-370. DOI:10.1038/191368a0.
10. Tanksley S.D., Medina-Filho H., Rick C.M. Use of naturally-occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato // Heredity. 1982. V. 49. P. 11-25. DOI: 10.1038/hdy.1982.61.
11. Brown A.H.D., Clegg M.T. Isozyme assessment of plant genetic resources // Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research. Volume 11: Medical and Other Applications [Eds. M.C. Rattazzi, J.C. Scandalios, G.S. Whitt], New York, 1983. P. 285-295.
12. Vallejos C.E. Enzyme activity staining // In: Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Tanksley S.D., Orton T.J. (eds.). Elsevier, Amsterdam. Volume 1, Part A, 1983. P. 469-516. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-42226-2.50031-1>.
13. Xu Y., Crouch J. H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice // Crop Science. 2008. V. 48 (2). P. 391-407. DOI: 10.2135/cropsci2007.04.0191.
14. Peleman J.D., van der Voort J.R. Breeding by design // Trends in Plant Science. 2003. V. 8. P. 330-334. DOI: 10.1016/S1360-1385(03)00134-1.
15. Ruane J., Sonnino A. Marker-assisted selection as a tool for genetic improvement of crops, livestock, forestry and fish in developing countries: an overview of the issues // In: E.P. Guimaraes et al. (Eds.): Marker-assisted selection - current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. Rome: FAO, 2007. pp. 3-13.
16. Melese L. Marker assisted selection in comparison to conventional plant breeding: review article // Agri Res. Tech: Open Access J. 2018. V 14(2): 555914. DOI: 10.19080/ARTOAJ.2018.14.555914.
17. Jiang G.L. Molecular markers and marker-assisted breeding in plants // In: Anderson S.B. (ed.), Plant breeding – From laboratories to fields. InTech, Croatia. 2013. P. 45-83. DOI: 10.5772/52583.
18. Xu Y., Lu Y., Xie C., Gao S., Wan J., Prasanna B.M. Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding // Molecular Breeding. 2012. V 29. P. 833-854. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9699-6>.
19. Heffner E.L., Lorenz A.J., Jannink J.L., Sorrells M.E. Plant breeding with genomic selection: gain per unit time and cost // Crop Science. 2010. V. 50. P. 1681-1690. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.11.0662>.
20. Roychowdhury R., Taoutaou A., Hakeem K.R., Gawwad M.R.A., Tah J. Molecular marker-assisted technologies for crop improvement // In: Roychowdhury R (ed.). Crop improvement in the era of climate change. International Publication House, 2014. P. 241-258. DOI: 10.13140/RG.2.1.2822.2560.
21. Edwards M. The pipeline of a new generation of foods // In: NABC Report 22 – Promoting health by linking agriculture, food, and nutrition. North American Agricultural Biotechnology Council (NABC). 2010. P. 57-69.
22. Gupta P.K., Roy J.K., Prasad M. Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants // Current Science. 2001. V. 80. P. 524-535.

23. Bernardo R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years // *Crop Science*. 2008. V. 48. P. 1649-1664. DOI: 10.2135/cropsci2008.03.0131.
24. Vogel B. Marker-Assisted Selection. A biotechnology for plant breeding without genetic engineering // *Smart breeding: the next generation*. Greenpeace International. Amsterdam, The Netherlands. 2014. P. 8-59.
25. Van Damme V., Gomez-Paniagua H., de Vicente M.C. The GCP molecular marker toolkit, an instrument for use in breeding food security crops // *Molecular Breeding*. 2011. V. 28. P. 597-610. DOI: 10.1007/s11032-010-9512-3.
26. Brumlop S., Finckh M.R. Applications and potentials of marker assisted selection (MAS) in plant breeding. Bundesamt für Naturschutz (BfN), Bonn, Germany, 2011. 178 p.
27. Miah G., Rafii M.Y., Ismail M.R., Puteh A.B., Rahim H.A., Asfaliza R., Latif M.A. Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches // *Molecular Biology Reports*. 2013. V. 40. P. 2369-2388. DOI: 10.1007/s11033-012-2318-0.
28. Fu Y.-B., Yang M.-H., Zeng F., Biligetu B. Searching for an accurate marker-based prediction of an individual quantitative trait in molecular plant breeding // *Front. Plant Sci*. 2017. V. 8. ID 1182. DOI: 10.3389/fpls.2017.01182.
29. Varshney R.K., Gaur P.M., Chamarthi S.K., Krishnamurthy L., Tripathi S., Kashiwagi J., Samineni S., Singh V.K., Thudi M., Jaganathan D. Fast-track introgression of "QTL-hotspot" for root traits and other drought tolerance trait in JG 11, an elite and leading variety of chickpea (*Cicer arietinum* L.) // *The Plant Genome*. 2013. V. 6. P. 1-9. DOI: 10.3835/plantgenome2013.07.0022.
30. Kahi N., Kiambi D., Mutitu E.W., Kimani W. Improving drought tolerance in *Sorghum bicolor* L. Moench: Marker-assisted transfer of the stay-green quantitative trait loci (QTL) from a characterized donor source into a local farmer variety // *International Journal of Scientific Research in Knowledge*. 2013. V. 1. P. 154-162. <http://dx.doi.org/10.12983/ijsrk-2013-p154-162>.
31. James R.A., Blake C., Zwart A.B., Hare R.A., Rathjen A.J., Munns R. Impact of ancestral wheat sodium exclusion genes *Nax1* and *Nax2* on grain yield of durum wheat on saline soils // *Functional Plant Biology*. 2012. V. 39. P. 609-618. <https://doi.org/10.1071/FP12121>.
32. Soto-Cerda B.J., Penaloza E.H., Montenegro A.B., Rupayan A.R., Gallardo M.H., Salvo-Garrido H. An efficient marker-assisted backcrossing strategy for enhancing barley (*Hordeum vulgare* L.) production under acidity and aluminium toxicity // *Molecular Breeding*. 2013. V. 31. P. 855-866. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9839-7>.
33. Ashraf M., Foolad M.R. Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection // *Plant Breeding*. 2013. V. 132. P. 10-20. <https://doi.org/10.1111/pbr.12000>.
34. Kang J.S., Singh H., Singh G., Kang H., Kalra V.P., Kaur J. Abiotic stress and its amelioration in cereals and pulses: a review // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 2017. V. 6(3). P. 1019-1045. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.120>.
35. Ahmad M., Zaffar G., Razvi S.M., Dar Z.A., Mir S.D., Bukhari S.A., Habib M. Resilience of cereal crops to abiotic stress: a review // *African J Biotechnology*. 2014. V. 13(29). P. 2908-2921. DOI: 10.5897/AJBX2013.13532.
36. Nogoy F.M., Song J.-Y., Ouk S., Rahimi S., Kwon S.W., Kang K.-K., Cho Y.-G. Current applicable DNA markers for marker assisted breeding an abiotic and biotic stress tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) // *Plant Breed. Biotech*. 2016. V. 4(3). P. 271-284. <http://dx.doi.org/10.9787/PBB.2016.4.3.271>.
37. Steele K.A., Price A.H., Witcombe J.R., Shrestha R., Singh B.N., Gibbons J.M., Virk D.S. QTLs associated with root traits increase yield in upland rice when transferred through marker-assisted selection // *Theoretical and Applied Genetics*. 2013. V. 126. P. 101-108. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1963-y>.
38. Pray C., Nagarajan L., Li L., Huang J., Hu R., Selvaraj K.N., Napasintuwong O., Babu R.C. Potential impact of biotechnology on adaption of agriculture to climate change: the case of drought tolerant rice breeding in Asia // *Sustainability*. 2011. V. 3. P. 1723-1741. DOI: 10.3390/su3101723.
39. Dixit S., Singh A., Cruz M.T.S., Maturan P.T., Amante M., Kumar A. Multiple major QTL lead to stable yield performance of rice cultivars across varying drought intensities // *BMC Genetics*. 2014. V. 15. P. 16. DOI: 10.1186/1471-2156-15-16.
40. Soto-Cerda B.J., Inostroza-Blancheteau C., Mathias M., Penaloza E., Zuniga J., Munoz G., Rengel Z., Salvo-Garrido H. Marker-assisted breeding for *TaALMT1*, a major gene conferring aluminium tolerance to wheat // *Biologia plantarum*. 2015. V. 59(1). P. 83-91. DOI: 10.1007/s10535-014-0474-x.
41. Li C. International research review: using mutation technology to improve crops // *Australian Grain*. 2008. V. 18(4). P. 36-37.

Сведения об авторе:

Лисицын Евгений Михайлович, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник, зав. отделом,
e-mail: edaphic@mail.ru
ORCID ID 0000-0002-3125-3604

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ул. Ленина,
д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru

Use of marker-assisted selection in creation of models of cereal crops varieties resisted to abiotic stresses**E.M. Lisitsyn***Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Kirov, Russian Federation*

Under the conditions of constantly changing industry demands and worsening of ecological situation, models of agricultural crops varieties must be regularly modernized. While creating a varietal model it is necessary to do the genotyping of parental plants (at the first stage of model design) and most suitable plants from hybrid segregating populations (at the third stage). MAS-breeding allows to reduce significantly time and labor cost of this work as compared to the traditional technology of genotype evaluation by phenotypic display of a trait. Different markers of trait existing today desired to be introduced into newly created varieties are considered in the review: morphological markers, physiological-biochemical (allozyme) markers and different types of molecular markers (microsatellites and quantitative trait loci). The characteristics is given to the most widespread methods of marker-assisted selection; reasons of MAS-breeding popularity within private and public breeding companies are considered; examples of successful use of molecular markers in programs on increasing the resistance of cereal crops to drought, heightened acidity and content of aluminum ions are presented. Reasons of relatively low success in creation of varieties resistant to abiotic stresses as compared to breeding for disease resistance are observed separately. Special attention is paid to genetic complexity in control of quantitative traits; to the influence of environmental factors on display of link between quantitative trait loci and genes marked by them. Conclusion is made on high perspective in use of molecular markers in investigation projects on development and creation of varietal models of agricultural crops which combine high productivity and product quality with resistance to stress abiotic environmental factors.

Key words: *population, quantitative trait locus, backcrossing, recurrent selection, drought, aluminum-resistance, phenotyping*

References

1. Kumakov V.A. *Fiziologicheskoe obosnovanie modeley sortov pshenitsy*. [Physiological substantiation of wheat varieties models]. Moscow: Agropromizdat, 1985. 270 p.
2. Grebennikova I.G., Aleynikov A.F., Stepankin P.I. *Postroenie modeli sorta yarovoy tritikale na osnove sovremennykh informatsionnykh tekhnologiy*. [Creation of spring triticale variety model on the basis of modern informational technologies]. *Vychislitel'nye tekhnologii*. 2016. Vol. 21. pp. 53-64.
3. Novoselov S.N. *Filosofiya ideotipa sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. I. Metodologiya i metodika*. [Philosophy of ideotype of agricultural crops. I. Methodology and methods]. *Nauchnyy zhurnal KubGAU*, 2006. no.24(8). Available at: <http://ej.kubagro.ru/2006/08/pdf/27.pdf> (accessed: 11.04.2018).
4. Ivashchenko V.G., Pavlyushin V.A. *Intensifikatsiya rastenievodstva i ekologo-produktsionnyy balans agroekosistem: snizhenie plodorodiya pochvy i fitosanitarnaya destabilizatsiya*. [Intensification of plant industry and ecological-production balance in agroecosystems: reduction in soil fertility and phytosanitary destabilization]. *Vestnik zashchity rasteniy*. 2017. no. 3. pp. 5-16.
5. Kerzhentsev A. *Pochvennyy krizis i puti ego preodoleniya*. [Soil crisis and the ways to overcome it]. *Regnum. Informatsionnoe agentstvo*. 2018. Available at: <https://regnum.ru/news/innovatio/2368395.html> (accessed: 11.04.2018)
6. Shvidcheno A.V., Savin T.V., Tyslenko A.M., Zuev D.V., Solov'ev O.Yu. *Razrabotka predvaritel'nykh parametrov optimal'noy modeli sorta yarovoe tritikale dlya klimaticheskikh usloviy sukhoy stepi Severnogo Kazakhstana*. [Development of preliminary parameters of spring triticale optimal variety model for climatic conditions of dry steppe in Northern Kazakhstan]. *Vestnik Nauki Kazakhskogo agrotekhnicheskogo universiteta imeni S. Seyfullina*. 2016. no. 3(90). pp. 94-102.
7. Gilbert N. Cross-bred crops get fit faster. *Nature*. 2014. no 513. pp. 292. DOI:10.1038/513292a.
8. Sax K. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics*. 1923. Vol. 8. pp. 552-560.
9. Thoday J.M. Location of polygenes. *Nature*. 1961. no 191. pp. 368-370. DOI:10.1038/191368a0.
10. Tanksley S.D., Medina-Filho H., Rick C.M. Use of naturally-occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity*. 1982. Vol. 49. pp. 11-25. DOI:10.1038/hdy.1982.61.
11. Brown A.H.D., Clegg M.T. Isozyme assessment of plant genetic resources. *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*. Volume 11: Medical and Other Applications [Eds. M.C. Rattazzi, J.C. Scandalios, G.S. Whitt]. New York, 1983. pp. 285-295.
12. Vallejos C.E. Enzyme activity staining // In: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*. Tanksley S.D., Orton T.J. (eds.). Elsevier, Amsterdam. Volume 1, Part A, 1983. pp. 469-516. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-42226-2.50031-1>.
13. Xu Y., Crouch J.H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Science*. 2008. Vol. 48 (2). pp. 391-407. DOI: 10.2135/cropsci2007.04.0191.
14. Peleman J.D., van der Voort J.R. Breeding by design. *Trends in Plant Science*. 2003. Vol. 8. pp. 330-334. DOI: 10.1016/S1360-1385(03)00134-1.
15. Ruane J., Sonnino A. Marker-assisted selection as a tool for genetic improvement of crops, livestock, forestry and fish in developing countries: an overview of the issues. In: E.P. Guimaraes et al. (Eds.): *Marker-assisted selection - current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*. Rome: FAO, 2007. pp. 3-13.
16. Melese L. Marker assisted selection in comparison to conventional plant breeding: review article. *Agri Res. Tech: Open Access J*. 2018. Vol. 14(2): 555914. DOI: 10.19080/ARTOAJ.2018.14.555914.
17. Jiang G.L. Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. In: Anderson S.B. (ed.), *Plant breeding – From laboratories to fields*. InTech, Croatia. 2013. pp. 45-83. DOI: 10.5772/52583.
18. Xu Y., Lu Y., Xie C., Gao S., Wan J., Prasanna B.M. Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding. *Molecular Breeding*. 2012. Vol. 29. pp. 833-854. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9699-6>.

19. Heffner E.L., Lorenz A.J., Jannink J.L., Sorrells M.E. Plant breeding with genomic selection: gain per unit time and cost. *Crop Science*. 2010. Vol. 50. pp. 1681–1690. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.11.0662>.
20. Roychowdhury R., Taoutaou A., Hakeem K.R., Gawwad M.R.A., Tah J. Molecular marker-assisted technologies for crop improvement. In: Roychowdhury R (ed.). *Crop improvement in the era of climate change*. International Publication House, 2014. pp. 241-258. DOI: 10.13140/RG.2.1.2822.2560.
21. Edwards M. The pipeline of a new generation of foods. In: NABC Report 22 – Promoting health by linking agriculture, food, and nutrition. North American Agricultural Biotechnology Council (NABC). 2010. pp. 57-69.
22. Gupta P.K., Roy J.K., Prasad M. Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. *Current Science*. 2001. Vol. 80. pp. 524-535.
23. Bernardo R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years. *Crop Science*. 2008. Vol. 48. pp. 1649-1664. DOI: 10.2135/cropsci2008.03.0131.
24. Vogel B. Marker-Assisted Selection. A biotechnology for plant breeding without genetic engineering. Smart breeding: the next generation. Greenpeace International. Amsterdam, The Netherlands. 2014. pp. 8-59.
25. Van Damme V., Gomez-Paniagua H., de Vicente M.C. The GCP molecular marker toolkit, an instrument for use in breeding food security crops. *Molecular Breeding*. 2011. Vol. 28. pp. 597-610. DOI: 10.1007/s11032-010-9512-3.
26. Brumlop S., Finckh M.R. Applications and potentials of marker assisted selection (MAS) in plant breeding. Bundesamt für Naturschutz (BfN), Bonn, Germany, 2011. 178 p.
27. Miah G., Rafii M.Y., Ismail M.R., Puteh A.B., Rahim H.A., Asfaliza R., Latif M.A. Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches. *Molecular Biology Reports*. 2013. Vol. 40. pp. 2369-2388. DOI: 10.1007/s11033-012-2318-0.
28. Fu Y.-B., Yang M.-H., Zeng F., Biligetu B. Searching for an accurate marker-based prediction of an individual quantitative trait in molecular plant breeding. *Front. Plant Sci*. 2017. Vol. 8. ID 1182. doi: 10.3389/fpls.2017.01182.
29. Varshney R.K., Gaur P.M., Chamarthi S.K., Krishnamurthy L., Tripathi S., Kashiwagi J., Samineni S., Singh V.K., Thudi M., Jaganathan D. Fast-track introgression of “QTL-hotspot” for root traits and other drought tolerance trait in JG 11, an elite and leading variety of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *The Plant Genome*. 2013. Vol. 6. pp. 1-9. DOI: 10.3835/plantgenome2013.07.0022.
30. Kahi N., Kiambi D., Mutitu E.W., Kimani W. Improving drought tolerance in *Sorghum bicolor* L. Moench: Marker-assisted transfer of the stay-green quantitative trait loci (QTL) from a characterized donor source into a local farmer variety. *International Journal of Scientific Research in Knowledge*. 2013. Vol. 1. pp. 154-162. Available at: <http://dx.doi.org/10.12983/ijrsk-2013-p154-162>.
31. James R.A., Blake C., Zwart A.B., Hare R.A., Rathjen A.J., Munns R. Impact of ancestral wheat sodium exclusion genes *Nax1* and *Nax2* on grain yield of durum wheat on saline soils. *Functional Plant Biology*. 2012. Vol. 39. pp. 609-618. Available at: <https://doi.org/10.1071/FP12121>.
32. Soto-Cerda B.J., Penaloza E.H., Montenegro A.B., Rupayan A.R., Gallardo M.H., Salvo-Garrido H. An efficient marker-assisted backcrossing strategy for enhancing barley (*Hordeum vulgare* L.) production under acidity and aluminium toxicity. *Molecular Breeding*. 2013. Vol. 31. pp. 855-866. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9839-7>.
33. Ashraf M., Foolad M.R. Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. *Plant Breeding*. 2013. Vol. 132. pp. 10-20. Available at: <https://doi.org/10.1111/pbr.12000>.
34. Kang J.S., Singh H., Singh G., Kang H., Kalra V.P., Kaur J. Abiotic stress and its amelioration in cereals and pulses: a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 2017. Vol. 6(3). pp. 1019-1045. Available at: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.120>.
35. Ahmad M., Zaffar G., Razvi S.M., Dar Z.A., Mir S.D., Bukhari S.A., Habib M. Resilience of cereal crops to abiotic stress: a review. *African J Biotechnology*. 2014. Vol. 13(29). pp. 2908-2921. DOI: 10.5897/AJBX2013.13532.
36. Nogoy F.M., Song J.-Y., Ouk S., Rahimi S., Kwon S.W., Kang K.-K., Cho Y.-G. Current applicable DNA markers for marker assisted breeding an abiotic and biotic stress tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed. Biotech*. 2016. Vol. 4(3). pp. 271-284. Available at: <http://dx.doi.org/10.9787/PBB.2016.4.3.271>.
37. Steele K.A., Price A.H., Witcombe J.R., Shrestha R., Singh B.N., Gibbons J.M., Virk D.S. QTLs associated with root traits increase yield in upland rice when transferred through marker-assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics*. 2013. Vol. 126. pp. 101-108. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1963-y>.
38. Pray C., Nagarajan L., Li L., Huang J., Hu R., Selvaraj K.N., Napasintuwong O., Babu R.C. Potential impact of biotechnology on adaption of agriculture to climate change: the case of drought tolerant rice breeding in Asia. *Sustainability*. 2011. Vol. 3. pp. 1723-1741. DOI: 10.3390/su3101723.
39. Dixit S., Singh A., Cruz M.T.S., Maturan P.T., Amante M., Kumar A. Multiple major QTL lead to stable yield performance of rice cultivars across varying drought intensities. *BMC Genetics*. 2014. Vol. 15. pp. 16. DOI: 10.1186/1471-2156-15-16.
40. Soto-Cerda B.J., Inostroza-Blancheteau C., Mathias M., Penaloza E., Zuniga J., Munoz G., Rengel Z., Salvo-Garrido H. Marker-assisted breeding for *TaALMT1*, a major gene conferring aluminium tolerance to wheat. *Biologia plantarum*. 2015. Vol. 59(1). pp. 83-91. DOI: 10.1007/s10535-014-0474-x.
41. Li C. International research review: using mutation technology to improve crops. *Australian Grain*. 2008. Vol. 18(4). pp. 36-37.

Information about the authors:

E.M. Lisitsyn, DSc in Biology, senior researcher, leading researcher, Head of the Department, e-mail: edaphic@mail.ru
ORCID ID 0000-0002-3125-3604

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru