

НОМЕНКЛАТУРНЫЕ СТАНДАРТЫ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАСПОРТА СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ СЕЛЕКЦИИ ТАТАРСКОГО НИИСХ «КАЗАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАН»

Фомина Н.А.¹, Антонова О.Ю.¹, Чухина И.Г.¹, Гимаева Е.А.², Стасhevски З.², Гавриленко Т.А.^{1*}

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44; *✉ tatjana9972@yandex.ru

²Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук» (ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН), 420059 Россия, г. Казань, Оренбургский тракт, 48

Выведение сортов картофеля, адаптированных к климатическим условиям Среднего Поволжья и устойчивых к различным вредным организмам, является актуальной задачей для селекционеров Республики Татарстан. В данной статье на примере сортов картофеля, выведенных в Татарском НИИ сельского хозяйства «Казанский научный центр РАН», представлены результаты реализации и развития методических подходов к созданию номенклатурных стандартов и их молекулярно-генетической паспортизации, которые разрабатываются во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). По инициативе сотрудников ВИР совместно с авторами сортов – Е.А. Гимаевой и З. Стасhevски – проведены работы по сбору растительного материала и оформлению номенклатурных стандартов сортов картофеля, выведенных в Татарстане. При оформлении номенклатурных стандартов руководствовались положениями Международного кодекса номенклатуры культурных растений. Зарегистрированные в Базе Данных «Гербарий ВИР» номенклатурные стандарты четырех сортов картофеля ‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’ переданы в типовую фонд гербария ВИР. Оформлены ваучерные образцы сорта ‘Танго’ и предсорта ‘Сальса’, находящегося в Госсортоиспытании. С использованием ДНК, выделенной из растительного материала, переданного авторами сортов в гербарную коллекцию ВИР, разработаны генетические паспорта этих сортов. В генетические паспорта включена информация о полиморфизме восьми хромосомспецифичных микросателлитов, данные о наличии/отсутствии диагностических фрагментов 15 маркеров 11 R-генов, вовлеченных в контроль устойчивости к различным вредным организмам, и информация о типах цитоплазм этих сортов. Сопоставление данных генетических паспортов растений номенклатурных стандартов и гербарных ваучеров с результатами генотипирования 22 образцов татарстанских сортов, полученных из разных источников (из выборок эколого-географических испытаний 2016–2019 годов, проведенных по Комплексному Плану Научных Исследований подпрограммы «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации», а также из *in vitro* коллекции ВИР), позволило провести оценку подлинности и однородности изученного материала.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., гербарий ВИР, WIR, морфологические признаки, ДНК маркеры, SSR анализ, генотипирование, молекулярный скрининг.

Прозрачность финансовой деятельности/Financial transparency

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. / The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы/The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация/Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-3-04>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer

Все авторы одобрили рукопись/All authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует/No conflict of interest

NOMENCLATURAL STANDARDS AND GENETIC PASSPORTS OF POTATO CULTIVARS BRED BY THE TATAR RESEARCH INSTITUTE OF AGRICULTURE «KAZAN SCIENTIFIC CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES»

Fomina N.A.¹, Antonova O.Yu.¹, Chukhina I.G.¹, Gimaeva E.A.², Stashevski Z.², Gavrilenko T.A.^{1*}

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia; *✉ tatjana9972@yandex.ru

²Tatar Research Institute of Agriculture – Subdivision of the Federal Research Center «Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences» (FRC KazSC of RAS), 48, Orenburgskiy tract, Kazan 420059, Russia

Breeding of potato cultivars adapted to the climatic conditions of the Middle Volga region and resistant to various harmful organisms has always been an urgent task for breeders of the Tatarstan Republic. In the present paper, the potato cultivars bred at the Tatar Research Institute of Agriculture – Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, were taken as an example for demonstrating the results of application and elaboration of methodological approaches that are currently developed at the N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR) for the preparing of nomenclatural standards and their genotyping. At the initiative of the VIR researchers in collaboration with the authors of potato cultivars E.A. Gimaeva and Z. Stashevski plant material was collected and nomenclatural standards for potato cultivars bred at the Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences were prepared. Four nomenclatural standards for Tatarstan potato cultivars (‘Zumba’, ‘Kortni’, ‘Reggi’, ‘Samba’) were prepared in accordance with the provisions of the International Code of Nomenclature For Cultivated Plants, registered in the VIR Herbarium Database, and transferred to the VIR herbarium type collection. Besides, voucher specimens of cv. ‘Tango’ and breeding clone ‘Sal’sa’, which is undergoing the State Variety Test at present, were produced. Genetic passports of Tatarstan varieties (‘Zumba’, ‘Kortni’, ‘Reggi’, ‘Samba’) and one breeding clone (‘Sal’sa’)* were developed using DNA samples from plant material transferred by the authors of the cultivars to the VIR herbarium. The genetic passports include information of the polymorphism of eight chromosome-specific microsatellites, data on the presence/absence of the diagnostic fragments of 15 markers of the 11 R-genes conferring resistance to various harmful organisms and the information about cytoplasm types. A comparison of the data from genetic passports developed using DNA samples from nomenclatural standard specimens with the results of genotyping of 22 samples of Tatarstan cultivars obtained from different sources (e.g., samples undergoing ecogeographic tests within the framework of the Comprehensive Research Plan of the subprogram “Development of potato breeding and seed production in the Russian Federation”; as well as accessions from the VIR *in vitro* collection) made it possible to assess the authenticity and uniformity of the studied plant material.

Key words: *Solanum tuberosum* L., VIR herbarium, WIR, morphological characters, DNA markers, SSR analysis, genotyping, molecular screening.

Для цитирования: Фомина Н.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Гимаева Е.А., Стасhevски З., Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Татарского НИИСХ «Казанский научный центр РАН». *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(3):55–67. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-3-04

For citation: Fomina N.A., Antonova O.Yu., Chukhina I.G., Gimaeva E.A., Stashevski Z., Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards and genetic passports of potato cultivars bred by the Tatar Research Institute of Agriculture «Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences». *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(3):55–67. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-3-04

Fomina N.A. <https://orcid.org/0000-0002-4401-4995>

Antonova O.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Chukhina I.G. <https://orcid.org/0000-0003-3587-6064>

Gimaeva E.A. <https://orcid.org/0000-0003-2574-4009>

Stashevski Z. <https://orcid.org/0000-0001-9844-0538>

Gavrilenko T.A. <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

УДК 635.21:631.523+631.526.32

Поступила в редакцию: 21.10.2020

Принята к публикации: 10.12.2020

Введение

Начало исследований по селекции различных культур в Среднем Поволжье связано с историей Казанской сельскохозяйственной опытной станции, основанной еще в 1920 году, переименованной в 1969 году в Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, который как обособленное структурное подразделение вошел в 2017 году в ФИЦ «Казанский научный центр РАН» (ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН). Еще в середине прошлого века в Татарстане под руководством профессора А.Ф. Демидовича проводились исследования в области семеноводства и селекции картофеля, в результате был выведен высокоурожайный сорт картофеля ‘Казанский-520’, устойчивый к засухе, фитофторозу, крахмалистый, хорошо лежкий.

Снижение урожайности сортов картофеля вызывают периодические засухи, характерные для Среднего Поволжья, а также фузариоз, ризоктониоз, различные виды парши и вирусные болезни (Zamalieva, 2013). Выведение сортов картофеля, адаптированных к климатическим условиям Среднего Поволжья и устойчивых к различным вредным организмам, было и является актуальной задачей для селекционеров республики Татарстан (I'in, Blagoveshchenskij, 1970; Zamalieva, 2013; Stashevski et al., 2013, 2019). Селекционные исследования по выведению сортов картофеля, адаптированных к условиям среднего Поволжья, активизировались в 2000 годах. За последнее десятилетие в ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН создано пять сортов картофеля, четыре из которых включены в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию (далее – Госреестр).

В ВИРе разрабатывается новая стратегия регистрации в генбанке современных отечественных сортов вегетативно размножаемых культур, основанная на использовании комплекса ботанических, молекулярно-генетических и биотехнологических методов, направленных на создание номенклатурного стандарта сорта в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры культурных растений (МКНКР) (Brickell et al., 2016); разработку генетического паспорта с использованием ДНК, выделенной из растительного материала, переданного автором сорта в гербарную коллекцию ВИР; и сохранение генотипированного образца сорта в *in vitro* и в криоколлекциях (Gavrilenko, Chukhina, см. в этом же выпуске).

Такой методический подход был реализован на примере сортов картофеля селекции ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН. По инициативе сотрудников ВИР совместно с авторами сортов Е.А. Гимаевой и З. Шашевски проведены совместные работы по сбору растительного материала и оформлению номенклатурных стандартов сортов картофеля, выведенных в Республике Татарстан. Оформление номенклатурных стандартов выпол-

нено в соответствии с положениями МКНКР (Brickell et al., 2016). В настоящей статье публикуются номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов: ‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’. Для сорта ‘Танго’ и предсорта ‘Сальса’, находящегося в Госсортоиспытании, были оформлены гербарные ваучеры. В генетический паспорт номенклатурных стандартов сортов включали только те данные, которые были получены с использованием ДНК, выделенной из растительного материала, собранного и переданного авторами сортов в Гербарий ВИР со всеми официальными документами. Данные генетических паспортов использовали в качестве контролей для проверки подлинности и однородности образцов татарстанских сортов, полученных из различных источников, главным образом, из разных выборок эколого-географических испытаний, которые в 2016-2019 годах проводились в ВИРе и во ВНИИ Картофельного Хозяйства им. А.Г. Лорха (ВНИИКХ) по Комплексному Плану Научных Исследований подпрограммы «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации» (далее – КПНИ_ЭГИ).

Материалы и методы

Растительный материал. В 2019 году в гербарную коллекцию ВИР из ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН поступил растительный материал четырех селекционных сортов картофеля (‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’), созданных в этом институте, а также предсорта ‘Сальса’, находящегося в Госсортоиспытании. Сорта ‘Кортни’ и ‘Самба’ – результат совместной селекции с ВНИИ картофельного хозяйства (ВНИИКХ) им. А.Г. Лорха. Сбор растительного материала, его передача в Гербарий ВИР и подготовка к оформлению номенклатурных стандартов сортов картофеля были проведены согласно разработанному в ВИРе протоколу (Gavrilenko, Chukhina, см. в этом же выпуске).

Один из авторов сортов – Е.А. Гимаева – передала 9 июля 2019 года в гербарную коллекцию ВИР побеги с соцветиями, собранные с растений, росших на опытном поле ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН; позднее – 18 ноября 2019 года – соавтор сортов З. Шашевски собрал и передал в ВИР клубни этих сортов. Растительный материал был передан авторами сортов вместе с официальными документами, такими как «Авторское свидетельство», «Анкета сорта – Форма N 378», Описания селекционных достижений, Патенты, а также Акты передачи материала (приложение 1/ Supplement 1).

Ранее, в 2018 году, для оформления ваучерного образца в гербарную коллекцию ВИР были переданы побег и клубень, собранные с одного и того же растения образца сорта ‘Танго’, выращенного во ВНИИКХ им. А.Г. Лорха, из выборки образцов КПНИ_ЭГИ-2018.

Небольшое количество растительного материала, переданного в гербарную коллекцию ВИР для оформ-

1 Supplements 1, 2, 3 are available in the online version of the paper: <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-3-04>

ления номенклатурных стандартов и ваучеров, было использовано для выделения ДНК и разработки генетических паспортов сортов, выведенных в ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН.

Кроме того, в молекулярно-генетические исследования были включены дополнительные 22 образца татарстанских сортов, полученные из трех различных источников, с целью проверки их идентичности номенклатурным стандартам и гербарным ваучерам:

- образцы сортов: ‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’, ‘Танго’ из выборки КПНИ ЭГИ-2016 и выборки КПНИ ЭГИ-2017, выращенные на опытном участке Научно-Производственной Базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР»;

- образцы сортов ‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’, ‘Танго’ из выборки КПНИ ЭГИ-2018 и сорт ‘Зумба’ – из выборки КПНИ ЭГИ-2019, выращенные на опытном поле ВНИИКХ им. А.Г. Лорха;

- образцы пробирочных растений сортов ‘Зумба’, ‘Сальса’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’, ‘Танго’ из *in vitro* коллекции ВИР.

Оформление номенклатурных стандартов. Перед гербаризацией проводили фотографирование морфологических признаков переданного растительного материала и их сопоставление с признаками, указанными в «Анкете сорта» и в «Описании селекционного достижения» (приложение 1/ Supplement 1). Высушивание переданного растительного материала и оформление гербарного листа проводили в соответствии с методическими указаниями «Гербаризация культурных растений» (Belozor, 1989). У оставшихся после гербаризации клубней фотографировали появившиеся через три месяца световые ростки, а также оценивали соответствие их признаков указанным в «Анкете сорта» и в «Описании селекционного достижения» (см. приложение 1/ Supplement 1). Фотографии впоследствии размещали на гербарном листе.

На гербарной этикетке, помимо названия сорта, информации о происхождении и месте сбора растительного материала, Ф.И.О. коллектора и специалиста, идентифицировавшего сорт, указаны регистрационный номер образца в Гербарии ВИР и интродукционный номер (и-) образца.

Выделение ДНК. Выделение ДНК проводили методом СТАВ-экстракции, модифицированным в отделе биотехнологии ВИР (Gavrilenko et al., 2013), с небольшими изменениями (Antonova et al., см. в следующем выпуске). Каждый образец был представлен разным числом ДНК-препаратов, полученных из тканей листьев, кожуры клубней и/или световых ростков; всего в исследовании были использованы 42 препарата ДНК.

В качестве дополнительного контроля, были использованы семь препаратов ДНК, полученные из «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН» от д.б.н. Е.З. Кочиевой, выделенные из образцов выборок

КПНИ ЭГИ-2018 (‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’, ‘Танго’) и КПНИ ЭГИ-2019 (‘Зумба’, ‘Сальса’), росших на опытном поле ВНИИКХ им. А.Г. Лорха.

Генотипирование сортов с использованием SSR маркеров. Для проведения SSR-генотипирования использованы восемь пар праймеров, включая: STM2005 (Milbourne et al., 1998), StI046 (Feingold et al., 2005) и шесть (STG0016, StI004, StI032, StI033, STM0037, STM5114) из набора PGI (Potato Genetic Identification, Ghislain et al., 2009), разработанные для амплификации хромосомспецифичных микросателлитных локусов, отличающихся высоким уровнем полиморфизма. Этот набор из восьми пар SSR-праймеров успешно применен для молекулярно-генетической идентификации 77 российских сортов картофеля (Antonova et al., 2020, см. в следующем выпуске). SSR анализ проводили с использованием ПЦР с флуоресцентно мечеными праймерами. ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 14 мкл, содержащей: 40 нг ДНК; однократный реакционный буфер Диалат (состав которого определен фирмой-изготовителем); 2,5 mM MgCl₂, 0,5 mM каждого из дезоксирибонуклеотидов; 500 нМ каждого из праймеров; 1 единицу Taq-полимеразы (Диалат) и 100 нМ прямого праймера M13, маркированного флуоресцентным красителем IRD700 или IRD800. Условия ПЦР соответствовали рекомендациям разработчиков праймеров, в ряде случаев условия ПЦР были оптимизированы нами путем введения функции TOUCHDOWN (Antonova et al., 2020, см. в следующем выпуске). Разделение продуктов ПЦР выполняли в 8 % денатурирующем полиакриламидном геле на приборе LI-COR 4300S DNA Analyzer с лазерной детекцией фрагментов с использованием методики, предложенной фирмой-изготовителем. Обработку изображений проводили при помощи пакета программ Saga 2. В качестве маркеров молекулярного веса использовали флуоресцентномеченные маркеры фирмы Li-Cor «50-350 bp».

Молекулярный скрининг сортов с использованием SCAR и CAPS маркеров. В генетический паспорт включена информация о наличии или отсутствии диагностических фрагментов 15 маркеров 11 R-генов устойчивости к болезням и вредителям. В молекулярном скрининге использованы маркеры:

- трех генов устойчивости к вирусу PVY: *Ry*_{sto} (YES3-3A, YES3-3B (Song, Schwarzfischer, 2008)), *Ry*_{f_{sto}} (GP122-406/EcoRV (Flis et al., 2005; Valkonen et al., 2008)), *Ry*_{adg} (RYSC3 гена (Kasai et al., 2000));
- гена *Rx1* устойчивости к вирусу PVX (1Rx1, 5Rx1 (Ahmadvand et al., 2013));
- генов устойчивости к *Phytophthora infestans*: *R1* (R1 (Ballvora et al., 2002)), *R3a* (RT-R3a (Huang et al., 2005)), *Rpi-stol/Rpi-blb1* (BLB1F/R (Wang et al., 2008); *Rpi-stol* (Zhu et al., 2012));
- двух генов устойчивости к *Globodera rostochiensis*

(патотип Ro 1): *H1* (57R (Schultz et al., 2012), N146 и N195 (Takeuchi et al., 2009)) и *Gro1-4* (*Gro1-4-1* (Asano et al., 2012));

- гена *Gpa2* устойчивости к *Globodera pallida* (патотипы Pa2, Pa3) (*Gpa2-2* (Asano et al., 2012)).

Типы цитоплазм сортов определяли с помощью набора праймеров, предложенного К. Хосака, Р. Санетомо (Hosaka, Sanetomo, 2012).

При осуществлении ПЦР с маркерами *R*-генов реакционная смесь объемом 20 мкл содержала: 40 нг ДНК; однократный реакционный буфер Dialat (состав которого определен фирмой-изготовителем); 2,5 mM MgCl₂; 0,5 mM каждого из дезоксирибонуклеотидов; 500 нМ каждого из праймеров и 1 единицу Taq-полимеразы (Диалат).

Программы для проведения ПЦР с большинством из перечисленных выше маркеров соответствовали условиям, рекомендованным разработчиками соответствующих праймеров. Для четырех пар праймеров программы ПЦР были модифицированы нами путем введения функции TOUCHDOWN:

- для YES3-3A и для N195: 94°C 3 минуты 30 секунд, 5 циклов [94°C 45 секунд, 60°C 1 минута, с понижением температуры отжига на 1°C за цикл, 72°C 1 минута], 35 циклов [94°C 40 секунд, 55°C 40 сек., 72°C 1 минута] и в заключении 72°C 10 минут;

- для 57R и для *Gro1-4-1*: 94°C 3 минут 30 секунд, 5 циклов [94°C 45 секунд, 65°C 1 минута, с понижением температуры отжига на 1°C за цикл, 72°C 1 минута], 35 циклов [94°C 45 секунд, 60°C 45 секунд, 72°C 45 секунд] и в заключении 72°C 10 минут.

В случае CAPS маркера GP122-406/EcoRV рестриктицию проводили с использованием фермента фирмы СибЭнзим по протоколу фирмы-изготовителя. Реакционная смесь объемом 30 мкл содержала: 10 мкл ПЦР-смеси, 1x реакционный буфер W (10 mM трис-HCl, pH 8,5; 10 mM MgCl₂; 100 mM NaCl, 1 mM ДТТ), 100 мкг/мл BSA (бычий сывороточный альбумин) и 1 ед. EcoRV. Обработку проводили при 37°C в течение ночи.

В качестве положительных контролей при проведении молекулярного скрининга использовали сорта 'Сударыня' для маркеров YES3-3A, YES3-3B, GP122-406/EcoRV, Rpi-sto1, BLB1F/R, Gro1-4-1, 57R, N146, N195 (Gavrilenko et al., 2018); 'Снегирь' и 'Лига' для маркеров RT-R3a, R1 (Gavrilenko et al., 2018); 'Эффект' для RYSC3 (Gavrilenko et al., 2009); 'Sante' – для 1Rx1 и 5Rx1 (Ahmadvand et al., 2013), и 'Даная' – для *Gpa2-2* (Gavrilenko et al., 2018).

Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле в буфере TBE с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете.

Оформление генетических паспортов. Генетические паспорта сортов 'Зумба', 'Кортни', 'Регги', 'Самба' разрабатывались на основании результатов SSR анализа и молекулярного скрининга, выполненных с исполь-

зованием ДНК, выделенной из номенклатурных стандартов. Генетический паспорт предсорта 'Сальса' составлен по данным генотипирования, проведенного с использованием ДНК, выделенной из растительного материала, переданного авторами этого предсорта в Гербарий ВИР.

Для 'Танго' публикуется маркерный профиль ваучерного образца сорта, поскольку в этом случае была использована ДНК, выделенная из образца, переданного в гербарий из ВНИИКХ им. А.Г. Лорха.

Генетические паспорта также содержат информацию о годе внесения сорта в Госреестр, коде сорта в Госреестре, номере патента, авторах сорта, методе выведения сорта. При заполнении этих данных использована информация из Госреестра, Авторских свидетельств и Патентов на селекционное достижение (см. приложение 1/ Supplement 1). Информация о предсорт 'Сальса' получена от авторов и зафиксирована в Акте передачи растительного материала. Информация о методе выведения сорта указана по данным «Анкеты сорта».

Результаты и обсуждение

Создание номенклатурных стандартов сортов картофеля

Растительный материал для оформления номенклатурных стандартов был собран с растений авторами сортов на опытном поле ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН и передан в гербарную коллекцию ВИР в 2019 году, в июле – побеги и в ноябре – клубни четырех сортов: 'Зумба', 'Кортни', 'Регги', 'Самба' и предсорта 'Сальса'. Годом ранее, для оформления ваучерного образца в гербарную коллекцию ВИР были переданы побег и клубень, собранные с одного и того же растения сорта 'Танго', выращенного во ВНИИКХ им. А.Г. Лорха (образец из выборки КПНИ_ЭГИ-2018).

Сразу после поступления растительного материала в Гербарий ВИР, проведено фотографирование и описание морфологических признаков переданных побегов с соцветиями и позднее – клубней. Перед гербаризацией материала небольшое количество растительной ткани отбирали для выделения ДНК.

В результате анализа морфологических признаков переданного растительного материала было подтверждено их соответствие характеристикам, указанным в официальных документах каждого сорта – в «Анжете сорта» и в «Описании селекционного достижения».

В феврале 2020 года на клубнях появились световые ростки, признаки которых важны для идентификации сорта; световые ростки также фотографировали.

В мае 2020 года проросшие клубни были высажены на опытном поле НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (г. Пушкин, Санкт-Петербург) для получения первой клубневой репродукции и документации дополнительных морфологических признаков. В 2020 году у этих растений были собраны, высушены и поме-

щены на гербарные листы цветки. Фотографии соцветий, цветков, клубней и световых ростков сортов были размещены на гербарных листах (см. табл. 1-4).

Оформленные номенклатурные стандарты четырех сортов картофеля ('Зумба', 'Кортни', 'Регги', 'Самба') были зарегистрированы в Базе Данных «Гербарий ВИР» и переданы на хранение в типовой фонд гербария ВИР. Также были оформлены и зарегистрированы ваучерные гербарные образцы предсорта 'Сальса' и сорта 'Танго'.

Номенклатурные стандарты / Nomenclatural standards

Solanum tuberosum L., сорт 'Зумба' ('Zumba')*

Nomenclatural standard designated here: «Происхождение: ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». Репродукция: опытное поле Татарского НИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ. Собр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. Опр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. и – 633211; **WIR-53981**» (см. табл. 1).

Примечание. На гербарном листе номенклатурного стандарта представлены фото соцветия сделанное при передаче в гербарий в июле 2019 г.; фото клубня, переданного авторами в ноябре 2019 г., сделанное в ВИР в декабре 2019 г.; фото светового ростка – в феврале 2020 г.

Solanum tuberosum L., сорт 'Кортни' ('Kortni')

Nomenclatural standard designated here: «Происхождение: ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ФГБНУ «ВНИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха». Репродукция: опытное поле Татарского НИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ. Собр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. Опр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. и – 633212; **WIR-53982**» (см. табл. 2).

Примечание. На гербарном листе номенклатурного стандарта представлены фото соцветия сделанное в июле 2019 г.; фото клубня, переданного авторами в ноябре 2019 г., сделанное в ВИР в декабре 2019 г.

Solanum tuberosum L., сорт 'Регги' ('Reggi')

Nomenclatural standard designated here: «Происхождение: ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». Репродукция: опытное поле Татарского НИИСХ – ОСП

ФИЦ КазНЦ. Собр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. Опр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. и – 633213; **WIR-53983**» (см. табл. 3).

Примечание. На гербарном листе номенклатурного стандарта представлены фото соцветия сделанное в июле 2019 г.; фото клубня, переданного авторами в ноябре 2019 г., сделанное в ВИР в декабре 2019 г.; фото светового ростка – в феврале 2020 г.; конверт со вложенным в него высушенным в июле 2020 г. цветком и его фото.

Solanum tuberosum L., сорт 'Самба' ('Samba')

Nomenclatural standard designated here: «Происхождение: ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр российской академии наук», ФГБНУ «ВНИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха». Репродукция: опытное поле Татарского НИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ. Собр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. Опр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. и – 633214; **WIR-53984**» (см. табл. 4).

Примечание. На гербарном листе номенклатурного стандарта представлены фото соцветия сделанное в июле 2019 г.; фото клубня, переданного авторами в ноябре 2019 г., сделанное в ВИР в декабре 2019 г.; фото светового ростка – в феврале 2020 г.; конверт, с вложенным в него высушенным в июле 2020 г. цветком.

Ваучерные образцы/Voucher specimens

Solanum tuberosum L., селекционный клон 'Сальса' ('Sal'sa')

Voucher specimen designated here: «Происхождение: Татарский НИИСХ – ОСП ФИЦ Казанский НЦ. Репродукция: опытное поле Татарского НИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ. Собр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. Опр.: побег 09.07.2019 Гимаева Е.А., клубень 18.11.2019 Сташевски З. и – 633215; **WIR-53985**».

Solanum tuberosum L., сорт 'Танго' ('Tango')

Voucher specimen designated here: «Происхождение: Татарский НИИСХ – ОСП ФИЦ Казанский НЦ. Репродукция: Московская обл., п. Красково, опытное поле ВНИИКХ (ЭБ «Коренево»). Собр.: побег 10.07.2018 Мелешин А.А., клубень 20.08.2018 Мелешин А.А., Опр.: побег 10.07.2018 Мелешин А.А., клубень 20.08.2018 Мелешин А.А. **WIR-54095**».

*Примечание. Транслитерация названий сортов здесь и далее дана в соответствии с рекомендацией 33А МКНKP (Brickell et al., 2016).

*Note. Transliteration of cultivar names hereinafter is given in accordance with ICNCR recommendation 33A (Brickell et al., 2016).

**Таблица 1. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Зумба' (WIR - 53981)
Table 1. Nomenclatural standard and genetic passport of potato cultivar 'Zumba' (WIR - 53981)**

Номенклатурный стандарт		Генетический паспорт / Genetic passport	
		ФГБУН 'Федеральный исследовательский центр 'Казанский научный центр Российской академии наук'	
		2020	
		8262424	
		10972	
		Гимаева Е.А., Вологин С.Г., Гизатулина А.Т., Замалиева Ф.Ф., Кузьмина О.А., Назмиева Р.Р., Салихова З.З., Сафиуллина Г.Ф., Сташевски З.	
		Контролируемое скрещивание Удача × 21-98	
		Размер (п.н.):	
		123; 132; 135	
		94; 100	
		109; 121; 124	
		113; 131; 134	
		191; 200; 203; 206	
		72; 78; 80	
		166	
		280; 286; 295	
</			

Таблица 2. Номенклатурный стандарт и генетический паспорт сорта картофеля 'Кортни' (WIR - 53982)
Table 2. Nomenclatural standard and genetic passport of potato cultivar 'Kortni' (WIR - 53982)

Номенклатурный стандарт		Генетический паспорт / Genetic passport																																																																																					
		ФГБУН 'Федеральный исследовательский центр 'Казанский научный центр Российской академии наук', ФГБНУ 'ВНИИ картофелевого хозяйства им. А.Г. Лорха'																																																																																					
Год внесения в Госреестр Код сорта в Госреестре № патента		2016 8653880 8184																																																																																					
Авторы:		Склярова Н.П., Сташевски З., Замалиева Ф.Ф., Гимаева Е.А., Вологин С.Г., Салихова З.З., Гизатуллина А.Г., Назмиева Р.Р., Сафиуллина Г.Ф.																																																																																					
Метод выведения – сорт получен путем:		Контролируемое скрещивание 91.3.29 × Аусония																																																																																					
SSR локус:		Размер (п.н.):																																																																																					
STG0016		123; 132																																																																																					
SH004		76; 79; 100																																																																																					
SH032		109; 121; 124																																																																																					
SH033		125; 131; 134																																																																																					
SH046		191; 194; 200																																																																																					
STM0037		74; 78; 88																																																																																					
STM2005		154; 166																																																																																					
STM5114		286; 295; 304																																																																																					
Вредный организм:		Маркеры R-генов устойчивости к вредным организмам:																																																																																					
Маркер еСТЬ (+) / нет (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3 406/E ^{co} R ^V GP122- YES3-3B YES3-3A (0).	R ^Y _{st} ^o R ^Y -f st _o R ^Y SC3

Генотипирование сортов с использованием ядерных SSR маркеров

Данные об аллельном составе восьми хромосомспецифичных микросателлитных локусов у четырех номенклатурных стандартов сортов: ‘Зумба’, ‘Кортни’, ‘Регги’, ‘Самба’ и у предсорта ‘Сальса’ включены в их генетические паспорта (см. табл. 1-4; приложение 2/ Supplement 2). SSR-профиль образца сорта ‘Танго’ приведен в приложении 3 (Supplement 3).

В дальнейшем, SSR-профили номенклатурных стандартов и гербарных ваучеров использовали в качестве контролей для оценки подлинности и генетической однородности образцов одноименных сортов, полученных из разных источников – из выборок КПНИ_ЭГИ и образцов из *in vitro* коллекции ВИР. Так, при помощи тех же самых восьми SSR пар праймеров было проведено генотипирование 22 образцов татарстанских сортов, переданных в ВИР из различных источников (см. раздел Материал и методы). Сопоставление всех полученных данных показало, что SSR-профили образцов одноименных сортов совпали между собой и совпали с аллельным составом проанализированных SSR локусов соответствующих номенклатурных стандартов и гербарных ваучеров (рис. 1).

Молекулярный скрининг сортов с использованием SCAR и CAPS маркеров

Данные об аллельном составе 8 SSR локусов, размещенные в генетических паспортах, были дополнены результатами молекулярного скрининга, выполненного с использованием тех же самых ДНК-препаратов. По результатам скрининга, проведенного с использованием 15 маркеров 11 генов, контролирующих устойчивость к различным вредным организмам, у изученных сортов были выявлены диагностические фрагменты семи маркеров пяти *R*-генов:

- маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}* устойчивости к вирусу PVY выявлен только у сорта ‘Регги’ (см. табл. 3),
- маркеры R1 и RT-R3a соответственно двух генов *R1* и *R3a* расоспецифичной устойчивости к возбудителю фитофтороза выявлены у нескольких сортов: у сорта ‘Танго’ детектированы оба маркера этих генов (приложение 3/ Supplement 3) и у трех сортов ‘Зумба’, ‘Регги’, ‘Сальса’ выявлен только маркер RT-R3a гена *R3a* (см. табл. 1-2, приложение 2/ Supplement 2);
- маркеры генов устойчивости к золотистой картофельной нематоды (ЗКН) (патотип Ro1) выявлены у двух сортов:

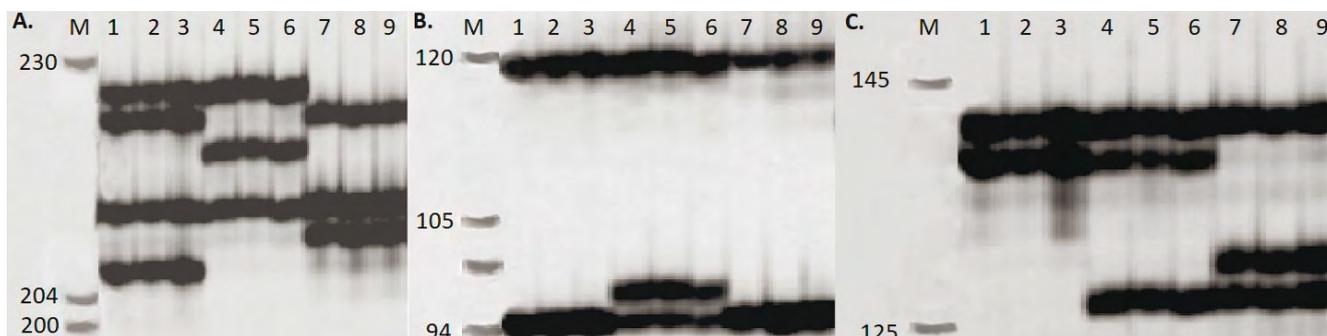


Рис. 1. Микросателлитные профили номенклатурных стандартов сортов картофеля, выведенных в Татарстане, и образцов тех же сортов, полученных из различных источников

A – SSR локус StI046, B – SSR локус StI004, C – SSR локус StI032.

M – маркер молекулярного веса; 1, 2 – номенклатурный стандарт сорта ‘Регги’, ДНК выделена, соответственно, из тканей побега и из кожуры клубня, переданных авторами сорта в гербарий ВИР; 3 – образец ‘Регги’ из выборки КПНИ_ЭГИ-2018; 4, 5 – номенклатурный стандарт сорта ‘Самба’, ДНК выделена, соответственно, из тканей побега и из кожуры клубня, переданных авторами сорта в гербарий ВИР; 6 – образец сорта ‘Самба’ из выборки КПНИ_ЭГИ-2018; 7 – образец сорта ‘Танго’ из выборки КПНИ_ЭГИ-2016; 8, 9 – ваучерный образец сорта ‘Танго’, ДНК выделена, соответственно, из тканей побега и из кожуры клубня. Наблюдаемый размер фрагментов на 19 п.н. больше реального за счет включенной в них последовательности прямого праймера M13.

Fig. 1. Microsatellite profiles in nomenclature standards of the Tatarstan potato cultivars and samples of the same cultivars obtained from different sources

A – SSR locus StI046, B – SSR locus StI004, C – SSR locus StI032. M – molecular weight marker; 1, 2 – nomenclature standard of cv. ‘Reggi’, DNA was isolated, respectively, from the stem and tuber skin which were submitted by the cultivar authors to the VIR herbarium; 3 – cv. ‘Reggi’ sample from the subset of CRP_EGT-2018; 4, 5 – nomenclature standard of cv. ‘Samba’, DNA was isolated, respectively, from the stem and tuber skin which were submitted by the cultivar authors to the VIR herbarium; 6 – cv. ‘Samba’ sample from the subset of CRP_EGT-2018; 7 – cv. ‘Tango’ sample from the subset of CRP_EGT-2016; 8, 9 – cv. ‘Tango’ voucher specimen; DNA was isolated from the stem and tuber skin of this sample, respectively. The observed fragment size is 19 bp larger than that of the real one due to the inclusion of the M13 forward primer sequence.

- маркер *Grol-4-1* гена *Grol-4* обнаружен у сорта 'Самба' (см. табл. 4),
- маркеры 57R, N146, N195 гена *HI* детектированы у 'Кортни' и 'Самба' (см. табл. 2, 4).

В настоящей работе у изученных сортов не были обнаружены диагностические фрагменты восьми маркеров шести генов устойчивости: *Rx1*, *Gpa2*, *Ry_{sto}*/*Ry-f_{sto}*, *Rpi-stol/Rpi-blb1* (см. табл. 1-4, приложения 2-3/ Supplements 2-3).

В генетических паспортах сортов также приведены данные Госреестра об оценке фитопатологической устойчивости сортов к объекту внутреннего карантина - золотистой картофельной нематоды (ЗКН, патотип Ro1), которые сопоставлялись с результатами молекулярного скрининга сортов с маркерами генов *HI* и *Grol-4*, контролирующей нематодоустойчивость (см. табл. 1-4). Наличие маркеров гена *HI* у сорта 'Кортни' согласуется с данными Госреестра об устойчивости сорта к ЗКН. Аналогично, данные об отсутствии маркеров генов *HI* и *Grol-4* у сортов 'Зумба' и 'Регги' согласуются с информацией о восприимчивости этих сортов к ЗКН.

Исключение составил сорт 'Самба', который по данным Госреестра восприимчив к ЗКН. В то же время, с использованием ДНК номенклатурного стандарта, у 'Самба' детектированы три маркера (N146, N195, 57R) гена *HI* и маркер *Grol-4-1* гена *Grol-4* (см. табл. 4).

Данные, полученные с использованием ДНК номенклатурных стандартов и гербарных ваучеров, не противоречили результатам скрининга одноименных образцов татарстанских сортов:

- с маркерами генов *HI* и *Grol-4* (Kuzminova et al., 2014b; Klimentko et al., 2017);
- с маркером гена *Ry_{adg}* для сорта 'Регги' (Kuzminova et al., 2014a);
- с маркерами генов *Ry_{adg}*, *Ry_{sto}*/*Ry-f_{sto}* для 'Кортни', 'Самба', 'Танго' (Antonova et al., 2018; Klimentko et al., 2019 – в этих работах были изучены образцы татарстанских сортов из разных выборок КПНИ ЭГИ. В статьях Antonova et al., 2018; Klimentko et al., 2017 – в названии сорта 'Самба' была допущена опечатка: 'Самбо').

Ещё одним дополнительным признаком сорта является тип цитоплазмы. Для четырех сортов – 'Кортни', 'Регги', 'Самба' и 'Танго' – тип цитоплазм D (W/α) был определен ранее (Gavrilenko et al., 2019) с использованием образцов разных выборок КПНИ ЭГИ. В генетические паспорта сортов 'Кортни', 'Регги', 'Самба' включена информация о цитоплазме D (W/α), поскольку данный тип цитоплазмы подтвержден и в настоящей работе с использованием ДНК номенклатурных стандартов. Для сорта 'Зумба' и предсорта 'Сальса' тип цитоплазмы D (W/α) определен впервые (см. табл. 1-4, приложение 2/ Supplement 2). Таким образом, все проанализированные сорта, выведенные в ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН, обладают одним и тем же типом цитоплазмы D (W/α), интродуцированным в селекционный генофонд от мексиканского вида *Solanum demissum* Lindl.

Заключение

В настоящей статье представлены результаты апробации разрабатываемых в ВИРе методических подходов к созданию номенклатурных стандартов отечественных сортов и их генетической паспортизации (Gavrilenko and Chukhina, в этом выпуске; Antonova et al., в следующем выпуске).

Созданы, зарегистрированы в Базе данных «Гербарий ВИР» и переданы в типовой фонд гербария ВИР номенклатурные стандарты сортов картофеля селекции ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН: 'Зумба', 'Кортни', 'Регги', 'Самба'. Также зарегистрированы в Базе Данных «Гербарий ВИР» ваучерные образцы предсорта 'Сальса' и сорта 'Танго'.

С использованием ДНК, выделенной из растительного материала, переданного авторами сортов в гербарную коллекцию ВИР для создания номенклатурных стандартов и ваучеров, разработаны генетические паспорта сортов: 'Зумба', 'Кортни', 'Регги', 'Самба' и одного предсорта 'Сальса'. Образец сорта 'Танго' генотипирован с использованием ДНК, выделенной из образца этого сорта, переданного из ВНИИКХ им. А.Г. Лорха в Гербарий ВИР для оформления ваучера.

Сопоставление данных генетических паспортов, разработанных с использованием ДНК номенклатурных стандартов и гербарных ваучеров, с результатами генотипирования 22 образцов одноименных сортов, полученных из разных источников, позволило подтвердить подлинность и однородность изученного растительного материала.

Образцы сортов, выведенных в ТатНИИСХ – ОСП ФИЦ КазНЦ РАН, из *in vitro* коллекции ВИР, генотипированные в настоящей работе, включены в программу по криоконсервации, проводимую в ВИРе.

Благодарности / Acknowledgments

Статья подготовлена при поддержке: подпрограммы «Развитие селекции и семеноводства картофеля в РФ» в 2018 году (получение образцов из выборок: КПНИ ЭГИ-2016 ВИР, КПНИ ЭГИ-2017 ВИР и КПНИ ЭГИ-2018 ВНИИКХ; генотипирование образца сорта 'Танго'); в 2019-2020 годах – темы НИР № 0662-2019-0004, номер государственной регистрации (РК) – ААА-А-А19-119013090158-8 (создание номенклатурных стандартов) и Госзадания № 0481-2019-0002 (генотипирование и молекулярный скрининг образцов татарстанских сортов).

Авторы благодарят д.б.н. Е.З. Кочиеву (ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН) за предоставление 7 дополнительных препаратов ДНК, а также м.н.с. ВИР Н.В. Лебедеву за помощь в проведении гербаризации.

The paper was prepared with assistance provided in 2018 within the framework of: the subprogram "Development

of potato breeding and seed production in the Russian Federation” (providing of the potato cultivar samples from the Eco-Geographical Tests carried out at the VIR in 2016 and in 2017 and at the A.G. Lorkh All-Russian Research Institute of Potato Farming in the framework of the Complex Research Plan in 2018; genotyping of ‘Tango’ sample), and in 2019-2020 within the framework of: the R&D Topic No. 0662-2019-0004, State Registration No. AAAA-A19-119013090158-8 (preparing of the nomenclatural standards and voucher specimens) and within the State Assignment No. 0481-2019-0002 (genotyping and molecular screening). The authors are grateful to Dr.Sci. E.Z. Kochieva (Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology” of the RAS) for providing 7 additional DNA-probes, as well as to N.V. Lebedeva, a Junior Researcher at VIR, for her assistance in herbarization of plant material.

References / Литература

- Ahmadvand R., Wolf I., Gorji A.M., Polgár Z., Taller J. Development of Molecular Tools for Distinguishing Between the Highly Similar *Rx1* and *Rx2* PVX Extreme Resistance Genes in Tetraploid Potato. *Potato Research*. 2013;56(4):277-291. DOI: 10.1007/s11540-013-9244-y
- Antonova O.Y., Klimenko N.S., Evdokimova Z.Z., Kostina L.I., Gavrilenko T.A. Finding *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*-like sequences in conventionally bred potato varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(6):693-702. DOI: 10.18699/VJ18.412
- Asano K., Kobayashi A., Tsuda S., Nishinaka M., Tamiya S. DNA marker-assisted evaluation of potato genotypes for potential resistance to potato cyst nematode pathotypes not yet invading into Japan. *Breeding Science*. 2012;62(2):142-150. DOI: 10.1270/jsbbs.62.142
- Ballvora A., Ercolano M.R., Weiss J., Meksem K., Bormann C.A., Oberhagemann P., Salamini F., Gebhardt C. The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. *The Plant Journal*. 2002;30(3):361-371. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2001.01292.x
- Belozor N.I. Herbarization of cultivated plants (Guidelines) (Gerbarizatsiya kulturnykh rastenii (Metodicheskie ukazaniya)). Leningrad: VIR; 1989. [in Russian] (Белозор Н.И. Гербаризация культурных растений (методические указания). Ленинград: ВИР; 1989).
- Brickell C.D., Alexander C., Cubey J.J., David J.C., Hoffman M.H.A., Leslie A.C., Malécot V., Xiaobai J. (eds). International code of nomenclature for cultivated plants. Ed. 9. *Scripta Horticulturae*. 2016;18:1-XVII+1-190.
- Feingold S., Lloyd J., Norero N., Bonierbale M., Lorenzen J. Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:456-466. DOI: 10.1007/s00122-005-2028-2
- Flis B., Hennig J., Strzelczyk-Zyta D., Gebhardt C., Marczewski W. The *Ry-fsto* gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to *Potato virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122₇₁₈ in PVY resistant potato cultivars. *Molecular Breeding*. 2005;15:95-101.
- Gavrilenko T.A., Afanasenko O.S., Antonova O.YU., Rogozina E.V., Khyutti A.V., Shuvalov O.YU., Islamshina A.R., Chalaya N.A. Development of technology for assessing the genetic diversity of cultivated and wild potato species for resistance to viral diseases and canker based on modern molecular genetic and phytopathological methods (Razrabotka tekhnologii otsenki geneticheskogo raznoobraziya kul'turnykh i dikikh vidov kartofelya po ustojchivosti k virusnym zabolevaniyam i k raku na osnove sovremennykh molekulyarno-geneticheskikh i fitopatologicheskikh metodov). In: *Materials of the conference «Oriented fundamental research and their implementation in the agro-industrial complex of Russia» (Materialy konferentsii «Orientirovannye fundamentalnye issledovaniya i ikh realizatsiya v APK Rossii»)* Sergiev Posad; 2009. p.94-100. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Афанасенко О.С., Антонова О.Ю., Rogozina E.V., Хютти А.В., Шува-лов О.Ю., Исламшина А.Р., Чалая Н.А. Разработка технологии оценки генетического разнообразия культурных и диких видов картофеля по устойчивости к вирусным заболеваниям и к раку на основе современных молекулярно-генетических и фитопатологических методов. В кн.: *Материалы конференции «Ориентированные фундаментальные исследования и их реализация в АПК России»*. Сергиев Посад; 2009. С.94-100. URL: <http://vir.nw.ru/biot/pdf/conf-text.pdf> [дата обращения: 24.09.2020].
- Gavrilenko T., Antonova O., Shuvalova A., Krylova E., Alpatyeva N., Spooner D.M., Novikova L. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013;60(7):1997-2015. DOI: 10.1007/s10722-013-9968-1
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Alpatyeva N.V., Kostina L.I., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Apalikova O.V., Novikova L.Y., Antonova O.Yu. Cytoplasmic genetic diversity of potato varieties bred in Russia and FSU countries. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):753-764. DOI: 10.18699/VJ19.534
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Antonova O.Yu., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Gadjiyev N.M., Apalikova O.V., Alpatyeva N.V., Kostina L.I., Zoteyeva N.M., Mamadbokirova F.T., Egorova K.V. Molecular screening of potato varieties bred in the northwestern zone of the Russian Federation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1):35-45. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Гаджиев Н.М., Апаликова О.В., Алпатьева Н.В., Костина Л.И., Зотеева Н.М., Мамадбокирова Ф.Т., Егорова К.В. Молекулярный скрининг сортов и гибридов картофеля северо-западной зоны Российской Федерации. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(1):35-45). DOI: 10.18699/VJ18.329
- Ghislain M., Nunez J., Herera M. del R., Pignataro J., Guzman F., Bonierbale M., Spooner D.M. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Molecular Breeding*. 2009;23:377-388. DOI: 10.1007/s11032-008-9240-0
- Hosaka K., Sanetomo R. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125(6):1237-1251. DOI: 10.1007/s00122-012-1909-4
- Huang S., van der Vossen E.A.G., Kuang H., Vleeshouwers V. G.A.A., Zhang N., Borm T.J.A., van Eck H.J., Baker B., Jacobsen E., Visser R.G.F. Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. *The Plant Journal*. 2005;42(2):251-261. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02365.x
- Ильин С.А., Благовещенский Н.И. Картофель в Татарии. Казань: Татарское кн. изд-во; 1970. [in Russian] (Ильин С.А., Благовещенский Н.И. Картофель в Татарии. Казань: Татарское кн. изд-во; 1970).
- Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A., Valkonen J.P.T., Gebhardt C., Watanabe K.N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Rydg* based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*. 2000;43(1):1-8. DOI: 10.1139/g99-092
- Klimenko N.S., Antonova O.Y., Kostina L.I., Mamadbokirova F.T., Gavrilenko T.A. Marker-associated selection of Russian potato varieties with using markers of resistance genes to the golden potato cyst nematode (pathotype Ro1). *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2017;178(4):66-75. [in Russian] (Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Костина Л.И., Мамадбокирова Ф.Т., Гавриленко Т.А. Маркер-опосредованная селекция отечественных сортов картофеля с маркерами генов устойчивости к золотистой картофельной нематоде (патотип Ro1). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(4):66-75). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-66-75
- Klimenko N.S., Antonova O.Yu., Zheltova V.V., Fomina N.A., Kostina L.I., Mamadbokirova F.T., Gavrilenko T.A. Screening of Russian potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) with DNA markers linked to the genes conferring extreme resistance to Potato Virus Y. *Agricultural Biology*. 2019;54(5):958-969 [in Russian]. (Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Желтова В.В., Фомина Н.А., Костина Л.И., Мамадбокирова Ф.Т., Гавриленко Т.А.

- Скрининг сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Российской селекции с помощью маркеров R-генов устойчивости к Y-вирусу картофеля. *Сельскохозяйственная биология*. 2019;54(5):958-969. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.5.958rus
- Kuzminova O.A., Vologin S.G., Stashevski Z., Gimaeva E.A. Marker assisted selection of potatoes for resistance to virus Y, *Globodera rostochiensis* Woll. and *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival (Markyor-vspomogatel'naya selektsiya kartofelya na ustojchivost k virusu Y, *Globodera rostochiensis* Woll. i *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival). *Zashchita kartofelya = Potato protection*. 2014a;(1):14-15. [in Russian] (Кузьминова О.А., Вологин С.Г., Сташевски З., Гимаева Е.А. Маркёр-вспомогательная селекция картофеля на устойчивость к вирусу Y, *Globodera rostochiensis* Woll. и *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival. *Защита картофеля*. 2014a;(1):14-15).
- Kuzminova O.A., Stashevski Z., Vologin S.G., Gimaeva E.A. Search for sources of economically valuable potato traits using molecular genetic analysis (Poisk istochnikov khozyajstvenno-tsennykh priznakov kartofelya pri pomoshhi molekulyarno-geneticheskogo analiza) In: *Modern potato industry: state and development prospects: materials of the VI interregional scientific-practical conf. (Sovremennaya industriya kartofelya: sostoyanie i perspektivy razvitiya: mat-ly VI mezhhregionalnoj nauch.-prakt. konf.)*. Cheboksary; 2014b. p.50-55. (Кузьминова О.А., Сташевски З., Вологин С.Г., Гимаева Е.А. Поиск источников хозяйственно-ценных признаков картофеля при помощи молекулярно-генетического анализа. В кн.: *Современная индустрия картофеля: состояние и перспективы развития: материалы VI межрегиональной научно-практической конференции*. Чебоксары; 2014b. С.50-55).
- Milbourne D., Meyer R.C., Collins A.J., Ramsay L.D., Gebhardt C., Waugh R. Isolation, characterisation and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Molecular and General Genetics*. 1998;259:233-245. DOI: 10.1007/s004380050809
- Schultz L., Cogan N., McLean K., Dale M., Bryan G., Forster J., Slater A. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *HI*-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Breeding*. 2012;131(2):315-321. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2012.01949.x
- Song Y.-S., Schwarzfischer A. Development of STS Markers for Selection of Extreme Resistance (*Rysto*) to PVY and Maternal Pedigree Analysis of Extremely Resistant Cultivars. *American Journal of Potato Research*. 2008;85(2):159-170. DOI: 10.1007/s12230-008-9012-8
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage. 2020. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. 2020). URL: <https://reestr.gossortrf.ru/> [дата обращения: 24.09.2020].
- Stashevski Z., Gimaeva E.A., Vologin S.G., Salihova Z.Z., Gizatullina A.T., Safiullina G.F., Nazmieva R.R., Zamalieva F.F. New stress-resistant potato varieties (Novye stessoustojchivye sorta kartofelya). In: *Sorta i tekhnologii vzdelyvaniya kartofelya v sovremennykh usloviyakh: materialy XIX innovatsionnogo soвета NIU Urala, Zapadnoj Sibiri, Povolzhya i Severnogo Kazakhstana po kartofelevodstvu = Varieties and technologies of potato cultivation in modern conditions: Proceedings of the XIX Innovation Council of the National Research University of the Urals, Western Siberia, the Volga region and Northern Kazakhstan on potato growing*. 2013. p.88-93 [in Russian] (Сташевски З., Гимаева Е.А., Вологин С.Г., Салихова З.З., Гизатуллина А.Т., Сафиуллина Г.Ф., Назмиева Р.Р., Замалиева Ф.Ф. Новые стрессоустойчивые сорта картофеля. В кн.: *Сорта и технологии возделывания картофеля в современных условиях: материалы XIX инновационного совета НИУ Урала, Западной Сибири, Поволжья и Северного Казахстана по картофелеводству*. 2013. С.88-93).
- Stashevski Z., Kuzminova O.A., Vologin S.G., Gizatullina A.T., Gimayeva Ye.A., Safiullina G.F., Kiru S.D., Shabanov A.E., Safonova A.D., Polukhin N.I., Zhuravleva Ye.V. First Results of Ecological and Geographical Testing of New Russian Potato Varieties. *Zemledelije*. 2019;6:43-48. [in Russian] (Сташевски З., Кузьминова О.А., Вологин С.Г., Гизатуллина А.Т., Гимаева Е.А., Сафиуллина Г.Ф., Киру С.Д., Шабанов А.Э., Сафонова А.Д., Полухин Н.И., Журавлева Е.В. Первые результаты эколого-географического испытания новых российских сортов картофеля. *Земледелие*. 2019;6:43-48). DOI: 10.24411/0044-3913-2019-10610
- Takeuchi, T., Sasaki J., Suzuki T., Horita H., Hiura S., Iketani S., Fujita R., Senda K. DNA markers for efficient selection of disease and pests resistance genes in potato [in Japanese]. *Hokkaido Nogyo-Shiken-Kaigi-Shiryo* 2008. 2009:1-26.
- Wang M., Allefs A., van den Berg R.G., Vleeshouwers V.G.A.A., van der Vossen E., Vosman B. Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2008;116(7):933-943. DOI: 10.1007/s00122-008-0725-3
- Valkonen J., Wiegmann K., Hämmäläinen J., Marczewski W., Watanabe K. Evidence for utility of the same PCR-base markers for selection of extreme resistance to potato virus Y controlled by *Rysto* of *Solanum stoloniferum* derived from different sources. *Annals of Applied Biology*. 2008;152:121-130. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2007.00194.x
- Zamalieva F.F. Control of potato virus diseases. (Borba s virusnymi boleznyami kartofelya). *Zashchita i karantin rastenij = Plant protection and quarantine*. 2013;3:17-21 [in Russian] (Замалиева Ф.Ф. Борьба с вирусными болезнями картофеля. *Защита и карантин растений*. 2013;3:17-21).
- Zhu S., Li Y., Vossen J.H., Visser R.G.F., Jacobsen E. Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Research*. 2012;21(1):89-99. DOI: 10.1007/s11248-011-9510-1