

УДК 577.11 : 633.11

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ, ИНТРОГРЕССИИ И ПИРАМИДИРОВАНИЯ ГЕНОВ

© 2013 г. **И.Н. Леонова**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: leonova@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 8 апреля 2013 г. Принята к публикации 7 мая 2013 г.

За последние десятилетия накоплен большой теоретический и практический опыт использования ДНК-маркеров для изучения генетического разнообразия, построения молекулярно-генетических карт, картирования генов и локусов количественных признаков и применения технологий молекулярного маркирования для создания коммерческих сортов и селекционных линий зерновых культур. На сегодняшний день молекулярные маркеры используются в основном для генотипирования растительного материала, интрогрессии и пирамидирования геномных районов, содержащих локусы хозяйственно важных признаков, контролируемых главными генами. Вклад новых технологий в селекцию признаков с мультигенным наследованием пока остается небольшим. Несмотря на значительный прогресс методов молекулярной генетики и геномики растений и интерес к этим методам со стороны специалистов-практиков, имеется большое число лимитирующих факторов, влияющих на внедрение новых технологий в практическую селекцию. В данной статье рассматриваются возможные области применения ДНК-маркеров в селекции зерновых культур и преимущества и ограничения практического использования молекулярных методов в сравнении с методами фенотипической селекции.

Ключевые слова: молекулярные маркеры, маркер-вспомогательная селекция, валидация.

ВВЕДЕНИЕ

Зерновые культуры, в число которых входят пшеница, ячмень, кукуруза, рис, по продуктивному и кормовым качествам относятся к наиболее ценным сельскохозяйственным культурам и являются основным продуктом питания во многих регионах мира. В настоящее время стало очевидно, что рост населения земного шара значительно опережает производство зерна, и по прогнозам Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН к 2050 г. производство сельскохозяйственной продукции в мировом масштабе должно быть увеличено не менее чем на 70 % (Tester, Langridge, 2010; Pardey, 2011; <http://faostat.fao.org>). Возрастающие потребности в зерне, включая потребности в сырье для производства биотоп-

лива, можно удовлетворить за счет повышения урожайности, интенсивности земледелия и внедрения новых технологий. Сокращение генетического разнообразия современных сортов, снижение иммунитета к болезням и насекомым, загрязнение окружающей среды в связи с применением пестицидов, а также ухудшение качества и деградация земельных ресурсов – все эти факторы приводят к тому, что урожайность зерновых культур увеличивается более медленными темпами, чем рост населения. Внедрение в селекционные программы современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров, может способствовать решению этих проблем. Одним из таких подходов, получившим развитие в последнее десятилетие, является маркер-вспомогательная селекция (MAS,

marker-assisted selection), которая используется в селекционных программах экономически развитых стран в качестве методического приема для интенсификации селекционных процессов (Varshney *et al.*, 2005; Collard, Mackill, 2008). Большое число генов и локусов, контролирующих устойчивость различных видов злаков к биотическим и абиотическим стрессам, признаки урожайности и качества зерна, было идентифицировано и картировано с помощью ДНК-маркеров (Somers, 2004; Landjeva *et al.*, 2007). Ряд селекционных схем, в которых были использованы маркеры, получил теоретическое и практическое обоснование (Frisch *et al.*, 1999; Kuchel *et al.*, 2007; Herzog, Frisch, 2011). Однако, несмотря на огромный потенциал MAS как методического приема, используемого для «непрямой» селекции хозяйственно важных признаков, внедрение новых технологий в практику идет медленными темпами. В данной статье рассматриваются современное состояние проблемы применения ДНК-маркеров в селекции и факторы, лимитирующие их практическое использование для создания коммерческих сортов и селекционных линий.

ДНК-МАРКЕРЫ И «МАРКЕР-ВСПОМОГАТЕЛЬНАЯ СЕЛЕКЦИЯ»

Молекулярные маркеры с момента их разработки в 1980-х гг. определили бурное развитие молекулярной генетики и селекции растений. К молекулярным маркерам принято относить ДНК-маркеры, хотя широко востребованные ранее изоферменты и другие маркерные системы, основанные на полиморфизме белков, также считаются молекулярными маркерами. Подробную информацию о классификации и описании различных классов ДНК-маркеров, преимуществах и недостатках их использования для анализа генома растений можно найти в обзорных статьях (Somers, 2004; Mohler, Schwarz, 2005; Varshney *et al.*, 2007; Хлесткина, 2011). В настоящее время с помощью молекулярных маркеров решается большое число задач функциональной и структурной генетики и геномики растений, часть из которых нашли свое применение в практических областях.

Применение молекулярных маркеров в практической селекции обозначается терми-

ном MAS (marker-assisted selection), который в русскоязычной литературе имеет несколько вариантов перевода, таких, например, как «маркер-вспомогательная селекция», «молекулярная селекция» либо «селекция с использованием молекулярных маркеров». Основной принцип MAS заключается в идентификации тесного сцепления между маркером и геном, контролирующим признак, и использовании ассоциаций маркер–признак в практических целях для создания новых сортов и селекционных линий. После того как ассоциации маркер–признак установлены, создание новых генотипов может идти с привлечением традиционных методов селекции (скрещивание, беккроссирование, самоопыление и отбор).

MAS как методический подход используется в селекции для решения следующих задач:

I. Оценка чистоты/идентичности сортового материала и оценка генетического разнообразия современных сортов. Для этой цели обычно используют набор маркеров, выявляющих в геноме наибольшее число аллелей (Huang *et al.*, 2002). Например, австралийская компания CSIRO Plant Industry использует различные ID наборы молекулярных маркеров, пригодные для идентификации сортов пшеницы и ячменя (<http://www.csiro.au>).

II. Хромосомная локализация и картирование генов и локусов количественных признаков (QTL) и выявление маркеров, тесно сцепленных с признаками. Наличие молекулярно-генетических карт хромосом различных видов злаков, насыщенных маркерами различного типа, облегчает поиск ассоциаций «ген-маркер» для конкретной картирующей популяции (Sourdille *et al.*, 2004; Salina *et al.*, 2006; Ganal, Röder, 2007; Marone *et al.*, 2012). Большой объем информации о хромосомной локализации генов и QTLs, контролирующих морфологические, адаптивные признаки, устойчивость к различным видам стрессов, опубликованы в Каталоге генных символов и интернет-сайтах баз данных (McIntosh *et al.* 2010, 2011, 2012; <http://wheat.pw.usda.gov/>; <http://www.maizegdb.org/>; <http://www.gramene.org/>; <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>; <http://www.ars.usda.gov/>).

III. Контроль различных типов скрещивания. Используется во всех ныне существующих схемах MAS (в сочетании с фенотипической

селекцией) для выявления родительских форм, обладающих лучшими характеристиками. С помощью маркеров можно получить информацию о протяженности фрагмента, содержащего «целевой» locus; числе генов, контролирующих признак; содержании генома рекуррентного родителя. Молекулярные маркеры эффективны для анализа потомства при сложных скрещиваниях, когда используются несколько родительских форм, например 3W (tree way crossing) или 4W (four way crossing), либо контроля процессов инбридинга и получения двойных гаплоидов (Xu, 2003; Collard, Mackill, 2008; Basu *et al.*, 2011).

IV. Интрогрессия генов/QTLs в различных схемах MAS. В сравнении с методами традиционной селекции позволяет уменьшить число этапов (например, беккроссов), необходимых для интрогрессии локуса, сократить размер выборки и контролировать длину чужеродного фрагмента (Herzog, Frisch, 2011; Timonova *et al.*, 2013).

V. Пирамидирование генов. Пирамидированием называется процесс объединения в одном генотипе нескольких генов, контролирующих один и тот же признак. Использование маркеров для пирамидирования генов является одним из важных преимуществ MAS по сравнению с методами традиционной селекции. Например, для признаков устойчивости к грибным патогенам достаточно сложно на основании фенотипических данных идентифицировать растения, имеющие более одного гена устойчивости. Применение маркеров позволяет выявлять генотипы, содержащие комбинации генов, на более ранних стадиях, например в популяциях F₂ (Sivasamy *et al.*, 2009; Беспалова и др., 2012).

VI. Селекция признаков с количественным наследованием. Использование молекулярных маркеров в сочетании со статистическими компьютерными программами для картирования QTLs позволяет локализовать «минорные» локусы, которые трудно выявляются методами фенотипической селекции вследствие эпистатических взаимодействий или влияния окружающей среды (Narain, 2010; Xu *et al.*, 2012). Так, экспрессия большинства генов устойчивости зависит от окружающей среды (состав инокулюма, температурные условия, влажность). То же относится к более сложным признакам, определяющим урожайность и качество зерна.

В сочетании с методами классической селекции MAS существенно сокращает время, необходимое для создания новых генотипов. В качестве примера можно привести данные Kuchel с соавт. (2008), которые использовали стратегию MAS для интрогрессии признака устойчивости к ржавчине в элитный сорт мягкой пшеницы Stylet. Для создания устойчивого сорта понадобилось 5 лет, что оказалось на 7 лет меньше, чем при получении сорта с помощью традиционных методов селекции. Кроме сокращения времени, MAS имеет ряд дополнительных преимуществ по сравнению с фенотипической селекцией.

1. Анализ ДНК-маркерами можно проводить в лабораторных условиях на любой стадии развития (от семян до взрослого растения). Отсутствует необходимость проведения фенотипической оценки в полевых условиях в определенное время года, в определенном регионе. Существенное снижение материальных затрат из-за сокращения числа анализируемых образцов (анализ может быть проведен на нескольких растениях). В случае создания устойчивых сортов нет необходимости иметь и постоянно поддерживать расы патогенов и тестерные линии с генами резистентности.

2. «Непрямая» селекция (i) признаков, которые трудно фенотипируются, либо стоимость фенотипического анализа высока; (ii) признаков, на проявление которых существенно влияет окружающая среда; (iii) признаков с мультигенным контролем. Например, для генов устойчивости к патогенам могут существовать ограничения по карантину либо отсутствует набор рас патогена для проведения фенотипической оценки. В некоторых случаях фенотипическая оценка может приводить к гибели растений.

3. Контроль интрогрессии генетического материала донора и протяженности фрагмента донорского генома, выявление и поддержание в популяции рецессивных аллелей генов.

СЕЛЕКЦИОННЫЕ СТАДИИ, В КОТОРЫХ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ MAS

В селекционных программах с привлечением технологий MAS наиболее оптимальными являются три стадии, когда наиболее выгодно использовать ДНК-маркеры. Это селекция «целевого»

локуса», или «foreground selection», рекомбинантная селекция и анализ генома рекуррентного родителя, или «background selection» (Collard, Mackill, 2008). На первом этапе у линии-донора признака определяют хромосомную локализацию фрагмента, содержащего «целевой» локус (рис. 1). Это особенно важно для признаков, которые сложно фенотипируются, либо для признаков с рецессивным наследованием, которые в классических схемах проходят несколько этапов самоопыления потомства. Стадия рекомбинантной селекции включает оценку рекомбинационных событий вокруг фрагмента донорского генома и выявление фланкирующих маркеров, сцепленных с локусом. Целью данного этапа также является редукция протяженности фрагмента, содержащего «целевой» локус. На 3-й стадии определяют содержание генома рекуррентного родителя с использованием маркеров, локализованных по всему

геному и несцепленных с донорским фрагментом. Эти три стадии в том или ином сочетании используются в беккроссных селекционных программах для интрогрессии и пирамидирования генов. Беккроссирование является одним из основных методических приемов, который широко применяется в классической селекции с начала прошлого века для интрогрессии одного или нескольких генов. Однако использование ДНК-маркеров, как уже было упомянуто выше, в беккроссных программах в сочетании с фенотипической селекцией значительно ускоряет получение селекционного материала. Известно, что для интрогрессии одного доминантного гена необходимо провести минимум 6 беккроссов, чтобы в итоге содержание генома рекуррентного родителя составило 99 % (Frisch, Melchinger, 2005). При этом считается, что уже после первого беккросса содержание генома рекуррентного родителя составляет в среднем 75 %. На практи-



Рис. 1. Схематическое изображение этапов, необходимых для разработки и валидации молекулярных маркеров.

ке же получается, что только небольшое число потомков имеет такой показатель и выявить эти генотипы на ранних стадиях можно только ДНК-маркерами (Salina *et al.*, 2003; Randhawa *et al.*, 2009). Теоретически и экспериментально доказано, что даже после большого числа беккроссов (> 10) процент содержания в потомстве генома рекуррентного родителя может не превышать 90 % (Hospital, 2002). Использование полиморфных маркеров позволяет сократить число необходимых беккроссов до 2–4 и уменьшить величину генетического материала, переносимого вместе с «целевым» локусом (Falke *et al.*, 2009; Timonova *et al.*, 2013).

В ряде работ проведено компьютерное моделирование с последующим практическим подтверждением различных стратегий MAS, учитывающее число интрогрессированных генов, их доминантное или рецессивное состояние (Frisch *et al.*, 1999; Kuchel *et al.*, 2007; Prigge *et al.*, 2009; Herzog, Frisch, 2011). Эти работы фокусируются в основном на оптимизации дизайна стратегий, включающих число беккроссов, оптимальный размер анализируемой популяции и число используемых в анализе маркеров. В последние годы беккроссные стратегии MAS используются для создания библиотек изогенных и интрогрессивных линий и интрогрессии признаков с мультигенным контролем (Falke *et al.*, 2009; Falke, Frisch, 2011; Timonova *et al.*, 2013). Примеры успешного использования MAS для интрогрессии, пирамидирования генов и создания библиотек изогенных линий злаков приведены в табл. 1.

ВАЛИДАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ИХ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Прежде чем молекулярный маркер будет использован в практических целях для детекции признака, он должен пройти путь от выявления ассоциаций маркер–признак до валидации (рис. 1). Валидация означает тестирование способности ДНК-маркеров предсказывать фенотип на широком наборе сортов, изогенных линий, популяций, в различном генетическом окружении и в различных условиях окружающей среды. По данным Y. Xu (2003),

несколько ключевых компонентов необходимы для результативного использования маркеров в программах MAS, а именно надежные генетические маркеры, насыщенные молекулярные карты и наличие установленных ассоциаций «маркер–признак».

В целом идеальный маркер должен обладать определенными характеристиками, чтобы его можно было использовать для «непрямой» селекции генов/QTLs:

- широкий полиморфизм, распространенность по всему геному, нейтральность по отношению к условиям окружающей среды;
- кодоминантное наследование (способность выявлять генотипы в гомо- и гетерозиготном состоянии);
- доступность маркера, его невысокая стоимость, простота, надежность и воспроизводимость метода и промежуток времени, необходимый для проведения анализа.

К идеальным маркерам можно отнести так называемые функциональные маркеры, разработанные на основании нуклеотидных последовательностей гена, которые позволяют не только выявлять наличие данной последовательности в генотипе, но и различать его аллельные варианты (Varshney *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2012). Диагностическая ценность остальных классов ДНК-маркеров, разработанных из генетически нейтральных участков генома, зависит от ряда факторов, поэтому только часть маркеров, разработанных для диагностики генов в конкретных картирующих популяциях, широко применяется в практической селекции. Это убедительно продемонстрировано экспериментами, проведенными на базе нескольких научных лабораторий Западной Европы, по оценке диагностической ценности маркеров, сцепленных с эффективными генами устойчивости к бурой ржавчине (Chelkowski *et al.*, 2003; Blaszczyk *et al.*, 2004, 2008; Vida *et al.*, 2009). Данные, полученные с использованием изогенных линий и сортов пшеницы, содержащих различные *Lr* гены устойчивости к бурой ржавчине, показали, что некоторые маркеры не подходят для скрининга популяций в селекционных программах (табл. 2).

Методы выявления ассоциаций «маркер–признак» основаны на построении молекулярно-генетических карт для картирующих (расщеп-

Таблица 1

Примеры использования ДНК-маркеров в схемах MAS для создания селекционных линий

Признак, вид растения	Ген/QTL	Тип маркера	Конечный результат/стадии применения ДНК-маркеров	Литературный источник
Бактериальный ожог, рис	<i>xa5, xa13</i> и <i>Xa21</i>	STS	Пирамидирование трех генов <i>Xa</i> в коммерческом сорте риса/ BC ₁₋₂ F ₁₋₂	Singh <i>et al.</i> , 2001
Урожайность, ячмень	QTLs на хромосомах 2HL и 3HL ячменя	RFLP	Интрогрессия двух QTLs/BC ₁₋₂ F ₁	Schmierer <i>et al.</i> , 2004
Бурая и желтая ржавчины, гены карликовости, гютенины, пшеница	<i>Lr34/Yr18, Lr46/Yr29, Lr24/Sr24, Rht, Glu-D1, Glu-A3</i>	SSR, RFLP	Практическая отработка стратегии MAS для получения беккроссных потомков и дигаплоидов пшеницы с различными комбинациями генов/ BC ₁ F ₁ и дигаплоиды	Kuchel <i>et al.</i> , 2007
Бурая и стеблевая ржавчины, мучнистая роса, пшеница	<i>Lr19/Sr25, Sr36/Pm6</i>	SSR, SCAR	Пирамидирование генов в сорта пшеницы и валидация маркеров/BC ₂₋₃ F ₃	Sivasamy <i>et al.</i> , 2009
Бурая ржавчина, пшеница	<i>Lr1, Lr9, Lr24, Lr47</i>	STS, SCAR, CAPS	Интрогрессия генов в коммерческие сорта мягкой пшеницы/ BC ₁ F ₁₋₂	Nocente <i>et al.</i> , 2007
Стеблевая ржавчина, пшеница	<i>QYrtm.pau-2A, QYrtb.pau-5A</i>	SSR	Интрогрессия QTLs в мягкую пшеницу и валидация маркеров/BC ₁ F ₃	Chhuneja <i>et al.</i> , 2008
Предуборочное прорастание зерна, пшеница	QTLs	SSR, EST	Библиотека интрогрессивных линий пшеницы, содержащих локусы, контролирующие прорастание на корню/BC ₃ F ₂	Torada <i>et al.</i> , 2008
Хлебопекарные качества, рожь	Различные фрагменты хромосом	AFLP, SSR	Библиотека интрогрессивных линий ржи/BC ₁₋₂ S ₃	Falke <i>et al.</i> , 2008
Бурая ржавчина, пшеница	<i>Lr9, Lr24, Lr25, Lr29, Lr35, Lr37</i>	STS, SCAR, RAPD	Интрогрессия генов в озимые сорта пшеницы и валидация маркеров/ BC ₁ F ₁ и дигаплоиды	Vida <i>et al.</i> , 2009
Фузариоз, пшеница	<i>Fhb</i> и <i>Qfhs.ifa-5A</i>	SSR	Интрогрессия двух QTLs/BC ₂ F ₃	Salameh <i>et al.</i> , 2011
Урожайность и хлебопекарные качества, пшеница	Множественные QTLs	SSR, Glu-B3	Библиотека из 82 интрогрессивных линий пшеницы с различными сочетаниями QTLs/BC ₅ F ₂₋₆	Li <i>et al.</i> , 2012
Содержание лизина и амилопектина в эндосперме, кукуруза	Гены <i>waxy</i> и <i>opaque-16</i>	SSR	Интрогрессия генов в геном кукурузы/F ₁₋₂ и BC ₁₋₂ F ₁₋₂	Yang <i>et al.</i> , 2013
Бурая ржавчина, пшеница	QTL, <i>QLr.icg5B, QLr.icg2A, QLr.icg1A</i>	SSR	Создание библиотеки интрогрессивных линий пшеницы, содержащих комбинации QTLs/BC ₂ F ₂₋₃	Timonova <i>et al.</i> , 2013

ляющихся) популяций, полученных на основе скрещивания родительских форм, контрастных по изучаемому признаку. Для этой цели обычно используют разные популяции, такие, как F₂, BC₁F₁, DH (двойные гаплоиды), RIL (рекомби-

нантные инбредные линии), каждая из которых обладает как преимуществами, так и недостатками (van den Berg *et al.*, 1997; Xu, 2010). Эффективность MAS главным образом зависит от того: а) насколько тесно сцеплен маркер с признаком

Таблица 2

Амплификация маркеров, разработанных для *Lr* генов, у изогенных линий Тэтчер и сортов пшеницы, содержащих различные гены устойчивости к бурой ржавчине

Изогенные линии сорта Тэтчер и сорта с генами <i>Lr</i>	Наименование сцепленного с геном ДНК-маркера (наличие (+)/отсутствие (-) амплификации фрагмента)										
	pTAG621 (ген <i>Lr1</i>)	J13 и SCS5 (ген <i>Lr9</i>)	FL2245 (ген <i>Lr10</i>)	Gb и STS265 (ген <i>Lr19</i>)	J9 (ген <i>Lr24</i>)	SCS73 (ген <i>Lr24</i>)	Lr28-01 (ген <i>Lr28</i>)	SCS421 (ген <i>Lr28</i>)	csVrga13 (ген <i>Lr37</i>)	PS10 (ген <i>Lr47</i>)	
<i>Lr1</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Lr3</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Lr9</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Lr10</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Lr11, 12, 13, 14, 15, 22, 23, 42</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Lr16, 17, 18</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
<i>Lr19</i>	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	
<i>Lr20</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Lr21</i>	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
<i>Lr24, Lr25</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
<i>Lr28</i>	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
<i>Lr29</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>Lr30</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Lr37</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	
<i>Lr44</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>LrB</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Lr47</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
Сорт Тэтчер	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Примечание. В таблице суммированы результаты, приведенные в статьях Chelkowski *et al.*, 2003; Blaszczyk *et al.*, 2004, 2008; Vida *et al.*, 2009.

и б) насколько насыщенным являются молекулярно-генетические карты. Известно, что минимум три маркера необходимы для выявления ассоциаций «маркер–признак»: один должен cosegregировать с признаком и используется в основном на стадии «foreground selection», два других маркера должны фланкировать фрагмент донорского генома и быть эффективными для этапа рекомбинантной селекции (Xu, 2010). Выявление сцепления «маркер–признак» на конкретной картирующей популяции не означает, что данный маркер будет эффективен для предсказания фенотипа в другом селекционном материале. Во многих случаях результаты картирования, полученные для специфических скрещиваний, не переносятся автоматически на другие скрещивания, особенно если признак

имеет количественное наследование. Это можно объяснить следующими причинами:

а) рекомбинационными событиями, происходящими в процессе переноса гена от донора к реципиенту, которые зависят от генетической дистанции между геном и маркером и от генетического сходства родительских форм. Известно, например, что фрагмент, перенесенный из генома *Agropyrum elongatum*, содержащий ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr19*, практически не рекомбинирует с гомеологичными хромосомами пшеницы. Тем не менее W. Zhang с соавт. были получены рекомбинантные линии, содержащие укороченный фрагмент с геном *Lr19*, в котором отсутствовал один из диагностических маркеров (Zhang *et al.*, 2005). В другой работе было показано, что кластер из 8 диа-

гностических ДНК-маркеров косегрегировал с фрагментом, содержащим гены *Lr20-Pm1-Sr15*, только в двух из трех картирующих популяций (Neu *et al.*, 2002);

б) отсутствие маркерной последовательности в другом генетическом окружении. Например, маркер, разработанный для гена *Lr21*, амплифицировал специфические фрагменты только в линиях пшеницы, использованных для его разработки, и не амплифицировал их в изогенных линиях Тэтчер, также содержащих ген *Lr21* (Blaszczuk *et al.*, 2008);

в) аллельная гомоплазия (идентичность фрагментов по длине, но не идентичность по нуклеотидной последовательности). Это убедительно продемонстрировано на примере маркера *Xgwm533*, разработанного и валидированного для гена устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr2* (Spielmeier *et al.*, 2003; Hayden *et al.*, 2004).

Прежде чем молекулярные маркеры будут использованы в реальных схемах MAS, необходима проверка ассоциаций «маркер–признак» на выборке, состоящей из картирующих популяций, селекционных и изогенных линий, и желательно в различных условиях окружающей среды. По данным каталога генных символов, до настоящего времени опубликовано около 80 генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине (гены *Lr*) с постоянными и временными символами (McIntosh *et al.*, 2010, Supplement 2011, 2012). При этом для 50 % генов определены ДНК-маркеры, сцепленные с геном, и только для 15 % маркеры валидированы для использования в схемах MAS (рис. 2). Для других генов устойчивости к грибным патогенам эти соотношения еще меньше. Информация о маркерах, валидированных для MAS пшеницы, представлена на сайте <http://maswheat.ucdavis.edu>. Этот сайт содержит описание протоколов ПЦР для различных признаков, данные по картирующим популяциям и родительским образцам, а также различные обучающие материалы и литературные ссылки. Список признаков, к которым разработаны протоколы, включает гены устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам, гены, определяющие качество зерна и ряд других хозяйственно важных признаков.

Эффективность валидированных ДНК-маркеров для выявления генов устойчивости к патогенам была исследована в ряде зарубежных

и отечественных работ (Урбанович и др., 2006; Гайнуллин и др., 2007; Blaszczuk *et al.*, 2008; Kolmer *et al.*, 2008; Тырышкин, 2010; Liu *et al.*, 2010; Serfling *et al.*, 2011). Эти авторы на примере большого набора сортов и изогенных линий, содержащих единичные гены и их комбинации, показали, что молекулярные маркеры во многих случаях обладают большей эффективностью по сравнению с фитопатологическими тестами и анализом родословных.

ОГРАНИЧЕНИЯ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ НОВЫХ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В ПРАКТИЧЕСКУЮ СЕЛЕКЦИЮ

Несмотря на постоянное совершенствование методов маркирования ДНК и огромный потенциал MAS, практическое применение молекулярных маркеров для создания коммерческих сортов пшеницы до сих пор имеет ограниченный характер. К одной из главных причин можно отнести высокую стоимость MAS. Стоимость технологий молекулярного маркирования с течением времени снижается, однако затраты для проведения некоторых этапов MAS требуют значительных денежных инвестиций. Здесь, несомненно, важна финансовая поддержка со стороны государственного сектора экономики, особенно в развивающихся странах. Экономическая сторона внедрения ДНК-технологий в практическую селекцию

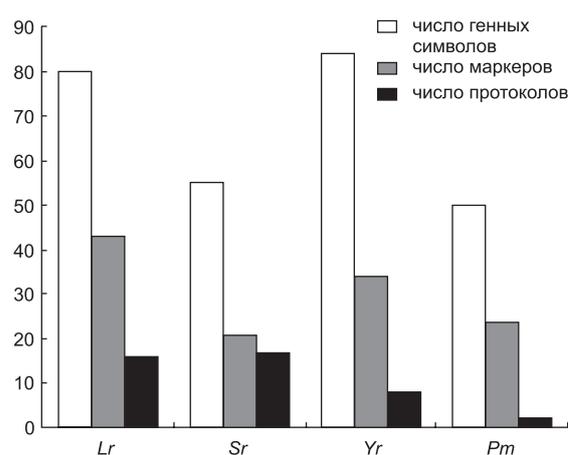


Рис. 2. Диаграмма, иллюстрирующая количество известных генов устойчивости к бурой (*Lr*), стеблевой (*Sr*) и желтой (*Yr*) ржавчине и мучнистой росе (*Pm*), число ДНК-маркеров, сцепленных с генами, и число протоколов, разработанных для MAS.

описана в ряде зарубежных публикаций (Brennan, Martin, 2007; Delannay *et al.*, 2012). Кроме финансовых затрат на интеграцию современных и классических методов селекции влияют дополнительные факторы:

а) точность картирования генов/QTLs и отсутствие тесного сцепления ген-признак, что приводит к необходимости перепроверять ассоциации «маркер–признак» на нескольких картирующих популяциях;

б) необходимость валидации маркера для доказательства его надежности при выявлении генов/QTLs у широкого круга образцов и в различном генетическом окружении;

в) отсутствие достаточного количества полиморфных и кодоминантных маркеров для тестирования селекционного материала, что является важным как в скрещиваниях между близкородственными сортами, так и для отдаленной гибридизации;

г) трудности интрогрессии «минорных» QTLs для признаков с мультигенным контролем, подверженных влиянию окружающей среды и эпистатическим взаимодействиям;

д) человеческий фактор: наличие в институтах и компаниях, занимающихся практической селекцией, квалифицированного персонала, владеющего современными молекулярными методами анализа генома растений и статистическими программами для картирования генов/QTLs. С другой стороны, методические основы фенотипической селекции не всегда знакомы специалистам, работающим в области молекулярной биологии.

В настоящее время в литературе мало доступной информации о практических результатах использования MAS в создании новых сортов и селекционных линий. В ряде стран (Австралия, США, Мексика, Канада, Индия, Аргентина, Великобритания, Франция, Чехия, Китай) технологии MAS были опробованы в крупных программах, которые финансировались на государственном уровне и частными селекционными компаниями. В Австралии начиная с 1996 г. ряд программ был опробован для создания сортов ячменя и пшеницы с помощью ДНК-маркеров. В качестве положительного результата можно отметить, что в одной из программ для пшеницы (West Australian Wheat Breeding Programm) за 5 лет были разработаны маркеры для 42 признаков/

генов, внедрены мультиплексные технологии, созданы фенотипические и маркерные базы данных по признакам и логистические программы, интенсифицирующие взаимодействие молекулярных биологов и селекционеров (Cakir *et al.*, 2008). В Индии и Непале технологии MAS были использованы в программе для создания селекционных линий с генетическими локусами, контролирующими засухоустойчивость риса (<http://teca.fao.org>). В США финансовую поддержку со стороны государства получили крупные проекты (2001–2009 гг.), участниками которых были как научно-исследовательские лаборатории, так и селекционные компании. Список созданных в ходе выполнения этих проектов селекционных линий и список опубликованных результатов представлены на сайте <http://maswheat.ucdavis.edu/achievements/>. В последние годы появилась информация о базах данных и компьютерных программах, которые могут оказать помощь селекционерам при выполнении селекционных задач с использованием различных схем MAS. Например, программа OptiMAS на основании данных по маркерам, расположенным в области локализации «целевого» локуса, помогает выбирать оптимальные стратегии MAS, родительские пары для проведения скрещиваний и отслеживать в потомстве «ценные» аллели QTL (<http://moulon.inra.fr/optimas/>). Базы данных Panzea, PlantDB, CERELAB предназначены для сбора информации по фенотипическим и геномным данным различных видов и сортов пшеницы, ячменя, риса, кукурузы, тритикале, для выбора родительских образцов и маркеров, сцепленных с хозяйственными признаками (Zhao *et al.*, 2006; Canaran *et al.*, 2008; Exner *et al.*, 2008; Milc *et al.*, 2011). Ряд примеров успешного применения технологий MAS на практике и перечень проектов и программ MAS можно также найти в обзорных статьях и на сайтах некоторых компаний (Monsanto, Pioneer, TraitGenetics, KWS Lochow и др.) (Eathington *et al.*, 2007; William *et al.*, 2007; Xu, Crouch, 2008; Gupta *et al.*, 2010).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время ДНК-маркеры разработаны и стали доступными для маркирования хозяйственно важных признаков различных видов зерновых культур. Наблюдается значи-

тельный прогресс по внедрению современных методов и технологий молекулярного маркирования в практику для создания новых сортов и селекционных линий. Наиболее успешными способами применения новых технологий являются интрогрессия и пирамидирование главных генов/QTLs, контролирующей устойчивость к различным видам стрессов. Интродукция количественных признаков, имеющих полигенную природу, пока остается на этапе научных исследований. В настоящее время стало очевидным, что ДНК-технологии постепенно начинают занимать ведущие позиции в селекции растений, и ряд примеров успешного практического применения новых технологий можно найти в литературе. Несмотря на ограничения, тормозящие применение ДНК-маркеров в практической селекции даже в развитых странах, не возникает сомнений, что технологии MAS имеют высокий потенциал, который будет успешно реализован в ближайшие годы. Xu и Crouch справедливо полагают, что в течение следующего десятилетия технологии MAS станут значительно дешевле и проще и их можно будет использовать в больших масштабах, а знания, полученные на основе геномных исследований и опубликованные в научных работах, будут быстрее претворяться в жизнь (Xu, Crouch, 2008).

БЛАГОДАРНОСТИ

Статья подготовлена при финансовой поддержке программы «Динамика и сохранение генофондов» (проект № 30.39) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-04-90010).

ЛИТЕРАТУРА

- Беспалова Л.А., Васильев А.В., Аблова И.Б. и др. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 1. С. 37–43.
- Гайнуллин Н.Р., Лапочкина И.Ф., Жемчужина А.И. и др. Использование фитопатологического и молекулярно-генетического методов для идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у образцов мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом // Генетика. 2007. Т. 43. С. 1058–1064.
- Тырышкин Л.Г. Наличие ДНК-маркеров как критерий постуляции *Lr*-генов устойчивости пшеницы *Triticum aestivum* L. к листовой ржавчине *Puccinia triticina* Erikss.: критический взгляд // С.-х. биология. 2010. № 3. С. 76–81.
- Урбанович О.Ю., Мальшев С.В., Долматович Т.В., Картель Н.А. Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием молекулярных маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. С. 675–683.
- Хлесткина Е.А. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. № 1. С. 757–768.
- Basu S.K., Datta M., Sharma M., Kumar A. Haploid production technology in wheat and some selected higher plants // Austr. J. Crop Sci. 2011. V. 5. P. 1087–1093.
- Blaszczyk L., Chelkowski J., Korzun V. *et al.* Verification of STS markers for leaf rust resistance genes of wheat by seven European laboratories // Cell Mol. Biol. Lett. 2004. V. 9. P. 805–817.
- Blaszczyk L., Kramer I., Ordon I. *et al.* Validity of selected DNA markers for breeding leaf rust resistant wheat // Cereal Res. Commun. 2008. V. 36. P. 201–213.
- Brennan J.P., Martin P.J. Returns to investment in new breeding technologies // Euphytica. 2007. V. 157. P. 337–349.
- Cakir M., Drake-Brockman F., Ma J. *et al.* Application and challenges of marker-assisted selection in the Western Australian Wheat Breeding Program. 2008. Available at: <http://ses.library.usyd.au/bitstream/2123/3338/1/P279.pdf>.
- Canaran P., Buckler E.S., Glaubitz J.C. *et al.* Panzea: an update on new content and features // Nucl. Acids Res. 2008. V. 36 (Database issue): D1041-3.
- Chelkowski J., Golka L., Stepień L. Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher // J. Appl. Genet. 2003. V. 44. P. 323–338.
- Chhuneja P., Kaur S., Garg T. Mapping of adult plant stripe rust resistance genes in diploid A genome wheat species and their transfer to bread wheat // Theor. Appl. Genet. 2008. V. 116. P. 313–324.
- Collard B.C.Y., Mackill D.J. Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century // Philos. Trans. R. Soc. B. 2008. V. 363. P. 557–572.
- Delannay X., McLaren G., Ribaut J.-M. Fostering molecular breeding in developing countries // Mol. Breed. 2012. V. 29. P. 857–873.
- Eathington S.R., Crosbie T.M., Edwards M.D. *et al.* Molecular markers in a commercial breeding program // Crop Sci. 2007. V. 47. P. S154–S163.
- Exner V., Hirsch-Hoffmann M., Gruissem W., Hennig L. PlantDB – a versatile database for managing plant research // Plant Methods. 2008. V. 4. P. 1.
- Falke K.C., Frisch M. Power and false positive rate in QTL detection with near-isogenic line libraries // Heredity. 2011. V. 106. P. 576–584.
- Falke K.C., Sušić Z., Hackauf B. *et al.* Establishment of introgression libraries in hybrid rye (*Secale cereale* L.) from an Iranian primitive accession as a new tool for rye breeding and genomics // Theor. Appl. Genet. 2008. V. 117. P. 641–652.
- Falke K.C., Miedaner T., Frisch M. Selection strategies for the development of rye introgression libraries // Theor. Appl. Genet. 2009. V. 119. P. 595–603.

- Frisch M., Bohn M., Melchinger A.E. Comparison of selection strategies for marker assisted backcrossing of a gene // *Crop Sci.* 1999. V. 39. P. 1295–1301.
- Frisch M., Melchinger A.E. Selection theory for marker-assisted backcrossing // *Genetics.* 2005. V. 170. P. 909–917.
- Ganal M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding // *Genomics-assisted crop improvement* / Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. N.Y.: Springer, 2007. P. 1–24.
- Gupta P.K., Langridge P., Mir R.R. Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities // *Mol. Breed.* 2010. V. 26. P. 145–161.
- Hayden M.J., Kuchel H., Chalmers K.J. Sequence tagged microsatellites for the *Xgwm533* locus provide new diagnostic markers to select for the presence of stem rust resistance gene *Sr2* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2004. V. 109. P. 1641–1647.
- Herzog E., Frisch M. Selection strategies for marker-assisted backcrossing with high-throughput marker systems // *Theor. Appl. Genet.* 2011. V. 123. P. 251–260.
- Hospital F. Marker-assisted backcross breeding: a case-study in genotype building theory // *Quantitative genetics, genomics, and plant breeding* / Ed. M.S. Kang. Wallingford, UK, CABI Publishing, 2002. P. 135–142.
- Huang X.Q., Börner A., Röder M.S., Ganal M.W. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers // *Theor. Appl. Genet.* 2002. V. 105. P. 699–707.
- Kolmer J.A., Singh R.P., Garvin D.F. *et al.* Analysis of the *Lr34/Yr18* rust resistance region in wheat germplasm // *Crop Sci.* 2008. V. 48. P. 1841–1852.
- Kuchel H., Fox R., Reinheimer J. *et al.* The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy // *Mol. Breed.* 2007. V. 20. P. 295–308.
- Kuchel H., Fox R., Hollamby G. *et al.* The challenges of integrating new technologies into a wheat breeding programme. 2008. Available at <http://ses.library.usyd.edu.au/bitstream/2123/3400/1/O54.pdf>.
- Landjeva S., Korzun V., Börner A. Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding // *Euphytica.* 2007. V. 156. P. 271–296.
- Li Y., Zhou R., Wang J. *et al.* Novel and favorable QTL allele clusters for end-use quality revealed by introgression lines derived from synthetic wheat // *Mol. Breed.* 2012. V. 29. P. 627–643.
- Liu S., Yu L.-Xi, Singh R.P. *et al.* Diagnostic and co-dominant PCR markers for wheat stem rust resistance genes *Sr25* and *Sr26* // *Theor. Appl. Genet.* 2010. V. 120. P. 691–697.
- Liu Y., He Z., Appels R., Xia X. Functional markers in wheat: current status and future prospects // *Theor. Appl. Genet.* 2012. V. 125. P. 1–10.
- Marone D., Laido G., Gadaleta A. *et al.* A high-density consensus map of A and B wheat genomes // *Theor. Appl. Genet.* 2012. V. 125. P. 1619–1638.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J. *et al.* Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 2010. Supplement 2011, 2012. Available at: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>.
- Milc J., Sala A., Bergamaschi S., Pecchioni N. A genotypic and phenotypic information source for marker-assisted selection of cereals: the CEREALAB database // *Database.* 2011. Article ID baq038, doi:10.1093/database/baq038.
- Mohler V., Schwarz G. Genotyping tools in plant breeding: from restriction fragment length polymorphisms to single nucleotide polymorphisms // *Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement* / Eds H. Lörtz, G. Wenzel. 2005. V. 55. P. 23–38.
- Narain P. Quantitative genetics: past and present // *Mol. Breed.* 2010. V. 26. P. 135–143.
- Neu C., Stein N., Keller B. Genetic mapping of the *Lr20-Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat // *Genome.* 2002. V. 45. P. 737–744.
- Nocente F., Gazza L., Pasquini M. Evaluation of leaf rust resistance genes *Lr1*, *Lr9*, *Lr24*, *Lr47* and their introgression into common wheat cultivars by marker-assisted selection // *Euphytica.* 2007. V. 155. P. 329–336.
- Randhawa H.S., Mutti J.S., Kidwell K. *et al.* Rapid and targeted introgression of genes into popular wheat cultivars using marker-assisted background selection // *PLoS One.* 2009. V. 4. P. e5752.
- Pardey P.G. A strategic look at global wheat production, productivity and R&D developments // *Czech. J. Genet. Plant Breed.* 2011. V. 47. P. S9–S19.
- Prigge V., Melchinger A.E., Dhillon B.S., Frisch M. Efficiency gain of marker-assisted backcrossing by sequentially increasing marker densities over generations // *Theor. Appl. Genet.* 2009. V. 119. P. 23–32.
- Salameh A., Buerstmayr M., Steiner B. *et al.* Effects of introgression of two QTL for fusarium head blight resistance from Asian spring wheat by marker-assisted backcrossing into European winter wheat on fusarium head blight resistance, yield and quality traits // *Mol. Breed.* 2011. V. 28. P. 485–494.
- Salina E., Dobrovolskaya O., Efremova T. *et al.* Microsatellite monitoring of recombination around the *Vrn-B1* locus of wheat during early backcross breeding // *Plant Breed.* 2003. V. 122. P. 116–119.
- Salina E.A., Leonova I.N., Efremova T.T., Röder M.S. Wheat genome structure: translocations during the course of polyploidization // *Funct. Integr. Genomics.* 2006. V. 6. P. 71–80.
- Schmierer D.A., Kandemir N., Kudrna D.A. *et al.* Molecular marker-assisted selection for enhanced yield in malting barley // *Mol. Breed.* 2004. V. 14. P. 463–473.
- Serfling A., Krämer I., Lind V. *et al.* Diagnostic value of molecular markers for *Lr* genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistance // *Eur. J. Plant Pathol.* 2011. V. 130. P. 559–575.
- Singh S., Sidhu J.S., Huang N. *et al.* Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106 // *Theor. Appl. Genet.* 2001. V. 102. P. 1011–1015.
- Sivasamy M., Vinod, Tiwari S. *et al.* Introgression of useful linked genes for resistance to stem rust, leaf rust and powdery mildew and their molecular validation in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Indian J. Genet.* 2009. V. 69. P. 17–27.
- Somers D.J. Molecular marker systems and their evaluation for cereal genetics // *Cereal Genomics* / Eds P.K. Gupta, R.K. Varshney. Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 2004.

- P. 19–34.
- Sourdille P., Singh S., Cadalen T. *et al.* Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Func. Integr. Genomics*. 2004. V. 4. P. 12–25.
- Spielmeyer W., Sharp P.J., Lagudah E.S. Identification and validation of markers linked to broad-spectrum stem rust resistance gene *Sr2* in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Crop Sci*. 2003. V. 43. P. 333–336.
- Tester M., Langridge P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world // *Science*. 2010. V. 237. P. 818–822.
- Timonova E.M., Leonova I.N., Röder M.S., Salina E.A. Marker-assisted development and characterization of a set of *Triticum aestivum* lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome // *Mol. Breed*. 2013. V. 31. P. 123–136.
- Torada A., Koike M., Ikeguchi S., Tsutsui I. Mapping of a major locus controlling seed dormancy using backcrossed progenies in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Genome*. 2008. V. 51. P. 426–432.
- van den Berg J.H., Chasalow S.D., Waugh R. RFLP mapping of plant nuclear genomes: planning of experiments, linkage map construction, and QTL mapping // *Plant molecular biology – a laboratory manual*. Berlin: Springer-Verlag, 1997. P. 334–396.
- Varshney R.K., Graner A., Sorrells M.E. Genomics-assisted breeding for crop improvement // *Trends Plant Sci*. 2005. V. 10. P. 621–630.
- Varshney R.K., Mahendar T., Aggarwal R.K., Börner A. Genic molecular markers in plants: development and applications // *Genomics-Assisted Crop Improvement* / Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. 2007. V. 1. P. 13–29.
- Vida G., Gal M., Uhrin A. *et al.* Molecular markers for the identification of resistance genes and marker-assisted selection in breeding wheat for leaf rust resistance // *Euphytica*. 2009. V. 170. P. 67–76.
- 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. 73–174.
- Xu Y. *Molecular plant breeding*. Wallington, UK: CAB-international, 2010. 752 p.
- Xu Y., Crouch J.H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publication to practice // *Crop Sci*. 2008. V. 48. P. 391–407.
- Xu Y., Lu Y., Xie C. *et al.* Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding. *Mol. Breed*. 2012. V. 29. P. 833–854.
- Yang L., Wang W., Yang W., Wang M. Marker-assisted selection for pyramiding the waxy and opaque-16 genes in maize using cross and backcross schemes // *Mol. Breed*. 2013. V. 31. P. 767–775.
- Zhao W., Canaran P., Jurkuta R. *et al.* Panzea: a database and resource for molecular and functional diversity in the maize genome // *Nucl. Acids Res*. 2006. V. 34. (Database issue). P. D752–D757.
- Zhang W., Lukaszewski A.J., Kolmer J. *et al.* Molecular characterization of durum and common wheat recombinant lines carrying leaf rust resistance (*Lr19*) and yellow pigment (*Y*) genes from *Lophopyrum ponticum* // *Theor. Appl. Genet*. 2005. V. 111. P. 573–582.

MOLECULAR MARKERS: IMPLEMENTATION IN CROP PLANT BREEDING FOR IDENTIFICATION, INTROGRESSION, AND GENE PYRAMIDING

I.N. Leonova

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: leonova@bionet.nsc.ru

Summary

Over the past decades, wide theoretical and practical experience has been obtained in application of DNA markers for investigation of plant genetic diversity, construction of molecular genetic maps, mapping of genes and quantitative trait loci, and employment of molecular marker technologies in the development of commercial cultivars and breeding of crop lines. To date, the main practical application of molecular markers is related to germplasm characterization, introgression and pyramiding of genome fragments associated with agronomically important traits controlled by major genes. The contribution of new technologies to the selection of traits with multigenic inheritance is still insignificant. Despite the considerable progress in plant molecular genetics and genomics methods and great interest in new technologies among breeders, there is a large number of constraints affecting the implementation of new technologies in practical selection. This article considers the potential application of DNA markers in breeding of crop plants and the benefits and limitations of use of marker-assisted technologies in comparison with conventional plant breeding methods.

Key words: molecular markers, marker-assisted selection, validation.