

Ю.К. Гончарова

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ РИСА

Монография

RU
science
RU-SCIENCE.COM

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РИСА

Ю.К. Гончарова

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ
МАРКИРОВАНИЕ
В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ
НА ПРИМЕРЕ РИСА**

Монография

RU
Science
RU-SCIENCE.COM

Москва
2020

УДК 631.527
ББК 41.3
Г65

Рецензенты:

Е.М. Харитонов, ФГБНУ ВНИИ риса, академик РАН,
В.В. Волгин, ФГБНУ ВНИИМК, д-р сельхоз. наук

Гончарова, Юлия Константиновна.

Г65

Молекулярное маркирование в селекции растений на примере риса : монография / Ю.К. Гончарова. — Москва : РУСАЙНС, 2020. — 202 с.

ISBN 978-5-4365-4133-4

В книге приведены результаты исследований по изучению наследования и полиморфизма ряда признаков образцов риса, разработке методов фиксирования комплексов генов, определяющих гетерозисный эффект. Оригинальность предлагаемого труда состоит в синтезе данных ранее опубликованных монографий, описывающих различные типы маркеров, методики постановки и анализа результатов ПЦР, выделения ДНК, вопросы, возникающие при постановке мультиплексной ПЦР. Обобщен большой фактический материал, полученный в разных лабораториях мира по полиморфизму и наследованию ряда физиологических признаков, определяющих гетерозисный эффект, локализации генов, определяющих адаптивность и продуктивность риса. Рассматриваются локусы, определяющие: качество зерна риса, скорость роста, адаптивность к засолению в различные фазы развития, недостатку азота и фосфора в минеральном питании, эффективность фотосинтеза. Приведены данные по локализации хромосомных регионов, определяющих ранее перечисленные признаки у отечественных сортов риса. Описаны другие возможности применения молекулярного маркирования в селекции, среди которых: закрепление гетерозисного эффекта (методики фиксирования комплексов генов, определяющих гетерозисный эффект), повышение продуктивности межподвидовых гибридов, корректное отнесение образцов к подвидам.

Книга рассчитана на генетиков, селекционеров, физиологов, студентов вузов биологических и сельскохозяйственных специальностей.

УДК 631.527
ББК 41.3

ISBN 978-5-4365-4133-4

© Гончарова Ю.К., 2020
© ООО «РУСАЙНС», 2020

Оглавление

1. Молекулярно-генетические маркеры	7
1.1. Типы генетических маркеров и методы их анализа	9
1.1.1. Полиморфизм выявляемый при рестрикции геномной ДНК.....	9
1.1.1.1. RFLP – полиморфизм длин рестриктивных фрагментов	9
1.1.1.2. ДНК-фингерпринт	10
1.1.2. Методы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР).....	11
1.1.2.1. STS-маркеры (sequence tagged site).....	11
1.1.2.2. STR (short tandem repeat) или SSR (simple sequence «repeat) микросателлиты	12
1.1.2.3. SSCP маркеры (simple sequence length polymorphism), полиморфизм длин простых повторяющихся последовательностей.....	13
1.1.2.4. ДНК-маркеры на основе рестрикционного анализа продуктов амплификации ПЦР-ПДРФ	13
1.1.2.5. Полиморфизм одиночных замен SNPs.....	14
1.1.2.6. Метод SSCP анализа конформационного полиморфизма ДНК (SSCP – Single-Strand Conformation Polymorphism).....	14
1.1.2.7. Интер – Alu ПЦР. (SINE, short interspersed repeats)	15
1.1.2.8. Группа ДНК-маркеров, полученных с использованием ПЦР, основанные на применении праймеров с произвольной последовательностью нуклеотидов («случайные праймеры»).....	15
1.1.2.9. RAPD-маркеры (randomly amplified polymorphic DNA), случайно амплифицированные полиморфные участки ДНК.....	16
1.1.2.10. CAPS – маркеры (cleaved amplified polymorphic sequences), рестрикционный анализ амплифицированных последовательностей	18
1.1.2.11. AFLP – маркеры (amplified restriction fragment length polymorphisms), полиморфизм амплифицированных фрагментов рестрикции	19
2. Молекулярные маркеры, сцепленные с признаками, определяющими адаптивность и продуктивность риса	21
2.1. Локализация хромосомных регионов определяющих эффективность фотосинтеза у сортов риса.....	21

2.1.1. Актуальность исследования фотосинтетических показателей отдельного листа	21
2.1.2. Молекулярное маркирование признаков определяющих эффективность фотосинтеза	22
2.1.3. Молекулярное маркирование признаков определяющих эффективность фотосинтеза у отечественных сортов риса	24
2.2. Молекулярное маркирование признака «высокие темпы роста на начальных этапах развития» у российских сортов риса	36
2.2.1. Актуальность изучения признака «высокие темпы роста на начальных этапах развития»	36
2.2.2. Молекулярное маркирование признака «высокие темпы роста на начальных этапах развития» у зарубежных образцов риса	37
2.2.3. Молекулярное маркирование признака «высокие темпы роста на начальных этапах развития» у российских сортов риса	42
Заключение	48
2.3. Молекулярное маркирование признака «эффективность использования удобрений»	48
2.3.1. Эффективность использования удобрений	48
2.3.2. Генотипические различия по эффективности поглощения элементов минерального питания	51
2.3.3. QTL (локусы количественных признаков), определяющие толерантность к дефициту азота	53
2.3.4. QTL, определяющие толерантность к дефициту фосфора	59
2.3.5. Полиморфизм российских и зарубежных сортов по маркерам, сцепленным с генами, определяющими эффективное использование фосфора	60
2.4. Молекулярное маркирование признака «устойчивость к засолению» у образцов риса	64
2.4.1. Актуальность селекции на адаптивность к засолению	64
2.4.2. Генотипические различия по устойчивости к засолению, механизм формирования устойчивости	65
2.4.3. QTL, определяющие устойчивости к засолению в фазу проростков	68
2.4.4. QTL, определяющие устойчивости к засолению в репродуктивную фазу	71

2.4.5. Хромосомные регионы, определяющие солеустойчивость российских образцов.....	74
Заключение	82
2.5. Молекулярное маркирование локусов, определяющих качество зерна риса	83
2.5.1. Полиморфизм и наследование признаков определяющих качество зерна риса.....	83
2.5.2. Молекулярное маркирование локусов, определяющих качество зерна отечественных сортов риса.....	87
Заключение	96
3. Совершенствование методов селекции на гетерозис или высокую продуктивность	98
3.1.Использование культуры пыльников для закрепления гетерозисного эффекта у гибридов риса по методу Струнникова В.А.....	99
3.2. Селективная элиминация аллелей в культуре пыльников	106
3.3. Модифицированная методика закрепления гетерозиса гибридов в последующих поколениях	113
4. Использование гетерозиса межподвидовых гибридов.....	118
4.1. Повышение продуктивности межподвидовых гибридов риса.....	118
4.2. Сорты доноры генов WC.....	124
4.3. Анализ озерненности гибридов между образцами, относимыми к разным подвидам	126
4.4. Корректное отнесение образцов к подвидам indica и japonica	129
4.5. Маркирование Российских сортов риса и доноров генов широкой совместимости с использованием SSR маркеров связанных с признаком	134
5. Полимеразная цепная реакция.....	138
5.1. Основы метода.....	138
5.2. Компоненты реакции	139
5.2.1. Состав реакционной смеси для ПЦР	143
5.2.2. Реагенты, повышающие специфичность и эффективность ПЦР.....	144
5.3. Стандартная процедура ПЦР включает следующие стадии:.....	145
5.3.1. Оптимизация ПЦР	146
5.3.2. Контаминация в ПЦР.....	148

5.3.3. Порядок проведения ПЦР с использованием плашек на 98 образцов	149
5.3.4. Примеры программ для ПЦР	150
5.3.5. Проведение мультиплексной ПЦР	154
6. Анализ результатов ПЦР методом электрофореза	158
6.1. Полиакриламидные гели	159
6.2. Агарозные гели	160
6.3. Приготовление агарозных гелей	162
6.4. Подготовка образцов ДНК для нанесения в гель	164
6.5. Окрашивание гелей	165
6.6. Буферные растворы для электрофореза	165
6.7. Приготовление сточковых растворов для приготовления электрофорезного геля	167
6.8. Приготовление геля для вертикальной электрофорезной ячейки фирмы «Хеликон»:	168
6.9. Приготовление полиакриламидных гелей	170
7. Выделение ДНК из листьев риса модифицированным «ЦТАБ» методом	172
8. Методы определения количества ДНК	175
9. Приготовление растворов	176
9.2. Необходимые растворы	177
10. Ответы на вопросы возникающие при проведении ПЦР и мультиплексной ПЦР	179
Список литературы	184
Molecular marking in plant breeding by the example of rice	201