

Паспорт технологии
Технология оценки генетической стабильности
микрклонально размножаемых растений земляники

Показатель	Характеристика технологии
Назначение технологии	Технология предназначена для анализа генетической стабильности и однородности растений земляники, получаемых при микрклональном размножении, и позволяет выявлять образцы, генетически отличающиеся от исходных маточных растений, что дает возможность получать генетически однородный, стандартный посадочный материал.
Описание технологии	Для решения задачи по выявлению растений, получаемых в культуре <i>in vitro</i> в процессе микрклонального размножения и генетически отличающихся от исходных маточных растений в технологии использованы мультилокусные ДНК-маркеры, которые позволяют одновременно проводить анализ по нескольким участкам генома. Для этих используются ISSR-маркеры, тип маркеров, основанный на анализе полиморфизма участков генома, локализованных между микросателлитными участками генома. Это обеспечивает стабильность и воспроизводимость получаемых результатов. Пять высокоинформативных ISSR-маркеров: 3A39, ASSR 20, UBC 849, ISSR2, ISSR6 дают возможность оценивать наличие генетических различий. Осуществлен подбор наиболее оптимальных для ISSR-маркеров температуры и времени этапа отжига праймеров. Рекомендуется использовать следующие температурно-временные параметры ПЦР: 3 минуты предварительной денатурации при температуре 95 °С; последующие 35 циклов: денатурация 35 секунд при 95°С, отжиг праймеров 1 минута при 50 °С, элонгация 1,5 минуты при 72 °С, и финальный цикл синтеза при температуре 72 °С в течение 5 минут. Оптимизированные параметры полимеразной цепной реакции позволяют получать достоверные и воспроизводимые ДНК-профили изучаемых образцов. При выявлении различий в суммарном ДНК-профиле между растением полученным в <i>in vitro</i> условиях и исходным маточным растением, являющемся донором эксплантов, производится выбраковка растения, полученного <i>in vitro</i> . Это обеспечивает генетическую чистоту и однородность получаемого посадочного материала земляники садовой.
Основные показатели технологии	Повышенная эффективность технологии, в сравнении с традиционной апробацией посадочного материала достигается за счет двух ключевых характеристик: 1) точность оценки генетической однородности и соответствия исходному сорту за счет применения анализа генома, а не фенотипических признаков, которые могут варьировать в определенных пределах, у одного и того же сорта в зависимости от условий окружающей среды; 2) экспрессность оценки, позволяющая получить данные о генетической однородности даже на этапе первичной адаптации микрорастений в условиях <i>ex vitro</i> , в то время как «классическая»

		сортовая апробация возможна только на стадии вступления растения в плодоношение, что возможно спустя 1-2 года после высадки рассады земляники в грунт. Применение ДНК-анализа в контроле генетической стабильности на ранних этапах позволяет снизить издержки, связанные с получением низкокачественной и неоднородной продукции. Она подходит для реализации в лабораториях, оснащенных минимальным количеством оборудования для проведения молекулярно-генетических исследований.
Сведения об использованных при разработке технологии научно-технических заделах (собственных разработках) Получателя	об	Степанов И.В., Супрун И.И., Токмаков С.В., Лободина Е.В. Поиск эффективных IRAP и ISSR маркеров для генетического анализа подвоев яблони// Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2019. – № 60 (6). – С. 11-20. DOI 10.30679/2219-5335-2019-6-60-11-20 Степанов И.В., Дрыгина А.И. Поиск эффективных ISSR маркеров для генотипирования вида <i>P. Serrulata</i> // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2019. – № 60 (6). – С. 21-30. DOI 10.30679/2219-5335-2019-6-60-21-30 Супрун И.И., Маляровская В.И., Степанов И.В., Самарина Л.С. IRAP-анализ для оценки генетической стабильности эндемичных и исчезающих видов флоры Западного Кавказа в коллекции <i>in vitro</i>// Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23. № 1. – С. 8-14. https://doi.org/10.18699/VJ19.455 Супрун И.И., Степанов И.В., Слепченко Н.А., Маляровская В.И., Коломиец Т.М., Самарина Л.С. Апробация ISSR ДНК-маркеров для генотипирования вида <i>Galánthus woronowii</i> losinsk. и анализ генетической стабильности растений, полученных в культуре <i>in vitro</i>// Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 133. – С. 1166-1178. Супрун И.И., Степанов И.В., Маляровская В.И., Коломиец Т.М., Самарина Л.С. Апробация ISSR ДНК-маркеров для генотипирования вида синеголовник приморский (<i>Eryngium maritimum</i> L.)// Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2016. – № 63. – С. 95-101. DOI: 10.21515/1999-1703-63-95-101 Супрун И.И., Плугатарь С.А., Степанов И.В., Науменко Т.С. Анализ генетических взаимосвязей генотипов рода <i>Rosa</i> L. из коллекции Никитского ботанического сада с использованием ISSR- и IRAP- ДНК-маркеров// Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. № 5. – С. 474-480. https://doi.org/10.18699/VJ20.639
Сведения об эффективности	об и	Высокий уровень конкурентоспособности обеспечивается возможность экспресс оценки на наличие растений, генетически отличающихся от исходных маточных растений. В сравнении с

конкурентоспособности технологии	общепринятой сортовой апробацией, выполняемой по комплексу хозяйственно-ценных признаков у растений, вступивших в плодоношение (1-2 года после высадки в открытый грунт для земляники), данная технология позволяет провести выбраковку генетически отличающихся от исходного растения на этапе высадки рассады в грунт. Обеспечивает уменьшение количества этапов оценки и снижение стоимости апробации на 30% и сокращение материальных и трудовых затрат на 40-45 %. За счет использования наименее дорогостоящего и простого в работе метода детекции полиморфизма ПЦР-продуктов (электрофорез в агарозном геле) метод не требует значительных финансовых затрат на комплектацию лабораторного оборудования, что повышает его доступность для питомниководческих хозяйств. Этот факт также способствует повышению конкурентоспособности технологии.
Сведения о результатах интеллектуальной деятельности, в том числе селекционных достижениях, использованных в технологии	Способ генетической идентификации подвоев яблони на основе анализа микросателлитных маркеров генома (Патент № 2728588 от 30 июля 2020 г; заявка № 2019108350 от 21.03.2019. Авторы Супрун И.И., Лободина А.В., Токмаков С.В. Степанов И.В. Патентообладатель: ФГБНУ СКФНЦСВВ). <i>Способ генетической идентификации подвоев яблони, включающий экстракцию ДНК, ПЦР – анализ, фрагментный анализ на генетическом анализаторе, отличается тем, что для формирования универсального ДНК–паспорта использовали 12 микросателлитных ДНК–маркеров, распределенных в четыре мультиплексных набора, включающих по 3 маркера: CH03a04, CH01f03b и CN581493 в первом наборе, Hi16d02, CH04e03 и CN445290 во втором наборе, CH04C07, GD 147 и CH04a12 в третьем наборе, NzmsEB146613, CH04e05 и CH02C09 в четвертом наборе.</i>

Руководитель

Егоров Е.А.

