

ИНОВАТИВНИТЕ МОЛЕКУЛЯРНИ ТЕХНИКИ ЗА ПО-ЕФЕКТИВНО ПОДОБРЯВАНЕ ГЕНОФОНДА НА ЗЕМЕДЕЛСКИТЕ КУЛТУРИ КАТО ПОДХОД ЗА УСТОЙЧИВО РАЗВИТИЕ

Величко Трайков, Денис Вирянски, Росица Николова, Атанаска Тенева
Лесотехнически университет, София

Резюме

Бързият напредък в геномиката и създаването на нови молекулярни технологии през последните десетилетия имат все по-голямо въздействие върху изследванията на растителния геном и селекцията на растенията. Приложението на съвременните молекулярно-генетични методи в растениевъдството е един от важните подходи за генетичното подобряване, съхраняване и увеличаване на производството на растителните генетични ресурси. Приносът на молекулярните технологии в селското стопанство е да се улесни използването на конвенционалните методи на отглеждане на растенията чрез развитието на нови технологии с цел увеличаване на икономическата ефективност на селското стопанство. В настоящият обзор се разглеждат някои основни молекулярни техники и предимствата на най-широко използваните ДНК маркери за определяне на интер- и интра-специфичното генетично разнообразие в растителните популации, молекулярното картиране, идентифицирането на гени за устойчивост на биотични и абиотични фактори и маркерната селекция, чрез които се цели подобряване на ценните стопанско-полесни признаци на земеделските култури и се предлагат нови възможности за създаване на високопродуктивни сортове в контекста на устойчивото развитие на аграрния отрасъл.

Ключови думи: геномика, растителен геном, молекулярна селекция, генетично подобряване, устойчиво развитие, гени за устойчивост на болести, гени за устойчивост на абиотични фактори, биологично земеделие.

Keywords: genomics, plant genome, molecular breeding, genetic improvement, sustainable development, genes for disease resistance, genes for resistance to abiotic factors, organic farming.

JEL: Q01.

Увод

Световната наука и практика са в процес на изясняване и обогатяване на теорията за устойчивото развитие. То се разглежда в икономически, биологичен, социален, технологичен и екологичен аспект. Най-разпространено е разбирането за устойчивост във връзка с екологията, според което една земеделска система се смята за устойчива, когато не предизвиква поражения на околната среда.

За да бъде икономически ефективно, екологично съвместимо и социално отговорно е необходимо от икономическа гледна точка устойчивото развитие да е конкурентно способно произвеждайки продукти с високо качество, които да удовлетворяват потребителското търсене и осигуряват стабилни доходи за земеделските стопани. От гледна точка на екологична съвместимост то трябва да прилага ресурсоспестяващи методи на производство, които запазват или подобряват условията на средата, и от социална – земеделието да осигурява подобряване на качеството на живот на земеделските стопани и на потребителите на техните продукти.

Един от основните икономически показатели за устойчиво развитие на земеделието е усвояването на технологиите и иновациите.

В този контекст целта на настоящата работа е да се опишат основните съвременни молекулярни технологии и тяхното приложение за гене-

тичното подобряване на земеделските култури в контекста на устойчивото развитие на аграрния отрасъл.

Най-новата концепция за устойчивото развитие през XX век е възприета на конференцията на ООН по околната среда и развитието в Рио де Жанейро през 1992 г. Тя гласи, че устойчивото развитие е: „Процес на промяна, при който експлоатацията на ресурсите, насочеността на инвестициите, ориентирането на технологиите и на институционалните промени са в хармония помежду си и увеличават текущия и бъдещ потенциал, с който да се осигуряват човешките потребности и стремежи”.

Български колектив от автори – Велчев, Вълев, Борисов дава следното определение за устойчиво земеделие (1997): „Съвременното екологосъобразно устойчиво земеделие означава на практика стремеж към достигане на потенциално възможните за даден агроекологичен район добиви с високи биологични стойности на реколтата чрез подходящо определена агротехника, гарантираща едновременно запазване и повишаване на почвеното плодородие и опазване на природната среда”. Тук авторите поставят в основата на устойчивостта агроекологията. Това не е случайно, защото от нея зависят производствените резултати, екологосъобразността на производството и характерът на труда.

Многофункционалността на устойчивото земеделие показва, че неговото реализиране се нуждае от прилагане на интегриран подход и разработване на общонационална стратегия, която е икономически приемлива от цялото общество. Основните препоръки за разработване на националната стратегия за устойчиво земеделие в нашата страна са насочени към съвместно развитие на конвенционалното (основно за култури, като пшеница, ръж, ечемик, ориз и зеленчуци), биологичното (малина, къпина, боровинки, маслодайна роза, лоза и др.) и биотехнологично земеделие (комерсиализация на ГМ сортове царевица и картофи, преминали успешно експерименталните изпитвания).

Биологичното земеделие като пример на устойчиво земеделие

Пример за устойчиво земеделие в нашата страна е **биологичното земеделие**. Това е система за управление на селскостопанските продукти като обслужва възстановяването и рециклирането на природните ресурси. Съгласно САЩ и регламентите на ЕС за органично земеделие, (USDA, 2002; Съвета на Европейския съюз, 2007) се забранява употребата на синтетични пестициди, хербициди, изкуствени торове, растежни регулатори, генетично модифицирани организми (ГМО), характерни за биотехнологичното земеделие и получени чрез метода на генетична трансформация вкл. химически вещества и ензими, произведени с ГМО и употребата на антибиотици и хормони. Тези забрани се основават на основните ценности на биологичното земеделие, формуирани като четирите принципа за здраве, екология, грижи и справедливост [9]. Тези принципи са свързани също и със селекцията в земеделието и предоставят насоки за бъдещото му развитие.

В резултат на това три вида въпроси често са повдигнати в дебати, за да се аргументира защо ГМО не са съвместими с биологичното земеделие:

- рискове за здравето и околната среда;
- социално-икономическите заплахи за доминирането на мултинационални компании в контролиране на хранително-вкусовата промишленост;
- фактът, че ГМО се считат за продукт на редуцирания подход към живот.

Биологичното производство използва техники за подпомагане устойчивостта на екосистемите и намалява замърсяванията. Този начин на производство започва да се развива в първата половина на 20 век в Германия, Великобритания и Швейцария. През 80-те години редица нови инициативи дават път за развитие на производството, увеличаване броя на производи-

телите и на продажбите на биологични продукти.

В България основните проблеми на биологичното земеделие са:

- производство на продукти, без пестициди, неорганични химични торове (нитрати) и химични средства за растителна защита;
- отглеждане на растения, устойчиви на болести, неприятели и паразити.

Решенията на тези проблеми е с помощта на:

- производство на сертифициран здрав и качествен семенен и посадъчен растителен материал;
- маркерна селекция на основата на ДНК маркери за ускоряване на селекцията като рутинна практика (например за пшеница, ечемик, царевица, ориз, слънчоглед, роза, маслодайна роза, тютюн, ягодоплодни и други);
- селекция за устойчивост на болести (фитопатогени) и създаване на имунни и устойчиви сортове;
- производство на обезвирусен посадъчен материал – чрез *in vitro* технологии;
- възстановяване на традиционни български сортове и оценка на генетичното разнообразие като елемент на устойчивото развитие чрез използване на ДНК маркерите.

Конвенционалното отглеждане на различните култури отнема време и много зависи от условията на околната среда. Получаването на нови сортове отнема между 8 и 12 години и дори тогава възможността за одобрение на сорта не е сигурна. Следователно селекционерите са крайно заинтересовани от новите технологии, които могат да направят тази процедура по-ефективна.

Молекулярната маркерна технология и приложението и в селекцията на земеделските култури

Молекулярната маркерна технология предлага възможността за разширяване обхвата на нови подходи за подобряване стратегиите на селекцията. Приносът на молекулярните технологии в селското стопанство е да се улесни приложението на традиционните методи на селекция на земеделските култури чрез развитието на нови технологии за увеличаване на ефективността на селското стопанство. Молекулните маркери са диагностично средство за селекция и следователно тяхното използване не е директна намеса или промяна на генома на ДНК ниво.

Генетичният маркер е ген или ДНК секвенция с известна локализация на хромозомата и свързана с друг ген или признак.

В молекулярно-генетичните и биохимични изследвания на организмите и популациите се използват два основни вида генетични маркери: **морфологични и молекулни маркери**.

Морфологичните маркери се наричат още фенотипни маркери и чрез тях различията между индивидите се установяват по фенотипни признаци. За морфологични маркери може да бъдат използвани само тези признаци, които се контролират от единичен локус и тяхната експресия е възпроизводима, независимо от условията на средата.

Молекулните маркери от своя страна са **биохимични маркери** - вариации в белтъчните молекули и **ДНК – маркери** - свързани с различията в структурата на ДНК.

Генетичните маркери се използват за характеризирани на:

- фенотипното разнообразие (фенотипните признаци);
- хромозомно разнообразие (на ниво кариотип);
- имунологично разнообразие (HLA антигени);
- протеиново разнообразие (изоензими);
- ДНК разнообразие (полиморфизъм на ДНК последователности).

Фенотипните признаци при растенията, използвани като морфологични маркери (височина, ширина, брой на съцветията, маса на семената, диаметър на питата) имат полигенно унаследяване и зависят до голяма степен от факторите на средата, което е причина за голямото им вариране.

При изследване на признаци от икономически важен характер в растениевъдството - здравина, устойчивост към болести, толерантност към стресови фактори - засушаване, засоляване, студ и други приложението на морфологичните маркери в селекцията се затруднява както поради плейотропното и епистатично междугенно взаимодействие, така и от необходимостта от повторения на експериментите, които включват в голяма степен взаимодействие между генотипа и средата. Доминантно - рецесивното унаследяване на морфологичните признаци в схемите на многократни кръстосвания затруднява тяхното използване. В природните и сортовите популации отборът се води по фенотипни, морфологични белези, при което се елиминират или остават скрити генотипните възможности.

През последните десетилетия навлезе широко развитие и използването на **молекулярните маркери** за определяне на вътре- и междувидовата вариабилност и измести класическият генетичен анализ. Чрез молекулните маркери селекцията от фенотипна се насочва изцяло към генотипна, което води до утвърждаване

на генотипове, детерминиращи максимален брой ценни положителни качества. Натрупването на информация относно различни QTLs (локуси за количествени признаци) води до преминаване към т.н. ускорена селекция, или маркер-на селекция (MAS). Чрез маркерната селекция подлежащата на отбор признак се установява на ранен етап от развитието на организма, което води до съкращаване и подобряване на селекционния процес.

Изследването на полиморфизма на белтъците, в т.ч. както резервни така и ензими дава необходимата информация за генотипа на индивида. Полиморфните различия се проявяват на аминокиселинно ниво позволявайки да се открие белтъчния полиморфизъм и да се използват като полиморфен биохимичен маркер, който не е зависим от условията на средата.

Изоензимите и резервните белтъци се използват като биохимичен молекулен маркер в популационно-генетичните и филогенетични изследвания, за установяване на взаимовръзките с количествени признаци, в идентифицирането на сортове и линии, за съставяне на RFLP карти, в определянето на системата на кръстосване и селекционните параметри, които са основните фактори, детерминиращи генетичната структура на популацията, за съхранение и поддържане на генетичните ресурси. Открити са специфични белтъчни маркери за интрогресия на генетичната плазма от дивия родственик (теосинте) на царевицата с цел ефективен отбор по качество в ранните генерации. Наличието на различни изоензимни генотипове между индивидите на един и същ сорт показва вътресортово вариране. В зависимост от това може да се определят три основни групи сортове: клонални, линии-сортове и кръстосаноопрашени. Биохимичните маркери се използват за доказване на генетичната хетерогенност при самоопрашващи култури като ечемик, пшеница и други както и за изследване на сортовата чистота на семената в съвременното производство на семената.

ДНК маркерите осигуряват по-голяма и по-достоверна информация от морфологичните и биохимични маркери. Те са фенотипно неутрални маркери и позволяват сканиране на целия геном. Тези основни характеристики ги определят като високоинформативни средства в генетичния анализ и дават възможност да бъдат широко използвани за генетичното подобряване на земеделските култури в нашето съвремие.

Молекулярните маркери в ядрената ДНК представляват полиморфизми в нуклеотидната последователност и се наричат ДНК-маркери. Съществуващите полиморфизми в генома позволяват те да бъдат използвани като маркери за

идентификация и разграничаване на представителите на един и същ вид, а също и за между-видова и между-родова диференциация. Маркерите, свързани/скачени с интересувания ни признак могат да бъдат използвани за неговата ранна диагностика, а на базата на установената му точна локализация върху определена хромозома се построяват генетични карти. ДНК маркерите позволяват да се изследват различията в експресията на отделните признаци.

Основните молекулни маркери, използвани в селекцията на растителните видове са микросателитните маркери (SSR), полиморфизмите по дължината на рестриционните фрагменти (RFLPs), минисателитите (VNTR), полиморфизмите по дължината на амплифицираните фрагменти (AFLP), междумикросателитния полиморфизъм (ISSR) и единичните нуклетидни полиморфизми (SNP).

Приложението на молекулярната маркерна технология в селекцията на стопански значимите признаци на земеделските култури в биологичното земеделие е в следните три основни направления:

- приложение на ДНК маркерите за генотипиране, оценка и характеризирание на растителните генетични ресурси и тяхното разнообразие;
- молекулярна диагностика на фитопатогени;
- маркерна селекция (MAS).

Приложение на ДНК маркерите за генотипиране, оценка и характеризирание на растителните генетични ресурси и молекулярна диагностика на фитопатогени

Използването на биоразнообразието е една от централните мерки за създаване на устойчивост в рамките на фермата екосистема. Съвременното развитие на ДНК технологиите позволява оценка на генетичното разнообразие посредством идентификация на голям брой полиморфизми на равнище ДНК секвенции. Оценка на това генетично разнообразие е генетичната основа за наблюдаваното фенотипно разнообразие. В този контекст, молекулните маркери, разкриващи вариациите на ДНК ниво са ефективен индиректен подход за характеризирание на генетичните ресурси в земеделието. В сравнение с останалите маркери - морфологични и биохимични, ДНК маркерите притежават уникални генетични свойства и преимущества, което ги прави изключително полезни в молекулярно-генетичния анализ на растителния геном. Тези маркери имат голямо геномно покритие, проявяват кодоминантен тип на унаследяване и мултиалелната им проява обуславя над 70% ниво на хетерозиготност. ДНК маркерите не

оказват плейотропен ефект върху признаците с икономически ефект (QTL). На базата на посочените свойства и предимства, ДНК маркерите намират приложение във фундаментален и приложен аспект чрез включването им в традиционните и неконвенционалните селекционни стратегии.

Приложният аспект на ДНК маркерите е свързан с чисто икономически интереси - производство на сертифициран посадъчен материал и генотипиране на наличните растителни генетични ресурси в колекциите на селскостопанските институти, определяне на чистотата и отсъствието на примеси в хибридни семена, защита на авторските права на селекционерите върху конкретен сорт, контрол върху износа на стопанска продукция, създаване на сортове с подобрени качества на основата на селекционна програма, основаваща се на приложението на ДНК маркери.

Генотипирането на наличните растителни генетични ресурси и молекулярна диагностика на фитопатогени с помощта на молекулни маркери има както чисто научно, така и важно стопанско значение. Създаването на колекции от генетична плазма от различни представители на един и същи вид на база ДНК маркери включва избор на конкретен растителен вид; съхранение и създаване на колекция от отделните представители на вида (*in situ* и *ex situ*); характеризирание, оценка и интродукция на колекцията в селекционни програми. С помощта на ДНК маркерите се установява доколко близки или отдалечени са два генотипа, доколко различни или подобни са определени екотипове или цели растителни или фитопатогенни популации. Посредством PCR технологията се осъществява най-точната диагностика на видове, щамове и раси докато напр. при серологичните методи (ELISA) е възможно диференцирането на патогените най-често на ниво родова принадлежност.

Генотипирането може да се осъществи чрез SNP и SSR технологиите. За генотипиране посредством микросателитните маркери се прилага PCR амплификация на определени ДНК фрагменти и фрагментен анализ в акриламидна среда. Генотипирането чрез SNP технологията се осъществява с помощта на различни подходи: PCR-RFLP, Алел-специфична олигонуклеотидна хибридизация (Allele Specific Oligonucleotide, ASO), Пиросеквениране (Pyrosequencing), Matrix Assisted Laser Desorption Ionization time of Flight (MALDI-TOF) масс спектрофотометрия, количествен PCR (Real-Time и TaqMan PCR), DNA Microarray (ДНК чип) технология.

Преди кръстосването (хибридизация) за получаване на нова линия, има няколко приложения на ДНК-маркерите, при които данните могат

да бъдат полезни за селекцията, като сортова идентичност, оценка на генетичното разнообразие, избор на родителите и потвърждаване на хибридите. Традиционно, това се осъществява на база визуален подбор и анализ на данни, основаващи се на морфологичните характеристики.

Сортова идентичност/оценка на „Чистота”

На практика, семена от различните таксономични групи често се смесват поради трудностите при работа с голям брой на семенни проби, използвани в рамките на селекционните програми. Маркерите могат да се използват за потвърждение на идентичността на отделните растения чрез генотипиране. Поддържането на високи нива на генетичната чистота е от съществено значение в производството на хибриди на зърнените култури с цел да се използва хетерозис. В хибридизацията на ориза напр. се използват SSR и STS маркери, за да се потвърди чистота. С тях се улеснява значително селекцията, в сравнение с традиционните схеми, които използват стандартните растежни-тестове, които включват отглеждане на растенията до зрялост и оценка на морфологичните признаци.

Оценка на генетичното разнообразие и избор на родители

Селекционните програми зависят от високото ниво на генетичното разнообразие за постигане на напредък в селекцията. Разширяването на генетичната база на основния материал за селекция изисква идентифициране на различните таксономични групи за хибридизация с елитни сортове. ДНК маркерите са незаменим инструмент за характеризирание на генетичните ресурси и осигуряване на селекционерите с подробна информация, което ще им помогне при избора на родители.

Изследване на хетерозис

За производство на хибридни култури, особено при царевица и сорго, ДНК маркерите се използват, за да се определят хетерозисните групи, които проявяват хибридна жизненост. Получаването на инбредни линии за използването им в производството на хибриди отнема много време и е скъпа процедура. На база ДНК-маркери може да се предскаже точното ниво на хетерозис.

Гореописаните методи са основни за оценка на генетичното разнообразие на растителните популации. Всички посочени ДНК маркери са генотипната основа и успешно се включват в маркерната селекция като изключителен надежден метод за подобряване на интрогресията на „екзотични” и диви алели с цел увеличаване

на генетичното разнообразие в генофонда на наличните сортове като един от основните инструменти на биологичното земеделие в изграждането на устойчивост в агро-екосистемите.

QTL картиране и маркерна селекция (MAS)

Фундаменталната основа на растителната селекция е подборът на специфични растения с желани качества. Повечето от важните агрономически признаци на земеделските култури са сложни полигенни по своя характер на унаследяване и са контролирани от QTL. Целта на растителната селекция е да се съберат желани комбинации от признаци респективно гени в нови сортове. Стандартната техника за селекция на земеделските култури включва оценяване на размножаваща се популация за един или повече признаци в полето или в оранжерии (напр. важни икономически признаци, устойчивост на болести или стрес толерантност), или с химически тестове (напр. качеството на зърното) в няколко поколения. Колкото по-голям е броят на гените, сегрегирани в популацията, толкова по-голям размер на популацията е необходим, за да се идентифицират специфични генни комбинации. Традиционните програми за селекция обикновено се основават на стотици или дори хиляди популации. Целият този процес включва разходи и значителен период от време (5-10 години за идентификация на елитни линии). Предвид обхвата и сложността на конвенционалната селекция, новите молекулярни технологии и маркерната селекция предлагат много по-добри възможности за селекция на желани качества за по-кратък период от време.

Основните предимства на маркерната селекция пред конвенционалната фенотипна селекция са:

- Улесняване на фенотипния скрининг, което може да спести време, средства и усилия.
- Подборът може да се извършва на етапа разсад. Това е полезно особено за признаци, които се проявяват в по-късните стадии на развитието. Следователно растенията с нежелани генотипове могат бързо да бъдат премахнати. Това има голямо предимство в селекционния процес и води до неговото съкращаване.
- Създава се възможност да бъдат избрани единични растения. При използването на конвенционалните скрининг методи за много признаци селекцията на единични растения е невъзможна поради влиянието на външните фактори.
- С MAS, отделните растения могат да бъдат избрани въз основа на техния генотип. За повечето признаци, хомозиготни-

те и хетерозиготни растения не могат да бъдат разграничени чрез конвенционалния фенотипен скрининг.

Тези предимства могат да бъдат използвани от селекционерите, за да се ускори процеса на селекция (до 2-3 години) и намали на общия брой на линиите, които трябва да бъдат тествани.

Установени са следните взаимоотношения между QTL и MAS:

- Ако наследствеността е висока, генотипните стойности са добре оценени от фенотипа и тежестта дадена на маркерите е еквивалентна на фенотипната селекция.
- MAS не е ефективна при селекционен индекс от 5% и коефициент на унаследяемост на признака $<0,15$.
- Ефективността на MAS намалява, когато броят на QTL се увеличава.
- Ефективността на MAS се увеличава, когато индивидуалната QTL вариацията обуславя голяма част от генетичното вариране.

Успехът на MAS зависи от връзката между маркерите и гените на интересуващите ни количествени признаци. Най-благоприятната ситуация за провеждане на маркерна селекция е в случаите когато молекулният маркер е изолиран в генът, който представлява интерес. Това е генната селекция (ГС). Селекцията чрез маркери намиращи се в неравновесна връзка с QTL гена е LD-маркерна селекция. Когато маркера се унаследява свързано с QTL [LE] гена селекцията може да се нарече нарече LE-MAS и това е най-трудната ситуация за прилагане на MAS. Основен принцип при създаване на новите линии е ДНК маркерите да се интегрират в конвенционалните схеми на селекция или да заместят конвенционалната фенотипна селекция.

Маркерна беккрос селекция

Обратното кръстосване е широко използвана технология в растителната селекция. Обратното кръстосване е метод най-общо използван да включва един или няколко гени в адаптирани или елитни сортове. Употребата на ДНК маркери в обратното кръстосване увеличава ефективността на селекцията. Три основни нива на маркерно обратное кръстосване могат да бъдат описани. В първото ниво маркерите могат да бъдат използвани в комбинация с или да заместят конкретния ген или QTL. Чрез този метод може да се извърши скрийнинг и на рецесивни алели, което е трудно за конвенционалните методи. Второто ниво включва избор на беккрос потомство с рекомбиниран прицелен ген маркер, известно като „рекомбинантна селекция”.

Третото ниво на маркерната селекция включва избор на беккрос потомство с най-добри качества на рекурентния родителски геном чрез използване на маркери, които не се унаследяват свързано с таргетния locus.

Маркерна селекция за създаване на устойчиви сортове

Използването на молекулярни маркери и хетерозиготни растения може да се приложи в обратното кръстосване до окончателното получаване на желанния признак. Освен това, MAS е особено ценна за признаци, които е трудно или невъзможно да бъдат селектирани напр. такива включени в селекционните програми за устойчивост, когато естествената зараза, причинена от патоген не е налична и/или изкуственото заразяване е забранено, като например карантинните патогени. Включването на молекулните маркери в селекцията за получаване на сортове за органично земеделие позволява комбинирането на селекционните програми в конвенционалното и биологичното земеделие за развитие на рентабилно земеделие. Маркерната селекция е не-ГМО стратегия и има редица предимства за подобряване ефективността на селекционните програми за получаване на по-добре адаптирани сортове.

Използвайки класическите техники в растениевъдството, растениевъдите са създали устойчиви сортове, адаптирани към различни фитопатогени. Например пирикуляриозата, причинена от гъбния патоген *Magnaprote grisea* Cav. [анаморфа *Pyricularia grisea* (Кук) Sacc.] е едно от най-сериозните заболявания на ориза в целият свят. Контрол на заболяването по света се е позовал на комбинация от химични фунгициди и на интегрирана културална практика. За последните няколко години, селекцията е постигнала значителен напредък в посока повишаване на устойчивостта на гостоприемника към това заболяване, но предстои да се реализира развитието на трайно устойчив сорт. Използването на устойчиви сортове ориз е мощен инструмент за намаляване използването на екологично разрушителни пестициди. Въпреки, че вече има създадени устойчиви сортове, оризопроизводството остава заплашено от взрив на болестта поради неустойчивостта на ориза към гъбния фитопатоген. Последните постижения в геномиката на ориза осигуряват допълнителни инструменти на растениевъдите за разработване на системи за производство на ориз, които могат да бъдат екологосъобразни.

Маркерната селекция е изключително мощна в селекцията на устойчивост на пирикуляриоза, защото резистентните фенотипове са кодирани от един или няколко гена. Устойчивостта се уп-

равлява от специфичното взаимодействие на резистентен (R) ген на ориза с определен авирулентен ген на патогена. След първоначалното определение на гените за резистентност (R) гени от Flog (1942), много R гени са били идентифицирани. В зависимост от наличието/липсата на тези R гени и на съответстващия авирулентен продукт, взаимодействието може да бъде несъвместимо (растението е устойчиво) или съвместимо (растението е чувствително). Много R гени са идентифицирани в ориза и повечето са NBS-LRR гени. Пирикулариозните авирулентни гени са силно нестабилни и поради тази причина не са лесно проследими. R-гените са по-стабилни за маркиране на устойчивостта. Пирикулариозните R-гени са един важен компонент на много растителни фактори действащи като сложен и многостранен защитен механизъм срещу патогените. Определен брой пирикулариозни R-гени в различни комбинации са били включени в разнообразни сортове от класическия начин на селекция. Включването на стабилна комбинация от пирикулариозни R-гени в подобрен оризов генофонд продължава да бъде главен фокус на оризовите селекционни програми по целия свят. Досега са идентифицирани около 40 главни гена на пирикулариоза, около 30 гена са били картирани на различни оризови хромозоми и са разработени много ДНК маркери. Налажително е да се използват ДНК маркери, идентифицирани в рамките на гена или от съпътстващия район на гена като инструмент за ефективна маркерно-селекционна стратегия за подобряването на ориза и създаване на сортове ориз с широк спектър на трайна устойчивост на пирикулариоза.

Изводи и препоръки

- Биологичното земеделие в България трябва да бъде поставено на научни основи. Необходимо е да се запълни липсата на познания в сектора на биологичното земеделие относно предимствата и недостатъците на молекулярни маркери и маркерна селекция, което е неизменна предпоставка за приемане на новите технологии и ползите от тяхното приложение.
- Прилагане на молекулярно-генетични методи в биологичното земеделие за производство на сертифициран здрав и качествен семенен и посадъчен растителен материал, маркерна селекция на основата на ДНК маркери за ускоряване на селекцията като рутинна практика (например за пшеница, ечемик, царевица, слънчоглед, роза, маслодайна роза, тютюн, ягодоплодни) и създаване на имунни и устойчиви сортове на болести (фитопатогени), възстановяване на традиционни български сортове и оценка на генетичното разнообразие като елемент на устойчивото развитие чрез използване на ДНК маркерите.
- Традиционните фенотипни методи за селекция на земеделските култури, включени в конвенционалната програма може да бъдат допълнени или заместени с иновативните молекулярни технологии, осигуряващи бърза и надеждна селекция на съществуващите и създаване на нови приоритетни сортове и линии. Степента, до която MAS може да бъде използвана ефективно в селекционните програми за биологичното земеделие се определя от специалните нужди за биологично земеделие и възможностите за подобряване на фенотипната селекция.
- Съвместното съществуване на трите типа – конвенционално, биологично и биотехнологично земеделие в България е възможно с цел развитие на конкурентно-способно земеделие в Европа.

Литература

1. Кожухаров, Х., Иванова, Д., Василева, Е. *Българският биологичен продукт – елемент от интеграционния процес с Европейския съюз*. Университетско издателство “Стопанство”. УНСС. София. 2004. юли.
2. *Национален план за развитие на биологичното земеделие в България (2006–2013 г.)*.
3. Andersen, J., Lubberstedt, T. *Functional markers in plants*. Trends Plant Sci. 2003. 8. p. 554–560.
4. Backes, G., Østergard, H. *Molecular markers to exploit genotype-environment interactions of relevance in organic growing systems*. Euphytica. 2008. 163. p. 523–531.
5. Burger, H., Schloen, M., Schmidt, W., Geiger, H. *Quantitative genetic studies on breeding maize for adaptation to organic farming*. Euphytica. 2008. 163. p. 501–510.
6. Collard, B., Jahufer, M., Brower, J., Pang, E. *An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts*. Euphytica. 2005. 142. p. 169–196.
7. *Council regulation (EC) No 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and repealing regulation (EEC)*. Council of the European Union. 2007. No 2092/91. [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2007/l_189/l_18920070720en00010023.pdf].
8. Gupta, P., Rustgi, S., Kulwal, P. *Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects*. Plant Mol Biol. 2005. 57. p. 461–485.
9. *Principles of organic agriculture*. IFOAM. 2005. [http://www.ifoam.org/about_ifoam/principles/].
10. Xu, Y., Crouch, J. *Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice*. Crop Sci. 2008. 48. p. 391–407.

INNOVATIVE MOLECULAR TECHNIQUES FOR IMPROVING EFFICIENCY OF CROPS GENE POOL AS AN APPROACH TO SUSTAINABLE DEVELOPMENT

**Velichko Traykov, Denis Viryanski, Rosica Nikolova, Atanaska Teneva
University of Forestry, Sofia, Bulgaria**

Abstract

Rapid advances in genomics and molecular development of new technologies in recent decades have increasingly greater impact on plant genome research and plant breeding. The application of modern molecular genetic methods in crop breeding is one of the important approaches for genetic improvement, conservation and increased production of plant genetic resources. The contribution of molecular technologies in agriculture is to facilitate the use of conventional methods of growing plants through the development of new technologies to increase the economic efficiency of agriculture. In this review identified certain basic molecular techniques and the benefits of the most widely used DNA markers to determine the inter-and intra-specific genetic variation in plant populations, molecular mapping, identification of genes for resistance to biotic and abiotic factors and marker selection which are aimed at improving the economic useful valuable indications of crops and offer new opportunities to create highly varieties in the context of sustainable development of the agricultural sector.