



Гавриленко Т.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Клименко Н.С., Волкова Н.Н., Ухатова Ю.В., Лебедева Н.В., Шипилина Л.Ю., В.В. Желтова, Д.А. Рыбаков

**Результаты исследований 2018 г., проведенных в рамках КПНИ по задачам:**

**1) ваучеризация и молекулярная паспортизация российских сортов картофеля**

**и**

**2) создание национального криобанка картофеля**

**в целях долгосрочного сохранения генофонда российских сортов и образцов рабочих коллекций участников КПНИ**

# КОМПЛЕКСНЫЙ ПЛАН научных исследований "Развитие селекции и семеноводства картофеля" на 2017 - 2025 гг.

Но-мер блока	Наименование блока комплексного плана научных исследований	Задачи блока комплексного плана научных исследований (номера других блоков комплексного плана научных исследований, существенные для эффективного решения задачи)	Ожидаемые результаты	Технологические решения
6.	Производственные испытания лучших новых сортов картофеля, выделившихся по комплексу хозяйственно-ценных признаков <b>в результате эколого-географических испытаний</b> в 2018 - 2025 годах	разработка современной методики проведения производственных испытаний с учетом сортоспецифичной технологии; проведение производственных испытаний новых перспективных сортов картофеля российской селекции в сравнении с лидирующими отечественными и иностранными сортами, пользующимися повышенным спросом на российском рынке картофеля;	методические рекомендации по проведению производственных испытаний; выделение группы новых перспективных сортов российской селекции с высоким потенциалом конкурентоспособности на российском рынке - сорта для различного целевого использования, включая сорта столового назначения,	<b>технология испытания наиболее пластичных сортов картофеля</b>
7.	<b>Сохранение и развитие генетических коллекций картофеля</b> как основы для создания новых отечественных сортов	формирование рабочих коллекций клонов диких видов и гибридов картофеля; создание на базе данных коллекций центров коллективного пользования для селекционеров; комплексная лабораторно-полевая оценка картофеля признаков рабочих коллекций (видов, гибридов и сортов) участников подпрограммы с использованием традиционных молекулярно-генетических методов (совместные исследования участников); выделение исходного материала для селекции различных направлений (устойчивость к вирусам, фитофторозу, золотистой картофельной нематоде, продуктивность, раннеспелость, качество); создание доноров хозяйственно-ценных признаков для селекции; разработка современных подходов к структурированию и инвентаризации генофонда сортов; <b>создание национального криобанка картофеля в целях долгосрочного сохранения генофонда отечественных сортов и образцов рабочих коллекций участников подпрограммы в соответствии с международными стандартами</b> для реализации целей комплексного плана научных исследований; инвентаризация и каталогизация рабочих	рабочие коллекции сортов, видов и межвидовых гибридов для использования в селекции и семеноводстве; <b>криобанк картофеля; коллекции (in vitro) сортов и гибридов картофеля;</b> доноры хозяйственно-ценных признаков для создания новых сортов картофеля; <b>электронные базы данных, включающие результаты генетической паспортизации и фенотипической характеристики образцов рабочих коллекций участников подпрограммы,</b> образцов клоновых коллекций гибридов и диких видов; <b>молекулярно-генетические паспорта сортов;</b> каталоги образцов диких видов, гибридных клонов и сортов - источников селекционно-ценных признаков устойчивости к патогенам и признаков качества; информационный бюллетень об уровне пост-криогенной регенерации эксплантов сортов и образцов рабочих коллекций; <b>методические рекомендации по криоконсервации и криотерапии картофеля;</b>	<b>технологии криоконсервации картофеля;</b> технологии генетического анализа; технологии выделения доноров и источников хозяйственно-ценных признаков

Участие ВИР в КПНИ

(С) ФИЦ ВИР 2019  
Ссылка при использовании обязательна

## Задача 1: Ваучеризация и Молекулярная паспортизация российских сортов картофеля, отобранных и созданных в рамках КПНИ

### Ожидаемый результат:

1. Гербарная коллекция ваучеров и номенклатурных стандартов российских сортов, переданная на хранение в Гербарий WIR
2. Результаты генотипирования новых российских сортов и гибридов картофеля, отобранных для ЭГИ в рамках КПНИ, с использованием монолокусных хромосомспецифичных микросателлитных маркеров; результаты MAS с маркерами, ассоциированными с генами, детерминирующими хозяйственно-ценные признаки; Молекулярные паспорта сортов (*15 – 20 маркеров*)

# Общий план работ по созданию криобанка генотипированных российских сортов картофеля





## Создание номенклатурных стандартов российских сортов картофеля

В Международном кодексе культурных растений закреплены принципы, правила и рекомендации по названию сортов и групп растений.

Он также содержит разделы касающиеся регистрации и требований к номенклатурным стандартам.

Номенклатурный стандарт – это гербарный лист, дополненный цветным изображением загербаризированного растения.

Такой гербарный образец, может быть использован для идентификации сортов не только визуально, но и с использованием молекулярно-генетических методов. Гербарный образец (номенклатурный стандарт сорта) должен быть передан на хранение в научный Гербарий. Несоблюдение правил номенклатуры культурных растений приводит к путанице в работе с исходным материалом, ошибкам в документировании растительного материала, в частности, повторному использованию названий сортов и др. Последнее, в конечном итоге, ведет за собой ущемление прав авторов сортов.



(С) ФИЦ ВИР 2019  
Ссылка при использовании  
обязательна

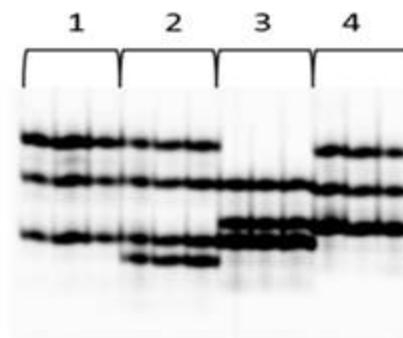
# Генотипирование, изучение полиморфизма SSR-локусов при помощи системы LiCor 4300



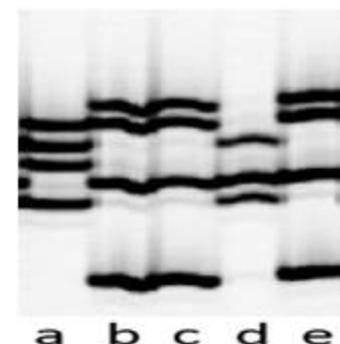
ПЦР-продукты разделяются в проточных полиакриламидных гелях. Визуализация фрагментов происходит путем лазерной детекции. Для этого при постановке ПЦР фрагменты включают в себя флуоресцентную метку. Система одновременно воспринимает два флуоресцентных сигнала : IRD700 и IRD 800.

Несколько ДНК проб одного сорта можно расположить на соседних дорожках , что дает возможность непосредственного сравнения их идентичности.

Одновременный анализ нескольких ПЦР-повторностей одного сорта повышает надежность результатов SSR-генотипирования



Растения сортов :  
1) Жуковский ранний,  
2) Любава,  
3) Метеор,  
4) Фиолетовый



Различия SSR-профилей у растений сорта Сударыня, выявленные при сравнении

© ФИЦ ВИАР 2019  
Ссылка при использовании обязательна

**На основании результатов анализа полиморфизма  
10 nSSR локусов и  
результатов MAS (9 – 14 маркеров)  
созданы молекулярные паспорта  
56 сортов и селекционных клонов картофеля из программы КПНИ**



Образец, сохраняемый в гербарии WIR



Молекулярно-генетический паспорт сорта  
(разработан в отделе биотехнологии ВИР)

Сорт: **ЧАРОИТ**

Материал для паспортизации получен в ООО Селекционная фирма «Лига», РФ

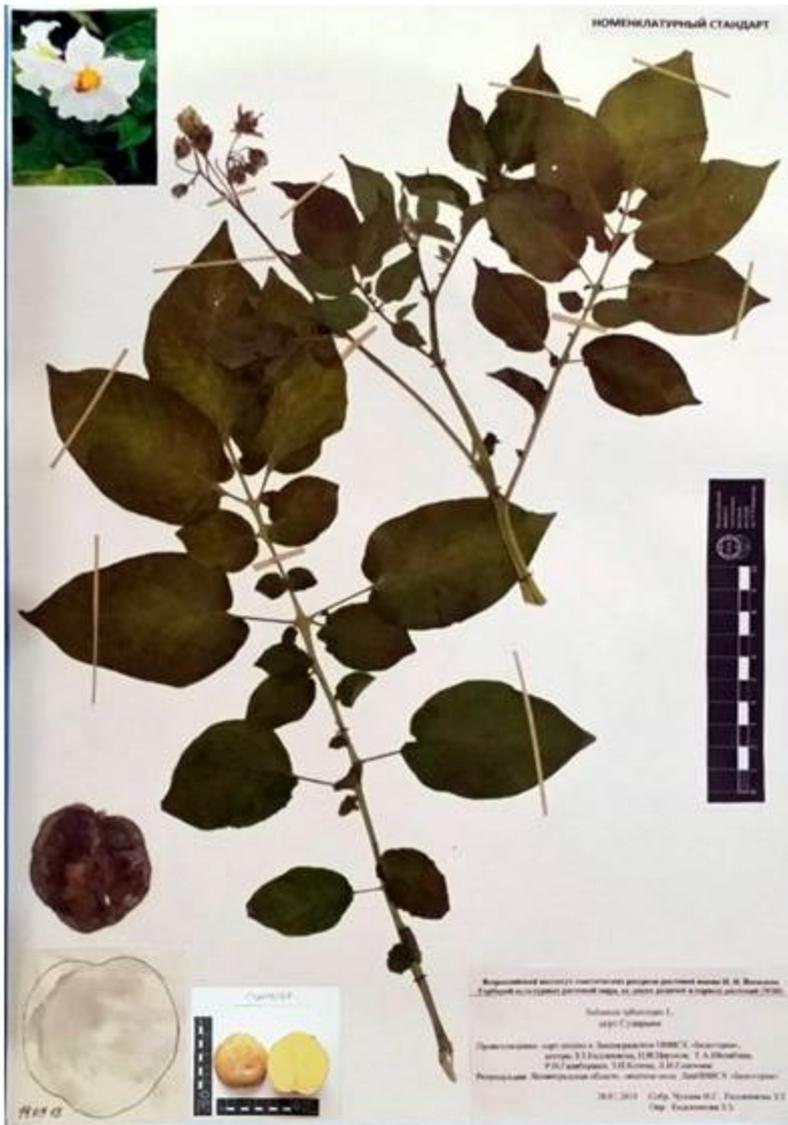
Состав микросателлитных локусов:

№	SSR локус	Аллели
1	STG 0016	133; 136; 154
2	Sti 001	179
3	Sti 004	76; 79; 94
4	Sti 032	108, 123, 126
5	Sti 033	112, 118, 130
6	Sti 046	194, 197, 200, 203
7	STM 2005	153, 165
8	STM 5114	286; 295

Маркеры генов устойчивости к патогенам:

Номер n/n	R-ген	Маркер	Наличие маркерного фрагмента
<i>Globodera rostochiensis</i> (патотип Ro 1)			
1	H1	57R <sub>450</sub>	-
2		N146 <sub>506</sub>	-
3		N195 <sub>337</sub>	-
4	Gro 1-4	Gro1-4 <sub>602</sub>	-
<i>Globodera pallida</i> (патотипы Pa2/Pa3)			
5	Gpa2	Gpa2-2 <sub>452</sub>	+
Y вирус картофеля (PVY)			
6	Ry <sub>sto</sub>	YES3-3A <sub>341</sub>	-
7		GP122-406/EcoRV <sub>406</sub>	-
8	Ry <sub>odg</sub>	RYSC3 <sub>321</sub>	-
9	Ry <sub>chc</sub>	Ry364 <sub>298</sub>	-
X вирус картофеля (PVX)			
10	Rx1	1Rx1 <sub>974</sub>	+
11		5Rx1 <sub>186</sub>	+

(С) ФИЦ ВИР 2019  
Ссылка при использовании  
обязательна



Образец, сохраняемый в гербарии ВИР



## Молекулярно-генетический паспорт сорта

(разработан в отделе биотехнологии ВИР)

Сорт: **СУДАРЫНЯ**

Материал для паспортизации получен во ФГБНУ ЛенНИИХ «Белогорка»

### Состав микросателлитных локусов:

№	SSR локус	Аллели
1	STG 0016	136
2	Sti 001	179; 185; 191
3	Sti 004	76; 100
4	Sti 032	120, 123
5	Sti 033	112, 130
6	Sti 046	179, 194, 203, 206
7	STM 2005	153, 165
8	STM 5114	286; 289; 295

### Маркеры генов устойчивости к патогенам:

Номер п/п	R-ген	Маркер	Наличие маркерного фрагмента
<i>Globodera rostochiensis (патоген Ro 1)</i>			
1	H1	57R <sub>450</sub>	+
2		N146 <sub>506</sub>	+
3		N195 <sub>337</sub>	+
4	Gro 1-4	Gro1-4 <sub>602</sub>	+
<i>Globodera pallida (патогены Pa2/Pa3)</i>			
5	Gpa2	Gpa2-2 <sub>452</sub>	-
<i>Phytophthora infestans</i>			
6	R1	R1 <sub>1400</sub>	-
7	Rpi-sto1	Rpi-sto1 <sub>390</sub>	+
8	Rpi-blb1	blb1F/R <sub>321</sub>	+
Y вирус картофеля (PVY)			
9	Ry <sub>sto</sub>	YES3-3A <sub>341</sub>	+
10		GP122-406/EcoRV <sub>406</sub>	+
11	Ry <sub>ada</sub>	RYSC3 <sub>321</sub>	-
12	Ry <sub>chc</sub>	Ry364 <sub>298</sub>	-
X вирус картофеля (PVX)			
13	Rx1	1Rx1 <sub>974</sub>	-
14		5Rx1 <sub>186</sub>	-



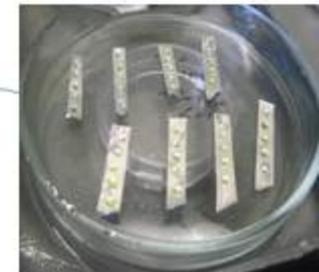
Морфологические признаки генотипа, использованного для гербаризации и паспортизации

(С) ФИЦ ВИР 2019

Ссылка при использовании обязательна



**1. Подготовка исходных микрорастений**  
(микроразмножение, вычленение верхушечных почек)



**2. Обработка эксплантов криопротектором ( PVS2 )**



**3. Криоконсервация, криохраниение**



**4. Размораживание эксплантов**  
( учет регенерационной способности )

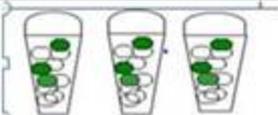


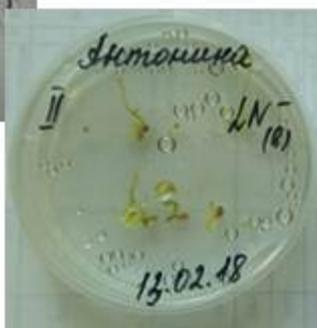
**В ВИРе для криоконсервации образцов картофеля используется метод капель-витрификации В. Panis et al. (2005), с модификациями разработанными в отделе биотехнологии ВИР ( Дунаева и др. 2011; Швачко, 2012; Гавриленко и др., 2018 )**

# Криоконсервация российских сортов картофеля в соответствии с международными стандартами в целях долгосрочного сохранения генофонда отечественных сортов



## СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО КРИОКОНСЕРВАЦИИ И КРИОХРАНЕНИЮ

Для криоконсервации и криохранения 1 образца необходимо		
180 эксплантов:		
КОНТРОЛЬ:	КРИОКОНСЕРВАЦИЯ: (погружение эксплантов в жидкий азот на 1 час)	КРИОХРАНЕНИЕ: (долгосрочное хранение эксплантов в криобанке)
 <p><b>30 эксплантов (10 x 3)</b> изучение регенерационной способности эксплантов <u>без замораживания</u> в трех повторностях по 10 эксплантов в каждой</p>	 <p><b>60 эксплантов (20 x 3)</b> изучение регенерационной способности после оттаивания в трех повторностях по 20 эксплантов в каждой</p>	 <p><b>90 эксплантов (30 x 3)</b> пополнение криоколлекции картофеля ВИР: в трех повторностях по 30 эксплантов (3 криопробирки по 10 эксплантов) в каждой</p>



По уровню регенерации после оттаивания образцы дифференцируют на три группы:

- 1) с высоким уровнем регенерации – выше 40%
- 2) с допустимым уровнем регенерации - 21–39%
- 3) с низким уровнем регенерации – ниже 20%

Нарастающим итогом криоколлекция российских сортов картофеля (из программы КПНИ), сохраняемая в криобанке ВИР, достигла 240 образцов. В криобанке ВИР сохраняется более 240 образцов культурных сортов картофеля. Обязательна

# Коллекция генетических ресурсов картофеля ВИР - примеры направлений исследований сотрудников отдела биотехнологии ВИР (совместные исследования с ОГРК и с другими лабораториями и отделами ВИР)

## *Изучение генетического разнообразия, генотипирование, молекулярный скрининг генофонда отечественных сортов*

Антонова О., Н.Швачко, Л.Новикова, О.Шувалов, Л.Костина, Н.Клименко, А.Шувалова, Т.Гавриленко. **Вавиловский журнал генетики и селекции**. 2016, 20(5): 596-606.

Клименко Н., О.Антонова, Л.Костина, Ф.Мамадбокирова, Т.Гавриленко. **Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции**. 2017, Т.178, Выпуск 4: 70-79.

Гавриленко Т., Н.Клименко, О.Антонова, В.Лебедева, З.Евдокимова, Н.Гаджиев, О.Апаликова, Н.Алпатьева, Л.Костина, Н.Зотеева, Ф.Мамадбокирова, К.Егорова. **Вавиловский журнал генетики и селекции**. 2018; 22 (1): 35-45.

Antonova O., Klimenko N., Evdokimova Z., Kostina L., T. Gavrilenko. **Vavilov Journal of Genetics and Breeding**. 2018; 22(6): 693-702.

Клименко Н., Т.Гавриленко, Л.Костина, Ф.Мамадбокирова, О.Антонова. **Биотехнология и селекция растений**. 2019; 2 (1): 42-48.

## *Изучение генетического разнообразия культурных и родственных диких видов картофеля*

Gavrilenko T., O. Antonova, A. Ovchinnikova, L. Novikova, E. Krylova, N. Mironenko, G. Pendinen, A. Islamshina, N. Shvachko, S. Kiru, L. Kostina, O. Afanasenko, D. Spooner. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 2010, 57, : 1151–1164.

Gavrilenko T., O. Antonova, A. Shuvalova, E. Krylova, N. Alpatyeva, D. Spooner, L. Novikova. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 2013, 60: 1997–2015.

Spooner, D., M. Ghislain, R. Simon, S. Jansky, T. Gavrilenko. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. **Botanical Review**. 2014, 80 (4): 283-383.

## *Разработка методов криоконсервации картофеля*

Shvachko N., Gavrilenko T. Cryopreservation of potato landraces using droplet-vitrification method. // In: Proceeding of COST Action 871. Angers, 8-11 Feb. 2011. OPOCE, Luxembourg, P. 135-137.

Дунаева С., Г.Пендинен, О.Антонова, Н.Швачко, Ю.Ухатова, Л.Шувалова, Н.Волкова, Гавриленко Т. Совершенствование методов *in vitro* сохранения и криоконсервации культурных видов картофеля. Методические указания /ВИР, СПб, 2017 (2-е издание).

Ухатова Ю., Гавриленко Т. **Биотехнология и селекция растений**. 2018; 1(1): 52- 63.

Гавриленко Т., Швачко Н., Волкова Н., Ухатова Ю. **Вавиловский журнал генетики и селекции**. 2019; 23(4):422-429.

## *Разработка методов оздоровления картофеля от вирусных инфекций*

Ухатова Ю., Антонова О., Гавриленко Т. **Достижения науки и техники АПК**. 2016, Т. 30, №10: 64-68.

Антонова О., О.Апаликова, Ю.Ухатова, Е.Крылова, О.Шувалов, А.Шувалова, Гавриленко Т. **Сельскохозяйственная Биология**. 2017, том 52, № 1: 95-104.

## *Лектотипификация культурных видов картофеля*

Ovchinnikova A., E. Krylova, T. Gavrilenko, T. Smekalova, M. Zhuk, S. Knapp, D. Spooner. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 2011, 165: 107–155.

Чухина И., Гавриленко Т., Смекалова Т. **Каталог Мировой Коллекции ВИР**. Выпуск 833. 2016, ФИЦ ВИР. Санкт-Петербург. 28с.

Чухина И., В.Дорофеев, Т.Гавриленко, Е.Крылова, А.Овчинникова, **Turczaninowia**. 2017. 20 (2): 97–105.

**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ !**