

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт генетики и цитологии

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

ТОМ **4**



Биотехнология
в селекции
растений

Геномика
и генетическая
инженерия

Минск
«Беларуская навука»
2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие редакторов	5
Принятые сокращения	6

ЧАСТЬ I. ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Глава 1. Идентификация и паспортизация сортов сельскохозяйственных культур на основе ДНК-маркеров (Урбанович О. Ю., Кузмицкая П. В., <u>Картель Н. А.</u>)	10
1.1. Преимущества молекулярных методов идентификации генотипов	11
1.2. Основные типы молекулярных маркеров, используемых для идентификации генотипов	12
1.3. Принцип метода ДНК-идентификации с помощью SSR-маркеров	14
1.4. Методика ДНК-фингерпринтинга с помощью SSR-маркеров	17
1.5. Применение методов ДНК-фингерпринтинга	23
Литература	25
Глава 2. Молекулярные технологии в селекции пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.)	29
2.1. Генетическое разнообразие сортов пшеницы, выращиваемых в Беларуси (Фомина Е. А., Малышев С. В., Урбанович О. Ю., Куликович С. Н., <u>Картель Н. А.</u>)	29
2.1.1. Анализ информативности микросателлитных маркеров	31
2.1.2. Анализ генетического разнообразия сортов, культивируемых на территории Республики Беларусь	33
Литература	38
2.2. Маркер-сопутствующая селекция пшеницы по признаку устойчивости к бурой ржавчине	40
2.2.1. Возможность сочетания молекулярных и фитопатологических методов исследования	41
2.2.2. Маркирование эффективных генов устойчивости	43
2.2.3. Анализ сортов мягкой яровой пшеницы, внесенных в Государственный реестр Республики Беларусь, на наличие генов устойчивости к возбудителю бурой ржавчины	47
Литература	54
Глава 3. Молекулярные технологии в селекции ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L.) (Луханина Н. В., Давыденко О. Г.)	56
Литература	69
Глава 4. Определение типичности инбредных линий и идентификация простых гибридов кукурузы (<i>Zea mays</i> L.) на основе полиморфизма микросателлитной ДНК (Лемеш В. А., Сидоренко Е. В., Гузенко Е. В., Хотылева Л. В.)	72
4.1. Биохимический анализ запасного белка кукурузы (зеина)	76

4.2. Молекулярно-генетический анализ чистоты и типичности изучаемых линий кукурузы с помощью SSR-ПЦР	78
4.3. Идентификация простых гибридов кукурузы с помощью микросателлитных маркеров Литература	85 91
Глава 5. Молекулярно-генетические исследования цитоплазматической мужской стерильности у ржи (<i>Secale cereale</i> L.) в связи с селекцией на гетерозис (Шимко В. Е., Гордей И. А., Аксенова Е. А., Ярмолинский Д. В.)	93
Литература	97
Глава 6. Молекулярно-цитогенетический анализ линий гексаплоидных тритикале (<i>× Triticosecale</i> Wittm.) с интрогрессиями от дикорастущих видов эгилопсов (Орловская О. А., Адонина И. Г., Салина Е. А., Хотылева Л. В.)	99
6.1. Реорганизация геномного состава линий гексаплоидных тритикале при интрогрессии генетического материала от дикорастущих видов эгилопсов	105
6.2. Влияние генотипа на формирование хозяйственно ценных признаков у линий гексаплоидных тритикале	108
Литература	112
Глава 7. Молекулярные технологии в селекции сои (<i>Glycine max</i> L.) (Аксенова Е. А., Давыденко О. Г.)	116
7.1. Сиквенс и анализ генома сои	117
7.2. Генетические карты и молекулярные маркеры	119
7.3. Молекулярное маркирование генов, отвечающих за состав и качество зерна	123
7.3.1. SSR-анализ гибридных популяций F ₂ для маркер-сопутствующей селекции белорусских сортов сои	127
7.4. Молекулярные маркеры и устойчивость сои к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды	128
7.5. Молекулярное маркирование генов фотопериодизма у сои	130
7.5.1. Дифференциация коллекционных сортообразцов сои по молекулярным маркерам для определения источника аллеля E7	133
7.6. Базы данных	135
7.7. ДНК-маркеры как средство оценки генетического разнообразия и идентификации сортообразцов	137
Литература	140
Глава 8. Идентификация геном-специфических ДНК-маркеров для оценки генетического полиморфизма рапса (<i>Brassica napus</i> L.) в целях создания сортов пищевого назначения (Лемеш В. А., Пилюк Я. Э., Грушецкая З. Е., Мозгова Г. В., Бакановская А. В., Пикун О. А., Хотылева Л. В.)	146
8.1. Особенности организации генома <i>Brassica napus</i> L.	148
8.2. Идентификация генов <i>FAE1</i> , контролирующих синтез эруковой кислоты в масле семян рапса	149
8.3. Маркер-сопутствующий отбор по генам, контролирующим уровень содержания олеиновой и линоленовой ненасыщенных жирных кислот в рапсовом масле	154
8.4. Анализ сортов рапса по локусам, контролирующим уровень содержания клетчатки в семенах	161
Литература	164
Глава 9. Молекулярные технологии в селекции льна (<i>Linum usitatissimum</i> L.)	167
9.1. Идентификация и паспортизация сортов льна на основе ДНК-маркеров (Лемеш В. А., Богданова М. В., Кильчевский А. В., Хотылева Л. В.)	167
Литература	175

9.2. Молекулярно-генетический анализ <i>fad3</i> генов льна масличного (Лемеш В. А., Богданова М. В.)	176
Литература	183
9.3. Молекулярно-генетическая идентификация генов семейства целлюлозосинтаз, контролирующих формирование лубяного волокна льна (<i>Linum usitatissimum</i> L.) (Галиновский Д. В., Анисимова Н. В., Райский А. П., Леонтьев В. Н., Туток В. В., Кильчевский А. В., Хотылева Л. В.)	184
9.3.1. Ферменты биосинтеза целлюлозы	186
9.3.2. Особенности структуры генов целлюлозосинтаз растений	188
9.3.3. Биосинтез целлюлозы в клетках льна	191
9.3.4. Идентификация генов целлюлозосинтаз, функционирующих в стеблях, листьях и апикальной части растений льна-долгунца	193
9.3.5. Сравнительный анализ генов целлюлозосинтаз льна культурного (<i>Linum usitatissimum</i> L.) с их ортологами <i>Arabidopsis thaliana</i>	197
9.3.6. Разработка метода RFLP-анализа для идентификации генов целлюлозосинтаз льна культурного (<i>Linum usitatissimum</i> L.)	200
Литература	204
9.4. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма подвидов льна культурного для идентификации генотипов с редкими ДНК-локусами (Лемеш В. А., Богданова М. В., Кубрак С. В., Никитинская Т. В., Туток В. В., Хотылева Л. В.)	206
9.4.1. Оценка генетического разнообразия сортов льна с помощью RAPD и ISSR анализа	206
9.4.2. Сравнительная оценка генетического разнообразия современных сортов и белорусских ландрас льна с помощью RAPD-анализа	212
9.4.3. Оценка генетического разнообразия сортов льна с помощью SSR-анализа	216
9.4.3.1. Оценка полиморфизма SSR-локусов сортов льна различной селекционной направленности и географического происхождения	217
9.4.3.2. Оценка полиморфизма SSR-локусов сортов льна масличного	220
9.4.3.3. Оценка полиморфизма SSR-локусов сортов льна-долгунца, включенных в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь, и стародавних белорусских сортов	221
9.4.3.4. Выявление сортов льна с редкими и уникальными аллелями SSR-локусов	223
9.4.3.5. Генетический полиморфизм сортов льна в зависимости от периода селекции	227
9.4.3.6. Оценка уровня гетерозиготности сортов льна с использованием микросателлитных маркеров	230
9.4.3.7. Изучение генетических взаимосвязей сортов льна на основе SSR-анализа	232
Литература	240
Глава 10. Использование ДНК-маркеров в селекции картофеля (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	243
10.1. Селекция картофеля с помощью ДНК-маркеров (Ермишин А. П., Воронкова Е. В., Лукша В. И.)	243
10.1.1. Типы ДНК-маркеров, используемые в селекции картофеля	245
10.1.2. ДНК-маркеры для детекции доминантных генов устойчивости к болезням и вредителям картофеля	246
10.1.2.1. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к фитофторозу картофеля	246
10.1.2.2. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к золотистой цистообразующей нематодe	247
10.1.2.3. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к Y-вирусу картофеля (PVY)	249
10.1.2.4. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к X-вирусу картофеля (PVX)	249
10.1.2.5. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к вирусу скручивания листьев картофеля (ВСКЛ, PLRV, L-вирусу)	250
10.1.2.6. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к раку картофеля	251

10.2. Особенности картофеля как объекта MAS. Направления использования MAS в селекции картофеля (<i>Ермишин А. П., Воронкова Е. В., Лукша В. И.</i>)	251
10.2.1. Применение ДНК-маркеров для оценки исходного селекционного материала.	252
10.2.1.1. Оценка исходного материала для селекции картофеля с целью выделения носителей ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям	254
10.2.1.2. Оценка аллельного состояния селекционно ценных генов в исходном материале	260
10.2.2. Использование MAS в селекции картофеля с применением отбора на диплоидном уровне	264
10.2.2.1. Оценка дигаллоидов картофеля из коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси на наличие ПЦР-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям	265
10.2.2.2. Получение и оценка первичных дигаллоидов сортов картофеля, отобранных по комплексу ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям	268
Литература	272
10.3. Молекулярные маркеры в селекции на низкое содержание моносахаридов в клубнях картофеля (<i>Кондратюк А. В., Козлов В. А., Кильчевский А. В.</i>)	276
10.4. Молекулярные маркеры в экспертизе на отличимость, однородность и стабильность (<i>Кондратюк А. В., Козлов В. А., Кильчевский А. В.</i>)	284
Литература	288
Глава 11. Молекулярные технологии в селекции томата (<i>Solanum lycopersicum L.</i>) (<i>Кильчевский А. В., Бабак О. Г., Некрашевич Н. А., Аджиева В. Ф., Малышев С. В., Грушецкая З. Ф., Мишин Л. А., Добродькин М. М., Зайцева И. Е., Пугачева И. Г.</i>)	290
11.1. Использование SSR-маркеров для ДНК-идентификации паспортизации сортов и гибридов томата.	291
11.2. Генетическая детерминация процессов созревания у томата.	294
11.2.1. Разработка маркеров и типирование коллекции по генам лежкости	296
11.3. Генетическая детерминация процессов накопления каротиноидов у томата	301
11.3.1. Разработка маркеров и типирование коллекции по генам измененного содержания каротиноидов	303
11.4. Создание форм, сочетающих гены повышенного содержания каротиноидов и длительного периода сохранности плодов, на основе методов ДНК-типирования	310
11.5. Отбор форм томата методами ДНК-типирования с двумя генами качества в популяциях F ₂	315
11.6. Создание гибридов F ₁ с тремя генами качества плодов и перспективы их использования	319
11.7. Генетическая детерминация устойчивости к болезням.	322
11.7.1. Использование методов ДНК-типирования в селекции на устойчивость к болезням у томата	324
11.7.2. Разработка технологии маркер-сопутствующего отбора томата по признаку устойчивости к кладоспориозу и ДНК-типирование коллекции	324
11.7.3. Разработка технологии маркер-сопутствующего отбора томата по признаку устойчивости к фузариозу и ДНК-типирование коллекции	326
11.7.4. Разработка технологии маркер-сопутствующего отбора томата по признаку устойчивости к мелойдогнозу и ДНК-типирование коллекции	327
11.7.5. Изучение возможности одновременного выявления аллелей устойчивости к кладоспориозу и нематоде у томата с использованием маркера 2-5CF/2-5CR.	329
11.7.6. Разработка методических основ идентификации гена устойчивости к фитофторе Rh-3 и ДНК-типирование образцов изучаемой коллекции	330
11.8. Создание и изучение гибридов F ₁ с комплексной устойчивостью к болезням	331
11.9. ДНК-скрининг поколения гибридов F ₂ для отбора гомозиготных форм с генами устойчивости к болезням	333
11.10. Сочетание методов MAS и гаметной селекции для создания сортов и гибридов томата с одновременной устойчивостью к пониженным температурам и болезням	334
Литература	338

Глава 12. ДНК-маркирование исходного материала овощных культур для селекции гетерозисных гибридов (Шаптуренко М. Н., Тарутина Л. А., Мишин Л. А., Якимович А. В., Забара Ю. М., Кильчевский А. В., Хотылева Л. В.)	345
12.1. Перец сладкий (<i>Capsicum annuum</i> L.)	349
12.2. Капуста белокочанная (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L. f. <i>alba</i> DC.)	358
Литература	362
Глава 13. Геномные биотехнологии в селекции сахарной свеклы (<i>Beta vulgaris</i> L.) (Свирицкая А. М., Мальшева О. М., Милько Л. В., Кильчевский А. В.)	367
13.1. RFLP-маркеры	368
13.2. RAPD-маркеры	369
13.2.1. RAPD-фингерпринтинг близкородственных генотипов свеклы	371
13.2.2. RAPD-фингерпринтинг для идентификации линий и гибридов свеклы	376
13.3. AFLP-маркеры	381
13.3.1. AFLP-фингерпринтинг линий сахарной свеклы гиногенетического происхождения и в группах «донорное материнское растение – гиногенетическое потомство»	384
13.3.2. AFLP-фингерпринтинг у культивируемых <i>in vitro</i> побегов гиногенетических линий сахарной свеклы разного возраста	385
13.4. SSR-маркеры	386
Литература	390
Глава 14. Молекулярные маркеры в селекции яблони (<i>Malus × domestica</i> Borkh.)	393
14.1. Генетическое разнообразие сортов яблони и методы их ДНК-идентификации (Урбанович О. Ю., Кузмицкая П. В., Козловская З. А., Картель Н. А.)	393
14.1.1. Особенности генома яблони	394
14.1.2. SSR-маркеры для идентификации генотипов яблони	394
14.1.3. Анализ генетического разнообразия сортов яблони	395
14.1.4. Генетическое сходство генотипов яблони	401
14.1.5. ДНК-паспортизация сортов яблони	403
Литература	406
14.2. Молекулярные маркеры в селекции яблони на устойчивость к болезням (Урбанович О. Ю., Козловская З. А., Кузмицкая П. В., Васеха В. В., Картель Н. А.)	407
14.2.1. Молекулярные маркеры в селекции яблони на устойчивость к парше	409
14.2.1.1. Отбор и анализ устойчивости к парше гибридных сеянцев яблони с геном <i>Rvi6(Yf)</i>	410
14.2.1.2. Отбор и анализ устойчивости к парше гибридных сеянцев яблони с геном <i>Rvi17(Val)</i>	414
14.2.2. Создание сеянцев яблони с комплексной устойчивостью к парше	417
14.2.3. Молекулярные маркеры в селекции яблони на устойчивость к мучнистой росе	419
Литература	427
Глава 15. Генетическое разнообразие сортов груши и методы их ДНК-идентификации (род <i>Pyrus</i>) (Урбанович О. Ю., Кузмицкая П. В., Козловская З. А., Якимович О. А., Картель Н. А.)	430
15.1. Особенности генома груши	430
15.1.1. SSR-маркеры для идентификации генома груши	430
15.2. Генетическое разнообразие сортов груши, выращиваемых в Беларуси	431
15.3. Генетическое сходство сортов груши	436
15.4. ДНК-идентификация и паспортизация сортов груши	438
Литература	439
Глава 16. Молекулярная характеристика патогенных вирусов плодовых и ягодных культур (Волосевич Н. Н., Колбанова Е. В., Соловей О. В., Кухарчик Н. В.)	441
16.1. Вирус кустистой карликовости малины	443
16.2. Вирус реверсии смородины черной	450

16.3. Вирус мозаики яблони	453
16.4. Вирус косточковых культур – вирус Шарки сливы	457
16.4.1. Молекулярное типирование штаммовой принадлежности белорусских изолятов вируса Шарки	458
16.4.2. Определение нуклеотидных последовательностей ПЦР-фрагментов	459
Литература	463
Глава 17. Молекулярно-генетические аспекты изучения лесных древесных видов растений (Падутов В. Е., Баранов О. Ю., Каган Д. И., Ковалевич О. А., Пантелеев С. В., Ивановская С. И.)	467
17.1. Популяционная генетика и таксономия	468
17.1.1. Популяционное разнообразие	468
17.1.2. Экотипическое разнообразие	471
17.1.3. Геногеография	474
17.1.4. Таксономия	478
17.2. Селекция и семеноводство	483
17.2.1. Анализ генов, детерминирующих хозяйственно ценные признаки	483
17.2.2. Маркер-сопутствующая селекция	485
17.2.3. Мутагенез и полиплоидия	486
17.2.4. Семеноводство	488
17.3. Молекулярная фитопатология	492
17.4. Генетическая экспертиза	500
Литература	503
Глава 18. Молекулярные маркеры в таксономии, метаболом-направленной селекции и сохранении генетических ресурсов Центрального ботанического сада НАН Беларуси (Спиридович Е. В., Власова А. Б., Юхимук А. Н., Гончарова Л. В., Агабалаева Е. Д., Решетников В. Н.)	507
18.1. Род <i>Vaccinium</i> L.	510
18.2. Род <i>Amaranthus</i> L.	515
18.3. Род <i>Potentilla</i> L.	520
18.4. Род <i>Trigonella</i> L.	522
18.5. Род <i>Syringa</i> L.	527
Литература	533

ЧАСТЬ 2. ТРАНСГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Глава 1. Методы создания трансгенных растений (Картель Н. А.)	538
1.1. Агробактериальная трансформация	540
1.2. Прямая трансформация и микробомбардировка	542
1.3. Промоторы	543
1.4. Экспрессия трансгенов	545
1.5. Хозяйственно ценные трансгенные растения	547
1.6. Практическое использование трансгенных растений	555
1.7. Вопросы безопасности и перспективы	558
Литература	559
Глава 2. Создание трансгенных растений табака (род <i>Nicotiana</i>) и арабидопсиса (<i>A. thaliana</i>) с генами биосинтеза рамнолипидов (Картель Н. А., Бричкова Г. Г., Манешина Т. В.)	562
2.1. Создание векторных конструкций	564
2.2. Создание трансгенных растений	566
2.3. Молекулярно-генетический анализ трансформантов	570
2.4. Биохимический анализ трансформантов	572

2.5. Толерантность трансгенных растений к тяжелым металлам	575
2.6. Толерантность к нефти и нефтепродуктам	580
Литература	586
Глава 3. Трансгенез в селекция картофеля (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	588
3.1. Трансгенные растения картофеля с геном эндохитиназы ([Карпель Н. А.], Шахбазов А. В., Панюш А. С.)	588
3.1.1. Создание и молекулярно-генетический анализ трансформантов	589
3.1.2. Биохимический анализ трансгенных растений	593
3.1.3. Анализ противопатогенного эффекта трансгена хитиназы	596
Литература	
3.2. Трансгенные растения картофеля с геном <i>cry3aM</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> ([Карпель Н. А.], Исаенко Е. В., Межнина О. А.)	605
3.2.1. Создание систем экспрессии гена <i>cry3aM</i> в растениях	606
3.2.2. Получение и молекулярно-генетический анализ трансгенных растений картофеля	609
3.2.3. Анализ инсектицидных свойств гена <i>cry3aM</i>	612
Литература	615
Глава 4. Генетическая трансформация льна-долгунца (<i>Linum usitatissimum</i> L.) (Лемеш В. А., Гузенко Е. В.)	616
4.1. Агробактериальная трансформация льна-долгунца генетической конструкцией с химерным геном <i>gfp-tua6</i>	619
4.2. Агробактериальная трансформация льна-долгунца генетической конструкцией с геном <i>aroA</i> , придающим устойчивость к гербициду глифосату	623
4.3. Биобалистическая трансформация льна-долгунца конструкцией с химерным геном <i>gfp-tua6</i>	625
4.4. Анализ линий, сформированных на основе растений – «ложных трансформантов»	629
Литература	643