

ОБЪЕДИНЕННОЕ НАУЧНОЕ МЕРОПРИЯТИЕ

**«ДЕНЬ ПОЛЯ»**

**В РАМКАХ КПНИ ФАНО РОССИИ**

**«РАЗВИТИЕ СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВА**

**КАРТОФЕЛЯ» И НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**

**«ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ**

**И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ**

**КАРТОФЕЛЯ»**



1–5 августа 2018 года,  
Новосибирск, Россия

Федеральный исследовательский центр  
Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук

**ОБЪЕДИНЕННОЕ НАУЧНОЕ МЕРОПРИЯТИЕ**  
**«ДЕНЬ ПОЛЯ» В РАМКАХ КПНИ ФАНО РОССИИ**  
**«РАЗВИТИЕ СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВА КАРТОФЕЛЯ»**  
**И НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ**  
**И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ**  
**И СЕМЕНОВОДСТВЕ КАРТОФЕЛЯ»**

1–5 августа 2018 года,  
Новосибирск, Россия

Тезисы докладов

Новосибирск 2018

УДК 633.49

Т33

**Теоретические основы и прикладные исследования в селекции и семеноводстве картофеля :**  
Тезисы докладов научной конференции, 1–5 августа 2018 года, Новосибирск, Россия ; Рос. акад. наук, Сиб. отд.-ние, Федер. исслед. центр Ин-т цитологии и генетики. – Новосибирск, 2018. – 40 с. – ISBN 978-5-91291-035-7.

*Конференция проводится при поддержке:*

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО)

Российский научный фонд (РНФ) – проекты № 16-16-04073 и 16-16-04125

### **Организаторы**

Федеральное агентство научных организаций России (ФАНО России)

Российский научный фонд (РНФ)

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН)

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)

### **Программный комитет**

Колчанов Николай Александрович, академик РАН, ФИЦ ИЦиГ СО РАН – председатель

Кочетов Алексей Владимирович, чл.-кор. РАН, ФИЦ ИЦиГ СО РАН – сопредседатель

Гавриленко Татьяна Андреевна, профессор, ФИЦ ВИР – сопредседатель

Афанасенко Ольга Сильвестровна, академик РАН, ВИЗР

Белоусов Николай Михайлович, к.с.-х.н., СибНИИСХиТ – филиал СФНЦА

Жевора Сергей Валентинович, к.с.-х.н., ВНИИКХ

Журавлева Екатерина Васильевна, профессор, Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации

Кашеваров Николай Иванович, академик РАН, СФНЦА

Киру Степан Димитрович, д.б.н., ФИЦ ВИР

Лапшинов Николай Алексеевич, д.с.-х.н., доцент, КемНИИСХ – филиал СФНЦА

Лихенко Иван Евгеньевич, д.с.-х.н., ФИЦ ИЦиГ СО РАН

Сташевски Зенон, к.б.н., ТатНИИСХ

Тихонович Игорь Анатольевич, академик РАН, СПбГУ, ВНИИСХМ

Хлебова Любовь Петровна, к.б.н., доцент, АлтГУ

Хлесткина Елена Константиновна, профессор, ФИЦ ВИР, ФИЦ ИЦиГ СО РАН

Шумный Владимир Константинович, академик РАН, ФИЦ ИЦиГ СО РАН

### **Организационный комитет (сотрудники ИЦиГ СО РАН)**

Зубова Светлана Васильевна – председатель

Смирнова Ольга Григорьевна – ученый секретарь конференции

Артёмова Галина Васильевна

Карамышева Татьяна Витальевна

Морковина Алина Владимировна

Токпанов Ерлан Аскарлович

Тоцкий Игорь Васильевич

Харкевич Андрей Владимирович

Чалкова Татьяна Федоровна

### **Контакты**

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН)

адрес: 630090, Россия, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 10

сайт ИЦиГ СО РАН: <http://www.bionet.nsc.ru/>

сайт конференции: <http://conf.bionet.nsc.ru/potato2018/>

электронный адрес оргкомитета: [Potato2018@icg.sbras.ru](mailto:Potato2018@icg.sbras.ru)

ISBN 978-5-91291-035-7

© Коллектив авторов, 2018

© ИЦиГ СО РАН, 2018

## Содержание

Полиморфизм последовательностей гомологов <i>RFL-PPR</i> -генов в геноме картофеля <i>Solanum tuberosum</i> L. <i>И.Н. Анисимова, Н.В. Алпатьева, Ю.И. Карабицина, Т.А. Гавриленко</i>	5
Полиморфизм локусов митохондриальной ДНК у образцов картофеля, отличающихся по признаку мужской фертильности/стерильности и обладающих разными типами цитоплазм. <i>О.Ю. Антонова, Н.В. Алпатьева, К.В. Егорова, Н.С. Клименко, Ю.И. Карабицина, Т.А. Гавриленко</i>	6
Сборка функционального бактериофага MS2 в растительных системах семейства <i>Solanaceae</i> на модели <i>Nicotiana tabacum</i> . <i>Д.О. Байрамова, М.А. Томилин, И.В. Жирнов, Е.А. Филипенко, С.В. Герасимова, А.В. Кочетов</i>	7
Молекулярный скрининг образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКСХ. <i>В.А. Бирюкова, И.В. Шмыгля, А.В. Митюшкин, А.А. Мелёшин, В.А. Жарова</i>	8
Новая стратегия селекции и семеноводства картофеля – перспективы и направления развития. <i>Т.А. Гавриленко</i>	9
Криокolleкция картофеля в ВИР. <i>Т.А. Гавриленко, Ю.В. Ухатова, Н.А. Швачко, О.Ю. Антонова, Н.Н. Волкова, Н.С. Клименко</i>	10
Совершенствование элементов технологии ускоренного размножения оздоровленного картофеля методом апикальной меристемы в лесостепи Новосибирского Приобья. <i>Р.Р. Галеев, С.Х. Вышегуров, А.С. Денисов, М.С. Шульга, А.Н. Мармулев, И.С. Самарин</i>	11
Результаты селекции картофеля в Кемеровском НИИСХ – филиале СФНЦА РАН. <i>А.Н. Гантимурова, В.И. Куликова, В.П. Ходаева, Н.А. Лапишинов</i>	12
Устойчивость крахмала картофеля отечественной селекции. <i>Л.М. Гвоздева, В.К. Хлесткин</i>	13
Постановка метода тестирования активности системы gRNA/Cas9 в клетках эпидермиса картофеля. <i>С.В. Герасимова, А.А. Егорова, Ю.В. Сидорчук, А.В. Кочетов</i>	14
Постановка методики анализа содержания алкалоидов в тканях некоторых видов семейства пасленовых методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. <i>Д.В. Домрачев, А.А. Егорова, К.А. Колошина, С.В. Герасимова</i>	15
Сравнение транскриптомов двух генотипов растений <i>Solanum phureja</i> с контрастной устойчивостью к золотистой картофельной нематодe ( <i>Globodera rostochiensis</i> ). <i>А.А. Егорова, Н.А. Шмаков, С.В. Герасимова, Г.В. Васильев, Н.В. Шацкая, К.В. Стрыгина, Д.А. Афонников, А.В. Кочетов</i>	16
Влияние фунгицидного биопрепарата на морфометрические характеристики <i>Fusarium</i> spp. – возбудителя картофельной сухой гнили. <i>Н.Т. Жилинская, Ю.Г. Базарнова</i>	17
Повышение эффективности начальных этапов микрклонального размножения картофеля в культуре апикальных меристем. <i>Н.В. Зобова, С.Ю. Луговцова</i>	18
Перспективы использования сортов картофеля сибирской селекции в генно-инженерных работах. <i>С.М. Ибрагимова, А.В. Романова, Г.Х. Мызгина, А.В. Кочетов</i>	19
Скрининг сортов и гибридов картофеля отечественной селекции с использованием молекулярных маркеров генов <i>RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1</i> . <i>Н.С. Клименко, О.Ю. Антонова, З.З. Евдокимова, Л.И. Костина, Т.А. Гавриленко</i>	20
Разработка методик фенотипирования диких видов картофеля. <i>К.А. Колошина, К.А. Иванова, Е.Г. Комышев, М.А. Генаев, А.В. Кочетов, С.В. Герасимова</i>	21

Эффективность выращивания мини-клубней картофеля на современных установках в зависимости от генотипа. <i>К.А. Колошина, Н.И. Полухин, Г.Х. Мызгина</i>	22
Отзывчивость картофеля сорта Невский на возрастающие дозы минеральных удобрений. <i>К.Н. Корляков, А.И. Косолапова, Д.С. Фомин, В.Р. Ямалтдинова, А.Ф. Сметанников</i>	23
Исходный материал для селекции картофеля в Тюменской области. <i>Ю.П. Логинов, К.А. Кендус, А.С. Гайзатулин</i>	24
Восприятие цитокининового сигнала у картофеля. <i>С.Н. Ломин, Ю.А. Мякушина, О.О. Колачевская, И.А. Гетман, Д.В. Архипов, Е.М. Савельева, Г.А. Романов</i>	25
Подбор сортов картофеля для почвенно-климатических условий степной зоны Южного Урала. <i>А.А. Мушинский, Е.В. Аминова, Т.Т. Дергилёва</i>	26
Изучение процентного содержания фосфора в коллекции картофеля вида <i>Solanum tuberosum</i> . <i>И.В. Розанова, В.К. Хлесткин, В.М. Ефимов, Е.К. Хлесткина</i>	27
Разработка концепции преобразования глинисто-солевых отходов (шламов) после переработки К-Mg руд в комплексные удобрения пролонгированного действия, содержащие питательные компоненты (К, Mg, Ca) на бесхлорной основе, минералы-мелиоранты и микроэлементы. <i>А.Ф. Сметанников, А.И. Косолапова, Д.М. Оносов, Д.С. Фомин, В.Р. Ямалтдинова, Е.Ф. Оносова</i>	28
Использование промоторов генов картофеля для регуляции экспрессии целевых генов у трансгенных растений. <i>О.Г. Смирнова, А.В. Кочетов</i>	29
Гены, определяющие антоциановую пигментацию картофеля <i>Solanum tuberosum</i> L., как мишени для селекции сортов с высокой пищевой ценностью. <i>К.В. Стрыгина, А.В. Кочетов, Е.К. Хлесткина</i>	30
Изучение генофонда картофеля в условиях Крайнего Севера. <i>А.Н. Тихановский</i>	31
Апробация ДНК-маркеров генов устойчивости к раку картофеля и золотистой картофельной нематоды при оценке сортов и гибридов картофеля. <i>И.В. Тоцкий, А.Д. Сафонова, Е.К. Хлесткина, А.В. Кочетов</i>	32
Сортоспецифичность уровня рибонуклеазной активности в листьях картофеля и ее связь с устойчивостью к фитопатогенам. <i>Е.А. Трифонова, С.М. Ибрагимова, А.В. Романова, А.В. Кочетов</i>	33
Оценка количественных характеристик опущения листьев перспективных гибридов и сортов картофеля селекции Кемеровского НИИСХ – филиала СФНЦА РАН. <i>В.П. Ходаева, В.И. Куликова, О.А. Исачкова, А.В. Дорошков, Д.А. Афонников</i>	34
Верификация зараженности корней картофеля золотистой картофельной нематодой. <i>А.В. Хютти, Н.В. Мироненко, О.С. Афанасенко</i>	35
Эндо- и эпифитные бактерии картофеля дикого типа – продуценты экспериментальных образцов микробных препаратов для биологической защиты новых сортов картофеля. <i>В.К. Чеботарь, А.В. Щербаков, Е.Н. Щербакова, Л.М. Яхина, О.В. Комарова, Ю.В. Лактионов, А.П. Кожемяков, И.А. Тихонович</i>	36
Анализ транскриптов, специфичных для линии картофеля, устойчивой к золотистой картофельной нематоды, из данных RNA-seq. <i>Н.А. Шмаков, Д.А. Афонников, А.В. Кочетов</i>	37
Фенотипирование картофеля ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) по биохимическим параметрам крахмала. <i>Т.В. Эрст, Л.М. Гвоздева, В.К. Хлесткин</i>	38
Сравнительный анализ морфологических признаков гранул крахмала <i>Solanum tuberosum</i> из растений, выращенных в 2016–2017 годах. <i>Т.В. Эрст, А.В. Дорошков, В.К. Хлесткин</i>	39
Авторский указатель	40

## Полиморфизм последовательностей гомологов *RFL-PPR*-генов в геноме картофеля *Solanum tuberosum* L.

И.Н. Анисимова\*, Н.В. Алпатьева, Ю.И. Карабицина, Т.А. Гавриленко  
ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР),  
Санкт-Петербург, Россия

\* e-mail: irina\_anisimova@inbox.ru

Изучение генетических систем ЦМС-*Rf* у картофеля имеет как теоретическое, так и практическое значение, что связано с появлением нового направления в современной селекции этой важной культуры, заключающегося в создании гетерозисных гибридов, полученных от скрещиваний инбредных диплоидных линий (Lindhout et al., 2011; Jansky et al., 2016). Известно, что с признаком мужской стерильности у картофеля ассоциированы типы цитоплазм T/beta, W/gamma и W/alpha (D), однако природа генов восстановления фертильности пока не изучена. С целью поиска гомологов генов *Rf* в полногеномной нуклеотидной последовательности NW\_006239540.1 образца *Solanum tuberosum* DM 1-3 516 R44 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) были идентифицированы 38 фрагментов длиной 2404–5694 п.н., гомологичных последовательностям гена *Rf-PPR592* петунии (*Petunia × hybrida*). Фрагменты относятся к 5 локусам, кодируют белки длиной 589–597 аа и характеризуются сходством (62–64 % идентичных аминокислотных остатков) с продуктами генов восстановления фертильности пыльцы петунии и перца чили *Capsicum annuum*. Все они, как и продукты генов *Rf* петунии и перца чили, содержат 14 или 15 tandemно повторяющихся структурных мотивов из 35 вырожденных аминокислотных остатков (PPR – pentatricopeptide repeats) и, по-видимому, принадлежат к подсемейству *RFL-PPR*-генов (*Restoration of Fertility Like-PPR*).

Для *in silico* идентификации полиморфных вариантов гомологов *RFL-PPR*-генов были разработаны специфичные праймеры, фланкирующие наиболее вариабельные районы длиной 782–865 п. н. исследуемых локусов. Ампликоны, синтезированные на ДНК-матрицах 9 образцов, различавшихся по типу цитоплазмы (T/beta или W/alpha), а также фертильности/стерильности пыльцы, были клонированы и секвенированы. Все генотипы характеризовались высоким уровнем гетерозиготности изученных локусов. Частота идентифицированных SNP варьировала от 7,0 до 19,8 % в зависимости от локуса, а соотношение числа несинонимических и синонимических замен – от 0,9 до 2,1. Разработаны консенсусные последовательности для 7 PPR-мотивов. Полученные результаты согласуются с современными представлениями об отсутствии интронов в последовательностях *RFL-PPR*-генов у растений, высоком уровне полиморфизма, кластерной организации в геномах (Fujii et al., 2011; Dahan, Migeau, 2013), высоком уровне вариабельности аминокислотных остатков в позициях 1 и 6 мотива, а также данными о наличии 5–6 локусов *RFL-PPR*-генов у других представителей семейства Solanaceae – перца чили *C. annuum* (Jo et al., 2016) и табака *N. tomentosiformis* (Ding et al., 2014). Результаты исследования показывают, что изученные последовательности генома картофеля можно рассматривать как кандидаты генов *Rf*.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-16-04125).

## Полиморфизм локусов митохондриальной ДНК у образцов картофеля, отличающихся по признаку мужской фертильности/стерильности и обладающих разными типами цитоплазм

О.Ю. Антонова<sup>1\*</sup>, Н.В. Алпатьева<sup>1</sup>, К.В. Егорова<sup>1,2</sup>, Н.С. Клименко<sup>1</sup>,  
Ю.И. Карабичина<sup>1</sup>, Т.А. Гавриленко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

\* e-mail: olgaant326@mail.ru

В работе изучен полиморфизм локусов митохондриального генома у сортов и селекционных клонов картофеля, имеющих, согласно классификации Hosaka, Sanetomo (2012), стерильные (T/beta, W/gamma, D = W/alpha) и фертильный (P/beta) типы цитоплазм. Материал был фенотипирован по признаку фертильности/стерильности пыльцы.

Методом секвенирования были проанализированы участки генов, которые, согласно литературным данным, могут быть связаны с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), а именно: гены АТФ-синтаз (*atp6*, *atp9*), интроны генов *nad2*, *nad7*, *cox2*, *CcmFc*, *rps3* и межгенный спейсер *nad1/atp6*. Данные последовательности идентифицированы нами в неаннотированном митохондриальном геноме *Solanum phurea* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JF772172.1>). Для их амплификации было разработано 11 пар праймеров, ПЦР-продукты были секвенированы на приборе ABI 3500xl в ЦКП «Геномные технологии и клеточная биология» (ФГБНУ ВНИИСХМ). Независимо от типа цитоплазмы образцов, участки генов *nad2*, *nad7*, *cox2*, *rps3* и *atp6* были идентичны друг другу и референсной последовательности JF772172.1. В межгенном спейсере *nad1/atp6* обнаружен один полиморфный сайт (замена G→T), позволяющий отличать образцы с beta-типом мт-ДНК. Последовательность мт-локуса *atp9* у изученных генотипов была представлена несколькими вариантами, отличавшимися друг от друга 1–17 заменами. У селекционного клона NV20 (gamma-тип мтДНК) выявлен «усеченный» вариант последовательности гена *CcmFc* – фрагмент длиной 687 п. о., тогда как основной амликон имел длину 2016 п. о. Обнаруженные отличия не оказывали влияния на признак фертильности пыльцы.

Дополнительно был проанализирован локус *rps14/cob*, в котором ранее методом ПДРФ анализа были выявлены фрагменты, специфичные для стерильного W/gamma типа цитоплазмы. С помощью разработанных нами полиморфных CAPS-маркеров показано отсутствие полиморфизма в данном локусе у 202 образцов с alpha- и beta- типами мтДНК – все они относились к одному митотипу rumD1. В то же время, 26 сортов с тетрадной мужской стерильностью (цитоплазма W/gamma), разделились на 14 митотипов. Объяснением высокого полиморфизма локуса *rps14/cob* у сортов с цитоплазмой W/gamma могут быть перестройки в мтДНК, происходящие при межвидовой гибридизации. Дальнейшие исследования будут связаны с секвенированием выявленных полиморфных вариантов локуса *rps14/cob*.  
*Благодарности:* Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 16-16-04125.

## Сборка функционального бактериофага MS2 в растительных системах семейства Solanaceae на модели *Nicotiana tabacum*

Д.О. Байрамова<sup>1,2\*</sup>, М.А. Томилин<sup>1</sup>, И.В. Жирнов<sup>2</sup>, Е.А. Филипенко<sup>2</sup>,  
С.В. Герасимова<sup>2</sup>, А.В. Кочетов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: bayramova.daria@gmail.com

Растительная система является эукариотической и малозатратной в содержании, в отличие от культур клеток млекопитающих, что делает ее очень удобной для биотехнологического производства. Сборка в такой системе вируса, сохраняющего свою вирулентность, может говорить о том, что биосинтез с целевых генов в модельной системе приводит к образованию продуктов, взаимодействующих между собой так же, как и в организме-хозяине, что повышает привлекательность такой экспрессионной системы для биотехнологии.

Вирусная частица бактериофага MS2, хозяином которого является *E. coli*, содержит белок оболочки, молекулу матуразы, необходимой для процессинга мРНК, и молекулу РНК. Мы предполагаем, что для образования вирулентной частицы достаточно присутствия в одной экспрессионной системе генов белка оболочки и матуразы и генома MS2.

Созданы генетические конструкции на основе плазмид, каждая из которых несет либо ген белка оболочки, либо ген матуразы, либо геном и дает устойчивость к своему антибиотику. Правильность конструкций подтверждена секвенированием по Сэнгеру, ПЦР и рестрикционным анализом. Поставлены методы транзientной экспрессии и биобаллистики. Проводится агробактериальная трансформация стерильных растений *Nicotiana tabacum* верифицированными конструкциями. Предстоит внести генетические конструкции в растения табака путем последовательных агробактериальных трансформаций и путем скрещиваний растений, несущих различные конструкции. Анализ активности фага будет заключаться в получении фаговых бляшек из экстракта трансформированных растений.

## Молекулярный скрининг образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ

В.А. Бирюкова\*, И.В. Шмыгля, А.В. Митюшкин, А.А. Мелёшин, В.А. Жарова  
 Всероссийский НИИ картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха, Красково,  
 Московская область, Россия  
 \* e-mail: vika\_biryukova@inbox.ru

В результате многолетней работы во ВНИИКХ сформирована генетическая коллекция биоресурсов картофеля, представленная родительскими линиями и донорами (сортообразцами и гибридами), полученными на основе беккроссов межвидового происхождения. В настоящее время коллекция насчитывает более 600 генотипов картофеля, обладающих уникальным набором ценных признаков для основных направлений селекции: полевой устойчивости к фитофторозу, экстремальной устойчивости к X и Y вирусам картофеля, комплексной устойчивости к обоим видам картофельной цистообразующей нематоды, повышенной крахмалистости и пригодности к переработке по показателям цвета чипсов.

Образцы коллекции, полученные методами накапливающих и синтетических скрещиваний, вновь вовлекаются в гибридизацию с целью повышения уровня полигенных признаков и расширения их генетического разнообразия, используются в практической селекции, в том числе различными НИУ, сотрудничающими с ВНИИКХ по созданию новых сортов картофеля для разных почвенно-климатических условий РФ. С помощью методов маркер-вспомогательной селекции проведен скрининг образцов генетической коллекции ВНИИКХ на наличие генов устойчивости к картофельной цистообразующей нематоды, X и Y вирусам картофеля. В результате выделены гибриды картофеля с комбинацией молекулярных маркеров – 4421-16 (Поко × Русский сувенир) (*HI*, *Gro1-4*, *Ry<sub>sto</sub>*), 4707-32 (Alwara × 88.17/72) (*Gro1-4*, *Gpa2*, *Ry<sub>sto</sub>*, *Rx1*), 4701-14 (Alwara × Русский сувенир) (*Gro1-4*, *Gpa2*, *Ry<sub>sto</sub>*, *Rx1*), 4701-16 (Alwara × Русский сувенир) (*Gpa2*, *Ry<sub>sto</sub>*, *Rx1*), 2646-11 (92.13-186 × 91.30-66) (*Gro1-4*, *Gpa2*, *Ry<sub>adg</sub>*, *Rx1*), 2657-5 (Эффект × 2372-66) (*Gpa2*, *Ry<sub>adg</sub>*, *Rx1*), 92.13-163 (Ресурс × 655 m-30) (*HI*, *Ry<sub>sto</sub>*, *Ry<sub>adg</sub>*), 1683-1 (Метеор × Фиолетовый) (*HI*, *Gpa2*, *Ry<sub>sto</sub>*, *Rx1*), 1327-1 (Лира × Raja) (*HI*, *Gro1-4*, *Gpa2*, *Rx1*), 4434-1 (Роко × Аврора) (*HI*, *Gro1-4*, *Ry<sub>sto</sub>*), 4525-4 (Вектор × Аврора) (*HI*, *Gpa2*, *Ry<sub>adg</sub>*, *Rx1*), представляющие интерес для дальнейшей селекции. Данные молекулярного скринирования о наличии генов устойчивости к патогенам служат ценной информацией для селекционеров как один из важных критериев при составлении программ по гибридизации картофеля.

*Благодарности:* Работа выполнена в соответствии с НИОКТР, номер госрегистрации 0596-2018-0003.

## Новая стратегия селекции и семеноводства картофеля – перспективы и направления развития

Т.А. Гавриленко\*

ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР),  
Санкт-Петербург, Россия

\* e-mail: tatjana9972@yandex.ru

Методы создания высокопродуктивных гетерозисных гибридов, получаемых от межлинейных скрещиваний, широко используются для кукурузы, подсолнечника, сорго, риса, перца и других культурных растений. Для повышения эффективности массового производства гибридных семян этих культур в скрещивания вовлекают инбредные родительские линии с разными типами мужской стерильности – генной (ГМС), цитоплазматической (ЦМС), а также линии, несущие доминантные аллели генов восстановления фертильности пыльцы (*Rf*).

Для возделываемого картофеля *Solanum tuberosum* ( $2n = 4x = 48$ ) – важнейшей незерновой продовольственной культуры, размножаемой вегетативно, данное направление селекции и семеноводства ранее не разрабатывалось. Традиционные методы селекции картофеля существенно затрудняет ряд генетических факторов: стерильность многих форм, автотетраплоидность, высокий уровень гетерозиготности, тетрасомное наследование признаков и проявление сильной инбредной депрессии. Вегетативный способ размножения картофеля, способствующий накоплению вирусных и других инфекций, осложняет репродукционное размножение селекционных сортов; эта проблема в настоящее время решается с использованием достаточно затратных и длительных технологий безвирусного семеноводства.

Недавно ряд голландских и североамериканских генетиков и селекционеров (Lindhout et al., 2011; Jansky et al., 2016) предложили новую стратегию развития селекции и семеноводства картофеля, основанную на создании диплоидных инбредных линий, линейно-гибридной селекции и использовании технологий TPS (True Potato Seeds). Прогнозируемыми преимуществами новой стратегии является: кардинальное сокращение сроков селекционного процесса за счет повышения эффективности отбора на диплоидном уровне генотипов с аллелями генов, детерминирующих ценные признаки, и элиминации генотипов с аллелями генов, ассоциированных с инбредной депрессией и негативными свойствами; а также возможность сокращения длительных и затратных технологий безвирусного семеноводства, поскольку подавляющее большинство патогенов с пылью не передается. Lindhout et al. (2017, 2018) продемонстрировали первые успешные результаты оценки диплоидных гетерозисных гибридов картофеля, продуктивность которых не уступала коммерческим тетраплоидным сортам; эти гибриды получают на основе кастрации и опыления вручную инбредных диплоидных линий. Обсуждаются перспективы исследований генетических систем ЦМС-*Rf* у картофеля, актуальность которых была обоснована Анисимовой и Гавриленко (2017), в целях повышения эффективности селекции диплоидных гетерозисных гибридов.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФ № 16-16-04125.

## Криоколлекция картофеля в ВИР

Т.А. Гавриленко, Ю.В. Ухатова, Н.А. Швачко, О.Ю. Антонова, Н.Н. Волкова,  
Н.С. Клименко

*ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР),  
Санкт-Петербург, Россия*

\* e-mail: tatjana9972@yandex.ru

В коллекции ВИР сохраняется около 2200 отечественных и зарубежных селекционных сортов и 3400 образцов культурных видов картофеля, представленных аборигенными южно-американскими сортами. Генофонд культурных видов картофеля сохраняется в полевых коллекциях, которые подвержены воздействию патогенов и вредителей, а также экстремальных абиотических факторов. Для надежного сохранения сортов картофеля в крупнейших мировых генбанках создаются дублетные *in vitro* и криоколлекции.

В ВИР в 2010 году с использованием метода дроплет-витрификации (Panis et al., 2005) были начаты исследования по криоконсервации картофеля. В дальнейшем была разработана оригинальная модификация данного метода для криоконсервации почек *in vitro* растений картофеля и (Shvachko, Gavrilenko, 2011; Дунаева и др., 2011; Швачко, 2012; Ухатова и др., 2017). Модифицированный метод отличается от исходного протокола Panis et al. (2005) устранением стадии предобработки исходных микрорастений и использованием модифицированных питательных сред на этапах микроразмножения, вычленения эксплантов и посткриогенной регенерации.

подавляющее число образцов, отобранных для криоконсервации, генотипированы с использованием SSR маркеров и охарактеризованы по числу хромосом. В настоящее время криоколлекция картофеля ВИР включает 216 образцов картофеля, в том числе: 162 образца культурных видов, 44 отечественных селекционных сорта и 10 селекционных клонов, заложенных на длительное хранение при сверхнизких температурах в соответствии с международными стандартами (три повторности на образец с 30 эксплантатами на каждую повторность и контролем способности эксплантов к регенерации после оттаивания). Уровень посткриогенной регенерации эксплантов варьировал в зависимости от генотипа от 15,0 до 94,9 %, при этом около 77 % образцов имели уровень регенерации выше 40 %.

*Благодарности:* Криоконсервация 32 современных российских селекционных сортов выполнена при поддержке программы «Развитие селекции и семеноводства картофеля в РФ». Криоконсервация 40 образцов (аборигенные южно-американские и европейские сорта) с идентифицированными типами стерильных и фертильных цитоплазм проведена при поддержке гранта РНФ № 16-16-04-125.

## **Совершенствование элементов технологии ускоренного размножения оздоровленного картофеля методом апикальной меристемы в лесостепи Новосибирского Приобья**

Р.Р. Галеев\*, С.Х. Вышегуров, А.С. Денисов, М.С. Шульга, А.Н. Мармулев, И.С. Самарин

*Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия*

*\* e-mail: rastniev@mail.ru*

Картофель является одной из значимых сельскохозяйственных культур. В год каждый житель России должен потреблять до 129 кг картофеля. Однако в ряде регионов страны уровень потребления культуры остается ниже этой нормы. Несмотря на высокий потенциал продуктивности современных сортов картофеля на уровне 8–10 т/га, фактическая урожайность в Сибири составляет в среднем 1,9–2,6 т/га. Одной из причин невысокой урожайности является крайний недостаток высококачественного оздоровленного посадочного материала новых районированных и перспективных сортов картофеля. Цель работы – сравнительная оценка эффективности использования разных способов ускоренного размножения безвирусного посадочного материала сортов картофеля разной группы спелости. Исследования проведены в 2015–2017 гг. на выщелоченном черноземе УОХ «Практик» Новосибирского района Новосибирской области. Выращивание пробирочных растений проводится в агаровой среде по Мурасиге–Скугу, гидропонное выращивание – на установке «Картофельное дерево 10» в модификации ОАО «Дока», на аэропонной установке в модификации ФНУ ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, учеты и наблюдения – по методике ВНИИКС. Растения регулярно оценивались на зараженность вирусами методами ИФА с помощью диагностических наборов, а также ПЦР-методом. При изучении сортов разной группы спелости, оздоровленных методом апикальной меристемы, отмечено превышение показателей урожайности растений за счет оздоровления на 34–47 %. Максимальная урожайность семенного картофеля и наибольшая отзывчивость на оздоровление выявлены у ранних сортов Ред Скарлет, Любава, Юна, среднеранних Свитанок киевский и Кемеровчанин, среднеспелых Тулеевский и Хозяюшка. Установлена эффективность пересадки пробирочных оздоровленных растений в аэропонную установку. Максимальные параметры коэффициента размножения наблюдались у ранних сортов: Любава и Фреско, среднеранних Свитанок киевский и Кемеровчанин, среднеспелых Тулеевский и Хозяюшка. Статистически определено, что урожайность семенного картофеля зависела от генотипа на 33 % и от оздоровления на 46 %. Показано, что у сортов трех групп спелости применение аэропонной установки позволяет сократить срок вегетации безвирусного картофеля на 12–14 суток в сравнении с гидропонной установкой и на 20–23 суток с вариантом в теплице. Отмечено, что по ранним сортам на фоне оздоровления в среднем за 4 года исследований урожайность безвирусных клубней у сорта Антонина возрастала на 20 %, Любава – 32, Ред Скарлет – 51, Фреско – 28; среднеранним сортам Невский – 32 %, Кемеровчанин – 28, Лина – 22, Свитанок Киевский – 39. У среднеспелых сортов наиболее отзывчив на оздоровление сорт Тулеевский – 43 %.

## Результаты селекции картофеля в Кемеровском НИИСХ – филиале СФНЦА РАН

А.Н. Гантимурова\*, В.И. Куликова, В.П. Ходаева, Н.А. Лапшинов

Кемеровский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал  
Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий РАН, пос. Новостройка,  
Кемеровская область, Россия

\* e-mail: anna\_gantimurova@mail.ru

В Кемеровском научно-исследовательском институте сельского хозяйства ежегодно изучается исходный материал картофеля с последующим отбором лучших форм и использованием его в селекционном процессе. Генетические источники выделяются по признаку урожайности, раннеспелости, содержанию крахмала, устойчивости к основным болезням, адаптивным свойствам, пригодности к переработке. На основе полученных данных создан ряд перспективных гибридов, сочетающих в себе ценные признаки. При создании сортов картофеля одним из важных показателей хозяйственно ценных признаков является их продуктивность. В 2016–2017 гг. выделены гибриды с урожайностью 681–775 г/куст: 4-5-14, 6-1-14, 22103-10, 17-5/6-11, 11-13, 159-1, 3-24-14, 1-1-14, 175-10, достоверно превышающие стандартный сорт Невский на 61–378 г/куст при НСР<sub>05</sub> 52,96. Крахмалонакопление в клубнях картофеля является качественным признаком, который определяет назначение сорта на вид переработки (спирт, крахмал). Выделены образцы с высоким содержанием крахмала (18 % и более): 5-20с-12 (21,8 %), 12-7с-11 (21,3 %), 141-13 (21,25 %), 9-14-12 (21,17 %), 81-13 (20,1 %), 8-10-12 (18,83 %). Для получения качественной продукции необходимы сорта с хорошими вкусовыми качествами, способные сохранить цвет мякоти в процессе изготовления картофелепродуктов, выделены гибриды 82-13, 1-1-14, 12-7с-11. Устойчивость к вредителям и болезням у картофеля обеспечивается доминантными генами, которые способны оказывать свое действие даже в симплексном состоянии и защищают растение. ДНК-маркеры, тесно сцепленные с генами устойчивости, значительно ускоряют поиск селекционно-ценных образцов. Исследования проведены в ООО «Синтол» (Москва) на клубневом материале картофеля Кемеровского НИИСХ – филиала СФНЦА РАН по выявлению маркеров генов устойчивости. Выделены гибриды картофеля, имеющие гены устойчивости к патогенам Y-вирусу (*Rysto*) – 11-13, 9-14-12, 1/5-3-13, 1-1-14, 3-21с-11, 22103-10, 1-5-12 и (*Ryhc*) – 17-5/6-11, 1-5-12; X-вирусу (*PVX*) – 81-13, 1-1-14; золотистой картофельной нематодой (*Globodera rostochiensis*) (*HI*) – 141-13, 11-13, 8-10-12, 9-14-12, 1/5-3-13, 1-1-14, 5-11-14, 14-129-08, 17-5/6-11, 3-21с-11, 22103-10, 6-14-11, 1-5-12 и (*Gro1-4*) – 1-5-12, 3-21с-11, 22103-10; бледной картофельной нематодой (*Globodera pallida*) (*Gpa 2*) – 1-5-12, 81-13; раку картофеля (*Synchytrium endobioticum*) (*NL 25*) – 8-10-12, 1-1-14, 4-5-14, 5-11-14. По результатам анализа полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ) с комплексом генов устойчивости к патогенам выделены гибриды 1-5-12, 3-21с-11, 22103-10, 1-1-14.

*Благодарности:* Исследования проведены в рамках Федеральной научно-практической программы развития сельского хозяйства на 2016–2025 гг. по приоритетному направлению «Картофелеводство» и Федеральной программы по биоресурсной коллекции «Сорта и гибриды картофеля, селекционные исследования» Кемеровского НИИСХ – филиала СФНЦА РАН.

## Устойчивость крахмала картофеля отечественной селекции

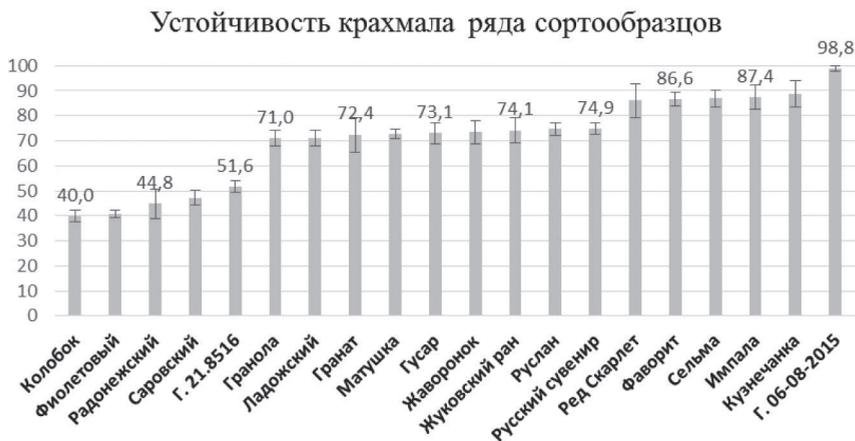
Л.М. Гвоздева\*, В.К. Хлесткин

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: ungersy@mail.ru

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является значимой сельскохозяйственной культурой, а получение картофельного крахмала с заданными свойствами важно и актуально как для его промышленной переработки (перевариваемый крахмал), так и для разработки диет (устойчивый к перевариванию в тонком кишечнике крахмал) для снижения/поддержания веса и для лечения/профилактики ряда заболеваний (сахарный диабет, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, ожирение и др.). В отличие от обычного, перевариваемого крахмала, устойчивый крахмал питает полезную микрофлору кишечника, снижает гликемический индекс, повышает чувствительность к инсулину, увеличивает поглощение кальция и железа и способствует выделению гормонов, уменьшающих аппетит.

Из 90 сортов и гибридов картофеля из коллекции «ГенАгро» ФИЦ ИГиГ СО РАН получены образцы крахмала, которые были исследованы на устойчивость к перевариванию ферментом  $\alpha$ -амилазой. Выявлены контрастные формы с низкой (40–52 %) и высокой (до 99 %) устойчивостью.



Из клубней тех же сортов была выделена ДНК для SNP-генотипирования, необходимого для дальнейшего полногеномного анализа ассоциаций «генотип-фенотип» (GWAS). Генотипирование проводилось на SNP-чипе (22K) третьей стороной (Гатерслебен, Германия). Следующим этапом исследования будет идентификация локусов и сцепленных с ними ДНК-маркеров устойчивости крахмала к перевариванию.

На основании полученных результатов будут разработаны молекулярные маркеры для дальнейшего использования в маркер-ориентированной селекции картофеля с разной усвояемостью крахмала.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-29-08006.

## Постановка метода тестирования активности системы gRNA/Cas9 в клетках эпидермиса картофеля

С.В. Герасимова\*, А.А. Егорова, Ю.В. Сидорчук, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: gerson@bionet.nsc.ru

Метод редактирования генома на основе системы CRISPR/Cas позволяет модифицировать признаки картофеля и получать новые генотипы за относительно короткое время. Однако картофель является сложной культурой для генетической трансформации и требует исключительно вегетативного размножения, что осложняет генно-инженерные работы и порождает необходимость тщательной оптимизации методов для каждой задачи. В частности, при планировании эксперимента по геномному редактированию картофеля желательно провести предварительное тестирование активности РНК-направленной нуклеазы *in vivo*, и только после этого приступать к масштабному эксперименту. Удобным средством оценки эффективности системы модификации генома является метод восстановления активности гена-репортера [1]. Он основан на системе трех генетических векторов: (1) контрольный вектор, несущий репортерный ген mCherry; (2) целевой вектор pTARGET, несущий нарушенный репортерный ген YFP со встроенным целевым сайтом и смещенной рамкой считывания; (3) вектор pRGEN, несущий систему РНК-направленного мутагенеза (gRNA, Cas9). При помощи биобаллистики все три вектора вносятся в клетку, и если Cas9 и gRNA функциональны, то они будут проявлять активность в отношении сайта, встроенного в последовательность YFP, и вызывать в нем мутации. С некоторой вероятностью рамка считывания YFP восстанавливается, и при воздействии соответствующего излучения появляется сигнал флуоресценции при длине волны 527 нм (желтый цвет). Относительное количество клеток, экспрессирующих YFP, к общему числу трансформированных клеток служит показателем активности каждой gRNA. Этот метод был описан для ячменя и табака, но до сих пор не был опробован на клетках картофеля. На основе векторов, описанных в [1] и [2], были сконструированы два вектора: pTARGET, несущий участок, идентичный участку генома картофеля, и pRGEN, несущий гены нуклеазы Cas9 и gRNA. Данная система векторов вместе с контрольным вектором была введена путем биобаллистики в клетки эпидермиса табака (*Nicotiana benthamiana*) и картофеля (*Solanum tuberosum*), методом конфокальной флуоресцентной микроскопии был проведен анализ количества успешно трансформированных клеток, и клеток, в которых отмечена экспрессия YFP. Показано, что на табаке и на картофеле метод работает с одинаковой эффективностью. В обоих случаях сигнал YFP появлялся с частотой примерно 25 %.

**Вывод:** впервые поставлен метод тестирования системы редактирования генома картофеля *in vivo* при помощи восстановления активности репортера; показано, что данный метод обладает достаточной эффективностью для оптимизации экспериментов по модификации генома картофеля.

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФИ № 16-16-04073. Авторы благодарны ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (<http://www.bionet.nsc.ru/microscopy/>) за предоставленное оборудование.

### Список литературы

1. Budhagatapalli N. et al. (2016) Plant Methods. BioMed Central. 12(1):1.
2. Schedel S. et al. (2017) Front. Plant Sci. 7(1):1.

## Постановка методики анализа содержания алкалоидов в тканях некоторых видов семейства пасленовых методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Д.В. Домрачев<sup>1\*</sup>, А.А. Егорова<sup>2</sup>, К.А. Колошина<sup>2</sup>, С.В. Герасимова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский институт органической химии имени Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: dmitry@nioch.nsc.ru

Одной из важнейших характеристик хозяйственных растений является содержание вторичных метаболитов, в том числе и такого важного класса соединений, как алкалоиды. Для картофеля (*Solanum tuberosum*) важно контролировать содержание гликоалкалоидов соланина и хаконина. Для табака (*Nicotiana tabacum*) важнейшим хозяйственным признаком является содержание никотина и минорных алкалоидов анабазина и анатабина. Наиболее универсальными методами анализа содержания алкалоидов в растительном сырье являются высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и газожидкостная хроматография (ГЖХ).

Целью данной работы являлась постановка и отработка методики анализа содержания соланина и хаконина в различных тканях картофеля и никотина в листьях табака методом ВЭЖХ. Для этого проводили оптимизацию условий пробоотбора и пробоподготовки, а также оптимизацию условий проведения хроматографического анализа.

Соланин и хаконин извлекаются из тканей картофеля экстракцией 5 % водным раствором  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Сумма гликоалкалоидов осаждается  $\text{NH}_4\text{OH}$ , реэкстрагируется и повторно осаждается. Из надземной части картофеля сорта «Златка» был получен образец суммы алкалоидов в кристаллическом состоянии, используемый в дальнейшем в качестве стандарта. Суммарное содержание гликоалкалоидов в надземной части составило 0,17 %. Анализ проводился на обращенно-фазной колонке ZORBAX-SB-C18, элюент 0,1 %  $\text{CF}_3\text{COOH}$ , детектирование – на длине волны 205 нм. Использование данного метода для анализа клубней и ростков не дает удовлетворительных результатов, проводится дальнейшая оптимизация условий пробоподготовки.

Для анализа содержания никотина использовались листья взрослых растений табака сорта SR1. Материал брался от интактных растений и после удаления верхушечных и пазушных меристем. Извлечение никотина проводилось экстракцией 40 % метанолом с 0,1М  $\text{HCl}$  в течение суток с дальнейшим центрифугованием. Суперагент сводился в колонку. Анализ проводился на обращенно-фазной колонке ZORBAX-SB-C18 в системе 0,1 %  $\text{CF}_3\text{COOH}$  –  $\text{CH}_3\text{CN}$  (9:1), детектирование на длине волны 260 нм. Использование метода добавок стандарта показало практически полное извлечение никотина из растительных тканей. Получена калибровка для количественного содержания никотина. Определено содержание никотина в различных образцах. После удаления верхушечных и пазушных меристем содержание никотина увеличилось в 1,5–2 раза.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 18-316-00068 и 18-416-543004.

## Сравнение транскриптомов двух генотипов растений *Solanum phureja* с контрастной устойчивостью к золотистой картофельной нематоде (*Globodera rostochiensis*)

А.А. Егорова\*, Н.А. Шмаков, С.В. Герасимова, Г.В. Васильев, Н.В. Шацкая, К.В. Стрыгина, Д.А. Афонников, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: egorova@bionet.nsc.ru

Золотистая картофельная нематода (ЗКН) является паразитом корневой системы картофеля и некоторых других видов пасленовых. Нематоды образуют на корнях растений цисты, в которых развиваются их яйца. Больные растения характеризуются угнетенным ростом, преждевременным старением, почти не образуют клубни. Химические методы защиты являются неэффективными. Поэтому исследование генетических механизмов устойчивости картофеля к ЗКН является актуальной задачей.

В данной работе был проведен транскриптомный анализ двух образцов одного из подвидов картофеля – *Solanum phureja*, которые характеризуются контрастной устойчивостью к ЗКН. Один из них является чувствительным к нематоде, а другой высокоустойчивым, но в то же время не несет уже известных маркеров устойчивости. Мы предполагаем, что транскриптомный анализ этих двух генотипов позволит выявить гены, участвующие в механизме защитного ответа против ЗКН.

**Цель:** Исследовать механизмы устойчивости растений *Solanum phureja* к золотистой картофельной нематоде *Globodera rostochiensis*.

Для транскриптомного анализа было решено взять образцы зараженных корней после 24 и 72 часов инокуляции, так как между этими временными точками наблюдается активное развитие гиперчувствительного ответа. Образцы были приготовлены нашими коллегами из ВИР и ВИЗР согласно [1]. Были подготовлены образцы корней с трех растений каждого генотипа до заражения нематодой и после инокуляции с ней в течение 24 и 72 часов. Из них была выделена тотальная РНК и проведено секвенирование транскриптома на приборе Illumina NextSeq 500. Для оценки качества данных использовалась программа FastQC, фильтрация проводилась с помощью PrinSeq, картирование библиотек – с помощью STAR и TopHat, выявление дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) – с помощью EdgeR и DESeq. Попарное сравнение транскриптомов исследуемых образцов выявило группы ДЭГ. Проводится анализ ДЭГ на предмет наличия функциональных взаимосвязей, выделение потенциальных генов устойчивости к ЗКН и реконструирование генных сетей.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-16-04073.

### Список литературы

1. Kochetov A.V. et al. (2017) Differential expression of NBS-LRR-encoding genes in the root transcriptomes of two *Solanum phureja* genotypes with contrasting resistance to *Globodera rostochiensis*. BMC Plant Biol. 17(Suppl 2):251.

## Влияние фунгицидного биопрепарата на морфометрические характеристики *Fusarium* spp. – возбудителя картофельной сухой гнили

Н.Т. Жилинская\*, Ю.Г. Базарнова

Высшая школа биотехнологии и пищевых технологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

\* e-mail: zhilinskaya\_nt@spbstu.ru

Обеспечение безопасности пищевой, сельскохозяйственной продукции при их производстве и обороте является актуальной проблемой в развитии продовольственного рынка. Фузариозная сухая гниль картофеля является вторым по частоте заболеванием после фитофтороза. Основным способом размножения грибов рода *Fusarium* – спорообразование при помощи макро- или микроконидий, которые различаются по форме, размеру и структуре.

Цель исследования – оценка возможности применения метода компьютерной морфометрии для изучения реактивных изменений конидий гриба *Fusarium* spp. на воздействие фунгицидного коммерческого биопрепарата «Алирин-Б» (Россия) с активным веществом *Bacillus subtilis* B-10 VIZR.

В работе были исследованы пораженные фузариозом клубни картофеля сорта Невский, который находился на хранении в течение 3 месяцев после сбора урожая. Изъятый из очага поражения грибной мицелий был погружен в 5 % раствор глюкозы. Объектами исследования являлись конидии мицелия, культивируемого в 5 % растворе глюкозы без добавления биопрепарат (контроль) и с добавлением «Алирин-Б» (опыт). Динамику влияния «Алирина-Б» на реактивные изменения макро- и микроконидии гриба рода *Fusarium* изучали после 2, 48 и 144 часов с момента добавления в питательный раствор биопрепарата. Морфологическое исследование фиксированных препаратов микроорганизмов, окрашенных 1 % раствором метиленового синего, проводили с применением светооптического видеомикроскопа «Nicon Eclipse Ni» при общем увеличении в 400 или 1000 раз. Видовая идентификация *Fusarium* по морфологическим признакам макро- и микроконидий не осуществлялась. Морфометрические характеристики макроконидий и микроконидий *Fusarium* spp. (площадь, длина, ширина, количество) были получены с применением программного обеспечения «Image J» автоматического анализатора изображений «Nicon». Изучение конидий проводили в 20 случайно выбранных полях зрения препаратов при общем количестве исследуемых клеток не менее 100 для каждого образца. Статистическая обработка данных выполнена с применением программы GraphPad Prism6.

Проведен сравнительный анализ морфометрических характеристик макро- и микроконидий в контрольных и опытных образцах. «Алирин-Б» оказывает влияние на репродуктивную систему *Fusarium*, в особенности на микроконидии: их количество уменьшалось от 40 % (2 часа) до 25 % (48 часов) и составило 0 % после 144 часов культивирования; уменьшилась и общая площадь споровой клетки. Влияние биопрепарата на изменение морфометрических характеристик макроконидий было несущественным. Метод компьютерной морфометрии может быть рекомендован в качестве тест-системы при разработке и проведении испытаний новых растительных биофунгицидных препаратов.

## Повышение эффективности начальных этапов микроклонального размножения картофеля в культуре апикальных меристем

Н.В. Зобова\*, С.Ю. Луговцова

Красноярский НИИСХ ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

\* e-mail: zobovnat@mail.ru

Вклад биотехнологии в первичное семеноводство картофеля может реализовываться через получение как стандартных семенных клубней картофеля со 100 % чистотой от вирусной, микроплазменной инфекции, так и микроклубней от неинфицированных пробирочных растений в культуре *in vitro*, что предполагает усовершенствование методик проведения этапов безвирусного семеноводства с учетом сортовых особенностей материала картофеля, планируемого к возделыванию в конкретном регионе. Работа по возобновлению и усовершенствованию технологии безвирусного семеноводства картофеля в Красноярском НИИСХ начата для отечественных сортов картофеля, предполагаемых к использованию в условиях Восточно-Сибирского региона и Красноярского края. Ее цель – оценка эффективности начальных этапов микроклонального размножения картофеля в культуре апикальных меристем. Проведено сравнение условий введения в культуру апикальных меристем сорта Гала и получения микроклубней от 7 сортов картофеля (Розара, Рэд Скарлет, Невский, Санте, Тарасов, Спиридон, Жуковский ранний) в культуре *in vitro*. Меристемы вводили на две среды с основой МС, содержащих минеральные соли, витамины, аденин и углеводы, с добавлением кинетина и гибберелловой кислоты, различавшихся концентрацией ингредиентов и наличием в первом варианте активированного угля для связывания фенолов, во втором – аскорбиновой кислоты в качестве антиоксиданта. Регенерация меристем на этих вариантах не различалась и составляла 100 %. Для образования полноценных микрорастений меристемную культуру высаживали на среду второго состава с сменой гормонов на ИУК. На этой среде меристемы со среды с углем трехкратно (69,2 по сравнению с 21,4 %) превышали второй вариант среды введения по формированию микрорастений, пригодных для дальнейшего клонирования. Исследовано влияние гормонов на образование микроклубней в процессе микроклонирования. На двух средах МС без гормонов и с добавлением кинетина и ИУК проанализированы пассажи на среды с аналогичным составом и на перекрестные варианты пересадок (без гормонов на гормоны и обратные). Достоверных различий вариантов по коэффициенту клубнеобразования *in vitro* не установлено. Но перекрестные варианты имели более низкие показатели образования микроклубней (2,08 и 1,76 по сравнению с 1,05 и 1,29). По отзывчивости сортов на условия культивирования по образованию микроклубней выделены два сорта: Розара и Спиридон (2,1 и 2,6 на растение на среде без и с гормонами соответственно). Однако если сорт Спиридон наибольший уровень клубнеобразования имел при пассажах на безгормональные среды (3,58 по сравнению с 1,0 на гормонах), то Розара, наоборот, положительно отвечала на присутствие гормонов в среде (1,86 по сравнению с 3,25 на гормонах). Таким образом, введение меристем в культуру рекомендуется на среде с активированным углем с их дальнейшим тиражированием для размножения.

## Перспективы использования сортов картофеля сибирской селекции в генно-инженерных работах

С. М. Ибрагимова<sup>1\*</sup>, А.В. Романова<sup>1</sup>, Г.Х. Мызгина<sup>2</sup>, А.В. Кочетов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал ФИЦ ИЦиГ СО РАН, пос. Краснообск, Новосибирская область, Россия

\* e-mail: isola@bionet.nsc.ru

Современные генно-инженерные методы (соматическая гибридизация, трансгенез, геномное редактирование) являются эффективными способами ускорения создания новых источников гермоплазмы картофеля, которые в дальнейшем можно вовлекать в селекционный процесс. Основой данных методов является уникальное свойство растительной клетки тотипотентность – способность растительной клетки реализовать генетическую информацию и развить целое растение в культуре *in vitro* из отдельного органа или же ткани. Необходимы знания о морфогенетическом потенциале каждого из сортов, вовлекаемых в селекционный процесс. Три востребованных сорта сибирской селекции Тулеевский, Кемеровчанин и Сафо впервые использовали в качестве модельных для оценки их морфогенетического потенциала в культуре *in vitro*. Стеблевые экспланты сортов культивировали на среде P1 (базовая среда МС, 1 мг/л транс-зеатин, 0.1 мг/л ИУК, 10 мг/л ГК, витамины). Все этапы культивирования, вплоть до получения растений-регенерантов проводили на среде P1. Исследуемые сорта формировали морфогенный каллус на раневых поверхностях экспланта в культуре *in vitro*: высокую регенерационную способность проявили сорта Тулеевский, Кемеровчанин (73–96 %), низкую – сорт Сафо (63 %). Образование морфогенных структур из каллуса шло через органогенез: наблюдали образование монополярных структур – побегов. В контроле, на среде МС без добавления фитогормонов, образование каллуса и побегов не наблюдали. Исследуемые сорта могут быть использованы в качестве моделей для выполнения генно-инженерных работ.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФ № 16-16-04073.

## Скрининг сортов и гибридов картофеля отечественной селекции с использованием молекулярных маркеров генов *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*

Н.С. Клименко<sup>1</sup>, О.Ю. Антонова<sup>1</sup>, З.З. Евдокимова<sup>2</sup>, Л.И. Костина<sup>1</sup>, Т.А. Гавриленко<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Ленинградский НИИСХ «Белогорка», Гатчинский район, Ленинградская область, Россия

\* e-mail: tajana9972@yandex.ru

Оомицет *Phytophthora infestans* продолжает оставаться одним из наиболее вредоносных патогенов картофеля, несмотря на то что селекция на устойчивость к фитофторозу ведется уже около 100 лет. Наиболее часто в селекционный процесс в качестве источников генов устойчивости к фитофторозу вовлекались дикие виды картофеля, произрастающие в Мексике – центре генетического разнообразия *P. infestans*. Так, с использованием традиционных методов межвидовой гибридизации в сорта картофеля были перенесены *R* гены расоспецифичной (вертикальной) устойчивости к фитофторозу от дикого мексиканского вида *Solanum demissum*, однако данный тип устойчивости быстро преодолевался патогеном. В последнее десятилетие в зарубежных селекционных программах с использованием методов «bridging species», клеточной инженерии и цис-генетики в генофонд культурного картофеля были интродуцированы гены устойчивости к возбудителю фитофтороза (*Rpi*), контролирующие устойчивость к широкому спектру рас патогена, от диких мексиканских видов *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum*.

В данной работе проведен молекулярный скрининг (MAS) 183 сортов и селекционных клонов отечественной селекции с использованием внутригенных маркеров гена *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*, контролирующего устойчивость к широкому спектру рас *P. infestans*. Диагностические фрагменты маркеров были детектированы у трех сортов и трех селекционных клонов селекции Ленинградского НИИСХ «Белогорка», имеющих общее происхождение, созданных на основе межвидовых гибридов, полученных с участием *S. stoloniferum*. Последовательности ПЦР-продуктов, полученных при амплификации с ген-специфичными праймерами *Rpi-sto1* и *BLB1 F/R*, у всех отобранных в MAS генотипов были идентичны и имели соответственно 99 и 100 % гомологии с соответствующими фрагментами референсных последовательностей генов *Rpi-sto1* и *Rpi-blb1* из GenBank.

Помимо маркеров гена *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*, у ряда образцов выявлены и другие маркеры, детектирующие генетический материал *S. stoloniferum*, – маркеры генов *Ry<sub>sto</sub>*, *Ry<sub>f<sub>sto</sub></sub>*, а также стерильный тип мтДНК *gamma*.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФ № 16-16-04125.

## Разработка методик фенотипирования диких видов картофеля

К.А. Колошина, К.А. Иванова, Е.Г. Комышев, М.А. Генаев, А.В. Кочетов,  
С.В. Герасимова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: kristina.koloshina@yandex.ru

Дикорастущие виды картофеля, сосредоточенные в мировой коллекции ВИР, являются ценным исходным материалом при создании высокопродуктивных и высококачественных сортов. Существующие данные о характеристиках разных образцов диких видов картофеля носят разнородный характер, что осложняет подбор материала и порождает необходимость дополнительных тестов для каждой конкретной задачи. Разработка и внедрение высокопроизводительных методов фенотипирования с использованием цифровой обработки изображений позволит привести данные о диких видах картофеля к единому формату и облегчит многие работы по отбору и характеристике материала в селекционных и исследовательских целях. Цель данной работы – изучение морфологических признаков и продуктивности ряда диких видов картофеля и разработка универсальных методов фенотипирования, наиболее полно и объективно характеризующих исследуемые образцы.

Была изучена коллекция диких видов картофеля, содержащая 38 образцов 14 видов (образцы любезно предоставлены д.б.н. Е.В. Рогозиной и д.б.н. С.Д. Киру, ВИР). Проведено размножение, первичная характеристика коллекции и введение образцов в культуру *in vitro*. Фенотипическая характеристика коллекции проводится несколькими способами при различных условиях культивирования: (1) характеристика различных показателей в условиях ростовой камеры, согласно рекомендациям ВИР; (2) характеристика диких видов в полевых условиях, по образцу, применяемому к сортам культурного картофеля; (3) характеристика показателей роста в культуре *in vitro*; (4) адаптация и применение авторских методов высокопроизводительного фенотипирования, позволяющих оценить различные морфологические параметры разных частей растения, в том числе ряд параметров клубнеобразования. Уникальный авторский метод [1], на основе которого создано бесплатное приложение, совместимое с ОС Android (<https://play.google.com/store/apps/details?id=org.wheatdb.seedcounter&hl=ru>), был адаптирован специально для диких форм картофеля с целью оценки клубнеобразования.

В результате интеграции данных, полученных разными методами, будет предложен оптимальный алгоритм фенотипирования диких видов картофеля

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-316-00068.

### Список литературы

1. Komyshev E., Genaeв M., Afonnikov D. (2017). *Frontiers in Plant Science*. 7:1990.

## **Эффективность выращивания мини-клубней картофеля на современных установках в зависимости от генотипа**

К.А. Колошина\*, Н.И. Полухин, Г.Х. Мызгина

*Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, р.п. Краснообск, Россия*

*\* e-mail: kristina.koloshina@yandex.ru*

Новые технологические решения в области aeropоники позволили значительно усовершенствовать процесс получения мини-клубней как исходного материала для семеноводства картофеля.

Основные преимущества aeropонной технологии заключаются в том, что это безопасный и экологически чистый способ получения естественных здоровых клубней картофеля. Aeropонные установки позволяют выращивать мини-клубни без зависимости от погодных и климатических условий внешней среды с укороченным сроком вегетации растений. Предлагаемый способ позволяет на ограниченных посадочных площадях выращивать большие количества растений, нежели в открытом грунте или в теплице, кроме того, отсутствие почвы исключает борьбу с соответствующими болезнями и вредителями и упрощает уход за растениями, значительно увеличивая коэффициент размножения.

Продолжительность вегетации растений в условиях aeropоники, по литературным данным, может составлять от четырех до восьми месяцев. За это период может быть получено в среднем 45 мини-клубней с одного растения. При традиционных методах выращивания одно растение дает от 6 до 10 мини-клубней в течение трех-четырех месяцев, и собираются они в один прием.

Цель работы – изучить сортовые особенности выращивания мини-клубней картофеля как исходного материала в семеноводстве на aeropонных установках.

Работа проводилась на однойрусной универсальной aeropонной установке конструкции ФГБНУ ВНИИСБ (Ю.Ц. Мартиросян) на питательном растворе представленном разработчиком. Выращивание мини-клубней проводилось на пяти сортах: Златка, Юна, Сокур, Сафо и Розара.

Сбор с одного растения в среднем по сортам составил 51 шт. Наиболее близко условия aeropоники подошли для сортов Сокур и Розара, урожай по этим сортам составил 73,2 и 72,7 шт. соответственно. Менее благоприятно они сказались на сортах Златка – 51,1 шт., Сафо – 33 шт., Юна – 25,2 шт. Поэтому дальнейшее совершенствование aeropонных технологий имеет обоснованные и реальные перспективы.

## Отзывчивость картофеля сорта Невский на возрастающие дозы минеральных удобрений

К.Н. Корляков<sup>1\*</sup>, А.И. Косолапова<sup>1</sup>, Д.С. Фомин<sup>1</sup>, В.Р. Ямалтдинова<sup>1</sup>,  
А.Ф. Сметанников<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ПНИИСХ УрО РАН, Пермь, Россия

<sup>2</sup> ГИ УрО РАН, Пермь, Россия

\* e-mail: pniish@rambler.ru

Установлена высокая отзывчивость картофеля сорта Невский на возрастающие дозы минеральных удобрений на дерново-среднеподзолистой среднеокультуренной почве с содержанием гумуса 2,2 %, подвижного фосфора 172, обменного калия 124 мг/кг почвы, рН = 5,01.

Сбалансированное питание позволяет формировать высокую урожайность картофеля с хорошими качественными показателями клубней.

Урожайность картофеля в опыте, несмотря на неблагоприятные агрофизические показатели почвы (высокая плотность, низкое содержание агрономически ценной фракции), была высокой. В среднем за 2 года картофель сформировал урожайность 10,83–25,8 т/га. Максимальная урожайность (25,8 т/га) отмечена в варианте с внесением НРК по 150 кг д.в./га. Однако прибавка урожайности клубней картофеля в этом варианте не имела существенного преимущества перед внесением минеральных удобрений в дозе НРК по 90 кг д.в./га. В этом же варианте отмечена наиболее высокая окупаемость прибавкой урожая 47,8 т/га за 1 кг д.в., внесенного НРК. Высокие дозы удобрений (120–150 кг д.в./га) ухудшали качество клубней картофеля: снижалось содержание крахмала, сухого вещества и витамина С. Возрастающие дозы минеральных удобрений способствовали не только формированию высокого урожая клубней картофеля, но и обеспечивали улучшение агрохимических и агрофизических свойств почвы. Внесение минеральных удобрений НРК 60 кг д.в./га и выше способствовало существенному повышению содержания гумуса, накопление которого происходило за счет запашки в почву ботвы картофеля и корневых остатков, а также усиления микробиологической деятельности почвенной микрофлоры. Внесение высоких доз минеральных удобрений 90 кг д.в./га и выше обеспечило достоверное увеличение содержания подвижного фосфора и обменного калия, однако приводило к подкислению почвы: показатель рН снизился с 5,01 до 4,54.

Минеральные удобрения косвенно повлияли на агрофизические свойства дерново-среднеподзолистой почвы: благодаря интенсивному развитию макробиоценоза и формированию мощной корневой системы картофеля повысилось содержание агрономически ценной макро- и микроструктуры. Сбалансированное питание растений способствовало также увеличению водопрочных агрегатов, отмечено существенное увеличение этого показателя по сравнению с контролем.

Таким образом, повышение содержания гумуса, подвижного фосфора и обменного калия и улучшение агрофизических свойств почвы способствовало устойчивости растений к неблагоприятным климатическим условиям и формированию высокой урожайности картофеля.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке программы КПНИ «Картофель».

## Исходный материал для селекции картофеля в Тюменской области

Ю.П. Логинов, К.А. Кендус, А.С. Гайзатулин

*Государственный аграрный университет Северного Зауралья, Тюмень, Россия*

\* e-mail: kazaknastenka@rambler.ru

Успешное решение проблемы импортозамещения в картофелеводстве Тюменской области и Сибири в целом возможно за счет развития селекции этой культуры в местных условиях, а также проведения экологического испытания сортов картофеля отечественной селекции и подбора лучших из них по комплексу хозяйственных признаков для дальнейшего производственного испытания. Успех создания сортов картофеля, адаптированных к условиям Сибири, зависит от наличия и изученности исходного материала. В ГАУ Северного Зауралья на протяжении двух десятилетий изучается коллекция сортов картофеля, собранная из разных селекционных учреждений страны. Она постоянно пополняется новыми генотипами. Проведение полевых и лабораторных оценок позволило создать признаковую коллекцию для дальнейшего использования в селекционных программах. Признаковая коллекция поддерживается в здоровом состоянии за счет репродуцирования ее в условиях Приполярья Тюменской области. При подборе коллекционных сортов особое внимание уделяется генотипам, созданных методом отдаленной гибридизации. Они чаще всего устойчивы ко многим болезням и другим стрессовым факторам. Выделенные источники по хозяйственным признакам могут быть полезными для селекции картофеля на территории Сибири. По урожайности на высоком и среднем фонах питания выделены Снегирь, Чародей, Оредежский, Чароит, Сантэ, Сафо, Башкирский, Спиридон, Романо, Ред Скарлетт, Удача, Жуковский ранний, Сарма, Красное лето, Аладин, Солнечный, Горняк, Ирбитский, Ласунок, Зарево, Северный, Абаканец, Свитанок киевский, Отрада, Луговской, Огонек.

Для селекции на скороспелость выделены источники: Весна, Алена, Адретта, Жуковский ранний, Красноярский ранний, Зов, Колпашевский, Каменский, Укама, Каратоп, Любава, Латона, Метеор, Чароит, Пионер, Полет, Пролисок, Приобский, Розара, Ред Скарлетт, Северный, Якутянка, Алдан, Сарма, Стрелец, Снегирь, Тулунский ранний, Томич, Удача, Уральский ранний, Пушкинец, Бородянский розовый.

Высокую устойчивость к фитофторе (7–9 баллов) имели сорта: Акцент, Архидея, Белорусский-3, Вдохновение, Гусар, Голубизна, Горняк, Загадка Питера, Кузнечанка, Лазарь, Наяда, Нестеровский, Оредежский, Прибрежный, Полонес, Русская красавица, Сарма, Сударыня, Снегирь, Чародей, Хозяюшка.

По крахмалистости (16,3–24,7 %) выделены источники: Адретта, Алый парус, Бониус, Былина Сибири, Барон, Белоснежка, Вербя, Выток, Вдохновение, Зарево, Кибиц, Кузьмич, Ласунок, Лазарь, Лига, Маг, Мавка, Накра, Оригинал, Очарование, Повинь, Сарма, Свитанок киевский, Снегирь, Универсал, Удалец.

Высокие вкусовые качества и нетемнеющую мякоть имели сорта: Чародей, Сказка, Чароит, Адретта, Свитанок киевский, Снегирь, Оредежский, Агрия, Удалец, Карлена, Журавинка, Алый парус, Жемчужина, Очарование, Лига, Голубизна, Ильинский, Сиреневый туман, Даная, Сарма, Зекура, Лина, Люкс, Северный, Амур, Валентина, Тулеевский, Златка, Солнечный.

## Восприятие цитокининового сигнала у картофеля

С.Н. Ломин\*, Ю.А. Мякушина, О.О. Колачевская, И.А. Гетман, Д.В. Архипов,  
Е.М. Савельева, Г.А. Романов

*Институт физиологии и растений имени К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

\* e-mail: losn@inbox.ru

Картофель – самая экономически важная незлаковая пищевая культура. Образование клубней в картофеле регулируется фитогормонами, цитокининами в частности. В настоящей работе изучалось восприятие сигнала цитокинина в картофеле. Секвенированный картофельный геном дублированного моноплоида Phureja использовался для биоинформационного анализа и как инструмент для идентификации предполагаемых цитокининовых рецепторов из автотетраплоидного картофеля сорта Désirée. Все основные элементы многоступенчатого каскада фосфорилирования, необходимые для трансдукции сигнала цитокинина, были идентифицированы в геноме Phureja, включая три гена, ортологичных трем генам рецепторов цитокинина (АНК 2-4) арабидопсиса. В отличие от Phureja, автотетраплоидный картофель содержит по меньшей мере две аллельные изоформы каждого типа рецептора. Предполагаемые рецепторные гены растений Désirée были клонированы, секвенированы и экспрессированы, и определены основные характеристики кодируемых белков, в частности их структура, консенсусные мотивы, лиганд-связывающие свойства, способность передавать сигнал цитокинина. Во всех изученных аспектах предсказанные признаки гистидин-киназ отвечали требованиям к подлинным цитокининовым рецепторам. Экспрессия картофельных цитокининовых рецепторов была орган-специфичной и чувствительна к условиям роста, особенно к содержанию сахарозы. Наши результаты обеспечивают прочную основу для дальнейшего углубленного изучения системы сигнализации цитокининов и биотехнологического улучшения картофеля.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 17-74-20181.

## Подбор сортов картофеля для почвенно-климатических условий степной зоны Южного Урала

А.А. Мушинский<sup>1</sup>, Е.В. Аминова<sup>1</sup>, Т.Т. Дергилёва<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

<sup>2</sup> Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства,

Челябинск, Россия

e-mail: san2127@yandex.ru

По 9 (Уральскому) региону районировано 27 сортов картофеля, из них только 6 иностранной селекции. В то же время оренбургские производители картофеля в основном используют к посадке семена зарубежной селекции, которые не включены в государственный реестр селекционных достижений по Уральскому региону, причем на несортовые посадки приходится 41 % от высаженных семян, более 50 % из которых имеют массовую репродукцию. Причины сложившейся ситуации следующие. Ни один из представленных в реестре сортов не выведен в условиях степной зоны Южного Урала, вследствие чего его характеристики могут отличаться от заявленных оригинаторами. Данные вопросы должны быть «сняты» госсортоучастками, однако они не дают полной картины по сорту, так как не имеют возможности удовлетворять потребность культуры в воде и элементах питания, без которых получение гарантированных урожаев картофеля высокого качества в нашей зоне не представляется возможным. По большинству отечественных сортов не ведется первичное семеноводство или ведется в крайне малых объемах, в том числе на безвирусной основе. Важно отметить, что в ближайшее время нет и не будет сортов картофеля, которые дают стабильные урожаи высокого качества во всех зонах РФ. Селекционный и процесс первичного размножения картофеля должны быть отлажены в каждой зоне возделывания культуры. В рамках творческого сотрудничества сотрудниками ФГБНУ «ЮНИИСОК» и ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН ведется совместная селекционная работа по выведению перспективных сортов картофеля, адаптированных к условиям степной и лесостепной зон Южного Урала. Цель исследований – подбор и создание сортов картофеля с высокой и стабильной продуктивностью, адаптированных к почвенно-климатическим условиям степной и лесостепной зон Южного Урала, с качественными характеристиками, отвечающими требованиям различного целевого использования, устойчивых или толерантных к заражению фитопатогенами и вредителями, пригодных к длительному хранению. По результатам научных исследований в государственную комиссию РФ по испытанию и охране селекционных достижений подано заявление на допуск к использованию следующих сортов картофеля: Ицил, Кавалер и Захар.

Сорт картофеля Ицил выделен за высокую и стабильную продуктивность, устойчивость к болезням, агроэкологическую пластичность, имеет высокую товарность клубней, обладает высоким содержанием сухих веществ и хорошими вкусовыми качествами. Сорт Ицил относится к группе среднеранних сортов. Хозяйственные особенности. Средняя масса товарного клубня 100–120 г, средняя урожайность 42,6 т/га. Товарность 94,8–95,7 %. Лежкость 95–97 %. Количество клубней в гнезде среднее – 8–12 штук. За годы изучения содержание крахмала в клубне сорта Ицил находилось в пределах от 17,1 до 18,2 %, а оценка вкусовых качеств картофеля составляла 4,7 балла (по пятибалльной оценке). Сорт Ицил устойчив к раку картофеля, также устойчив к золотистой картофельной нематод, обладает средней полевой устойчивостью ботвы и клубней к фитофторозу и альтернариозу в условиях лесостепной и степной зон Южного Урала. Среднеустойчив к парше обыкновенной и ризоктониозу, а также основным наиболее распространенным вирусным болезням.

Сорт Кавалер. Сорт среднеспелый, столового назначения. Средняя масса товарного клубня 110–130 г. Количество клубней в гнезде среднее – 10–12 штук. Сорт Кавалер позволяет получать в условиях степной зоны Южного Урала урожайности не менее 41 т/га с товарностью 95 %.

Сорт Захар среднеспелый, столового назначения. Устойчив к раку картофеля, золотистой и бледной нематод, фитофторозу картофеля, к кольцевой гнили, парше обыкновенной. Новый сорт восприимчив к ризоктониозу, полевой морщинистой мозаике, скручиванию листьев. Урожайность сорта Захар в среднем за 2015–2017 гг. составила 44,2–47,8 ц/га при урожайности стандартного сорта Спиридон 33,7 ц/га. Лежкость клубней при хранении хорошая. Масса товарного клубня 79–96 г, содержание крахмала 14,1–16,8 %. Дегустационная оценка 5 баллов, развариваемость хорошая, склонности к потемнению мякоти после варки нет.

## Изучение процентного содержания фосфора в коллекции картофеля вида *Solanum tuberosum*

И.В. Розанова<sup>1\*</sup>, В.К. Хлесткин<sup>1</sup>, В.М. Ефимов<sup>1</sup>, Е.К. Хлесткина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

\* e-mail: bykova@bionet.nsc.ru

**Цель:** Картофель занимает четвертое место по потреблению и производству среди продовольственных культур. Содержание фосфора в сельскохозяйственной культуре, в том числе и в картофеле, является важным пищевым и кормовым параметром, которое необходимо учитывать при разработке сортов. Использование ДНК-маркеров, ассоциированных с целевым признаком получаемых в ходе GWAS анализа, позволяет сократить время селекционных работ. Целью настоящей работы является определение локусов, ассоциированных с содержанием фосфора в коллекции картофеля вида *Solanum tuberosum*.

**Результаты:** Была создана выборка, состоящая из 96 сортов *S. tuberosum*. Все 96 сортов были проанализированы на содержание фосфора. Среднее содержание фосфора в образцах по выборке составило 0,072 %. Минимальное содержание было отмечено для сорта «Дебрянский» и составило 0,046 %, максимальное – для сорта «Ладожский» и составило 0,104 %. Для данных сортов было проведено генотипирование на чипе Illumina Infinium с 22 тысячами маркеров. Из 21226 SNP, для полногеномного анализа ассоциаций были использованы 15214 маркеров. Данные обрабатывались с помощью программ Microsoft Excel, Tassel 5, пакета R, Rast и Statistica. Анализ данных с помощью GLM модели позволил выявить 5 SNP, которые значимо ассоциировались с содержанием фосфора в образцах на 1Н хромосоме.

**Выводы:** Было выявлено пять значимых SNP, ассоциированных с содержанием фосфора в образцах сортов *Solanum tuberosum*, расположенных на хромосомах 1Н.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке РФФИ, № 17-29-08006.

## **Разработка концепции преобразования глинисто-солевых отходов (шламов) после переработки К-Mg руд в комплексные удобрения пролонгированного действия, содержащие питательные компоненты (К, Mg, Ca) на бесхлорной основе, минералы-мелиоранты и микроэлементы**

А.Ф. Сметанников<sup>1\*</sup>, А.И. Косолапова<sup>2</sup>, Д.М. Оносов<sup>1</sup>, Д.С. Фомин<sup>2</sup>  
В.Р. Ямалтдинова<sup>2</sup>, Е.Ф. Оносова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ПФИЦ УрО РАН – ГИ УрО РАН, Пермь, Россия

<sup>2</sup> ПНИИСХ УрО РАН, Пермь, Россия

\* e-mail: tm\_djucha@mi-perm.ru

В разработке концепции комплексных удобрений пролонгированного действия проявляется два основных понятия: комплексность состава удобрений и пролонгированность их действия. Комплексность можно рассматривать с двух позиций: 1) наличие питательных компонентов, мелиорирующих компонентов и микроэлементов со свойствами микроудобрений; 2) наличие собственно комплекса питательных компонентов (элементов) азота, фосфора, калия (NPK). Пролонгированность рассматривается с позиции длительности действия разовой дозы удобрений в течение нескольких сезонов, что обеспечивается наличием одного или комплекса питательных компонентов в коллекторе (минерале), характеризующихся низкой степенью растворения (поступления в почву). Этим параметрам отвечают глинисто-солевые отходы переработки К-Mg руд (шламы), имеющие в своем составе нерастворимый в воде остаток (н.о.), включающий калиевый полевой шпат (КПШ), минералы-мелиоранты (доломит, гипс, ангидрит), микроэлементы (Cu, Zn, Pb, Co) и остаточные хлориды. Процессом, преобразующим отходы, является высокотемпературный обжиг (в присутствии хлоридов), приводящий к преобразованию остаточной хлоридно-калиевой части отходов, сопровождающемуся уходом хлора, вхождением калия в новообразованные калиевые минералы. Кроме того, обжиг сопровождается преобразованием сульфидов (с уходом серы) в оксидную форму, что позволяет рассматривать их как источник микроудобрений, то есть после глубокой переработки отходов формируются продукты, используемые в качестве комплексных удобрений пролонгированного действия на бесхлорной основе. Комплексность рассматривается как наличие питательных веществ, мелиорирующих веществ и микроудобрений. Испытания этого материала заключались в посадках картофеля на фоновой основе (без удобрений), посадках контрольных с применением традиционного комплекса азот-фосфор-калий (NPK) и смеси продукта глубокой переработки шламов – огарка с азотными и фосфорными добавками, то есть комплексность питательных веществ (элементов) неполная. В силу положительных результатов применения испытанного комплекса, рекомендованы эксперименты с добавками в калийные отходы, отходов обогащения фосфоритов и отходов азотного производства.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-45-590998.

## Использование промоторов генов картофеля для регуляции экспрессии целевых генов у трансгенных растений

О.Г. Смирнова\*, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: [planta@bionet.nsc.ru](mailto:planta@bionet.nsc.ru)

Методы генетической инженерии широко используются для получения новых форм растений с улучшенными свойствами. Повышение устойчивости к заболеваниям и неблагоприятным факторам среды, повышение урожайности и качества клубней являются основными направлениями селекции картофеля (*Solanum tuberosum*). Промотор является регуляторным элементом, который участвует в определении тканеспецифичного, индуцированного и временного характера экспрессии генов, влияющих на признаки растений. Генетическая инженерия позволяет изучать функциональные особенности промоторов генов картофеля и использовать их для экспрессии целевых генов как у картофеля, так и у других видов растений.

Методами генной инженерии было изучено несколько десятков промоторов картофеля. Показано, что промоторы генов пататина, катепсина, *GA3ox2*, *BEL5*, *CHI*, *InvInh2* картофеля характеризуются клубнеспецифичной активностью и могут быть использованы для улучшения хозяйственно ценных признаков данной культуры. Экспрессия под контролем промотора гена пататина гена запасного белка легумина *PrLeg* улучшает качество белка картофеля за счет повышения уровня метионина в трансгенных клубнях. Экспрессия под контролем промотора пататина гена дрожжевой инвертазы приводит к устойчивости трансгенных растений картофеля к гипотермии. Фрагмент промотора гена пататина был использован для создания синтетического промотора pCL. Использование промотора pCL для экспрессии антисмысловой РНК гена вакуолярной инвертазы *StvacINV1* приводило к снижению уровня сахаров в клубнях, хранящихся при низкой температуре. Промотор *StCI21A* также может быть использован для индукции экспрессии целевых генов при действии холода. Промотор *StGst1* способен управлять экспрессией целевых генов, обеспечивающих устойчивость к бактериальным и грибным болезням у картофеля, яблони и апельсина. Промотор *StGLUB* индуцируется в листьях при действии фитопфторы *Phytophthora infestans*. Индуцируемый при поранении промотор *StPin2* может быть использован для регуляции экспрессии чужеродных генов у риса.

Промоторы генов убиквитина *StUbi3* и *StUbi7* обладают высокой активностью сразу во многих тканях. Однако при высокой конститутивной экспрессии продукты некоторых целевых генов могут накапливаться в значительном количестве и оказывать негативное влияние на рост и развитие растения. Использование тканеспецифичных промоторов позволяет избежать этого негативного эффекта. Фрагмент промотора *StAGPase* активен в запирающих клетках устьиц. Промотор гена щелочной эндохитиназы *StSK2* активен в пестике. Промотор гена хитиназы *StChitC2* активен исключительно в клетках эпидермиса листьев. Промотор *StCDPK3* активен в растущих органах. Специфическую экспрессию в пыльниках обеспечивает промотор гена *SBgLR*. Информация о промоторах растений накапливается в созданной нами базе данных TGP (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/dbases/tgp/home.html>).

*Благодарности:* Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2018-0018.

## Гены, определяющие антоциановую пигментацию картофеля *Solanum tuberosum* L., как мишени для селекции сортов с высокой пищевой ценностью

К.В. Стрыгина<sup>1\*</sup>, А.В. Кочетов<sup>1</sup>, Е.К. Хлесткина<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

\* e-mail pushpandzhali@bionet.nsc.ru

Антоцианиновые пигменты представляют собой вторичные метаболиты растений, имеющие множественные биологические функции. Активация синтеза антоцианов происходит с помощью MBW, который формируется факторами транскрипции MYB, bHLH и WD40. Определенные гены и их аллельные варианты, влияющие на фенотип (фиолетовая или красная кожура клубня, фиолетовая или красная мякоть, фиолетовые листья, стебли), еще не идентифицированы. Целью нашего исследования является выявление аллельных различий, лежащих в основе фенотипической вариации по признакам окраски картофеля, и разработка аллель-специфических ДНК-маркеров для будущих программ селекции картофеля.

Информация о известных генах MYB-, bHLH- и WD40-кодирующих данных была использована для разработки аллель-специфических маркеров для анализа регуляторных генов. Диагностические маркеры ДНК были разработаны для каждого из идентифицированных генов и их аллельных вариантов. Используя ОТ-ПЦР для восьми генотипов, отличающихся окраской, мы сравнивали активность некоторых копий генов MYB, bHLH и WD40. Были выделены регуляторные гены семейств MYB (*StANI*, *StMYBA1*, *StMYB113*), bHLH (*StJAF13* и *StbHLH1*), WD40 (*StWD40*). Мы показали, что основным регулятором появления антоциановой окраски в листьях и стеблях среди генов, кодирующих факторы MYB, является *StANI*. Экспрессия других генов, кодирующих факторы MYB, а также генов, кодирующих bHLH и WD40, не коррелировала с окраской картофеля.

Таким образом, мы разработали внутригенные маркеры, благодаря которым могут быть обнаружены различия в аллелях *StANI*. Однако из-за высокого аллельного разнообразия в этом локусе разработанные маркеры не могли использоваться отдельно для прогнозирования окраски стебля и клубней. Для разработки эффективных маркеров необходим дальнейший анализ нуклеотидных последовательностей и идентификация связи генетических полиморфизмов с уровнем транскрипции. В целом результаты исследования важны для понимания механизмов, определяющих специфику регуляции синтеза антоцианов.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-16-04073.

## Изучение генофонда картофеля в условиях Крайнего Севера

А.Н. Тихановский

*Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии  
Тюменского НЦ РАН, Салехард, Россия  
e-mail: cehanovski@yandex.ru*

Выращивание картофеля в условиях лесотундровой зоны Обского Севера осложнено наличием ряда негативных природных факторов: поздние весенние и ранние осенние заморозки, а поэтому короткий вегетационный период; в июне–июле осадков выпадает крайне мало; резкие перепады температуры воздуха ото дня к ночи; мерзлотные почвы с низким содержанием азота; широкое распространение некоторых болезней, особенно ризоктониоза, макроспориоза, парши обыкновенной, мокрой и сухой гнили. Особенно опасные болезни и вредители в районах Севера отсутствуют, но исключения составляют вирусные болезни, которые наносят картофелеводству достаточно сильный урон.

Короткий вегетационный период, дефицит влаги в значительной степени замедлили прохождение всех фенофаз у растений (21–33–38–49 дней) по сравнению со стандартным сортом Хибинский ранний (19–30–33–42 дня). Наряду с этим отмечено повышенное содержание крахмала и сухого вещества в клубнях картофеля: из 94 сортов в коллекции в двух сортах – очень высокое (30,3 %), в 22 – высокое (16–27 %), в 14 – среднее (14–15,4 %), в стандарте Хибинский ранний – 13,6 %.

По комплексу биохимических признаков при выращивании картофеля в условиях Крайнего Севера по урожайности (т/га) и крахмалистости (%) выделилось 11 сортов: Бежицкий (17,9–12,9), Jbis (14,9–12,9), с-ц 1992 (11,8–16,4), Мутаген-Агрис (11,1–21,7), Дориза (10,6–12,9), Quarta (10,2–15,4), Фаленский (9,71–14,4), с-ц К-43 Лайма (9,70–15,4), Северянин (9,6–15,9), Хибинский ранний (9,1–13,6), Famosa (9,0–15,4).

При учете урожая выделилось 6 сортов с повышенным содержанием крахмала и сухого вещества в клубнях (%): Большевик (30,8–36,5), Наяда (26–31,8), Bekas (25,2–30,9), Елизавета (18–23,7), К-24049 (15,4–21,2), Повировец (22,7–28,5).

Из 94 сортообразцов свободными от всех болезней оказались 87 % (82 сорта). По степени вредоносности (от меньшей к большей) вирусные и грибные болезни расположились в следующем порядке: макроспориоз (Famosa) – скручивание (Juliver) – морщинистая мозаика (Пушкинец, Спиридон) – закручивание (Anosta, Jsola, Laura, Дориза, Ильинский, Северянин, с-ц К-43 Лайма, с-ц К-91).

## Апробация ДНК-маркеров генов устойчивости к раку картофеля и золотистой картофельной нематоды при оценке сортов и гибридов картофеля

И.В. Тоцкий<sup>1\*</sup>, А.Д. Сафонова<sup>1</sup>, Е.К. Хлесткина<sup>1,2</sup>, А.В. Кочетов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

\* e-mail: totsky@bionet.nsc.ru

Обнаружение ДНК-маркеров, сцепленных с хозяйственно ценными генами, значительно облегчает и ускоряет отбор селекционных форм с заданными комбинациями аллелей и фенотипическими признаками, так как является намного менее трудоемким и дорогостоящим методом, особенно в сравнении с фенотипированием в лабораторных или полевых условиях, например, фитопатологическим тестированием.

Целью исследования является апробация применимости известных ДНК-маркеров для диагностики генов устойчивости к различным заболеваниям у сортов и гибридных форм отечественной селекции. Материалом исследований послужили сорта *Solanum tuberosum* L. из коллекции ГенАгро ИЦиГ СО РАН и селекционные гибриды СибНИИРС – филиала ИЦиГ СО РАН.

На основе анализа литературных данных был выбран ряд диагностических маркеров для выявления генов устойчивости к различным заболеваниям: маркера CP113 (Niewohner et al., 1995) к гену *HI*, отвечающему за устойчивость к золотистой картофельной нематоды (ЗКН, *Globodera rostochiensis*, патотип 1); маркер NL25 к гену *Sen1*, сцепленному с устойчивостью к раку картофеля (возбудитель – *Synchytrium endobioticum*) (Hehl et al., 1999; Vormann et al., 2004; Gebhardt et al., 2006).

Геномная ДНК 32 сортов картофеля анализировалась при помощи маркеров NL25 и CP113. Источник сведений об устойчивости сортов – www.gossort.com. Оценка устойчивости селекционных гибридов проводилась на базе ВНИИКХ (к раку) и ВИЗР (ЗКН). Аллель гена *Sen1*, определяющий устойчивость к раку, диагностирован у 21 образца (65,6 %) с помощью маркера NL25. Между наличием маркера NL25 и устойчивостью к раку картофеля выявлена достоверная связь ( $r^s = 0,531$ ,  $p < 0,05$  ( $r^s_{\text{крит}} = 0,35$ )). По результатам генотипирования с использованием маркера CP113 у 16 из 30 образцов (53,3 %) был диагностирован ген *HI*, определяющий устойчивость к ЗКН. Однако достоверной связи между наличием маркера CP113 и устойчивостью образцов картофеля у ЗКН не обнаружено ( $r^s = 0,164$ ,  $p > 0,05$  ( $r^s_{\text{крит}} = 0,362$ )). На основе полученных данных для дальнейшего применения в селекционных программах СибНИИРС – филиала ИЦиГ СО РАН рекомендован один из двух протестированных маркеров – NL25. Его использование позволит на ранних этапах селекции исключать гибриды, не устойчивые к раку картофеля.

*Благодарности:* Работа подготовлена при поддержке Российского научного фонда, грант № 16-16-04073.

## Сортоспецифичность уровня рибонуклеазной активности в листьях картофеля и ее связь с устойчивостью к фитопатогенам

Е.А. Трифонова\*, С.М. Ибрагимова, А.В. Романова, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: et@bionet.nsc.ru

Устойчивость к фитопатогенам является важной характеристикой для каждого сорта картофеля, а поиск маркеров устойчивости к патогенам – одна из приоритетных задач селекции растений. Высшие растения обладают широким спектром ферментов с нуклеазной активностью, считается, что защита от патогенов является основной наиболее вероятной функцией этих ферментов. Целью данной работы был анализ сортов картофеля, включенных в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации, на уровень суммарной рибонуклеазной активности в листьях и проверка корреляции этого уровня с такими хозяйственно ценными признаками, как сроки созревания и устойчивость к вирусам, фитофторе и парше обыкновенной.

В экспериментах использовались тринадцать сортов картофеля из сортовой коллекции *in vitro* лаборатории генной инженерии ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и сорта сибирской селекции Тулеевский, Кемеровчанин и Сафо из сортовой коллекции *in vitro* СибНИИРС (БРК «ГенАгро»). Исходные растения, свободные от вирусной и виroidной инфекций, культивировали в стерильных условиях в культуре *in vitro*. Для измерения РНКазной активности были использованы листья пробирочных растений 4–6-недельного возраста, выращенных в стандартных условиях. Для одного измерения обычно использовались листья со всего пробирочного растения. РНКазную активность грубых листовых экстрактов оценивали по количеству высвобождаемого кислоторастворимого материала из высокомолекулярной РНК дрожжей. Оценка направления и тесноты связи признаков производилась по параметрическому критерию корреляции Пирсона. Было показано, что в целом рибонуклеазная активность является сортоспецифичным признаком, что подтверждается очень малыми значениями среднеквадратичного отклонения для большинства проверенных сортов. Наибольшее среднеквадратичное отклонение было нами зафиксировано у сорта Тулеевский, который также оказался наиболее вариабельным по числу образуемых побегов на один эксплант, что, видимо, связано с генетическими особенностями сорта. Нами выявлена выраженная статистически значимая позитивная корреляция РНКазной активности в листьях картофеля с повышенной устойчивостью сортов к фитопатогенным вирусам ( $r = 0,7590$ ;  $p = 0,001$ ). Мы не выявили статистически значимой корреляции уровня РНКазной активности в листовых экстрактах с устойчивостью к фитофторозу клубней и листьев, а также со сроками созревания различных сортов картофеля. Мы предполагаем, что отсутствие связи уровня РНКазной активности отдельных сортов с устойчивостью к фитофторозу у картофеля связано с недостаточно высоким уровнем данной активности у проанализированных сортов и наличием нескольких различных механизмов защиты от патогенов, которые используются параллельно. Одним из неожиданных результатов нашего исследования стала статистически значимая негативная корреляция уровня РНКазной активности в листьях с устойчивостью к парше обыкновенной ( $r = -0,7798$ ;  $p = 0,022$ ). Таким образом, уровень РНКазной активности в листьях картофеля может использоваться в качестве маркера при селекции на устойчивость к вирусам, в то же время следует избегать сортов с повышенной РНКазной активностью при селекции устойчивости к парше обыкновенной.

*Благодарности:* Работа подготовлена при поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-04073). ЦКП ЛИВР, в котором осуществлялось выращивание растений, поддерживается в рамках бюджетного проекта (0324-2018-0018). Авторы благодарны БРК «ГенАгро» за предоставление растительного материала.

## Оценка количественных характеристик опушения листьев перспективных гибридов и сортов картофеля селекции Кемеровского НИИСХ – филиала СФНЦА РАН

В.П. Ходаева<sup>1</sup>, В.И. Куликова<sup>1\*</sup>, О.А. Исачкова<sup>1</sup>, А.В. Дорошкв<sup>2</sup>,  
Д.А. Афонников<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кемеровский НИИСХ – филиал СФНЦА РАН, Кемерово, Россия

<sup>2</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: kulikova.potato@yandex.ru

Важным фенотипическим сортовым показателем картофеля является опушение листьев, которое отвечает за формирование микроклимата у поверхности листа: чем интенсивнее опушение листа, тем выше защита растения от неблагоприятных биотических и абиотических факторов среды. Опушение у картофеля – один из факторов сопротивления растения колорадскому жуку. Растения с интенсивным опушением менее благоприятны для посещения и размножения на них тли, основного переносчика вирусных заболеваний картофеля, и демонстрируют пониженные уровни заражения вирусами *YBK* и *LBK*.

Исследованиями 2016–2017 гг. количественных характеристик опушения листьев перспективного гибрида картофеля 6-14-11 с использованием анализа цифровых микроизображений и обработкой изображений в компьютерной программе LNDetect2 растений *in vitro* (выращены в пробирках на питательной среде) и *in vivo* (выращены на торфяном субстрате) установлена разница между нижней (абаксиальной) и верхней (адаксиальной) стороной листа. На нижней стороне опушение плотнее, в большей степени за счет трихом малой длины – 100–300 мкм, что соответствует коротким кроющим и железистым трихомам. По результатам двухфакторного дисперсионного анализа опушения листа гибрида картофеля 6-14-11 найдено достоверное влияние на плотность опушения стороны листа (20,13 %) и среды, в которой выращено растение (0,57 %).

Анализом цифровых микроизображений выявлено, что распределение средней длины и среднего числа трихом на изображении большинства сортов картофеля варьируют в пределах 150–250 мкм, числом трихом 2–4 шт./пиксель на изображение. В то же время выделены сорта с более длинными трихомами (в среднем более 350 мкм) и с более короткими трихомами (менее 175 мкм). А также сорта с интенсивным опушением, более 5,5 шт./пиксель на изображение и слабым опушением 1,5 шт./пиксель. Исследования показали, что сорта картофеля Любава, Кузнечанка, Тулеевский относятся к числу средне опушенных – соответствующих числу трихом от 2,5 до 4,0 шт./пиксель, длиной трихом от 175 до 350 мкм. Сорта Кемеровчанин, Танай имеют наиболее интенсивное опушение, число трихом 6,8 шт./пиксель и 7,3 шт./пиксель с длиной трихом 150 мкм и 200 мкм соответственно.

Как показала практика 2017 г., растения сортов картофеля Кемеровчанин, Танай с интенсивным опушением менее посещаются тлями – переносчиками вирусов картофеля. За период III декада июля – III декада августа на этих сортах в ловушках Мерике тлей не обнаружено.

## Верификация зараженности корней картофеля золотистой картофельной нематодой

А.В. Хютти\*, Н.В. Мироненко, О.С. Афанасенко

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

\* e-mail: alexanderkhyutti@mail.ru

Дикие виды картофеля представляют особый интерес для поиска новых генов устойчивости к глободерозу. Для проведения транскриптомного анализа зараженного растения на разных временных этапах после внесения инокулюма, необходимо подтвердить факт заражения, то есть внедрения личинок нематоды в ткань корня. Молекулярная диагностика золотистой картофельной нематоды *Globodera rostochiensis* была разработана для идентификации нематоды в почвенных образцах (Bulman, Marshall, 1997). Для контроля за внедрением личинок золотистой картофельной нематоды (ЗКН) *G. rostochiensis* патотипа Ro1 в корни образцов *Solanum tuberosum* и *S. phureja*, используемых для транскриптомного анализа, мы применили метод ПЦР диагностики и цитологический анализ. Для окрашивания зараженных корней, с целью цитологического контроля внедрения личинок *G. rostochiensis*, использовали краситель – 0,05 % кислый фуксин ( $C_{20}H_{20}N_3Cl$ ). Корни картофеля промывали  $H_2O$ , переносили в раствор кислого фуксина на 10 с и повторно промывали  $H_2O$ . В дальнейшем окрашенные и разрезанные корни переносили на покровные стекла и просматривали с помощью стереоскопического микроскопа Carl Zeiss Axio Scope 40 (ув. 200х). Нашей задачей было подобрать условия ПЦР для обнаружения *G. rostochiensis* в корнях сорта Невский *S. tuberosum* и образцах дикого вида *S. phureja*. Для анализа брали корни *S. tuberosum* в следующие временные интервалы: через 3, 24, 72 ч и 5, 8 суток после заражения. Всю массу замороженных корней растирали в жидком азоте. Для выделения ДНК от каждого образца брали навеску корней 200–300 мг. Выделение ДНК из корней картофеля проводили с использованием СТАВ. Для доказательства факта заражения ставили ПЦР с видоспецифичными для *G. rostochiensis* праймерами (Bulman, Marshall, 1997): PITSp4 (5'-ACAACAGCAATCGTCGAG-3') и PITSr3 (5'-AGCGCAGACATGCCGCAA-3'). Положительным контролем служила ДНК, выделенная из 200 цист нематоды и растворенная в 200 мкл воды. Негативным контролем служила вода и ДНК незараженного растения. Показано, что контрольные варианты образцов корней незараженных растений дают в ПЦР неспецифические продукты амплификации того же размера, что и ДНК нематоды. Чтобы убрать неспецифическое праймирование, мы уменьшили концентрацию хлорида магния. Для амплификации видоспецифичного фрагмента ЗКН в корнях растений были подобраны две программы: стандартная и ступенчатая (touchdown) с температурой отжига праймеров 57 и 60 °С соответственно. У всех зараженных образцов сорта Невский выявлены диагностические продукты амплификации, свидетельствующие о факте заражения нематодой. В незараженных образцах *S. phureja* не обнаружен диагностический продукт амплификации с видоспецифичными к *G. rostochiensis* праймерами. В зараженных корнях растений устойчивого образца *S. phureja* выявлены слабые диагностические фрагменты в вариантах 24 и 72 ч после заражения. У восприимчивого образца интенсивность продуктов амплификации была выше, чем в устойчивом. Это различие может быть связано с генетической детерминацией устойчивости, влияющей на количество внедрений патогена и развитие его внутри корня. Цитологическим методом нематода обнаружена в самом «раннем» варианте 3 ч после заражения и последующих. Мы показали, что условия ПЦР с видоспецифичными праймерами PITSp4 и PITSr3 для идентификации нематоды в корнях *S. phureja* и *S. tuberosum* различны.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-16-04073.

## **Эндо- и эпифитные бактерии картофеля дикого типа – продуценты экспериментальных образцов микробных препаратов для биологической защиты новых сортов картофеля**

В.К. Чеботарь\*, А.В. Щербаков, Е.Н. Щербакова, Л.М. Яхина, О.В. Комарова, Ю.В. Лактионов, А.П. Кожемяков, И.А. Тихонович  
*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*  
\* e-mail: vladchebotar@rambler.ru

Для селекции картофеля актуальным является использование эффективных и экологически безопасных микробных препаратов, повышающих продуктивность и устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды и болезням. Спомощью разработанных методик из клубней картофеля дикого типа выделено 65, а из клубней культурного вида – 50 изолятов эндофитных и эпифитных бактерий. Проведено сравнение микробиомов штаммов микроорганизмов, выделенных из сортов дикого и культурного вида растений картофеля, и обнаружено, что в составе микробиома дикого вида преобладают бактериальные штаммы – 77 %, численность актинобактерий составляла 18 %, грибов – 4,6 %, в то время как в составе микробиома культурного вида среди изолятов обнаружено 62 % бактерий, 32 % актиномицетов и 6 % грибов. Наибольшее число микроорганизмов, способных стимулировать рост растений и подавлять фитопатогенные грибы, выделено из клубней дикого вида.

Выделенные изоляты проанализированы на способность к продукции ИУК, ростостимуляции, фунгицидной активности, продукции разных ферментов и способности расти при пониженных температурах.

В результате анализа свойств выделенных бактериальных штаммов отобрано 10 изолятов для идентификации с помощью анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Установлена родовая и видовая принадлежность выбранных изолятов.

С целью создания биопрепаратов, имеющих антистрессовое и защитное действие для растений картофеля, отобрано три штамма с требуемыми свойствами и два штамма для применения при хранении сельскохозяйственной продукции в условиях промышленных картофелехранилищ. Оптимизированы составы питательных сред и отработаны технологические параметры культивирования семи штаммов микроорганизмов, разработаны проекты технологических регламентов получения семи экспериментальных образцов микробных препаратов.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке проекта «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации» Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства на 2017–2025 гг.

## **Анализ транскриптов, специфичных для линии картофеля, устойчивой к золотистой картофельной нематоде, из данных RNA-seq**

Н.А. Шмаков\*, Д.А. Афонников, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: [shmakov@bionet.nsc.ru](mailto:shmakov@bionet.nsc.ru)

Нематода *Globodera rostochiensis* – вредитель, поражающий корни картофеля, от которого страдает большая часть посадок картофеля, в том числе на территории Российской Федерации. Некоторые сорта картофеля обладают повышенной устойчивостью к данному паразиту. Поиск отдельных генов, обуславливающих такую резистентность, – важный шаг в создании новых сельскохозяйственных сортов при помощи маркер-ориентированной селекции. Подходящим инструментом для такого обнаружения генов является RNA-seq.

В данном эксперименте РНК была выделена из корней картофеля, инокулированного нематодой *G. rostochiensis*, двух линий – устойчивой и контрольной, на разных временных стадиях. Секвенирование проводилось на платформе Illumina NextSeq 2500. В результате было получено 30 библиотек коротких парных ридов, на основе которых проведена сборка транскриптома.

В полученных сборках был проведен анализ покрытия транскриптов короткими ридами библиотек и выявлены транскрипты, показывающие изменение уровней экспрессии между двумя линиями в разных временных точках. Также были обнаружены транскрипты, встречающиеся исключительно в устойчивой линии. Был проведен функциональный анализ транскриптов путем предсказания доменов и характерных мотивов. Были выделены транскрипты с предсказанной функциональной связью с устойчивостью к поражению паразитами, в том числе предсказаны NB-LRR гены, составляющие самое большое в наземных растениях семейство генов устойчивости к патогенам и паразитам.

Верификация наличия предсказанных транскриптов и изменения уровней экспрессии проводилась при помощи количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-16-04073.

## Фенотипирование картофеля (*Solanum tuberosum* L.) по биохимическим параметрам крахмала

Т.В. Эрст, Л.М. Гвоздева, В.К. Хлесткин\*

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* e-mail: khlestkin@bionet.nsc.ru

В ходе развития мировой экономики и производства растения становятся источниками не только пищи, но и ряда новых материалов – композитов, волокон, углеродных материалов, новых «строительных блоков» для химической промышленности, лекарственных средств и микро- и наноустройств для их доставки. Соответствующим отраслям важно обеспечить себя надежными источниками сырья со строго определенными свойствами. Поэтому наряду с агротехнологиями выращивания и методами переработки биомассы идет работа над тонкой настройкой генетических сетей значимых растений с целью оптимизировать их работу так, чтобы повысить эффективность использования вложенных энергетических и материальных ресурсов, а также обеспечить на выходе сырье с требуемыми заданными параметрами.

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является значимым источником качественного крахмала, доступного и экономичного сырья как для пищевой, так и для перерабатывающей промышленности. Нативный картофельный крахмал представляет собой овальные гранулы сложного строения. В состав гранулы крахмала входят два типа полимерных биомолекул – полисахариды амилоза и амилопектин в соотношении примерно 25:75. Оба полисахарида являются полимерами глюкозы, линейным (амилоза) и разветвленным (амилопектин). Такое устройство крахмала дает возможность предположить целый ряд его молекулярных параметров, влияющих на конечные, практически важные для промышленности свойства: выход крахмала, кристалличность гранул, морфологические признаки гранул, соотношение амилоза/амилопектин, молекулярные веса полисахаридов, разветвленность амилопектина, содержание фосфатных групп.

В ходе данной работы проведено фенотипирование 90 сортов картофеля по химическим свойствам крахмала и определены следующие его параметры:

- содержание фосфора (в виде фосфата);
- устойчивость к действию амилаз;
- содержание амилозы;
- морфологические характеристики гранул.

Методом главных компонент выявлены взаимные корреляции некоторых свойств крахмала и агрономических параметров растения. Анализ крахмала 2016 и 2017 гг. позволил установить наличие генетического вклада в морфологии крахмальных гранул. В настоящее время проводится работа по установлению ассоциаций «генотип – химический признак крахмала» на основе генотипирования на SNP-чипе.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-29-08006.

## **Сравнительный анализ морфологических признаков гранул крахмала *Solanum tuberosum* из растений, выращенных в 2016–2017 годах**

Т.В. Эрст\*, А.В. Дорошков, В.К. Хлесткин

*ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

\* e-mail: [erst@bionet.nsc.ru](mailto:erst@bionet.nsc.ru)

Картофель представляет собой одну из наиболее возделываемых сельскохозяйственных культур в мире. В качестве сырья для промышленного применения картофель – легкодоступный в извлечении и переработке, недорогой источник крахмала. Гранулы крахмала различной сортовой принадлежности имеют различные проявления фенотипических признаков, оптимальные для тех или иных технологических задач. Предположительно, генотип вносит значительный вклад в морфологические признаки гранул крахмала. Известно много примеров влияния генетических модификаций картофеля на размер и форму гранул. Несмотря на то что гены биосинтеза картофельного крахмала хорошо изучены и отсекушены, эффекты различных комбинаций аллельных вариаций этих генов на морфологию гранул крахмала не очевидны.

Целью данной работы является фенотипирование коллекции картофеля ФИЦ ИЦиГ СО РАН по морфологическим признакам и идентификация сортов с контрастными значениями этих признаков, а также поиск ассоциированных с ними аллелей генов биосинтеза крахмала.

С помощью световой микроскопии получены данные по семи морфологическим параметрам, таким как площадь проекции гранулы в кадре, соотношение площади к наибольшему диаметру, соотношение площади к выпуклой области, округлость, наибольший и наименьший диаметр частицы, их соотношения.

В работе анализируются данные по морфологическим параметрам гранул крахмала, полученных из растений урожая 2016 и 2017 гг. С помощью метода главных компонент, во-первых, показана сортовая кластеризация, во-вторых, удалось показать наличие генетического вклада в формирование морфологических признаков и идентифицированы сорта, наиболее отзывчивые на условия окружающей среды по этим признакам.

Выявление закономерностей между генотипом и фенотипом позволит подбирать и использовать молекулярные маркеры с целью ускоренного создания новых сортов с требуемыми значениями практически важных признаков.

*Благодарности:* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-44-540510). Образцы картофеля получены из коллекции ЦКП «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН.

## Авторский указатель

- Алпатьева Н.В. 5, 6  
Аминова Е.В. 26  
Анисимова И.Н. 5  
Антонова О.Ю. 6, 10, 20  
Архипов Д.В. 25  
Афанасенко О.С. 35  
Афонников Д.А. 16, 34, 37
- Базарнова Ю.Г.** 17  
Байрамова Д.О. 7  
Бирюкова В.А. 8
- Васильев Г.В.** 16  
Волкова Н.Н. 10  
Вышегуров С.Х. 11
- Гавриленко Т.А. 5, 6, 9, 10, 20  
Гайзатулин А.С. 24  
Галеев Р.Р. 11  
Гантимурова А.Н. 12  
Гвоздева Л.М. 13, 38  
Генаев М.А. 21  
Герасимова С.В. 7, 14–16, 21  
Гетман И.А. 25
- Денисов А.С. 11  
Дергилёва Т.Т. 26  
Домрачев Д.В. 15  
Дорошков А.В. 34, 39
- Евдокимова З.З. 20  
Егорова А.А. 14–16  
Егорова К.В. 6  
Ефимов В.М. 27
- Жарова В.А.** 8  
Жилинская Н.Т. 17  
Жирнов И.В. 7
- Зобова Н.В.** 18
- Ибрагимова С.М.** 19, 33  
Иванова К.А. 21  
Исачкова О.А. 34
- Карабицина Ю.И.** 5, 6  
Кендус К.А. 24  
Клименко Н.С. 6, 10, 20  
Кожемяков А.П. 36  
Колачевская О.О. 25  
Колошина К.А. 15, 21, 22  
Комарова О.В. 36  
Комышев Е.Г. 21  
Корляков К.Н. 23  
Косолапова А.И. 23, 28  
Костина Л.И. 20  
Кочетов А.В. 7, 14, 16, 19, 21, 29, 30, 32, 33, 37  
Куликова В.И. 12, 34
- Лактионов Ю.В.** 36  
Лапшинов Н.А. 12  
Логинов Ю.П. 24  
Ломин С.Н. 25  
Луговцова С.Ю. 18
- Мармулев А.Н.** 11  
Мелёшин А.А. 8  
Мироненко Н.В. 35  
Митюшкин А.В. 8  
Мушинский А.А. 26  
Мызгина Г.Х. 19, 22  
Мякушина Ю.А. 25
- Оносов Д.М.** 28  
Оносова Е.Ф. 28
- Полухин Н.И.** 22
- Розанова И.В.** 27  
Романов Г.А. 25  
Романова А.В. 19, 33
- Савельева Е.М.** 25  
Самарин И.С. 11  
Сафонова А.Д. 32  
Сидорчук Ю.В. 14  
Сметанников А.Ф. 23, 28  
Смирнова О.Г. 29  
Стрыгина К.В. 16, 30,
- Тихановский А.Н.** 31  
Тихонович И.А. 36  
Томилин М.А. 7  
Тоцкий И.В. 32  
Трифорова Е.А. 33
- Ухатова Ю.В.** 10
- Филипенко Е.А.** 7  
Фомин Д.С. 23, 28,
- Хлесткин В.К.** 13, 27, 38, 39  
Хлесткина Е.К. 27, 30, 32  
Ходаева В.П. 12, 34  
Хютти А.В. 35
- Чеботарь В.К.** 36
- Шацкая Н.В.** 16  
Швачко Н.А. 10  
Шмаков Н.А. 16, 37  
Шмыгля И.В. 8  
Шульга М.С. 11
- Щербаков А.В.** 36  
Щербакова Е.Н. 36
- Эрст Т.В.** 38, 39
- Ямалтдинова В.Р.** 23, 28  
Яхина Л.М. 36

*Научное издание*

ОБЪЕДИНЕННОЕ НАУЧНОЕ МЕРОПРИЯТИЕ  
«ДЕНЬ ПОЛЯ» В РАМКАХ КПНИ ФАНО РОССИИ  
«РАЗВИТИЕ СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВА КАРТОФЕЛЯ»  
И НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
«ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ  
И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ КАРТОФЕЛЯ»

Тезисы докладов

Выпуск подготовлен информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН

---

Подписано к печати 25.07.2018. Формат 70 × 108 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Усл. печ. л. 3,5.  
Тираж 110 экз. Заказ № 179

---

Федеральный исследовательский центр  
«Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»  
630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 10

Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН»  
630090, г. Новосибирск, Морской проспект, 2