

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЦР АМПЛИФИКАЦИИ – IRAP и iPBS МЕТОДОВ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СОРТОВ ПШЕНИЦЫ

Д.С. Тагиманова, А.Ж. Альжанова, О.Н. Хапилина, Р.Н. Календарь

*Национальный центр биотехнологии, ул. Ш. Валиханова, 13/1, Астана, 010000, Казахстан  
tagds@mail.ru*

### АБСТРАКТ

Повышение эффективности селекционного процесса в настоящее время в значительной мере достигается при помощи молекулярных маркеров. Такой подход к анализу селекционного материала позволяет на ранних сроках селекции выявить изменчивость на генетическом уровне, отобрать варианты селекционных линий с необходимыми признаками по анализу ДНК растений. Методы молекулярного маркирования открывают широкие возможности для повышения эффективности селекции, решения проблем соматической изменчивости.

Молекулярные маркеры позволяют выявить молекулярно-генетические изменения, на тканевом уровне индивидуальных растений, так и на клеточном уровне. Каждый тип молекулярных маркеров имеет свои особенности, ограничения и область применения, которые необходимо учитывать при выборе наиболее надежных и простых методов генетической паспортизации сортов пшеницы.

Молекулярные маркеры сегодня широко используются для оценки внутривидового разнообразия растений, позволяют идентифицировать сорта, виды растений, помогают закрепить авторские права селекционеров, позволяют изучать филогенетические взаимоотношения. Многие молекулярные маркеры являются высокоинформативными, хорошо воспроизводятся, надежны при установлении индивидуальных особенностей генотипа.

Подбор молекулярно-генетических маркеров для создания генетического паспорта, выяснения генеалогических взаимоотношений между сортами, а также маркирования главных генов хозяйственно ценных признаков является актуальной задачей селекции культурных растений.

Ключевые слова: пшеница, молекулярные маркеры на основе ретротранспозонов, полиморфизм, ДНК, амплификация, праймер.

### USE IRAP AND IPBS MOLECULAR MARKERS FOR GENETIC ANALYSIS OF WHEAT VARIETIES

Tagimanova D.S., Alzhanova A., Khapilina O.N., Kalendar R.N.

*National Center for Biotechnology, 13/1 Sh. Valikhanov str., Astana, 010000, Kazakhstan*

### ABSTRACT

Improving the efficiency of the breeding process is now greatly achieved by using molecular markers. Such an approach to the analysis of the breeding material allows the early stages breeding to identify variation at the genetic level, to select variants breeding lines with the necessary features to analyze the DNA of plants. Methods of molecular marking offer great opportunities to improve the efficiency of the breeding, problem solving somaclonal variability.

Molecular markers can detect molecular genetic changes in the tissue level of individual plants, and at the cellular level. Each type of molecular markers has its own features, limitations and field of application that must be considered when choosing the most reliable and simple methods of genetic certification of wheat varieties.

Molecular markers are now widely used to assess the intraspecific diversity of plants, allow the identification of varieties, species, help secure copyrights breeders allow to study the phylogenetic relationships. Many molecular markers are highly informative, well-reproduced, reliable in determining the individual characteristics of the genotype.

Selection of molecular genetic markers to create a genetic passport, determine the genealogical relationships between varieties, as well as marking the major genes of agronomic traits is an urgent task breeding of crop plants.

**Keywords:** wheat, retrotransposons molecular markers, polymorphisms, DNA, amplification, primer.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Необходимость сохранения и рационального использования всего многообразия мировых генетических ресурсов стала как никогда ранее насущной. Кроме того, необходимо создание приоритетных планов и мероприятий, которые могут защитить и использовать имеющуюся у нас широкую гамму разнообразных генетических ресурсов, обеспечивая при этом устойчивый приток улучшенных сортов, задействуя их лучшие свойства для повышения качества продовольствия в объемах, позволяющих удовлетворять быстро растущие потребности. В мире, стоящем перед лицом множества проблем, именно это является основой продовольственной безопасности. В то же время ресурсной базе угрожают глобальное потепление и изменение климата, сокращение земельных угодий и водных ресурсов, деградация окружающей среды. Продолжающаяся утрата разнообразных генетических ресурсов растений, пригодных для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства, существенно сокращает имеющиеся у нас варианты действий, равно как и возможности будущих поколений адаптироваться к этим изменениям и обеспечить продовольственную безопасность, экономическое развитие и мир на Земле.

Эффективность селекции на урожайность, устойчивость к неблагоприятным условиям и повышения качества пищевых продуктов для здорового питания, определяется многими факторами, среди которых решающее значение имеют генетические ресурсы (*germplasm*). Чем больше и разнообразнее источники устойчивости включаются в селекцию, тем больше возникает возможностей получить совершенно новые формы растений с обогащенным генофондом. Особое значение имеет источник повышения качества пищевых продуктов для здорового питания и устойчивость к неблагоприятным условиям. В этом плане наиболее надежными являются дикие сородичи культурных растений, о чем писал Н.И. Вавилов еще в 1935 г [1, 2]. Биологическое разнообразие видов семейства *Poaceae*, обладающих полезными генами для твердой и мягкой пшениц, охватывает виды рода *Triticum* L., *Aegilops* L., *Agropyron* Gaertn., *Secale* L. и *Hordeum* L. Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) – одна из древнейших культур, используемых человеком и постоянно подвергаемых искусственному отбору.

Пшеница является основной зерновой культурой для 35% населения земного шара, под посевами которой занято 216 млн. га. Исследование генетического разнообразия сортов пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) может предоставить существенную информацию относительно ее потенциала в селекционных целях [3, 4].

Проблема сохранения биологического разнообразия на уровне генов является весьма актуальной. Одной из первостепенных задач является выбор подходов, технологий и критериев оценки генетического разнообразия. К приоритетным направлениям науки относится развитие технологий анализа геномов растений. Ежегодно селекционными учреждениями создаются и передаются для коммерческого использования сотни новых сортов. Генетическая паспортизация представляет собой метод получения генетически детерминированных характеристик с помощью морфологических или молекулярных маркеров. На сегодняшний день проведение генетической паспортизации считается актуальной задачей современной селекции.

В мировой практике для индивидуальной паспортизации объектов сельского хозяйства используют преимущественно ДНК-маркеры [5]. Молекулярные маркеры отличаются высоким уровнем полиморфизма между сортами и могут эффективно использоваться для оценки общих генетических характеристик [6, 7].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала исследований были использованы сортообразцы из питомника КАСИБ-12, предоставленные представительством CIMMYT (<http://www.cimmyt.cgiar.org/research/wheat/>) в Казахстане; а также генетически отдаленные линии твердой пшеницы (*Triticum durum*), приобретенные из генетической коллекции USDA (<http://wheat.pw.usda.gov/>).

ДНК выделяли из 3-дневных проростков пшеницы, методом с использованием кислого лизирующего СТАВ буфера с РНКазой А, по протоколу компании PrimerDigital (<http://primerdigital.com/dna.html>). Экстрагированную ДНК растворяли в 100 мкл 1xTE-буфера (1 mM ЭДТА, 10 mM Tris-HCl, pH 8,0).

Качественные и количественные показатели ДНК определяли с использованием гелелектрофореза и спектрофотометра NanoDrop (Thermo Scientific).

Молекулярно-генетический анализ сортов был проведен с использованием LTR праймеров в методе IRAP (Inter Retrotransposone Amplified Polymorphism) и REMAP (Retrotransposone Microsatellite Amplified Polymorphism) [8, 9]. Для проведения амплификации использовали реакционную смесь для ПЦР следующего состава:

ДНК 25 нг, ПЦР буфер (2 mM MgSO<sub>4</sub>; 10 mM KCl; 10 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 20 mM Tris-HCl, pH 8,8), 0,5-1 мкМ праймеров, 200 mM dNTP и 1 U Dream-Taq ДНК полимеразы (Thermo Scientific).

Режим амплификации был следующим: предварительная денатурация при 95°C в течение 3 минут, затем 32 циклов: 95°C – 30 с, 50°-65°C – 30 с, 72°C – 1 минута, 72°C – 5 минут. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров варьировалась от 50° до 65°C (таблица 1). Амплификацию проводили в амплификаторе «Varo Pronex» (Eppendorf). Полученные продукты амплификации (ампликоны) визуализировали в 1,5% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Размеры молекул, анализируемых образцов ДНК определяли путем сопоставления их электрофоретической подвижности в геле с подвижностью маркеров – фрагмент ДНК известной молекулярной массы. В качестве маркера молекулярных масс использовали Thermo Scientific GeneRuler DNA Ladder Mix (100-10,000 bp). Определение длин фрагментов проводили с использованием программы Quantity One в системе геле-документации ChemiDoc-It®TS2 Imager (UVP).

Уровень детектируемого полиморфизма определяли отношением (%) полиморфных ампликонов к общему числу ампликонов для каждого праймера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ежегодно селекционными учреждениями создаются и передаются для коммерческого использования сотни новых сортов. На сегодняшний день проведение генетической паспортизации считается актуальной задачей современной селекции. Генетическая паспортизация представляет собой метод получения генетически детерминированных характеристик с помощью морфологических или молекулярных маркеров.

Генетические различия между различными организмами наиболее полно представлены на уровне ДНК. С помощью современных молекулярных методов эти различия можно обнаружить и использовать для идентификации отдельных сортов, линий и форм сельскохозяйственных растений. Методы, основанные на использовании ДНК-маркеров, обладают рядом преимуществ по сравнению с другими методами идентификации. Они позволяют в значительно большей степени выявить различия между исследуемыми образцами [5].

Начальным этапом для любого молекулярно-генетического исследования является этап выделения ДНК. Для этого используются различные методы экстракции геномной

DOI: 10.11134/btp.4.2014.4

ДНК пшеницы, но все они направлены на достижение одной цели – выделенные препараты ДНК должны отвечать основным качественным и количественным критериям, также должны отличаться простотой и дешевизной методики [10]. Для выделения ДНК использовали СТАВ-метод, поскольку при использовании данного метода происходит 100% выделение ДНК из всех генотипов и соотношение A260/280 соответствует количеству, которое необходимо при постановке ПЦР реакции.

На следующем этапе исследований была поставлена задача выбора эффективных ПЦР методов для выявления молекулярных маркеров, которые позволят выявить высокий уровень полиморфизма ДНК, получить четко воспроизводимые результаты [8].

Нами был проведен анализ полиморфизма продуктов IRAP амплификации ДНК линий яровой мягкой пшеницы с наиболее информативными LTR праймерами (таблица 1) для ретротранспозонов: Sukkula, Nikita, Wis, Wilma и Daniela, и в комбинации с микросателлитными праймерами (REMAP): 944+8082, 944+8081, 944+679, 679+8082, которые были использованы для генетического анализа растений пшеницы, ячменя и других злаковых культур [8].

Данные праймеры были использованы для выявления полиморфизма сортов у злаков культур, пасленовых и у других важных сельскохозяйственных видов [11, 12, 13].

При проведении IRAP анализа были использованы праймеры комплементарные LTR (длинных концевых фрагментов) ретротранспозонов, при REMAP анализе использовали в качестве одного из праймеров микросателлитный повтор, а другой участок фланкировался праймером к длинному концевому фрагменту ретротранспозона.

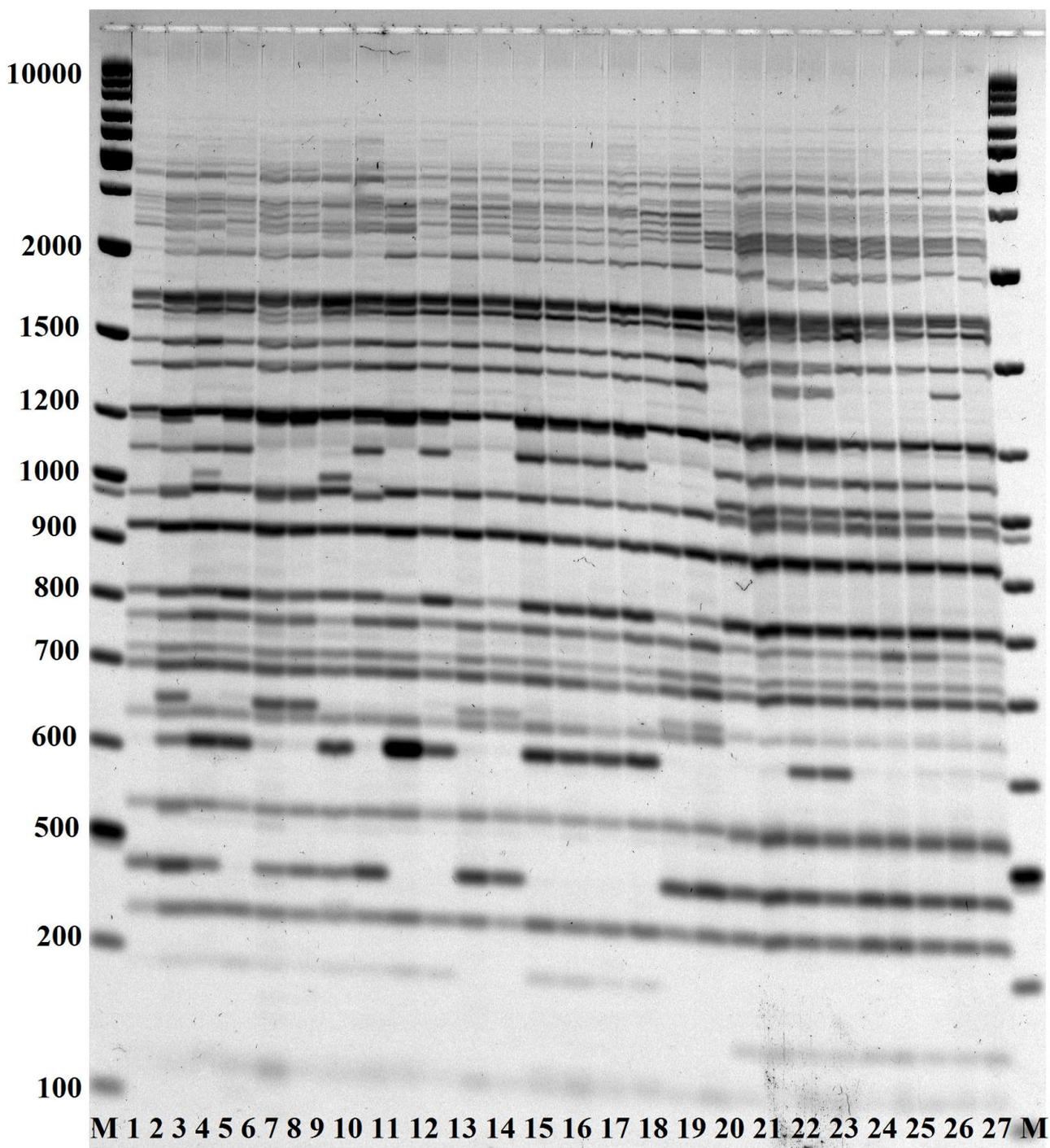
Использование IRAP, REMAP маркеров позволяет получать простые, хорошо воспроизводимые спектры продуктов амплификации, удобные для их применения.

В результате проведенных исследований было установлено, что для проведения анализа полиморфизма ДНК пшеницы наиболее информативными праймерами являются iPBS праймеры 2090, 2095, 2089, а также все LTR праймеры для исследуемых ретротранспозонов, уровень детектируемого полиморфизма при использовании которых составляет от 45 до 60%.

С данными праймерами провели амплификацию генотипов различных сортов и гибридов мягкой пшеницы из питомника КАСИБ-12.

При проведении амплификации с iPBS (inter PBS amplification) праймером 2089 общее количество ампликонов составило 22, из которых 21 были полиморфными, уровень детектируемого полиморфизма составил 95%.

Проведенные нами исследования с использованием Sukkula LTR праймера 679, позволили выявить варианты полиморфизма между генотипами (рисунок 1).



М – маркер молекулярной массы Thermo Scientific GeneRuler DNA Ladder Mix (100-10,000 bp), (1 kb); 1-27 – сорта яровой мягкой пшеницы из питомника КАСИБ

**Рис. 1.** Электрофорез продуктов IRAP амплификации ДНК с Sukkula LTR праймером 679

М – molecular weight marker Thermo Scientific GeneRuler DNA Ladder Mix (100-10,000 bp), (1 kb); 1-27 – varieties of spring wheat nursery KASIB

**Fig. 1.** Electrophoresis of DNA amplification products IRAP with Sukkula LTR primer 679

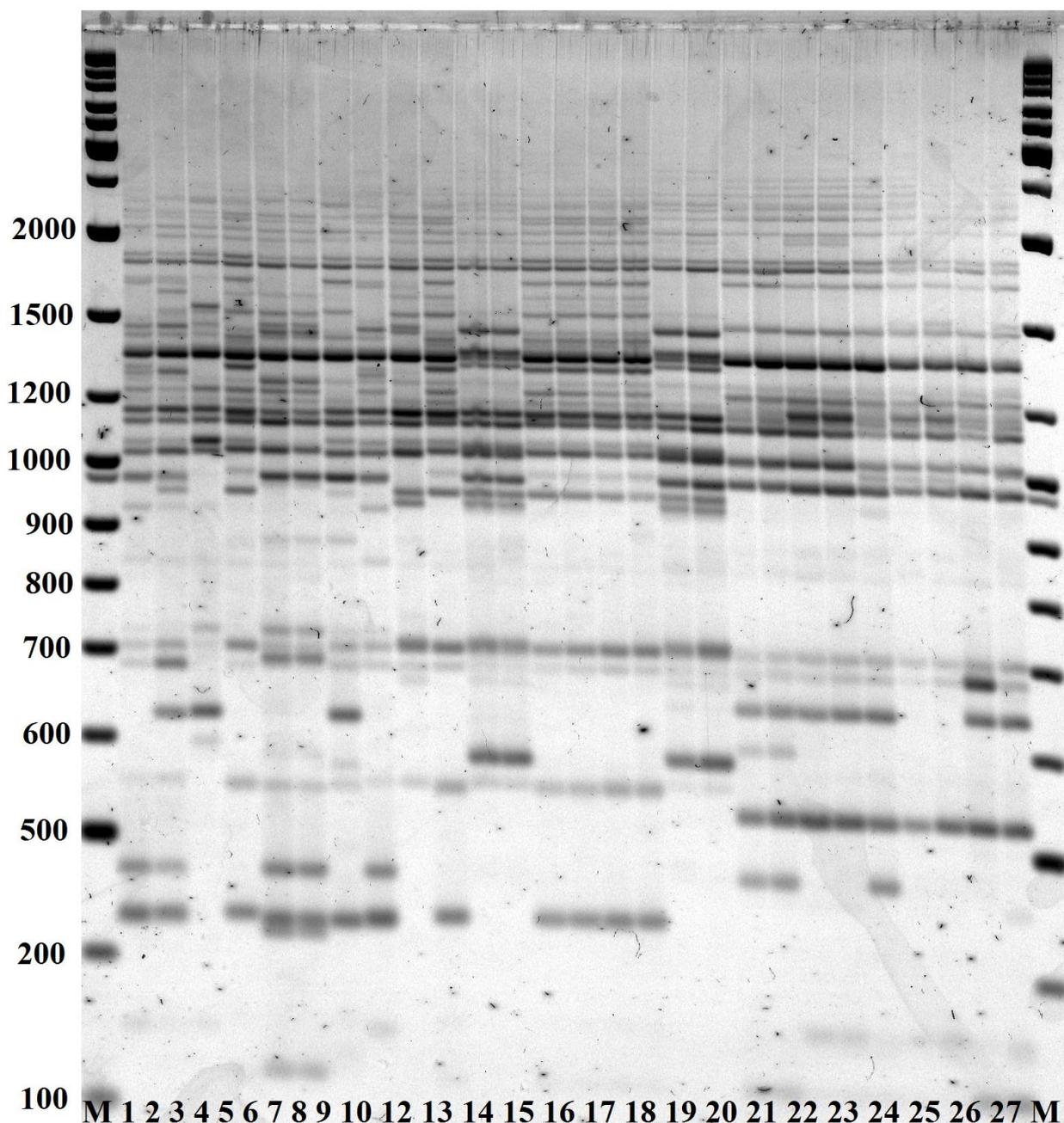
В спектрах ампликонов исследуемых форм имелись блоки размером от 200 до 3000 п.о., с различной плотностью распределенные между спектрами генотипов. Общее

DOI: 10.11134/btp.4.2014.4

количество ампликонов составило 18, из которых 10 были полиморфными, уровень детектируемого полиморфизма составил 55,5%.

На рисунке 2 показана электрофореграмма продуктов ПЦР, полученных с использованием WIS LTR праймером 2105 для линий яровой мягкой пшеницы.

Все изученные генотипы различались между собой по рисунку выявленных спектров, уровень детектируемого полиморфизма составил 92,6%, общее количество ампликонов 27, из которых 25 были полиморфными.



М – Маркер Thermo Scientific GeneRuler DNA Ladder Mix (100-10,000 bp); 1-27 – сорта яровой мягкой пшеницы из питомника КАСИБ

Рис. 2. Электрофорез продуктов амплификации ДНК с WIS LTR праймером 2105

M – Marker Thermo Scientific GeneRuler DNA Ladder Mix (100-10,000 bp); 1-27 – varieties of spring wheat nursery KASIB

**Fig. 2.** Electrophoresis of DNA amplification products with WIS LTR primer 2105

В результате проведенных исследований в спектрах ампликонов у всех исследованных сортов выявили индивидуальные особенности, связанные с присутствием/отсутствием отдельных фрагментов ДНК. По результатам проведенных исследований установлено, что использование в качестве праймеров к длинным концевым последовательностям ретротранспозонов позволяет получать относительно простые, хорошо воспроизводимые спектры продуктов амплификации, удобные для их применения при сортовой и внутрисортовой идентификации генотипов пшеницы (таблица 1).

При сравнении различных методов, используемых при проведении генотипирования, становится очевидным преимущество IRAP (универсальными праймерами) и iPBS анализа.

**Таблица 1.** Последовательность праймеров, используемых в работе

**Table 1.** Sequence of the primers used in work

ID	Последовательность Sequence	Источник Source	Длина (нк.) Length (nt)	Наименование раздела T <sub>m</sub> (°C) * Name of section	Эффективность (% полиморфных полос) Efficiency (% polymorphic bands)
679	GGGTCGCATATTGGGCGTGAC	Sukkula, LTR	23	55.4	50
944	AAGAAGTGCSTATGGACAAATCC	Nikita, LTR	23	55.4	50
554	ССААСТАГАГГСТТГСТАГГГАС	Wis2, LTR	23	60.0	30
833	TGATCCCCTACACTTGTGGGTCA	Wilma, LTR	23	59.2	40
2105	АСТСАТАГАТГГГАТСТТГГТГА	Wis2, LTR	23	54.6	45
2109	ТАСССТАСТТТАГТАСАССГАСА	Daniela, LTR	24	56.0	45
2089	ССТТТГАТАССА	iPBS	12	34.2	50
2090	ААТТТГАТАССА	iPBS	12	29.1	50
2095	ГСТСГГАТАССА	iPBS	12	42.1	55
8081	GAGAGAGAGAGAGAGAGAC	ISSR, (GA) <sub>9</sub> C	19	50.6	40
8082	СТСТСТСТСТСТСТСТСТГ	ISSR, (CT) <sub>9</sub> G	19	50.6	40
* концентрация 200 нМ [14] * concentration 200nM [14]					

Результаты проведенных исследований подтвердили возможность использования IRAP метода для оценки генетического разнообразия различных сортов мягкой пшеницы. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что данный тип маркеров является удобным и оптимальным вариантом для выявления межсортовых различий.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, для выявления индивидуальных особенностей в геноме необходимым является создание надежной системы молекулярно-генетических маркеров, выявляющих и отражающих эти особенности. Маркерные системы, основанные на полиморфизме фрагментов ДНК, в значительной степени соответствуют предъявляемым требованиям. Они позволяют проанализировать генетические особенности представителей данного вида, обеспечить точное описание генетического материала.

Использование в качестве праймеров к длинным концевым последовательностям ретротранспозонов позволяет получать относительно простые, хорошо воспроизводимые спектры продуктов амплификации, удобные для их применения при сортовой и внутрисортовой идентификации генотипов пшеницы.

Методы геномного фингерпринтинга с использованием ретротранспозонов позволяют выявить тонкие изменения в геноме, позволяющие выявить генетическую оригинальность соматоклональных вариантов пшеницы, что позволит закрепить права биотехнологов и селекционеров на создаваемый методами биотехнологии и генетической инженерии исходный материал.

В результате проведенных исследований в спектрах ампликонов у всех исследованных сортов выявили индивидуальные особенности, связанные с присутствием/отсутствием отдельных фрагментов ДНК. По результатам амплификации было установлено, что наиболее четко детектируемые ампликоны наблюдали при использовании iPBS праймеров 2095, 2089 и со всеми LTR праймерами из ретротранспозонов пшеницы, а также в комбинации LTR праймера с микросателлитным: 679+8082, 944+8082, 944+8081.

## **Финансирование**

Исследование проводилось при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках Межгосударственной целевой программы ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» по проекту «Генетическая паспортизация сортов пшеницы с использованием современных ДНК-маркеров».

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1958. – Т. 33, №1. – С. 133-140.
2. Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы. – Сельхозгиз. – 1935. – Т. 1.2.
3. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division: Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division, 2014. URL: [http://faostat3.fao.org/browse/Q/\\*/E](http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E).
4. Kalendar R., Glazko V. Types of molecular-genetic markers and their application // Physiology and Biochemistry of cultural plants. – 2002. – Vol. 34, №4. – P. 279-296.

5. Kalendar R. The use of retrotransposon-based molecular markers to analyze genetic diversity // *Ratarstvo i povrtarstvo*. – 2011. – Vol. 48, №2. – P. 261-274.

6. Kalendar R., Flavell A.J., Ellis T.H. et al. Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers // *Heredity*. – 2011. – Vol. 106, №4. – P. 520-30.

7. Boronnikova S.V., Kalendar R.N. Using IRAP markers for analysis of genetic variability in populations of resource and rare species of plants // *Russian Journal of Genetics*. – 2010. – Vol. 46, №1. – P. 36-42.

8. Kalendar R., Schulman A.H. Transposon-based tagging: IRAP, REMAP, and iPBS // *Methods Mol Biol*. – 2014. – Vol. 1115. – P. 233-55.

9. Kalendar R., Schulman A. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. // *Nature Protocols*. – 2006. – Vol. 1, №5. – P. 2478-2484.

10. Brik A.F., Kalendar R.N., Stratula O.P., et al. IRAP-and REMAP-analyses of barley varieties of Odessa breeding // *Cytology and Genetics*. – 2006. – Vol. 40, №3. – P. 24-33.

11. Balážová Z.T., Gálová Z., Kalendar R., Schulman A.H., Stratula O., Chňapek M. Genetic diversity of triticale cultivars based on microsatellite and retrotransposon-based markers // *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. – 2014. – Vol. 3, №2. – P. 58-60.

12. Trebichalsky A K.R., Schulman A, Stratula O, Galova Z, Balazova Z, Chnapek M. Detection of genetic relationships among spring and winter Triticale (x Triticosecale Witt.) and rye cultivars (*Secale cereale* L.) by using retrotransposon-based markers // *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. – 2013. – Vol. 49, №4. – P. 171-174.

13. Leigh F., Kalendar R., Lea V., et al. Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques // *Molecular Genetics and Genomics*. – 2003. – Vol. 269, №4. – P. 464-474.

14. Kalendar R., Lee D., Schulman A. FastPCR Software for PCR, In Silico PCR, and Oligonucleotide Assembly and Analysis // *DNA Cloning and Assembly Methods T*. 1116. Valla S., Lale R.: Humana Press, 2014. – P. 271-302.

## REFERENCES

1. Trudi po prikladnoi botanice, genetice i seleksii [Bulletin of applied botany, genetics and breeding], 1958, vol. 33, no 1, pp. 133-140.

2. Vavilov N.I. Nauchn osnov seleksii pshenisi [Scientific bases of wheat breeding], Agricultural pub, 1935, vol. 1.2

3. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division: Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division, 2014. URL: [http://faostat3.fao.org/browse/Q/\\*/E](http://faostat3.fao.org/browse/Q/*/E).

4. Kalendar R., Glazko V. Types of molecular-genetic markers and their application. *Physiology and Biochemistry of cultural plants*, 2002, vol. 34, no. 4, pp. 279-296.

5. Kalendar R. The use of retrotransposon-based molecular markers to analyze genetic diversity. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 2011, vol. 48, no. 2, pp. 261-274. DOI: 10.5937/ratpov1102261K.

6. Kalendar R., Flavell A.J., Ellis T.H., et al. Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers. *Heredity*, 2011, vol. 106, no. 4, pp. 520-30. DOI: 10.1038/hdy.2010.93.

7. Boronnikova S.V., Kalendar R.N. Using IRAP markers for analysis of genetic variability in populations of resource and rare species of plants. *Russian Journal of Genetics*, 2010, vol. 46, no. 1, pp. 36-42. PMID:20198878.

8. Kalendar R., Schulman A.H. Transposon-based tagging: IRAP, REMAP, and iPBS. *Methods Mol Biol*, 2014, vol. 1115, pp. 233-55. doi: 10.1007/978-1-62703-767-9\_12.

9. Kalendar R., Schulman A. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*, 2006, vol. 1, no 5. pp. 2478-2484. PMID: 17406494.

10. Brik A.F., Kalendar R.N., Stratula O.P., et al. IRAP-and REMAP-analyses of barley varieties of Odessa breeding. *Cytology and Genetics*, 2006, vol. 40, no. 3, pp. 24-33. PubMed ID 16933849.

11. Balážová Z.T., Gálová Z., Kalendar R., Schulman A.H., Stratula O., Chňapek M. Genetic diversity of triticale cultivars based on microsatellite and retrotransposon-based markers. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 58-60.

12. Trebichalsky A. K.R., Schulman A., Stratula O., Galova Z., Balazova Z., Chnapek M. Detection of genetic relationships among spring and winter Triticale (x Triticosecale Witt.) and rye cultivars (*Secale cereale* L.) by using retrotransposon-based marker. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 2013, vol. 49, no. 4, pp. 171-174.

13. Leigh F., Kalendar R., Lea V., et al. Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques. *Molecular Genetics and Genomics*, 2003, vol. 269, no. 4, pp. 464-474. DOI 10.1007/s00438-003-0850-2.

14. Kalendar R., Lee D., Schulman A. FastPCR Software for PCR, In Silico PCR, and Oligonucleotide Assembly and Analysis, DNA Cloning and Assembly Methods V. 1116. Valla S., Lale R.: Humana Press, 2014, pp. 271-302. DOI: 10.1016/j.ygeno.2011.04.009.

## ТҮЙІН

Қазіргі уақытта селекциялық процестің тиімділігін арттыру айтарлықтай деңгейде молекулалық маркерлердің көмегімен жүзеге асырылады. Селекцияның ерте кезеңдерінде селекциялық материалды талдаудың мұндай әдісін пайдалану генетикалық деңгейдегі өзгерістерді анықтауға, өсімдіктердің ДНҚ анализі бойынша қажетті белгілері бар селекциялық сорттармақтардың нұсқаларын сұрыптап алуға мүмкіндік береді. Молекулалық таңбалау әдістері селекция тиімділігін арттыруда, соматоклоналды өзгергіштік проблемаларын шешуде кең мүмкіндіктер ашады.

Молекулалық маркерлер жеке өсімдіктердің ұлпа және жасуша деңгейіндегі молекулалық-генетикалық өзгерістерін анықтауға мүмкіндік береді. Молекулалық маркерлердің әрбір түрінің өз ерекшеліктері, шектеулері мен қолданылу аясы болады, ол ерекшеліктерді бидай сорттарын генетикалық паспорттандырудың неғұрлым қарапайым әрі сенімді әдістерін таңдау кезінде ескеру қажет.

Молекулалық маркерлер өсімдіктердің түрішілік әр түрлілігін бағалау үшін пайдаланылады, өсімдіктер түрлерін, сорттарын сәйкестендіруге, селекционерлердің авторлық құқықтарын бекітуге, филогенетикалық өзара қатынастарды зерттеуге мүмкіндік береді. Көптеген молекулалық маркерлер жоғарғы ақпаратты болып табылады, қайта жаңғыртылуы жақсы, генотиптің жеке ерекшеліктерін анықтау кезінде сенімді.

Генетикалық паспорт жасау, сорттар арасындағы генеалогиялық өзара қатынастарды анықтау, сондай-ақ шаруашылық жағынан құнды белгілердің басты гендерін таңбалау үшін молекулалық-генетикалық маркерлер таңдау өсімдіктер дақылдары селекциясының өзекті міндеті болып табылады.

**Келтгі сөздер:** бидай, ретротранспозондар негізіндегі молекулалық маркерлер, полиморфизм, ДНҚ, амплификация, праймер.