#### БИОЛОГИЧЕСКИЕ HAYKU / BIOLOGICAL SCIENCES

\_\_\_\_\_

УДК 575.22:577.29 AGRIS: F30

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ SOLANUM TUBEROSUM L.

# MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF NATIONAL VARIETIES OF SOLANUM TUBEROSUM L.

### ©Печенкина В. А.,

ORCID: 0000-0003-4241-4482 Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, p\_viktoria2@mail.ru

### ©Pechenkina V.,

ORCID: 0000-0003-4241-4482 Perm State University, Perm, Russia, p\_viktoria2@mail.ru

# ©Жуланов А. А.,

ORCID: 0000-0003-2546-9350 Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, aumakua.ru@gmail.com

#### ©Zhulanov A.,

ORCID: 0000-0003-2546-9350 Perm State University, Perm, Russia, aumakua.ru@gmail.com

# ©Пришнивская Я. В.,

ORCID: 0000-0003-1513-2682 Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, yana\_prishnivskaya@mail.ru

### ©Prishnivskaya Ya.,

ORCID: 0000-0003-1513-2682 Perm State University, Perm, Russia, yana\_prishnivskaya@mail.ru

### ©Васильева Ю. С.,

канд. биол. наук, ORCID:0000-0002-2255-2434 Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, Yulianechaeva@mail.ru

### ©Vasilieva Yu.,

Ph.D., ORCID:0000-0002-2255-2434 Perm State University, Perm, Russia, Yulianechaeva@mail.ru

### ©Боронникова С. В.,

д- р биол. наук, ORCID: 0000-0002-5498-8160 Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия, SVBoronnikova@yandex.ru

### ©Boronnikova S.,

Dr. habil., ORCID: 0000-0002-5498-8160 Perm State University, Perm, Russia, SVBoronnikova@yandex.ru

Аннотация. Исследованы характеристики 12 сортов картофеля (Solanum tuberosum L., Solanaceae) российского происхождения. Урожайность изученных сортов высока и варьирует в пределах от 25 до 40 т/га; среднее содержание крахмала в клубнях достигает 16%, средняя масса клубней — не менее 10 г. Среди 12 изученных 6 сортов S. tuberosum являются среднеспелыми и 6 — раннеспелыми. Для определения генетического разнообразия сортов S. tuberosum был применен ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) — метод анализа полиморфизма ДНК с использованием ПЦР. Из 20 ISSR-праймеров были отобраны 4 эффективных для изученных сортов S. tuberosum, среди которых динуклеотидных и два трехнуклеотидных праймера. У изученных сортов установлены 40 маркеров. Число амплифицированных ISSR-PCR маркеров S. tuberosum ISSR-PCR варьировало в зависимости от праймера от 8 (праймер ISSR-5) до 12 (праймер M3) а их размеры — от 210 (ISSR-5) до 1100 (X11) пн. На общую выборку S. tuberosum доля полиморфных локусов составила 0,575, ожидаемая гетерозиготность равна 0,071, определено число эффективных аллелей (n<sub>e</sub>=1,324). Наибольшие показатели генетического разнообразия отмечены у сорта Чародей S. tuberosum ( $P_{95}=0.303$ ;  $H_E=0.105$ ;  $n_e=1.189$ ). Генетически менее гетерогенен сорт Отрада ( $P_{95}$ =0,161;  $H_E$ =0,047;  $n_e$ =1,079). У изученных сортов картофеля выявлено 9 редких ISSR-PCR маркеров, наибольшее их число выявлено у сорта Чародей (R=6). Даны рекомендации по использованию генетического потенциала изученных сортов S. tuberosum.

Abstract. Traits of 12 varieties of Russian origin Potato (Solanum tuberosum L., Solanaceae), were observed. Yield of researched varieties is high and ranges from 25 to 40 t./ha.; mean concentrations of starch in tubers is 16%, average mass of tubers is more than 10 g. Among the researched varieties 6 varieties of S. tuberosum are a mid-season high-yield, other 6 varieties are early-ripe. ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) method of polymorphism analysis with using PCR was applied to identify the genetic diversity of varieties. From 20 were selected 4 the most effective ISSR praimers for researched varieties of S. tuberosum, among it there are two dinucleotide and two trinucleotide primers. 40 ISSR-PCR markers of researched varieties were identified. The number of amplified ISSR-PCR markers of S. tuberosum varied depending to primer from 8 (ISSR-5) to 12 (M-3), their size were from 210 (ISSR-5) to 1100 (M-3) bp. For the total sample of S. tuberosum, the proportion of polymorphic loci was 0.575, the expected heterozygosity was 0.071, the number of effective alleles (n<sub>e</sub>=1.324) was determined. The highest rate of genetic diversity were noted in Charodei S. tuberosum (P<sub>95</sub>=0.303; H<sub>E</sub>=0.105; n<sub>e</sub>=1.189). Genetically less heterogeneous Otrada (P<sub>95</sub>=0.161; H<sub>E</sub>=0.047; n<sub>e</sub>=1.079). 9 rare ISSR-PCR markers in researched varieties were identified, the largest number of them has Charodei (R=6). Recommendations on the use of the genetic capability in researched varieties of *S. tuberosum* were made.

Ключевые слова: ISSR-PCR маркеры, полиморфизм ДНК, отечественный сорт, Solanum tuberosum L.

*Keywords:* ISSR-PCR markers, DNA polymorphism, domestic varieties, *Solanum tuberosum* L.

Одной из центральных проблем современного растениеводства является сокращение в мировом масштабе биоразнообразия сельскохозяйственных видов, что существенно сокращает возможности адаптации сельского хозяйства к меняющимся условиям окружающей среды, а также к появлению новых селекционных задач. Это приводит к необходимости интенсификации использования сельскохозяйственных видов, что невозможно без развития новых поколений молекулярно-генетических (геномных) методов управления их генетическими ресурсами.

Картофель (Solanum tuberosum L.) является четвертой ПО значимости продовольственной культурой в мире после пшеницы, кукурузы и риса [1]. Россия является одним из ведущих мировых производителей картофеля; его ежегодное производство достигает 35 млн т на площади 3,2-3,5 млн га [2]. В 2017 году валовой сбор картофеля уменьшился на 4,9% за счет сокращения убранных площадей на 7,0%. [3]. Согласно отчету «Информация о ходе сезонных полевых работ» Минсельхоза РФ, урожай картофеля в российских сельскохозяйственных организациях и крестьянских (фермерских) хозяйствах в 2017 году составил 6,4 млн тонн, что на 7% ниже объема урожая 2016 года (6,9 млн тонн) и на 16% ниже рекордного за последние годы урожая в 2015 году, составлявшего 7,6 млн тонн. Посадочная площадь под картофелем в 2017 году составляла 272,5 тыс га и была на 14% меньше площади под картофелем в 2016 году (316,6 тыс га). По данным Счетной палаты РФ самообеспеченность России картофелем в 2017 году уменьшились также на 7 процентных пунктов до 90,7% при установленном Доктриной продовольственной безопасности пороговом значении в 95% (в 2016-м было 97,7%, в 2015-м — 105,1%). Учитывая итоги Всероссийской сельскохозяйственной переписи зафиксировавшие сокращение за последние 10 лет посевной площади под картофелем в хозяйствах населения и численности хозяйств населения, объемы производства картофеля могут быть сокращены, что может отрицательным образом отразиться на уровне самообеспеченности Российской Федерации. Производство картофеля сосредоточено в хозяйствах населения, которыми в 2017 году выращено 77,2% общего сбора картофеля (в 2016 году — 77,9%) (1). Для решения проблемы повышения урожайности картофеля и расширения посевных площадей большую роль играет качество семенного материала. Россия, в связи с наличием уникального разнообразия эколого-географических регионов, традиционно обладала значительным потенциалом сортового разнообразия сельскохозяйственных растений, адаптивный и продуктивный потенциал которых до сих пор остается недостаточно исследованным.

Распространение ограниченного числа коммерческих сортов картофеля привело к тому, что растениеводство России в настоящее время находится в зависимости от исходного материала иностранного производства. В связи с этим для повышения продовольственной безопасности России в рамках импортозамещения необходимо исследование генетического потенциала сортов картофеля российского происхождения. В Государственный реестр селекционных достижений допущено к использованию более 150 сортов картофеля, созданных отечественными селекционерами. По основным хозяйственно-ценным признакам многие российские сорта относятся к достижениям мирового уровня (2). В настоящее время для улучшения и создания перспективных сортов картофеля широко используются значительно биотехнологические методы, которые сокращают сроки традиционной селекции и снижают затраты ручного труда. Разумное сочетание традиционных технологий и новейших биотехнологических методов способно значительно повысить эффективность селекционного процесса. Помимо непосредственно прикладных исследований и селекционной работы, также важно предварительное изучение уже существующих генетических ресурсов растений, определение полиморфизма, чистоты линий, идентификация и регистрация генотипов.

В Указе Президента Российской Федерации «О мерах по реализации государственной научно-технической политики в интересах развития сельского хозяйства» от 21 июля 2016 года предусмотрено создание и внедрение в области сельского хозяйства России конкурентоспособных отечественных технологий, основанных на новейших достижениях науки. В Указе экспертиза генетического материала сельскохозяйственных растений определена как одно из приоритетных направлений развития сельского хозяйства в России на ближайшие годы (3).

Интенсивно проводятся исследования с использованием молекулярных маркеров разных типов (изоферменты, RAPD, AFLP, RFLP, SSR). Один из наиболее перспективных

типов молекулярных маркеров — ISSR-PCR [3]. Данный тип маркеров обеспечивает хорошее покрытие генома, по уровню определяемого полиморфизма является одним из наиболее точных, дает хорошо воспроизводимые результаты и не требует предварительной трудоемкой обработки ДНК [4]. Несмотря на активное изучение молекулярных маркеров и аллельных вариантов генов картофеля, генетические особенности сортов картофеля российского происхождения изучены недостаточно, в том числе и в Пермском крае.

Целью данной работы является анализ генетического разнообразия отечественных сортов картофеля, рекомендованных Государственной сортовой комиссией для выращивания в Пермском крае.

### Материал и методика

Исследованы 12 сортов *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae) российского происхождения, из которых для молекулярно-генетического изучения избраны 3 сорта: Удача, Отрада, Чародей. Урожайность исследуемых сортов картофеля высока и варьирует в пределах от 25 до 40 т/га; среднее содержание крахмала в клубнях составляет 16%, средняя масса клубней — не менее 10 г. Морфологические признаки клубней и растений отвечали характеристикам изучаемых сортов (4). Клубни картофеля были получены из 3 разных источников: ВИР (Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург), ООО «НПО «Сад и Огород» (г. Челябинск) и от ИП Закировой (г. Пермь). Материалом для генетических исследований послужили свежие листья *S. tuberosum*, собранные у 272 растений в виргинильном состоянии прегенеративного периода. Листья одного и того же сорта были собраны трижды в разных местах выращивания в Пермском крае.

Выделение ДНК проводилось по стандартной методике [5], но с внедрением в качестве сорбента PVPP (polyvinylpolypyrrolidone). Навеска для выделения ДНК составляла 100 мг фрагментов листьев S. tuberosum. Определение качества и концентрации ДНК было проведено с применением прибора Spectrofotometr<sup>TM</sup> «NanoDrop 2000» (Thermo Fisher Scientific, USA). Для ПЦР-анализа была использована тотальная ДНК с концентрацией 10 нг/мкл в ТЕ-буфере. Молекулярно-генетические исследования S. tuberosum проведены с использованием ISSR- (Inter Simple Sequence Repeats) метода анализа полиморфизма ДНК [5]. Эффективность выявления полиморфизма ISSR-праймеров рассчитана по шкале 1 (самая невысокая) — 5 (высочайшая) [6]. Тестированы 20 ISSR-праймеров, из которых были отобраны для последующего анализа 4: ISSR5 (AG)<sub>8</sub>CA, M3 (AC)<sub>8</sub>CT, ISSR10 (ATG)<sub>7</sub>C, X11 (AGC)<sub>6</sub>G. Амплификация каждой пробы ДНК с 4 эффективными ISSR-праймерами проведена в термоциклере Gene Amp PCR System 9700 («Applied Biosystems», USA) по стандартной для ISSR-метода программе: предшествующая денатурация 94°C, 2 мин.; 1-е 5ть циклов 94°C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72°C, 10 сек.; в последующих 35-ти циклах 94°C, 5 сек.; t отж., 5 сек.; 72°C, 5 сек. Заключительный цикл элонгации длился 2 мин при 72°C. При проведении ПЦР температура отжига варьировала от 46°C до 56°C в зависимости от состава G/C пар праймеров. В качестве негативного контроля (K-) в реакционную смесь взамен ДНК добавлено 5 мкл деионизированной воды для проверки чистоты реактивов. Продукты амплификации разделены электрофорезом в 2%-ном агарозном геле в 1 x TBE буфере (Tris-Borate-EDTA), покрашены бромистым этидием и сфотографированы в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гель-документации Gel Doc XR («Bio-Rad», США). Для определения длин фрагментов ДНК применили маркер молекулярной массы CR100 (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder, OOO «СибЭнзим-М», Москва) и программу Quantity One («Bio-Rad», USA). ПЦР и электрофорез каждого сорта повторены не менее 2-х раз. Компьютерный молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проведен с компьютерной программы POPGENE1.31 и с помощью макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением доли полиморфных локусов  $(P_{os})$ , абсолютного числа аллелей  $(n_a)$ , эффективного числа аллелей  $(n_e)$ , ожидаемой гетерозиготности  $(H_E)$ . У изученных сортов  $S.\ tuberosum$  проанализирован полиморфизм 40 ISSR-PCR маркеров.

### Результаты и их обсуждение

По итогам амплификации в ПЦР с тотальной ДНК 12 сортов S. tuberosum из 20 ISSR-праймеров были отобраны 4 наиболее эффективных для изучаемого вида (Таблица 1), среди которых два динуклеотидных ((AC)<sub>8</sub>CT; (AG)<sub>8</sub>CA), два трехнуклеотидных праймера ((AGC)<sub>6</sub>G и (ATC)<sub>7</sub>C). У трех изученных сортов S. tuberosum посредством ПЦР с четырьмя эффективными ISSR-праймерами выявлено 40 ISSR-PCR маркеров, из которых 23 являлись полиморфными ( $P_{95}$ =0,575). Число амплифицированных ISSR-PCR маркеров S. tuberosum варьировало в зависимости от праймера от 8 (праймер ISSR-5) до 12 (праймер МЗ), а их размеры — от 210 (ISSR-5) до 1100 (X11) пн (Таблица 2). Доля полиморфных локусов наибольшая у сорта Чародей S. tuberosum ( $P_{95}$ =0,303), наименьшая — у сорта Отрада ( $P_{95}$ =0,161). Ожидаемая гетерозиготность ( $P_{95}$  на общую выборку S. tuberosum составила 0,071 (Таблица 3). Этот показатель наибольший у сорта Чародей ( $P_{95}$ =0,105), а минимальный — у сорта Отрада ( $P_{95}$ =0,047).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ISSR-ПРАЙМЕРОВ S. TUBEROSUM

Таблица 1.

| ISSR-праймер |                       | Эффективность | ISSR-праймер |                      | Эффективность |
|--------------|-----------------------|---------------|--------------|----------------------|---------------|
| M2           | (AC) <sub>8</sub> CC  | 3             | ISSR-5       | (AG) <sub>8</sub> CA | 5             |
| M3           | (AC) <sub>8</sub> CT  | 5             | ISSR-6       | (AG) <sub>8</sub> CG | 4             |
| M27          | (GA) <sub>8</sub> C   | 3             | ISSR-7       | (CTC) <sub>6</sub> C | 3             |
| M9           | (GAC) <sub>5</sub> AC | 3             | ISSR-8       | (GAG) <sub>6</sub> C | 4             |
| X10          | (AGC) <sub>6</sub> C  | 4             | ISSR-9       | (ACG) <sub>7</sub> G | 4             |
| X11          | (AGC) <sub>6</sub> G  | 5             | ISSR-10      | (ATG) <sub>7</sub> C | 5             |
| ISSR-1       | (AC) <sub>8</sub> T   | 4             | CR-212       | (CT) <sub>8</sub> TG | 3             |
| ISSR-3       | (TG) <sub>8</sub> AA  | 3             | CR-215       | (CA) <sub>6</sub> GT | 4             |
| ISSR-4       | (TG) <sub>8</sub> GC  | 3             | CR-216       | (GA) <sub>6</sub> GG | 4             |
| CR-218       | (GA) <sub>6</sub> CC  | 5             | CR-217       | (GT) <sub>6</sub> GG | 3             |

Примечание: жирным шрифтом выделены наиболее эффективные ISSR-праймеры; от 1 до 5 – баллы эффективности [10]

Абсолютное число аллелей на локус ( $n_a$ ) на общую выборку составило 1,575 (Таблица 3). Этот показатель наивысший у сорта Чародей ( $n_a$  =1,250), у сорта Удача он наименьший ( $n_a$  =1,150).

Таблица 2. XAPAКТЕРИСТИКА ISSR-PCR MAPKEPOB TPEX COPTOB *S. TUBEROSUM* 

| ISSR-<br>праймеры       | Нуклеотидная последова-         | Длина<br>фрагментов<br>ДНК,<br>пн | Число полиморфных ISSR-PCR<br>маркеров (их частота) |          |           | Число полиморфных<br>ISSR-PCR маркеров |             |
|-------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---|----------|-----------|--|-------------|
| приимеры                | тельность $(5' \rightarrow 3')$ |                                   | Уд  | Om       | Чар       | всего                                  | полиморфных |
| ISSR-5                  | (AG) <sub>8</sub> CA            | 210-600                           | 2(0,250)  | 0(0,00)  | 1(0,125)  | 8                                      | 2 (0,250)   |
| ISSR-10                 | (ATG) <sub>7</sub> C            | 280-1200                          | 2(0,250)  | 2(0,250) | 4(0,444)  | 11                                     | 7 (0,640)   |
| M3                      | (AC) <sub>8</sub> CT            | 260-1070                          | 2(0,286)  | 0(0,00)  | 4(0,444)  | 12                                     | 9 (0,750)   |
| X11                     | (AGC) <sub>6</sub> G            | 200-1100                          | 0(0,00)   | 3(0,333) | 1(0,143)  | 9                                      | 5 (0,560)   |
| Всего ISSR-PCR маркеров |                                 |                                   | 6 (0,207)   | 5(0,161) | 10(0,303) | 40                                     | 23 (0,575)  |

Примечание: Уд – сорт Удача, От – сорт Отрада, Чар – сорт Чародей

Эффективное число аллелей на общую выборку равно 1,323. Наибольшее число эффективных аллелей выявлено у сорта Чародей ( $n_e$ =1,189), а минимальное – у сорта Отрада ( $n_e$ =1,079). Для характеристики сортов *S. tuberosum* важны редкие ISSR-PCR маркеры, встречающиеся с частотой менее 5%. Наибольшее число редких маркеров отмечено у сорта Чародей (R=6), а у сорта Удача не выявлено редких аллелей.

Итак, молекулярно-генетический анализ у изученных сортов картофеля выявил 40 ISSR-PCR маркеров, установил основные показатели генетического разнообразия сортов российского происхождения, то есть на начальном этапе изучения генетических характеристик сортов *S. tuberosum* использован подход полилокусного генотипирования.

Таблица 3. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ТРЕХ СОРТОВ *S. TUBEROSUM* 

| Copma /                    |               |               |               | На общую      |
|----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| показатели                 | Уд            | Om            | Чар           | выборку       |
| $H_{\scriptscriptstyle E}$ | 0,062 (0,024) | 0,047 (0,020) | 0,105 (0,030) | 0,071(0,002)  |
| $n_a$                      | 1,150 (0,362) | 1,175 (0,385) | 1,250 (0,438) | 1,575 (0,501) |
| $n_e$                      | 1,111 (0,286) | 1,079 (0,228) | 1,189 (0,353) | 1,323 (0,361) |
| R                          | 0             | 3             | 6             | 9             |

Примечание:  $H_E$  — ожидаемая гетерозиготность;  $n_a$  — абсолютное число аллелей на локус;  $n_e$  — эффективное число аллелей на локус; в скобках даны стандартные отклонения; R — число редких аллелей; обозначения сортов: Уд — Удача, От — Отрада, Чар — Чародей

Подход полилокусного генотипирования требует разработки инструментария для его массового применения. Имеющийся в настоящее время метод использования микроматриц (ДНК чипов) позволяет одновременно генотипировать несколько десятков тысяч Нуклеотидных последовательностей. Эти микроматрицы производят на заказ коммерческие фирмы. Они имеют высокую стоимость, требуют закупок дополнительного оборудования. Результаты генетического анализа с использованием микроматриц сложны для анализа и интерпретации. Это приводит к необходимости создания более простых подходов, меньших по количеству генотипируемых геномных фрагментов, но более доступных для использования и интерпретации получаемых данных.

Выявленные у сортов картофеля, используемых в зоне рискованного земледелия в Пермском крае, молекулярные маркеры могут быть использованы для выявления адаптивного и продуктивного потенциала сортов картофеля. Современный сорт картофеля комбинирует более 50 различных признаков, которые на разных этапах селекционного процесса подвергаются оценке. К наиболее значимым из них относят урожайность и ее составляющие, такие как средняя масса одного клубня, число клубней в гнезде, уровень содержания сухого вещества, уровни содержания витаминов, уровень содержания крахмала; а также сроки созревания, устойчивость к распространенным заболеваниям и вредителям, пригодность к длительному хранению, к условиям применяемой агротехники и механизированной уборке, характеристики клубня, среди которых окраска кожуры и мякоти, привлекательная и технологичная форма, мелкие глазки. Такое число признаков делает процесс традиционной селекции достаточно затратным, трудоемким и длительным. В связи с этим маркерная селекция позволяет уже на первых этапах развития растения установить генотип растений и выявить его генетический потенциал.

Картофель размножается вегетативно и сорта картофеля регулярно вырождаются. В связи с этим необходимо тестировать молекулярные маркеры, ассоциированные с практически значимыми для этой культуры признаками, а также изучать связь признака с аллельными вариантами генов. Одним из перспективных направлений исследований

картофеля будет выявление генетических механизмов, поддерживающих баланс аллельных вариантов генов, контролирующих практически значимые признаки.

Вторым перспективным направлением исследований картофеля является изучение устойчивости к патогенам. В Институте генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР) изучено генетическое разнообразие отечественных сортов картофеля и сортов селекции стран ближнего зарубежья из коллекции ВИР, которая создавалась в 1931–2015 гг. По результатам анализа полиморфизма 14 монолокусных ядерных микросателлитов (SSR-PCR маркеры) проведено генотипирование 113 селекционных сортов картофеля; исследовано распространение у сортов восьми маркеров трех R-генов (Resistance genes), участвующих в контроле устойчивости растений к двум карантинным объектам — возбудителю рака картофеля Synchytrium endobioticum Schilb. и золотистой картофельной нематоде Globodera rostochiensis Wollenweber [7].

Третьим направлением изучения картофеля на ближайшее время планируется изучение процесса накопления крахмала в клубнях. Геном картофеля к настоящему времени секвенирован. Установлено, что в процессе образования клубней и накопления крахмала у картофеля участвуют около 15 тысяч генов [8].

Таким образом, в настоящее время сформировалось два основных подхода генетических исследований картофеля — контроль генетических ресурсов (полилокусное генотипирование) и поиски молекулярно-генетических маркеров адаптивного и продуктивного потенциала (анализ структурных генов).

На основании данных о генетическом полиморфизме изученных сортов *S. tuberosum* российского происхождения, выращиваемых в Пермском крае, даны следующие рекомендации:

- 1. Выявленные у изученных сортов *S. tuberosum* ISSR-PCR маркеры могут в дальнейшем быть использованы для надежной молекулярно-генетической идентификации сортов *S. tuberosum*; важную роль при этом играют редкие молекулярные маркеры.
- 2. В практику селекционной работы рекомендуется внедрять маркерную систему оценки сортов  $S.\ tuberosum.$
- 3. Полученные генетические данные могут быть использованы для проведения генетической экспертизы сортов картофеля российского происхождения и для возможности прогнозирования их адаптивного и продуктивного потенциала.

### Выводы

- 1. Для молекулярно-генетического анализа 12 сортов *S. tuberosum* российского происхождения установлены 4 эффективных ISSR-праймера, из которых два динуклеотидных  $((AC)_8CT; (AG)_8CA)$ , два трехнуклеотидных праймера  $((AGC)_6G)_6G$  и  $(ATC)_7C$ .
- 2. У изученных сортов *S. tuberosum* выявлено 40 ISSR-PCR маркеров, из которых 23 были полиморфными ( $P_{95}$ =0,575).
- 3. Наибольшие показатели генетического разнообразия отмечены у сорта Чародей S. tuberosum ( $P_{95}$ =0,303;  $H_{\scriptscriptstyle E}$ =0,105;  $n_e$ =1,189).
- 4. У изученных сортов картофеля выявлено 9 редких ISSR-PCR маркеров, наибольшее их число отмечено у сорта Чародей (R=6). Редкие молекулярные маркеры характеризуют оригинальность и могут быть использованы для молекулярно-генетической идентификации и генетической экспертизы сортов сельскохозяйственных культур, включая и S. tuberosum.
- 5. На начальном этапе изучения генетических характеристик сортов *S. tuberosum* российского происхождения, выращиваемых в Пермском крае, использован подход полилокусного генотипирования, который является одним из основных подходов генетических исследований картофеля наравне с изучением генома, экспрессии генов, процесса накопления крахмала в клубнях, генетических механизмов поддержания стабильности сортов.

#### Источники:

- 1. Сельское хозяйство // Информация о социально-экономическом положении России. Федеральная служба государственной статистики, 2017. С. 63-68.
- 2. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений. Москва, 2017. 483 с. Режим доступа: https://goo.gl/phC6dS (дата обращения 10.02.2018)
- 3. Указ Президента Российской Федерации «О мерах по реализации государственной научно-технической политики в интересах развития сельского хозяйства» №350 от 21 июля 2016 года. Режим доступа: http://www.kremlin.ru/acts/news/52572 (дата обращения 15.02.2018).
- 4. Результаты сортоиспытания сельскохозяйственных культур на госсортоучастках // Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, 2016. Режим доступа: https://goo.gl/NYnVVH (дата обращения: 10.04.2017).

### Список литературы:

- 1. Ahmadvand R., Takács A., Taller J. et al. Potato viruses and resistance genes in potato // Acta Agronomica Hungarica. 2012. V. 60. №3. P. 283-298.
- 2. Туболев С. С., Колчин Н. Н., Пшеченков К. А. и др. Развитие машинных технологий производства картофеля в России // Достижения науки и техники АПК. 2007. №7. С. 28-31.
- 3. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification // Genomics. 1994. V. 20. №2. C. 176-183.
- 4. Nagaoka T., Ogihara Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers // TAG Theoretical and Applied Genetics. 1997. V. 94. №5. P. 597-602.
- 5. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. V. 5. №2. P. 69-76.
- 6. Календарь Р. Н., Боронникова С. В. Анализ молекулярно-генетического полиморфизма природных популяций редких видов растений Урала с помощью ретротранспозонов // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы IV Московского междунар. конгр. Т. 2. 2007. С. 121.
- 7. Антонова О. Ю., Швачко Н. А., Новикова Л. Ю. и др. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по данным полиморфизма SSR-локусов и маркеров R-генов устойчивости // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. №5. С. 596-606.
- 8. Consortium T. P. G. S. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato // Nature. 2011. V. 475. №7355. P. 189-195.

### References:

- 1. Ahmadvand, R., Takács, A., Taller, J., & al. (2012). Potato viruses and resistance genes in potato. *Acta Agronomica Hungarica*, 60, (3). 283-298
- 2. Tubolev, S. S., Kolchin, N. N., Pshechenkov, K. A., & al. (2007). The development of machine technologies of potato production in Russia. *The achievement of science and technology*, (7). 28-31
- 3. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20, (2). 176-183
- 4. Nagaoka, T., & Ogihara, Y. (1997). Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 94, (5). 597-602
- 5. Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*, 5, (2). 69-76

- 6. Kalendar, R. N., & Boronnikova, S. V. (2007). Analysis of molecular-genetic polymorphism of natural populations of rare plant species of the Urals with the help of retrotransposons. *Biotechnology: state and prospects of development: materials of the IV Moscow International University Congress*, 2. 121
- 7. Antonova, O. Yu., Shvachko, N. A., Novikova, L. Yu., & al. (2016). Genetic diversity of potato varieties of Russian breeding and near foreign countries according to polymorphism of SSR loci and markers of resistance R-genes. *Vavilovsky Journal of Genetics and breeding*, 20, (5). 596-606
- 8. Consortium T. P. G. S. (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*, 475, (7355). 189-195

Работа поступила в редакцию 22.02.2018 г. Принята к публикации 26.02.2018 г.

Ссылка для цитирования:

Печенкина В. А., Жуланов А. А., Пришнивская Я. В., Васильева Ю. С., Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ отечественных сортов *Solanum tuberosum* L. // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4. №3. С. 11-19. Режим доступа: http://www.bulletennauki.com/pechenkina (дата обращения 15.03.2018).

Cite as (APA):

Pechenkina, V., Zhulanov, A., Prishnivskaya, Ya., Vasilieva, Yu., & Boronnikova, S. (2018). Molecular-genetic analysis of national varieties of *Solanum tuberosum* L. *Bulletin of Science and Practice*, 4, (3), 11-19