

БІОТЕХНОЛОГІЯ, БІОХІМІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР

УДК 633.15:631.527

Н. Е. ВОЛКОВА, д. б. н., с. н. с., гол. наук. співроб.
СГІ–НЦНС, Одеса
E-mail: natavolki@ukr.net

МОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ В ГЕНЕТИЦІ, СЕЛЕКЦІЇ ТА НАСІННИЦТВІ БОБОВИХ КУЛЬТУР (ОГЛЯД)

Висвітлено сучасний стан молекулярно-генетичних досліджень бобових культур, наведено основні напрями використання молекулярних маркерів в їх селекції та насінництві.

Ключові слова: *геном, молекулярні маркери, бобові культури.*

Вступ. Очікується, що в 2050 році населення Земної кулі досягне 9,6 млрд людей, тому виробництво продовольства необхідно збільшити приблизно на 70 %. Багатим джерелом харчових протеїнів та інших поживних речовин є бобові культури, насіння яких зазвичай містить від 20 до 25 % протеїну. Крім того, бобові можуть фіксувати атмосферний азот за допомогою симбіотичних бактерій, знижуючи тим самим застосування штучних добрив у сільському господарстві.

Родина бобових (*Leguminosae*) налічує близько 17000 видів. Такі культури, як квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris*), нут (*Cicer arietinum*), вігна спаржева (*Vigna unguiculata*), сочевиця харчова (*Lens culinaris*), горох посівний (*Pisum sativum*), арахіс культурний (*Arachis hypogaea*), соя звичайна (*Glycine max*) та ін. відіграють важливу роль у забезпеченні продовольчої безпеки, зменшенні бідності, поліпшенні здоров'я та харчування людей, підвищенні стійкості екосистем, особливо в країнах, що розвиваються. Для України економічно важливими зернобобовими культурами є соя, горох, нут, квасоля, сочевиця. Так, на Міжнародній конференції «Потенціал української сої 2015–2020: виробництво та переробка», що проходила в рамках XXVI Міжнародної агропромислової виставки «Агро 2015» (Київ), представники асоціації «Укрсоя» повідомили, що соєвих бобів за чотири місяці на експортні ринки Україна поставила 824096 тонн на суму 331,81 млн доларів, олії — 52259 тонн на 36,91 млн доларів, макухи — 68690 тонн на 28,65 млн доларів. Імпорт сої та продуктів її переробки за цей період склав 3784 тонни на суму 5 млн 22 тис. доларів. Із них поставки з країн ЄС склали 703 тонни на 1,281 млн доларів.

Незважаючи на постійні зусилля з підвищення продуктивності, виробництво бобових культур має серйозні проблеми, зокрема з втратою прибутковості через біотичні й абіотичні фактори [1; 2]. Селекція та насінництво бобових за традиційних підходів забезпечили незначне збільшення світового виробництва протягом останніх 50 років (<http://faostat.fao.org>). Така ситуація спонукає впроваджувати в селекційний процес останні дослідження геноміки задля одержання сортів з більш високою врожайністю. Ознакоасоційовані маркери, що їх розробляють в геномних дослідженнях, після валідації в різних генетичних фонах можуть бути використані в маркерній селекції.

Донедавна для більшості бобових культур, за винятком сої та квасолі, обсяги генетичних і геномних досліджень були незначні, що обмежувало впровадження в їхню селекцію маркерних технологій. Але в останнє десятиліття з розробкою нових технологій сиквенування та генотипування перелік бобових культур, щодо яких здійснюються молекулярно-генетичні дослідження, розширився.

Мета даного огляду: узагальнити останні досягнення геноміки бобових культур, навести приклади ефективного застосування молекулярних маркерів у селекції.

Генетичне різноманіття, яке зберігається в банках зародкової плазми, є основним ресурсом для розробки молекулярних маркерів з селекційним призначенням [3]. Генетичні ресурси рослин генбанків забезпечують старт розумінню генетичного різноманіття, яке може бути використано в сучасній селекції для створення високопродуктивних та кліматостійких сортів. Важливим для нарощування можливостей удосконалення культур є як збереження та використання цих ресурсів, так і всебічне їх вивчення.

У цілому 1,1 млн зразків бобових містять глобальні генбанки, з яких у генбанку Міжнародного науково-дослідного інституту сільськогосподарських культур напівпосушливих тропіків (International Crops Research Institute for the Semi-arid Tropics, ICRISAT, Індія) — 50000 сортозразків культурних і дикорослих родичів нуту, гороху та арахісу, зібраних зі 133 країн. Ці культури «страждають» вузькою генетичною базою через ефект пляшкового горла, що пов'язаний з їхнім походженням і доместикацією [4]. Автори підкреслюють, що для ідентифікації ознакоспецифічної зародкової плазми для використання в селекційних та генетичних дослідженнях створено корові та мінікорові колекції, а також набори дикорослих зразків для привнесення стійкості до деяких шкідників і хвороб у культивовані зразки.

Різні типи молекулярних маркерів використовують для оцінки генетичного різноманіття — від уже класичних мікросателітних (simple sequence repeats, SSR) маркерів до високотехнологічних маркерів однуклеотидного поліморфізму (single nucleotide polymorphism, SNP). Так, у багатьох дослідженнях генетичного різноманіття сої показано його кількісне зменшення у культивованих форм порівняно з дикорослими ви-

дами (узагальнено в огляді [5]). Значна кількість науково-дослідних робіт присвячена вивченню різноманіття нуту [6–8], в т. ч. і вітчизняних науковців [9], гороху посівного [10], голубиного [11], вігни спаржевої [12], видів арахісу *Arachis* [13] та ін.

Поточного року опубліковано 64-сторінковий огляд [14], в якому об'єднано дані досліджень філогенетики та генетичного різноманіття з висвітленням походження, історії доместикації, існуючої зародкової плазми головних бобових культур з 13 родів шести триб — як подальшого потенціалу для науки і господарського використання.

Функціональна геноміка відіграє важливу роль в ідентифікації генів і протеїнів та визначенні механізмів, що надають стійкість до біотичних і абіотичних стресів та ін. Функціональна геноміка використовує геномні дані для пошуку генів, опису їхніх функцій та взаємодії шляхом широко-масштабних аналізів у різних умовах довкілля. Транскриптомний аналіз у бобових є відправною точкою для визначення структури, функції, активності генів і розуміння їхньої регуляції. Транскриптоміка в поєднанні з протеомікою та метаболомікою необхідна для розуміння молекулярних основ різних клітинних процесів у бобових та глобальних молекулярних змін, що відбуваються під час розвитку [15; 16].

МікроРНК (micro-RNAs, miRNAs) і малі інтерферуючі РНК (small-interfering RNAs, siRNAs) є двома основними класами малих РНК, які відіграють важливу роль у рості й розвитку рослин. В огляді [17] наведені результати останніх досліджень мікроРНК бобових та їхньої ролі в різних стресових ситуаціях. Цікаве дослідження функціональної геноміки бобових у роботі з визначення ролі ендегенного ретротранспозону *Lotus Retrotransposon 1 (LORE1)* в епігенетичних змінах у лядвенців *Lotus* [18].

На сьогодні сиквеновано геноми представників 13 видів бобових (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/#>), в т. ч. сої звичайної [19] та дикої [20], гороху голубиного [21], нуту [22]. Опубліковані результати сиквеновання геномів відкрили нові можливості функціонально охарактеризувати анотовані гени [23]. Системний підхід (геноміка, транскриптоміка, протеоміка, метаболоміка, біоінформатика) до характеристики цих генів дозволяє визначити процеси, що контролюють такі складні ознаки, як врожайність, вміст олії, склад білка, відповіді на абіотичні й біотичні стреси тощо. Так, проаналізовано гени та/або локуси кількісних ознак (*quantitative trait locus*, QTL): «якість зерна» сочевиці [24], «висота рослини» та «маса зерна» сої [25], стійкість арахісу до основних хвороб [26], посухостійкість нуту [27], стійкість нуту до збудників аскохітозу та фузаріозного в'янення [28], чутливість до фотоперіоду сої [29] та ін.

Значні досягнення фундаментальних досліджень знайшли успішне впровадження в селекцію бобових шляхом поєднання традиційних селекційних підходів з маркерними технологіями, зокрема добором за маркерами (marker assisted selection, MAS). Прикладами успішного ви-

користання підходу MAS шляхом інтрогресії головних генів та/або QTL є розробка ліній і сортів квасолі, стійких до іржі (лінія USDK-CBB-15), антракнозу (сорт Perola, лінія USPT-ANT-1 має *Co-42* ген стійкості до всіх відомих північноамериканських рас), вірусу жовтої мозаїки, плямистості листя, білої та кореневої гнилі, ліній нуту зі стійкістю до *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, сортів сої, стійких до вірусу мозаїки сої (пірамідування генів *Rsv1*, *Rsv3*, *Rsv4* в сприйнятливий сорт Essex) та ін. [30].

Близька філогенетична спорідненість бобових культур з модельними видами *Medicago truncatula* і *Lotus japonicus* сприяє «міжвидовому переносу» молекулярних маркерів від моделей до різних бобових, де прогрес у розвитку таких геномних досліджень ще повільний. Науково-дослідна робота в цьому напрямі може прискорити картування генів важливих цільових ознак, а щільно зчеплені маркери можуть бути використані шляхом MAS-підходу. Це зробить MAS-селекцію бобових культур більш широкою, корисною, ефективною та економічною.

Останні досягнення з генетики та геноміки бобових узагальнено на міжнародних заходах: VI Міжнародній конференції з дослідження харчових бобових (International Food Legume Research Conference) та VII Міжнародній конференції з генетики та геноміки бобових (International Conference Legume Genetics and Genomics), які відбулися 07–11.07.2014 р. в м. Саскатун (Канада). Місія цих конференцій — об'єднати вчених, які працюють у дослідницьких аспектах біології модельних видів бобових з залученням генетичних та геномних інструментів, з тими, хто працює в прикладних аспектах та селекції сільськогосподарських культур. Спектр обговорених фундаментальних та прикладних досліджень був дуже широкий — симбіоз та розвиток, еволюція та різноманіття, генетичні ресурси, стійкість до абіотичних та біотичних стресів, патогенез, картування, геномна селекція тощо.

Далі варто навести опис електронних ресурсів, що об'єднують результати генетико-селекційних досліджень бобових. По-перше, це Інформаційна система бобових *Legume Information System* (LIS) (<http://www.comparative-legumes.org>), мета якої полягає у забезпеченні ефективності прикладних і фундаментальних досліджень бобових шляхом поєднання різних типів даних щодо кількох культур і модельних видів. По-друге, База даних *The Cool Season Food Legume Genome Database* (<https://www.coolseasonfoodlegume.org/>) — система, яка може узагальнювати, фільтрувати та аналізувати наявні дослідження для безпосереднього застосування в селекційних програмах. Наступне — База даних *LegumeIP* (<http://plantgrn.noble.org/LegumeIP/v2/>) — інтегративна платформа для вивчення функцій генів і еволюції геномів бобових [31].

У межах Сьомої рамкової програми наукових досліджень Євросоюзу існує проект з дуже красивою музичною назвою *LEGATO Project* «LEGumes for the Agriculture of TOMorrow», який розпочато в січні 2014 року та за-

вершиться в грудні 2017-го. Проект має фінансування з 4999000 євро. LEGATO об'єднує 29 партнерів з 11 країн: Франція, Великобританія, Чехія, Іспанія, Італія, Німеччина, Сербія, Португалія, Польща, Австрія і Швеція.

Рекомендуємо кілька книжок останніх років: «Legume genomics. Methods and protocols» [32], «Legumes under environmental stress: yield, improvement and adaptations» [33], «Soybean. Molecular aspects of breeding» [34], «Soybean. Genetics and novel techniques for yield enhancement» [35]. Не варто забувати і журнал «Legume genomics and genetics» (<http://biopublisher.ca/index.php/lgg/index>), в якому рецензуються та публікуються у відкритому доступі оригінальні наукові статті в галузі геноміки і генетики бобових рослин.

Висновки. Отже, протягом останніх кількох років, зокрема завдяки новітнім технологічним розробкам в галузі сиквенування ДНК і генотипування, досягнутий значний прогрес у розвитку геноміки у головних бобових культур. І час уже селекціонерам більш широко використовувати ці ресурси для поліпшення бобових. Молоді покоління вчених селекціонерів і біотехнологів рослин усвідомлюють потенціал MAS й інших маркерних технологій та роблять їх невід'ємною частиною селекційних програм.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Varshney R. K. Agricultural biotechnology for crop improvement in a variable climate: Hope or hype? / R. K. Varshney, K. C. Bansal, P. K. Aggarwal [et al.] // Trends Plant Sci. — 2011. — Vol. 16. — P. 363–371.
2. Lake I. R. Climate change and food security: Health impacts in developed countries / I. R. Lake, L. Hooper, A. Abdelhamid [et al.] // Environ. Health Perspect. — 2012. — Vol. 120. — P. 1520–1526.
3. McCouch S. Agriculture: Feeding the future / S. McCouch, G. J. Baute, J. Braeden [et al.] // Nature. — 2013. — Vol. 499. — P. 23–24.
4. Gowda C. L. L. Exploiting genomic resources for efficient conservation and use of chickpea, groundnut, and pigeonpea collections for crop improvement / C. L. L. Gowda, H. D. Upadhyaya, S. Sharma [et al.] // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 11 p.
5. Абугалиева С. И. Генетическое разнообразие сои (*Glycine max* (L.) Merrill) / С. И. Абугалиева // Биотехнология. Теория и практика. — 2013. — № 4. — С. 13–19.
6. Datta M. Efficiency of three PCR based marker systems for detecting DNA polymorphism in *Cicer arietinum* L. and *Cajanus cajan* L. / M. Datta, N. Lal, M. Kaashyap [et al.] // Gen. Engineer. Biotech. J. — 2010. — Vol. GEBJ-5.
7. Kujur A. Functionally relevant microsatellite markers from chickpea transcription factor genes for efficient genotyping applications and trait association mapping / A. Kujur, D. Bajaj, M. S. Saxena [et al.] // DNA Res. — 2013. — Vol. 20. — P. 355–373.
8. Pakseresht F. Comparative assessment of ISSR, DAMD and SCoT markers for evaluation of genetic diversity and conservation of landrace chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes collected from north-west of Iran / F. Pakseresht, R. Talebi, E. Karami // Physiol. Mol. Biol. Plants. — 2013. — Vol. 19. — P. 563–574.

9. Акініна Г. Є. Генетична структура колекції сортів нуту за морфологічними та молекулярними маркерами / Г. Є. Акініна, В. М. Попов // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. — 2014. — Вип. 64. — С. 170–176.
10. Ahmad S. Assessment of genetic diversity in 35 *Pisum sativum* accessions using microsatellite markers / S. Ahmad, M. Singh, N. D. Lamb-Palmer [et al.] // Can. J. Plant Sci. — 2012. — Vol. 92. — P. 1075–1081.
11. Shende S. Analysis of genetic diversity in pigeon pea (*Cajanus cajan*) by using PCR based molecular marker / S. Shende, A. Raut // Recent Res. Sci. Techn. — 2013. — Vol. 5 (2). — P. 20–23.
12. Huynh B. L. Gene pools and the genetic architecture of domesticated cowpea / B. L. Huynh, T. J. Close, P. A. Roberts // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 8 p.
13. Khera P. SNP-based genetic diversity in the reference set of peanut (*Arachis spp.*) by developing and applying cost-effective KASPar genotyping assays / P. Khera, H. D. Upadhyaya, M. K. Pandey [et al.] // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 11 p.
14. Smykal P. Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding / P. Smykal, C. Coyne, M. Ambrose [et al.] // Critical Rev. Plant Sci. — 2015. — Vol. 34. — P. 43–104.
15. Garg R. Transcriptome analyses in legumes: A resource for functional genomics / R. Garg, M. Jain // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 9 p.
16. Chapman M. Transcriptome sequencing and marker development for four underutilized legumes / M. Chapman // Appl. Plant Sci. — 2015. — Vol. 3 (2). — 5 p.: 1400111.
17. Mantri N. The role of micro-ribonucleic acids in legumes with a focus on abiotic stress response / N. Mantri, N. Basker, R. Ford [et al.] // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 14 p.
18. Fukai E. Activation of an endogenous retrotransposon associated with epigenetic changes in *Lotus japonicus*: A tool for functional genomics in legumes / E. Fukai, J. Stougaard, M. Hayashi // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 11 p.
19. Schmutz J. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean / J. Schmutz, S. Cannon, J. Schlueter [et al.] // Nature. — 2010. — Vol. 463 (7278). — P. 178–183.
20. Kim M. Y. Divergence of flowering-related genes in three legume species / M. Y. Kim, Y. J. Kang, T. Lee [et al.] // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 12 p.
21. Varshney R. K. Draft genome sequence of pigeonpea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers / R. K. Varshney, W. Chen, Y. Li // Nat. Biotechnol. — 2012. — Vol. 30. — P. 83–89.
22. Varshney R. K. Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement / R. K. Varshney, C. Song, R. K. Saxena [et al.] // Nat. Biotechnol. — 2013. — Vol. 31. — P. 240–246.
23. O'Rourke J. Legume genomics: understanding biology through DNA and RNA sequencing / J. O'Rourke, Y. Bolon, B. Bucciarelli [et al.] // Annals Bot. — 2014. — Vol. 113. — P. 1107–1120.
24. Fedoruk M. J. Quantitative trait loci analysis of seed quality characteristics in lentil using single nucleotide polymorphism markers / M. J. Fedoruk, A. Vandenberg, K. E. Bett // Plant Gen. — 2013. — Vol. 6, N 3. — 10 p.

25. Liu Y. Identification of quantitative trait loci underlying plant height and seed weight in soybean / Y. Liu, Y. Li, J. C. Reif [et al.] // *Plant Gen.* — 2013. — Vol. 6, N 3. — 11 p.
26. Wang H. Genetic mapping and quantitative trait loci analysis for disease resistance using F2 and F5 generation-based genetic maps derived from 'Tifrunner' × 'GT-C20' in peanut / H. Wang, M. K. Pandey, L. Qiao [et al.] // *Plant Gen.* — 2013. — Vol. 6, N 3. — 10 p.
27. Varshney R. Legume genomics: from genomic resources to molecular breeding / R. Varshney, M. Roorkiwal, H. Nguyen // *Plant Gen.* — 2013. — Vol. 6, N 3. — 7 p.
28. Sabbavarapu M. Molecular mapping of QTLs for resistance to *Fusarium* wilt (race 1) and *Ascochyta* blight in chickpea (*Cicer arietinum* L.) Murali / M. Sabbavarapu, M. Sharma, S. Chamarthi [et al.] // *Euphytica.* — 2013. — Vol. 193. — P. 121–133.
29. Watanabe S. Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean / S. Watanabe, K. Harada, J. Abe // *Breed Sci.* — 2012. — Vol. 61 (5). — P. 531–543.
30. Kumar J. Towards marker-assisted selection in pulses: a review / J. Kumar, A. Choudhary, R. Solanki [et al.] // *Plant Breed.* — 2011. — Vol. 130. — P. 297–313.
31. Dai J. LegumeIP: an integrative database for comparative genomics and transcriptomics of model legumes / J. Dai, T. Liu, P. Zhao // *Nucleic Acids Res.* — 2012. — Vol. 40 (Database issue): D1221–D1229.
32. Legume genomics. Methods and protocols / R. Rose (Ed.). — Humana Press, 2013. — 316 p.
33. Legumes under environmental stress: yield, improvement and adaptations / P. Ahmad (Ed.). — Wiley-Blackwell, 2015. — 328 p.
34. Soybean. Molecular aspects of breeding / A. Sudaric (Ed.). — In Tech, 2011. — 514 p.
35. Soybean. Genetics and novel techniques for yield enhancement / D. Krezhova (Ed.). — 2011. — 326 p.

Надійшла 16.06.2015.

UDC 633.15:631.527

Volkova N. E. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

MOLECULAR MARKERS IN GENETICS, BREEDING AND SEED PRODUCTION OF LEGUMES (REVIEW)

The modern results of legumes genomics and development of molecular markers of agronomically important target traits genes / loci were summarized. It is shown that significant achievements of basic research have the successful introduction to legumes breeding by combining traditional breeding approaches with marker technology, in particular the marker assisted selection.

УДК 633.15:631.527

Волкова Н. Э.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ГЕНЕТИКЕ, СЕЛЕКЦИИ,
И СЕМЕНОВОДСТВЕ БОБОВЫХ КУЛЬТУР (ОБЗОР)**

Обобщены современные результаты по геномике бобовых культур и разработке молекулярных маркеров генов / локусов агрономически важных целевых признаков. Показано, что значительные достижения фундаментальных исследований нашли успешное применение в селекции бобовых путем сочетания традиционных селекционных подходов с маркерными технологиями, в частности отбором по маркерам.