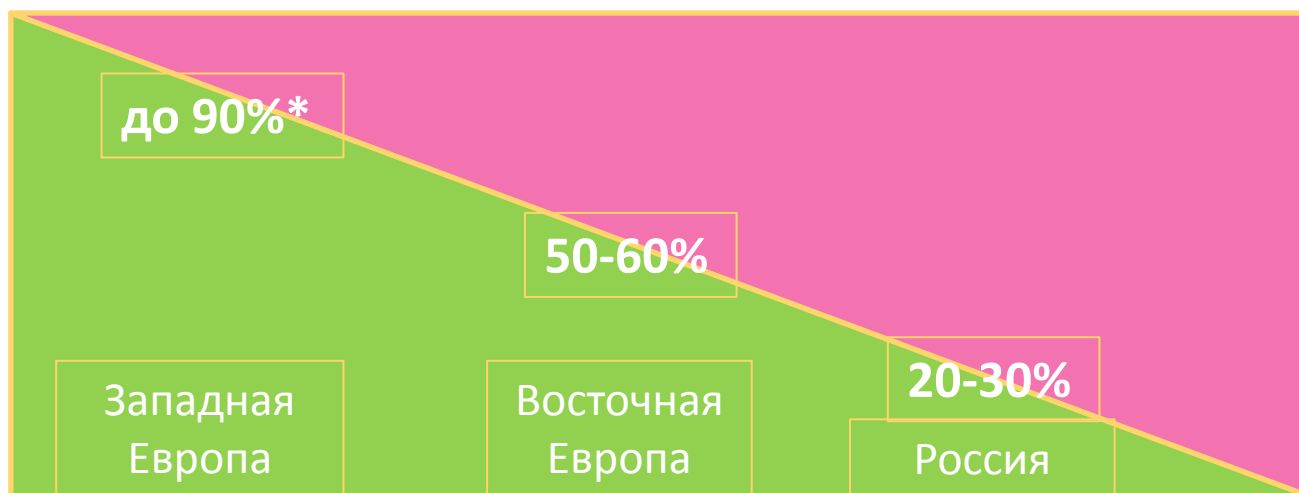


СОРТ КАРТОФЕЛЯ – КОМПРОМИСС ПОТРЕБНОСТЕЙ И ВОЗМОЖНОСТЕЙ



Реализация биологического потенциала сортов картофеля



* - соотношение урожайности сортов картофеля в производственных условиях и урожайности в условия селекционного изучения (%)

Ненадлежащая агротехника может привести к снижению урожайности новейших, наилучших сортов картофеля. В паре с созданием новых, качественно лучших и более урожайных сортов картофеля должен идти прогресс технологии и техники производства картофеля.

Причины низкой степени реализации биологического потенциала сортов картофеля



Прогресс уровня продуктивности новых сортов картофеля

Селекционный прогресс
урожайности картофеля
200-300 кг/год (1,5-2%)

The diagram consists of a large green downward-pointing triangle at the top, a red cross-like symbol in the middle, and a smaller green upward-pointing triangle at the bottom. A red arrow points from the top triangle through the center of the red symbol to the bottom triangle.

Семеноводство
картофеля

Прогресс урожайности картофеля в производстве
близок к нулю

Методы создания новых сортов картофеля

Классическая селекция

от 10 лет

Подбор пар скрещивания по фенотипу



X

Отбор по фенотипу



Отбор по генотипу

Генетическая трансформация (от 1 года)



Перенос ДНК последовательности



Отбор по генотипу



 - Последовательность ДНК, кодирующая искомый признак

Классическая селекция

Фенотипическая селекция – подбор родительских форм и отбор селекционных образцов по проявлению признаков.

Достижения: практически все современные сорта картофеля созданы с помощью фенотипической селекции.

Ограничения: длительность (от 10 лет), высокая стоимость, трудоемкость, зависимость результата от агроклиматических условий, биологические ограничения.

Маркер-вспомогательная селекция (MAS)

- MAS – генотипическая селекция, основанная на идентификации ДНК- маркеров. Первые маркеры разработаны в 1980-х гг.
- **Достижения:** ДНК-маркеры генов и локусов, контролирующих устойчивость к **фитофторозу**, **золотистой и бледной картофельной нематод**, **раку картофеля**, **черной ножке**, **вертициллиозному увяданию**, PVY, PLRV, PVX, PVM, PVS, окраску цветов, кожуры и мякоти клубней, группу спелости, качество хрустящего картофеля, содержание сухого вещества и крахмала, урожайность, количество и форму клубней.
- **Ограничения:** высокая стоимость, ограниченное количество ДНК-маркеров.

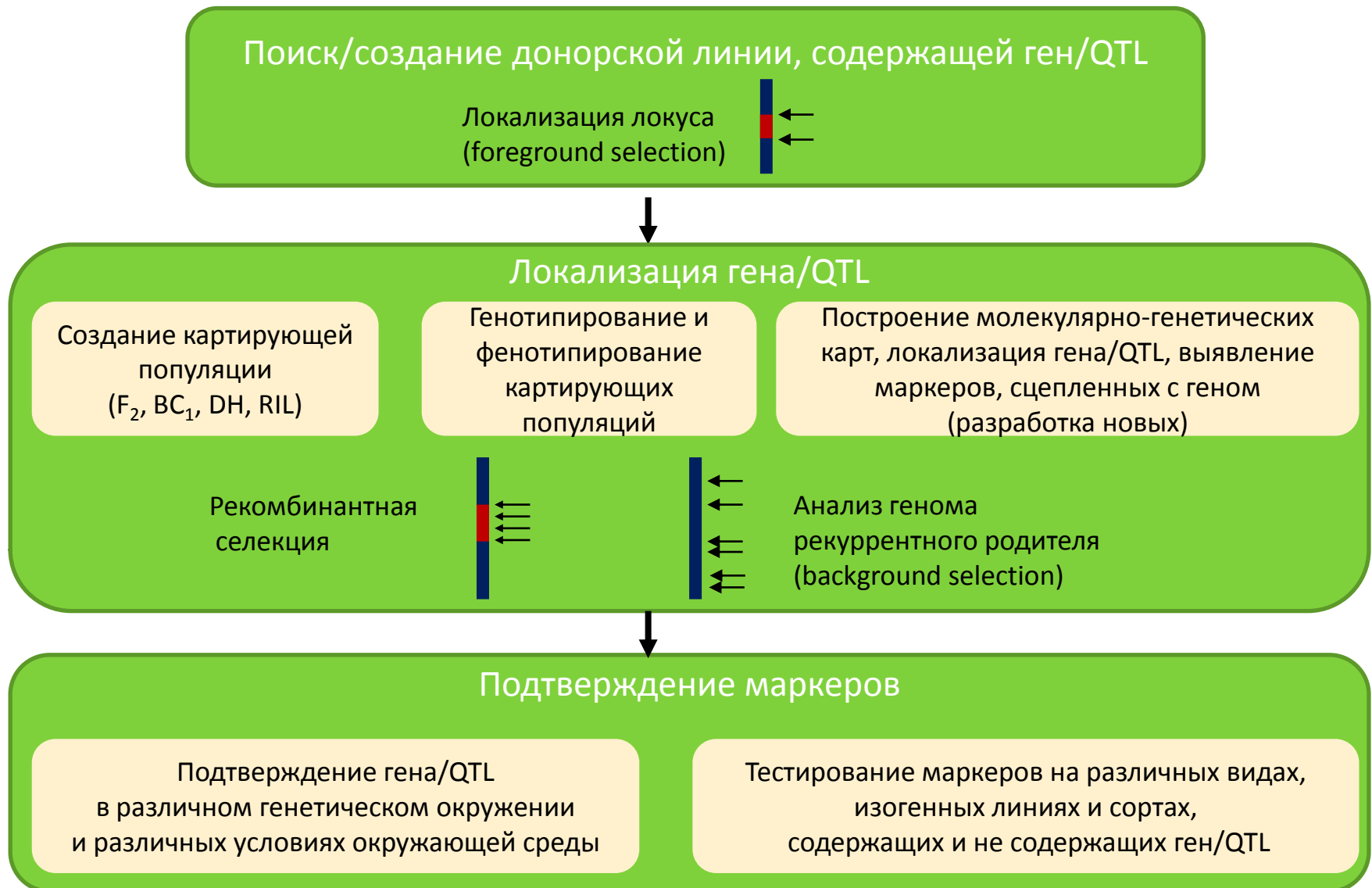
MAS как методический подход используется в селекции для решения следующих задач

- ❖ Оценка сортовой чистоты/идентичности и генетического разнообразия сортов.
- ❖ Хромосомная локализация и картирование генов и локусов количественных признаков (QTL) и выявление маркеров, тесно сцепленных с признаками.
- ❖ Контроль различных типов скрещивания для выявления перспективных родительских форм и анализа потомства в сочетании с фенотипической селекцией.
- ❖ Интрогрессия генов/QTLs в различных схемах MAS.
- ❖ Пирамидирование генов.
- ❖ Селекция признаков с количественным наследованием.

Преимущество MAS по сравнению с фенотипической селекцией

- ❖ Сокращение продолжительности селекционного процесса.
- ❖ Снижение затрат на полевые испытания. Анализ ДНК-маркерами проводится в лабораторных условиях на любой стадии развития (от семян до взрослого) растения.
- ❖ «Непрямая» селекция (1) признаков которые трудно фенотипируются; (2) признаков на проявление которых сильно влияет окружающая среда; (3) признаков с мультигенным контролем.
- ❖ Контроль интрогрессии генетического материала донора и размер фрагмента донорского генома
- ❖ Поддержание в популяции рецессивных аллелей генов.

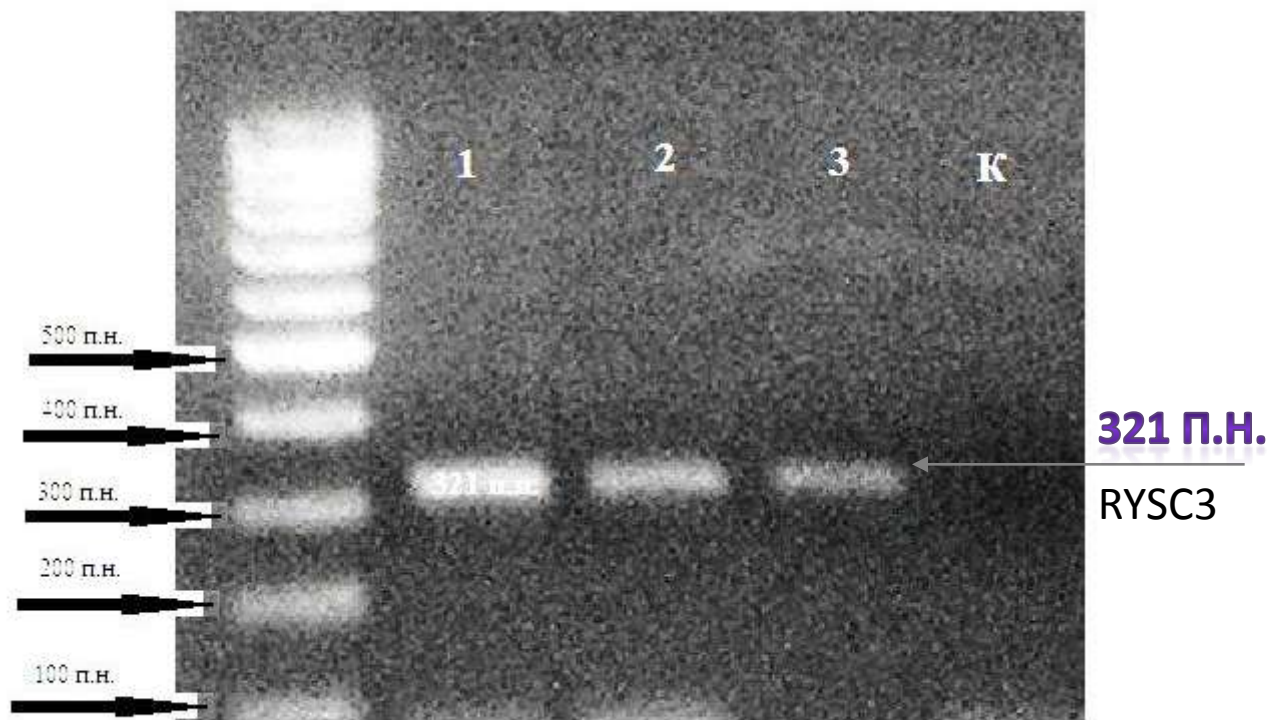
Схематическое изображение этапов, необходимых для разработки и подтверждения молекулярных маркеров (Леонова, 2013)



ДНК-маркеры R-генов картофеля к золотистой картофельной нематодe *G. rostochiensis* Woll, возбудителю рака картофеля *S. endobioticum*, Y вирусу картофеля

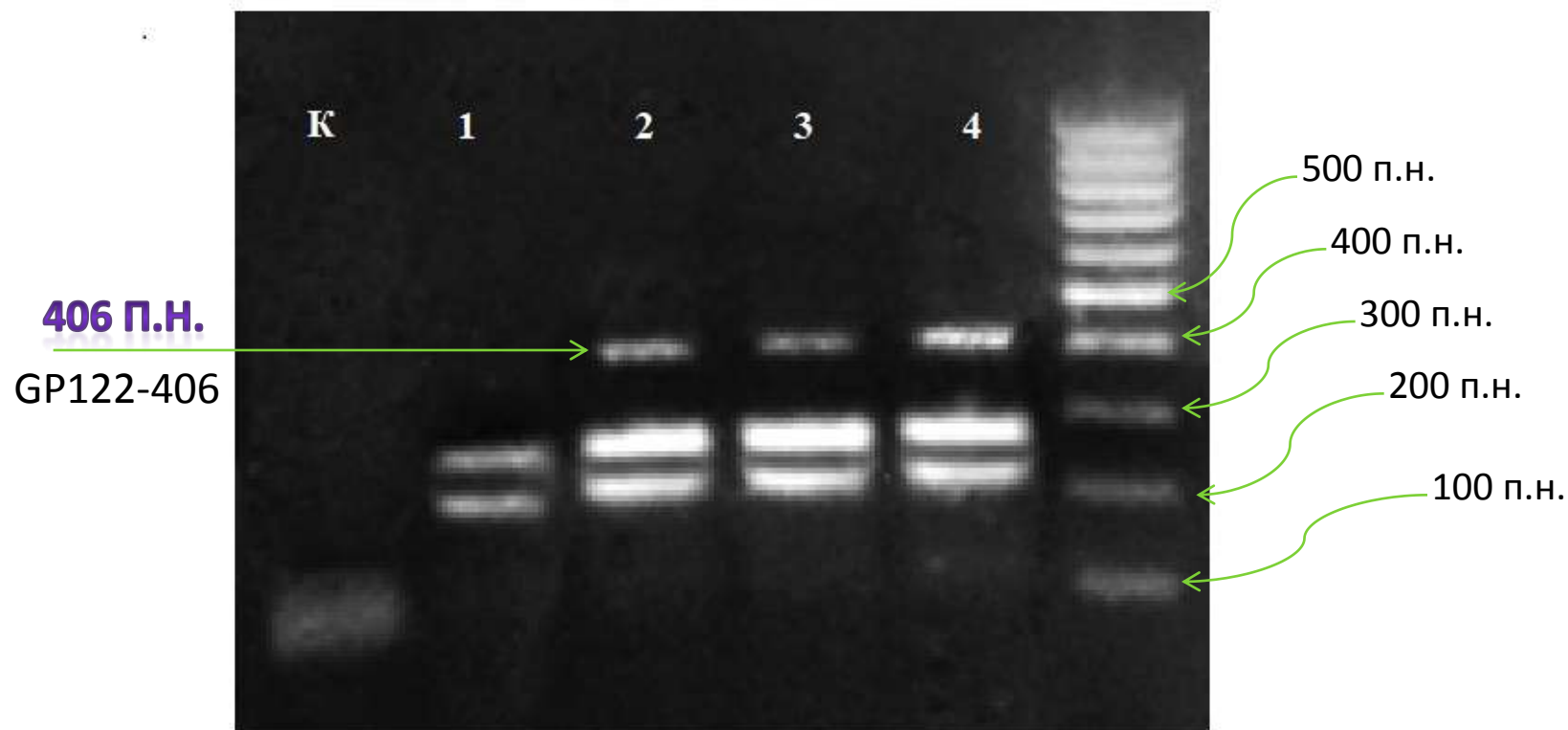
Маркер	Длина маркерного фрагмента	Ген	Хромосома	Патоген
TG689	141 п.н.	H I	V	<i>G. rostochiensis</i> Woll патотипы Ro1 и Ro4
Gro1-4	602 п.н.	Gro I (Gro1-4)	VII	<i>G. rostochiensis</i> Woll патотипы Ro1-Ro5
NL25	1400 п.н.	Sen1	XI	<i>S. endobioticum</i> патотип 1
RYSC3	321 п.н.	Ry _{adg}	XI	YBK
GP122-406	406 п.н.	Ry _{sto}	XII	YBK

Результаты ПЦР анализа на наличие гена Ry_{adg} в исходных образцах картофеля с парой праймеров RYSC3



М – маркер молекулярного веса; 1 – номер 2-1-2; 2 – номер 3-33-13; 3 – номер 3-33-11; К – отрицательный контроль.

Результаты рестрикции (EcoR V) продуктов амплификации ДНК исходных образцов картофеля с парой праймеров GP122-406



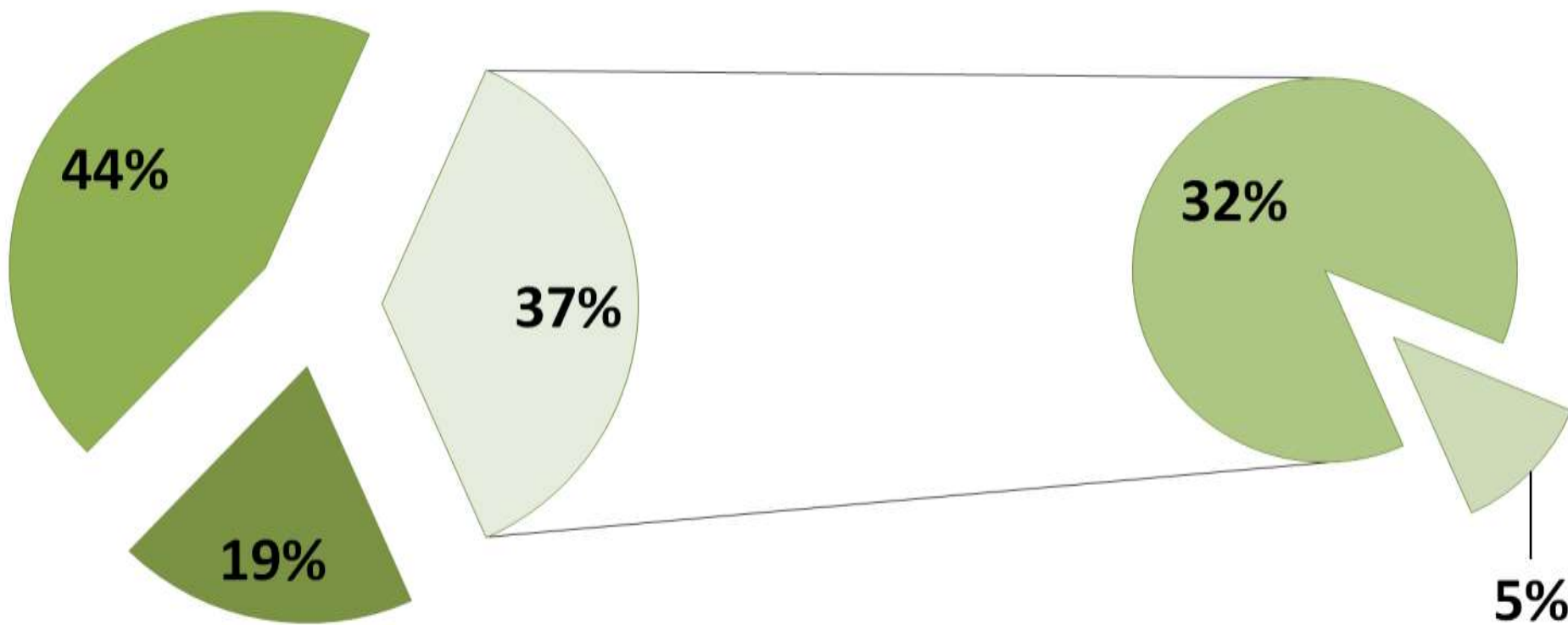
К – отрицательный контроль; 1 – 50-03 (контроль); 2 – Ароза; 3 – Брянский деликатес; 4 – Регги; М – маркер молекулярного веса.

Результаты оценки исходного материала картофеля на наличие маркеров устойчивости к Y вирусу картофеля и вирусологический анализ на заражённость YBK

Сорт/номер	Наличие ("+")/отсутствие ("-") маркера		Устойчивость к YBK (данные ИФА)
	RYSC3	GP122-406	
Ароза	-	+	Устойчивый
Брянский деликатес	-	+	Устойчивый
Лорх	-	+	Устойчивый
Сантэ	-	+	Устойчивый
Юбилей Жукова	-	+	Устойчивый
Регги	+	+	Устойчивый
Кортни	-	-	Устойчивый
3-33-11	+	-	Устойчивый
2-19-5	-	+	Устойчивый
2-12-2	-	+	Устойчивый
2-9-2	-	+	Устойчивый
2-1-2	+	+	Устойчивый

Результаты оценки образцов растений комбинации 2-1-2 x 50-03 на наличие маркера RYSC3 и устойчивости к YBK

Количество изученных образцов - 90

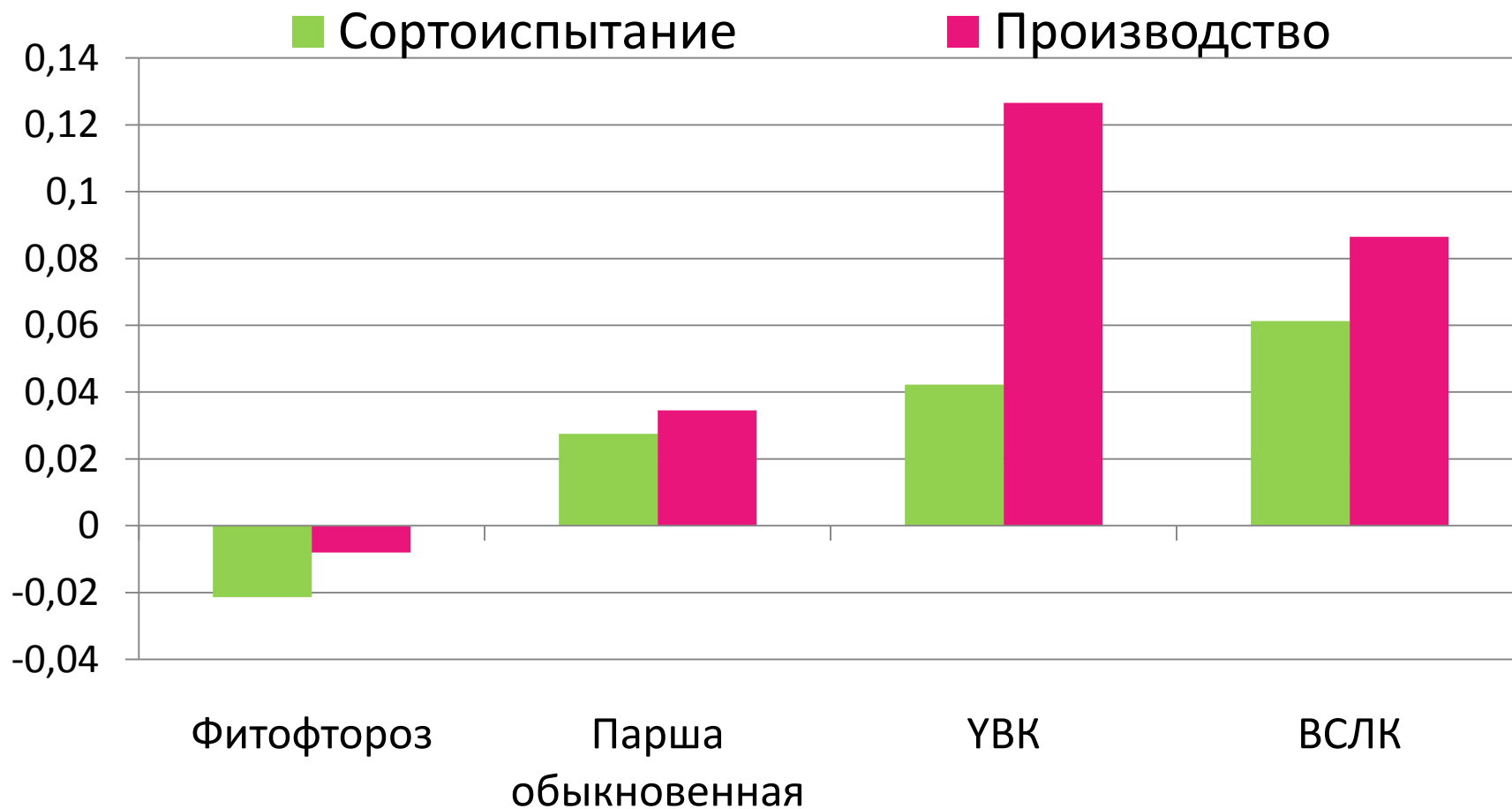


- Кол-во образцов, не содержащих маркёр, но обладающих устойчивостью, %
- Кол-во образцов, не содержащих маркёр и не обладающих устойчивостью, %
- Кол-во образцов, содержащих маркёр и обладающих устойчивостью, %
- Кол-во образцов, содержащих маркёр, но не обладающих устойчивостью, %

Результаты комплексной оценки исходного материала картофеля на наличие маркёров генов, определяющих устойчивость и их фенотипического проявления

Сорт/ номер	YBK			Патотип Ro1 <i>G. rostochiensis</i>			<i>S. endobioticum</i>	
	Устойчивость	Наличие маркера		Устойчивость	Наличие маркера		Устойчивость	Наличие маркера
		RYSC3	GP122-406		TG689	Gro1-4		
Сантэ	+	-	+	+	+	-	+	+
Ароза	+	-	+	+	+	-	+	+
2-1-2	+	+	+	-	-	-	+	+
Регги	+	+	+	-	-	-	+	+
Кортни	+	-	-	+	+	-	+	+

Изменение степени устойчивости к болезням у сортов картофеля возделывавшихся в Польше с 1957 по 2003 гг.



Генетически модифицированные организмы

- ❖ ГМО — организм, генотип которого был искусственно изменён при помощи методов генной инженерии. Это определение может применяться для растений, животных и микроорганизмов. Генетические изменения, как правило, производятся в научных или хозяйственных целях. Генетическая модификация отличается целенаправленным изменением генотипа организма.
- ❖ Основным видом генетической модификации в настоящее время является использование трансгенов для создания трансгенных организмов.
- ❖ В сельском хозяйстве и пищевой промышленности под ГМО подразумеваются только организмы, модифицированные внесением в их геном одного или нескольких трансгенов.
- ❖ В настоящее время специалистами получены научные данные об отсутствии повышенной опасности продуктов из генетически модифицированных организмов по сравнению с традиционными продуктами

Происхождение ГМО

- Трансгены. Перенос генов между организмами отдаленных таксономических групп. Н.п., между организмами, принадлежащими к разным царствам (бактерии, археи, протисты, хромисты, грибы, растения, животные)
- Цисгены. Перенос генов между организмами близких таксономических групп. Н.п., между организмами, принадлежащими к одному царству (бактерии, археи, протисты, хромисты, грибы, растения, животные)

Проявление трансгена

1. Синтез белка (устойчивость к гербициду (глифосату), устойчивость к насекомым)
2. Синтез РНК (регуляция проявления признаков)
3. Наличие ДНК (РНК интерференция (сайленсинг генов), блокирование проявления генов хозяина, устойчивость к вирусам)

Основные этапы создания ГМО

1. Получение изолированного гена.
2. Введение гена в вектор для переноса в организм.
3. Перенос вектора с геном в модифицируемый организм.
4. Преобразование клеток организма.
5. Отбор генетически модифицированных организмов.

Геномная и пептидная организация *YBK*. Вектор для трансформации растений

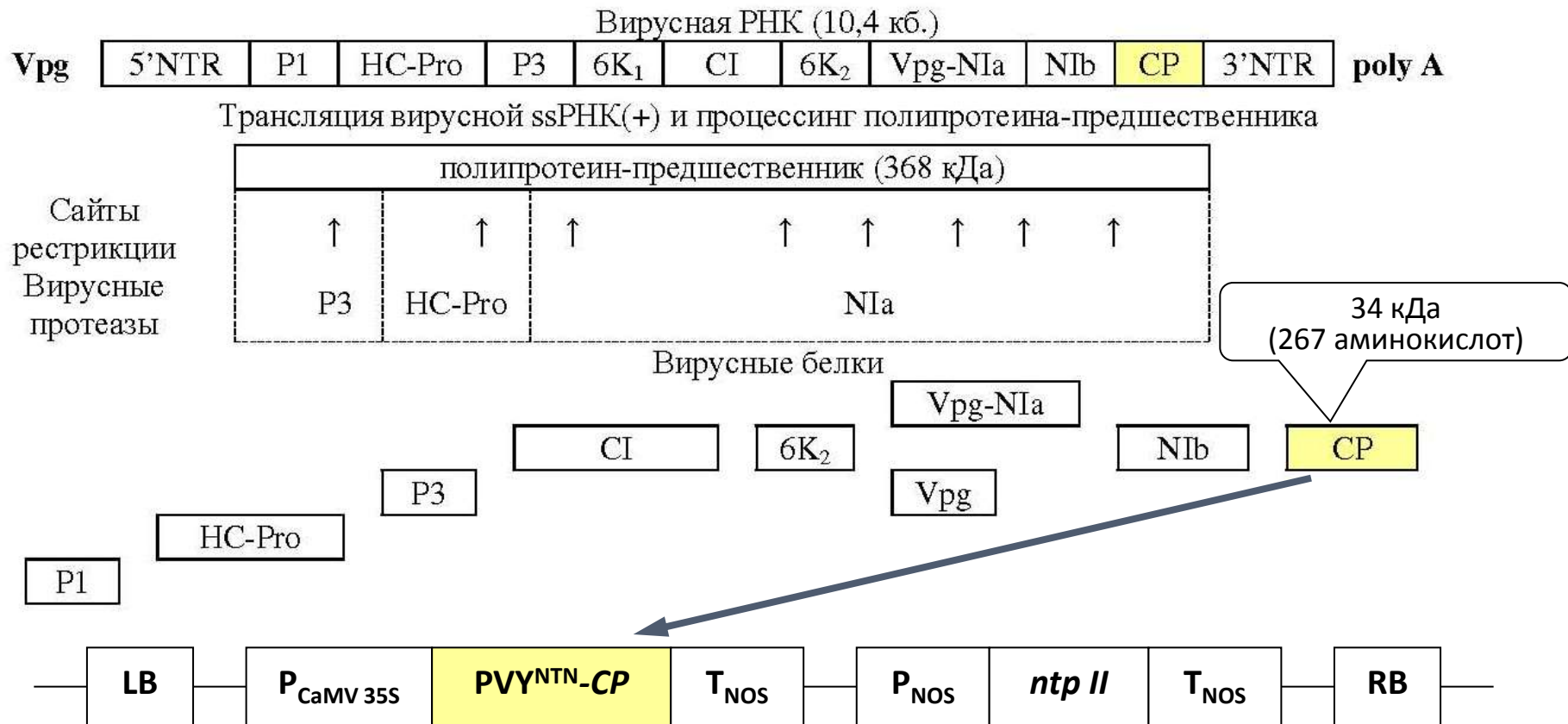


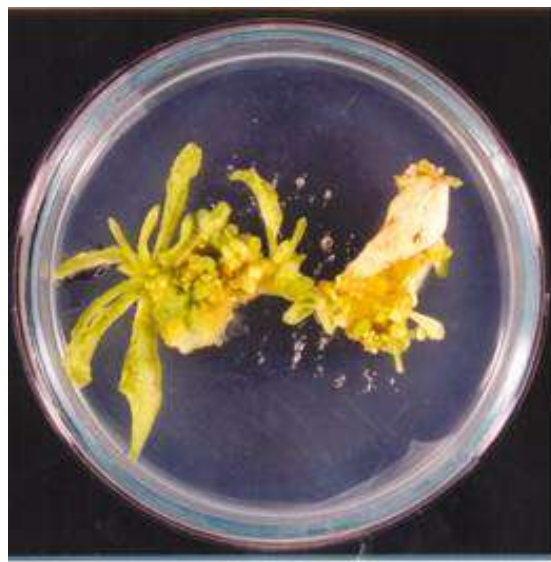
Схема Т-ДНК вектора для экспрессии *PVY^{NTN}-CP* гена в растениях. LB и RB – левая и правая границы Т-ДНК; P_{CaMV 35S} – 35S промотор вируса мозаики цветной капусты; *PVY^{NTN}-CP* – ген белка оболочки *YBK^{NTN}*, T_{NOS} – терминатор гена нопалинсинтазы *A. tumefaciens*, P_{NOS} – промотор гена нопалинсинтазы *A. tumefaciens*, *NTP II* – ген неомицин-фосфотрансферазы II, селективный маркерный ген для растений.

Трансформация и регенерация растений картофеля *S. tuberosum* L. и табака *N. tabacum* L.

Регенерация Km^r -микрорастений картофеля сорта Минденеш на питательной среде, содержащей селективный агент канамицин (100 мг/л).



Регенерация Km^r -побегов из трансформированных листовых срезов табака сорта SC через стадию каллуса на селективной питательной среде, содержащей Km (300 мг/л).



Укоренение Km^r -регенеранта табака (VD5) на питательной среде, содержащей Km (100 мг/л).



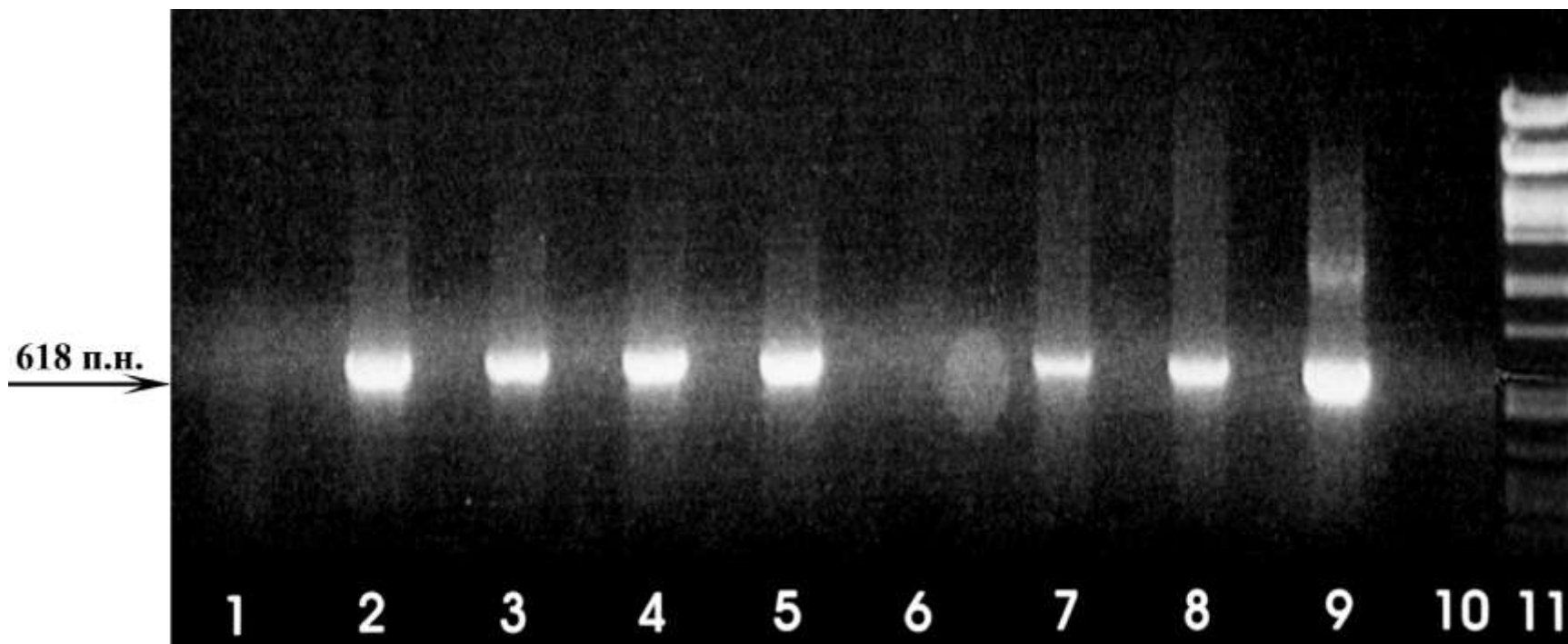


Тепличное трансгенное
растение табака (VD5),
несущее ген *PVY^{NTN}-CP*



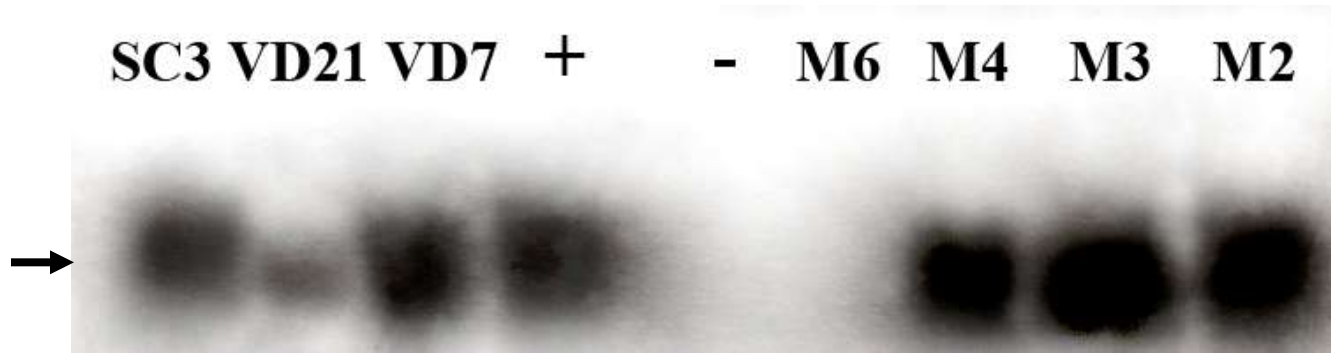
Тепличное трансгенное растение
картофеля (M11), несущее ген
PVY^{NTN}-CP

Результаты ПЦР анализа Km^r -регенерантов картофеля сорта Минденеш на наличие PVY^{NTN} -CP гена в трансформированных растениях



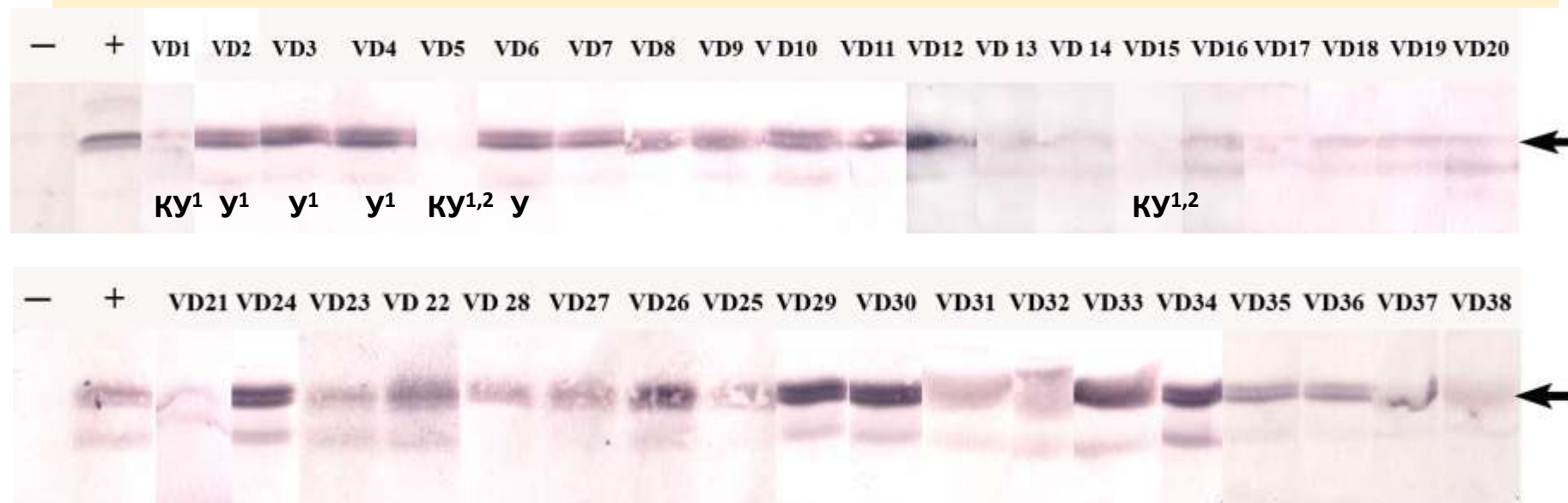
1 – отрицательный контроль – нетрансформированное растение сорта Минденеш; 2-8 – ДНК Km^r -регенерантов картофеля М2 М3, М4, М5, М6, М7, М8; 9 – положительный контроль – ДНК плазмиды rGAYHCP; 10 – отрицательный контроль – ПЦР в отсутствие ДНК-матрицы; 11 – маркер молекулярной массы – ДНК фага λ, обработанная рестриктазой *Pst*I.

Нозерн-блоттинг анализ экспрессии *PVY^{NTN}-CP* гена в трансгенных растениях табака и картофеля



Стрелкой показано положение РНК транскрипта, интродуцированного в трансгенные растения гена *PVY^{NTN}-CP*. + – положительный контроль – РНК нетрансформированного, свободного от вирусной инфекции растения табака сорта Вирджин Д с добавлением РНК, синтезированной ДНК-зависимой РНК полимеразой фага Т7 на матрице – линейной плазмиде, содержащей *PVY^{NTN}-CP* ген; – – отрицательный контроль – РНК нетрансформированного, свободного от вирусной инфекции растения табака сорта Вирджин Д; SC3, VD21, VD7, M4, M3, M2 – РНК трансгенных растений табака (SC3, VD21, VD7) и картофеля (M4, M3, M2); M6 – РНК Km^r-регенеранта картофеля M6, у которого *PVY^{NTN}-CP* ген не был выявлен с помощью ПЦР анализа.

Вестерн-блоттинг анализ экспрессии *PVY^{NTN}-CP* гена в трансгенных растениях табака, полученных из исходного сорта Вирджин Д



Стрелкой показано положение CP *YBK^{NTN}*. – – отрицательный контроль – экстракт белков нетрансгенного, свободного от вирусной инфекции растения табака сорта Вирджин Д; + – положительный контроль – экстракт белков нетрансгенного, *YBK^{NTN}* инфицированного растения табака сорта Вирджин Д; VD3-VD20 и VD21-VD38 – экстракты белков независимых линий трансгенных растений табака, несущих *PVY^{NTN}-CP* ген *YBK^{NTN}*. Степень устойчивости (В – восприимчивый, У – устойчивый, КУ – крайне устойчивый) независимых линий трансгенных растений табака к *YBK* при механической инокуляции в тепличных условиях (1) и инфицировании с помощью вирусных векторов в полевых условиях (2).

Распространение ГМ-растений в мире

- С **1996** года, когда началось выращивание ГМ-растений, площади, занятые ГМ-культурами выросли до **175 млн гектаров** в 2013 году (более **11 %** от всех мировых посевных площадей).
- Такие растения выращиваются в **27 странах**, особенно широко — в **США, Бразилии, Аргентине, Канаде, Индии, Китае**, при этом начиная с 2012 года производство ГМ-сортов развивающимися странами, превысило производство в промышленно развитых государствах. Из **18 миллионов фермерских хозяйств**, выращивающих ГМ-культуры, более **90 %** приходится на малые хозяйства в развивающихся странах.
- На 2013 год, в **36** странах, регулирующих использование ГМ-культур, было выдано **2,833** разрешений на использование таких культур, из них **1,321** — для употребления в пищу, и 918 — на корм скоту.
- Всего на рынок допущено **27 ГМ-культур (336 сортов)**, основными культурами являются: **soя, кукуруза, хлопок, канولا, картофель**.
- Наиболее популярные изменения генома относятся к **устойчивости к гербицидам и к борьбе с насекомыми** (в том числе оба изменения сразу).

Что выбрать?

Классическая
селекция

MAS

ГМ





Благодарю за внимание!

zenons@bk.ru