

Паспорт технологии
Методика генотипирования сортов и идентификации генов
хозяйственно-ценных признаков яблони с помощью ДНК-маркирования
СТО 00668034-168-2023

Показатель	Характеристика технологии
Назначение технологии	Технология предназначена для ДНК-паспортизации сортов яблони и одновременной идентификации селекционно-ценных аллелей генов, контролирурующих признаки качества плодов.
Описание технологии	Технология основана на использовании мультиплексного фрагментного анализа, позволяющего проводить при постановке двух реакций детекцию аллелей по шести (восемь) микросателлитным локусам. При этом в состав мультиплексных наборов входят микросателлитные ДНК-маркеры двух генов, контролирующих плотность мякоти плодов. Это позволяет наряду с ДНК-паспортизацией проводить детекцию аллелей генов селекционно-ценных признаков. Оптимальные сочетания праймерных пар с учетом их температуры отжига, а также диапазонов размеров амплифицированных фрагментов обеспечивают достоверную идентификацию целевых пиков на электрофореграмме и интерпретацию полученных результатов. В основе технологии лежит два разработанных мультиплексных набора микросателлитных ДНК-маркеров следующего состава: №1-MdPG1SSR, CH02c11, CH01f02, CH03a04; №2-Md-EXP7SSR, CH01h10, GD 147, CH01h01. Использование фрагментного анализа на генетическом анализаторе Нанофор 05 позволяет получать наиболее точные результаты в сравнении с другими методами детекции (гель-электрофорез в полиакриламидном и агарозном геле). Это дает возможность проводить высокоточную сортовую идентификацию и детекцию селекционно-ценных аллелей по маркерам MdPG1SSR и Md-EXP7SSR, которые сцеплены с генами, контролирующими плотность мякоти плодов яблони.
Основные показатели технологии	<ul style="list-style-type: none"> - для сокращения времени, необходимого на проведение анализа и снижения себестоимости SSR-маркеры объединены в мультиплексные наборы: №1-MdPG1SSR, CH02c11, CH01f02, CH03a04; №2-Md-EXP7SSR, CH01h10, GD 147, CH01h01. - каждый из мультиплексных наборов позволяет проводить детекцию по четырем микросателлитным маркерам одновременно. - оптимизированные концентрации компонентов реакционной смеси и условий реакции, позволяют получить достоверные, легко интерпретируемые результаты. Это обеспечивает идентификацию целевых продуктов амплификации при выполнении фрагментного анализа на автоматических генетических анализаторах ABIprism3130, Нанофор-05.

<p>Сведения об использованных при разработке технологии научно-технических заделах (собственных разработках) Получателя</p>	<p>Супрун И.И., Егоров Е.А., Насонов А.И., Лободина Е.В., Токмаков С.В., Степанов И.В. Маркер-опосредованный отбор в создании селекционных образцов и комплексных доноров яблони с устойчивостью к парше и повышенным потенциалом лежкоспособности плодов// Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2023. – Т. 184. № 3. – С. 135-145. https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-3-135-145</p> <p>Супрун И.И., Токмаков С.В., Аль-Накиб Е.А., Лободина Е.В. Идентификация аллелей генов Md-Exp7 и Md-Pg1 в селекционных формах яблони, устойчивых к парше// Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2022. – Т. 26. № 7. – С. 645-651. https://doi.org/10.18699/VJGB-22-79</p> <p>Супрун И.И., Степанов И.В., Лободина Е.В. Идентификация гена Md-Exp7, детерминирующего признаки качества плодов яблони у некоторых современных сортов яблони из коллекции генофонда СКФНЦСВВ// Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2019. – Т. 25. – С. 19-22. DOI 10.30679/2587-9847-2019-25-19-22</p> <p>Пикунова А.В., Седов Е.Н., Токмаков С.В., Супрун И.И. et al.Полиморфизм микросателлитных локусов разноплоидных генотипов яблони (<i>Malus domestica</i> borkh.)// Генетика. – 2018. – Т. 54. № 4. – С. 447-455. DOI: 10.7868/S0016675818040069</p> <p>Suprun I.I., Ushakova Ya.V., Tokmakov S.V., Durel Ch.E. et al. Genetic diversity study of modern russian apple (<i>Malus * domestica</i> borkh.) cultivars by the SSR loci analysis// Agricultural Biology. – 2015. – Т. 50. № 1. – С. 37-45. doi: 10.15389/agrobiology.2015.1.37rus</p>
<p>Сведения об эффективности и конкурентоспособности технологии</p>	<p>Технологический эффект предлагаемого метода, являющийся его основным конкурентным преимуществом, заключается в одновременном получении SSR-фингерпринта по восьми локусам, что дает высокий уровень сортовой специфичности, а также возможности выявления аллелей по двум генам, контролирующим плотность мякоти плодов. Таким образом, результаты получаемые с использованием технологии могут быть использованы одновременно как для сортовой идентификации, так и для решения селекционных задач. Возможность ускоренной сортовой идентификации с использованием данной технологии обеспечивает высокий уровень конкурентоспособности в сравнении с используемым в настоящее время подходом, основанным на сортовой апробации по комплексу признаков, которая возможна только для плодоносящих растений (2-3 года от высадки в сад для яблони). Применение технологии обеспечивает сокращение материальных и трудовых затрат на 30-40 %. Это позволяет идентифицировать сортовую принадлежность посадочного материала на этапе однолетнего саженца, что позволяет избежать финансовых потерь связанных</p>

	с закладкой сада саженцами с сортовыми примесями или же саженцами сорта, не соответствующего заявленному.
Сведения о результатах интеллектуальной деятельности, в том числе селекционных достижениях, использованных в технологии	<p>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) Способ включает экстракцию ДНК, ПЦР-анализ, фрагментный анализ на генетическом анализаторе. Для формирования универсального ДНК-паспорта используются 12 микросателлитных ДНК-маркеров, распределенных в четыре мультиплексных набора, а именно: CN03a04, CN01f03b и CN581493 в первом наборе, Hi16d02, CN04e03 и CN445290 во втором наборе, CN04C07, GD 147 и CN04a12 в третьем наборе, NzmsEB146613, CN04e05 и CN02C09 в четвертом наборе. Изобретение позволяет повысить скорость выполнения ДНК-маркерного анализа и снизить его себестоимость, получить ДНК-паспорт, который может быть использован для точной, безошибочной идентификации образцов. Точность идентификации размера фрагмента ПЦР-амплификации по используемым ДНК-маркерам будет составлять не менее 1 пары нуклеотидов</p> <p>Банк данных ДНК - отпечатков сортов яблони на основе результатов анализа полиморфизма микросателлитных локусов генома. Свидетельство №2015620372. Супрун И.И., Токмаков С.В., Ильницкая Е.Т., Степанов И.В База данных содержит информацию об аллельном полиморфизме микросателлитных локусов генома яблони у сортов яблони из коллекций генетических ресурсов Юга России. Информация получена на основе анализа локусов с использованием мультиплексного фрагментного анализа на автоматическом генетическом анализаторе ABI prism 3130. База данных включает информацию об аллелях 16 микросателлитных локусов для 128 сортов яблони. В перечень генотипов входят сорта яблони современной селекции, востребованные в садоводстве в агроклиматических условиях Северного Кавказа и Кубани, а также автохтонные сорта Юга России, являющиеся уникальным генофондом. Для всех изученных сортов получены ДНК-отпечатки с размером аллелей SSR локусов с точностью до 1 пары нуклеотидов. База предназначена для накопления, оперативного поиска и хранения информации об аллельных вариантах изученных микросателлитных локусов у сортов яблони. Ее использование дает возможность определять родительские пары сортов, позволяющие получить максимальное генетическое разнообразие в гибридном потомстве. Также данные могут быть использованы для: уточнения происхождения сортов, на основе данных об аллелях изученных локусов; сортовой идентификации; выявлении образцов-дублей в коллекциях генетических ресурсов. Информация базы данных является основой для анализа генетического разнообразия генофонда яблони Юга</p>

России.

База ДНК-фингерпринтов сортов яблони домашней по CDDP и SCoT маркерам Свидетельство №2022622681

Степанов И.В., Балапанов И.М., Супрун И.И.

База данных содержит CDDP и SCoT ДНК-профили (фингерпринты) 32 сортов яблони, распространенных в плодородческой практике Краснодарского края. База данных послужит основой для проведения ДНК-маркерного анализа и сопоставления ДНК-профилей известных сортов яблони с целью идентификации их происхождения.

Руководитель



Егоров Е.А.

