

Научная статья

УДК 635.21:576.311:575.13

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01



Новый маркер для определения А-типа хлоропластной ДНК у длительно хранящихся гербарных образцов культурных видов картофеля

Н.А. Оськина, О.Ю. Антонова, Т.А. Гавриленко

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

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

В Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR) Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) хранится крупнейшая в России коллекция исторических образцов культурных видов картофеля. Образцы этой коллекции были собраны в 1925-1928 годах С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым – членами организованной Н.И. Вавиловым экспедиции в страны Латинской Америки. Этот материал представляет несомненный интерес для молекулярно-генетических исследований. В то же время, существует ряд методических ограничений, обусловленных различной степенью деградации ДНК растений, длительное время сохраняемых в гербарных коллекциях. Оригинальный набор ПЦР-маркеров, специфичных к разным локусам пластидной ДНК, разработанный японскими исследователями К. Hosaka и R. Sanetomo (2012), широко используется для исследований генетического разнообразия и происхождения культурных видов картофеля, сохраняемых в полевых и *in vitro* коллекциях разных генбанков. Применение данного набора в полном объеме для детекции разных типов хлоропластной ДНК (хлДНК) у длительно хранящихся гербарных образцов проблематично, поскольку в случае маркера А размер диагностического фрагмента превышает 1000 пн. В настоящей работе были разработаны новые праймеры А494 для детекции А-типа пластидной ДНК у ~100-летних гербарных образцов культурных видов картофеля. Результативность применения праймеров А494, с использованием которых ампликоны ожидаемого размера были получены для 22 из 25 гербарных образцов, была достоверно выше в сравнении с результатами, полученными с праймерами А из набора Hosaka и Sanetomo (2012) – ампликоны ожидаемого размера получены для пяти из 25 образцов. Расширенный набор маркеров для детекции различных типов хлДНК будет использован в дальнейшем для изучения исторической коллекции культурных видов картофеля, хранящейся в гербарии ВИР.

Ключевые слова: *Solanum*, виды картофеля, гербарий WIR, ДНК-маркеры, генбанк, коллекция

Благодарности: Работа выполнена в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по темам: FGEM-2022-0006 и FGEM-2022-0008

Для цитирования: Оськина Н.А., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А. Новый маркер для определения А-типа хлоропластной ДНК у длительно хранящихся гербарных образцов культурных видов картофеля. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(3):43-54. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Оськина Н.А., Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А., 2025

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01

A new marker for the detection of A-type chloroplast DNA in long-term stored herbarium specimens of cultivated potato species

Natalia A. Oskina, Olga Yu. Antonova, Tatjana A. Gavrilenko

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

The Herbarium of cultivated plants of the world, their wild relatives and weeds (WIR) at the N.I. Vavilov All-Russian institute of plant genetic resources (VIR) houses Russia's largest collection of historical herbarium specimens of cultivated potato species. The plant samples were collected in 1925-1928 by S.V. Yuzepchuk and S.M. Bukasov, members of an expedition to Latin American countries organized by N.I. Vavilov. This material is of undoubted interest for molecular genetics research. However, there are methodological limitations due to varying degrees of DNA degradation in plants preserved long-term in herbarium collections. The original set of PCR markers specific to different loci of plastid DNA, developed by Japanese researchers K. Hosaka and R. Sanetomo (2012), is widely used for studying the genetic diversity and origin of cultivated potato species maintained in field and *in vitro* collections of various Genebanks. Applying this marker set in full for detecting different types of chloroplast DNA (cpDNA) in historical herbarium specimens is problematic, as some primers in this set generate amplicons larger than 1000 bp. In this study, new primers A494 were developed to detect A-type plastid DNA in ~100-year-old herbarium specimens of cultivated potato species. The efficiency of A494 primers, with the use of which amplicons of the expected size were obtained for 22 of 25 herbarium specimens, was significantly higher compared to the results obtained with primers A from the Hosaka and Sanetomo (2012) set, that is, amplicons for five out of 25 specimens. The expanded marker set for detecting various cpDNA types will be used in further studies of historical herbarium collection of cultivated potato preserved in the VIR Herbarium.

Keywords: *Solanum*, potato species, WIR herbarium, DNA-markers, Genebank, collection**Acknowledgements:** The research was carried out according to the State Assignment to VIR, Topics FGEM-2022-0006 and FGEM-2022-0008**For citation:** Oskina N.A., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A. A new marker for the detection of A-type chloroplast DNA in long-term stored herbarium specimens of cultivated potato species. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):43-54. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-01**Financial transparency:** The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Oskina N.A., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A., 2025

Введение

Первая классификация культурных видов картофеля *Solanum tuberosum* L., включающая 12 андийских культурных видов и один чилийский – *Solanum tuberosum sensu stricto* – была создана С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым (Juzepczuk, Bukasov, 1929), на основании изучения материалов, собранных ими в разных странах Латинской Америки в 1925-1928 годах в ходе экспедиции, организованной Н.И. Вавиловым. Позднее С.М. Букасов разработал внутривидовую классификацию тетраплоидных андийских и чилийских культурных видов картофеля (Bukasov, 1933). Аутентичные образцы, на основании которых были описаны сотни таксонов различного ранга, по сей день сохраняются в Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR) Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), где хранится крупнейшая в России коллекция исторических гербарных образцов культурных видов картофеля (Korovina et al., 1985; Ovchinnikova et al., 2011; Chukhina et al., 2016; Oskina et al., 2023). Часть этой коллекции сохраняется также в Гербарии высших растений (LE) Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН.

Изучение полиморфизма последовательностей хлоропластной ДНК (хлДНК) является одним из подходов к исследованию внутри- и межвидового разнообразия культурных видов картофеля и их происхождения. Первоначально, изучение полиморфизма хлДНК у культурных и родственных диких видов картофеля прово-

дили с использованием метода рестрикционного анализа (Hosaka, 1986; Hosaka, Hanneman, 1988a; 1988b; Hosaka et al., 1984), затем – методом RFLP-анализа (Hosaka et al., 1988; Sukhotu et al., 2004). В ставших классическими работах К. Hosaka с коллегами, на основании изучения полиморфных профилей рестрикционных фрагментов культурных видов картофеля, полученных с использованием рестриктаз BamHI, HindIII, KpnI, PvuII и XhoI, были идентифицированы пять основных (T, W, A, S, C) и несколько минорных типов хлДНК (Hosaka, 1986; 1995; Hosaka, Hanneman, 1988a). Разные типы хлДНК картофеля отличаются друг от друга специфическими делециями или мутациями в определенных рестрикционных сайтах. Так, для T-типа хлДНК характерна делеция размером 241 пн в межгенном спейсере *ndhC/trnV*; S-тип имеет специфическую делецию размером 48 пн в межгенном спейсере *rps16/trnQ*; у носителей C-типа хлДНК выявлена мутация в локусе *semA*, вследствие которой утрачивается сайт распознавания рестриктазы BamHI; обладатели A-типа хлДНК имеют характерную мутацию в локусе *grl32/ccsA*, вследствие которой образуется сайт распознавания рестриктазы BamHI; W-тип – дикий тип (Hosaka, 1986).

С развитием методов ПЦР-диагностики RFLP-маркеры были конвертированы в SCAR- и CAPS- маркеры. Японскими исследователями К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012) был разработан набор ПЦР-маркеров для идентификации основных типов хлДНК культурных видов картофеля и близкородственных им диких видов (табл. 1).

Таблица 1. Определение типов хлДНК у образцов культурных видов картофеля с помощью набора маркеров, разработанных Hosaka, Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012)

Table 1. Identification of cpDNA types in cultivated potato species using the marker set designed by Hosaka, Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012)

Тип хлДНК/ Type of cpDNA	Маркеры для определения типов хлДНК культурных видов картофеля/ Marker for identification of cpDNA types in cultivated potato species			
	H1	SAC	A	S
	Праймеры и рестриктазы для определения основных типов хлДНК/ Primers and restriction enzymes for identification of basic cpDNA types			
	H1	SAC/BamHI	A/BamHI	NTCP6
	Размеры ампликонов (пн) / Amplicon size (bp)			
	202 – T-тип; 443 – не T-тип	312	1178	127– S-тип; 175 – не S-тип
T	делеция 241 пн	рестрикция ПЦР-продуктов	нет рестрикции	нет делеции
S	нет делеции	нет рестрикции	нет рестрикции	делеция 48 пн
C	нет делеции	нет рестрикции	нет рестрикции	нет делеции
A	нет делеции	нет рестрикции	рестрикция ПЦР-продуктов	нет делеции
W	нет делеции	рестрикция ПЦР-продуктов	нет рестрикции	нет делеции

Разработанный японскими исследователями набор праймеров демонстрирует высокую диагностическую ценность и его использование позволяет сравнивать и обобщать результаты изучения *ex situ* коллекций различных генбанков, полученных в разных лабораториях. В ходе исследований обширных выборок образцов культурных видов картофеля, сохраняемых в полевых и в *in vitro* коллекциях генбанков разных стран (NRSP6, США; CIP, Перу; VIR, РФ), было показано, что Т-тип хлДНК характерен для чилийских аборигенных сортов *S. tuberosum* (Hosaka, Hanneman, 1988a; Hosaka, 2003; 2004; Spooner et al., 2007; Gavrilenko et al., 2013); S-тип – для большинства образцов андийских диплоидных видов (*Solanum stenotomum* Juz. et Buk., *Solanum goniocalyx* Juz. et Buk., *Solanum phureja* Juz. et Buk.) и пентаплоидного *Solanum curtilobum* Juz. et Buk. (Hosaka, 1995; Sukhotu et al., 2004; 2006; Sukhotu, Hosaka, 2006; Hosaka, Sanetomo, 2009; Gavrilenko et al., 2013); С-тип преобладает у образцов гибридогенных культурных видов *Solanum ajanhuiri* Juz. et Buk. и *Solanum juzepczukii* Buk. (Sukhotu et al., 2004; Hosaka, Sanetomo, 2009). Типом А хлДНК обладает большинство образцов тетраплоидного андийского культурного вида *Solanum andigenum* Juz. et Buk., большинство образцов триплоидного культурного вида *Solanum chaucha* Juz. et Buk. и около четверти изученных образцов диплоидных культурных видов (Hosaka, Hanneman, 1988b; Hosaka, 1995; Sukhotu et al., 2004; 2005; 2006; Hosaka, Sanetomo, 2009; 2012). Дикий тип W хлДНК выявлен у большинства изученных образцов близкородственных предковых диких видов из *Solanum brevicaulis* Bitter complex и единичных образцов культурных видов (Hosaka, 1995; Sukhotu et al., 2004; 2006; Hosaka, Sanetomo, 2009; 2012).

Все пять типов хлДНК выявлены у наиболее полиморфного культурного вида *S. andigenum*, представленного андийскими тетраплоидными аборигенными сортами, которые возделываются местным населением на обширных территориях Южной Америки. Таксономическое разнообразие *S. andigenum* включает один подвид, 21 разновидность и 43 формы согласно С.М. Букасову (Bukasov, 1930; 1933), или шесть подвидов и 15 разновидностей согласно В.С. Лехновичу (Lekhnovich, 1983).

Типовые образцы культурных видов картофеля, выделенные С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым в конце 1920-х годов (Juzepczuk, Bukasov, 1929), включают: 17 голотипов, два изотипа, 45 лектотипов, семь изолектотипов, 18 синтипов и один изосинтип (Korovina et al., 1985; Ovchinnikova et al., 2011; Chukhina et al., 2016; 2017; Oskina et al., 2023). Этот аутентичный материал представляет несомненный интерес для молекулярно-генетических исследований. При этом следует учитывать, что существует ряд методических ограничений, обусловленных различной степенью фрагментации ДНК растений, длительное время сохраняемых в гербарных коллекциях, в том числе, проблематичность амплификации крупных фрагментов ДНК размером более 600 пн; оптимальным

размером при работе с ДНК, выделенной из старого гербарного материала, можно считать фрагменты до 300 пн (Hughey, Gabrielson, 2012; Särkinen et al., 2012; Dabney et al., 2013; Krinitsina et al., 2015; Fomina et al., 2019; Papalini et al., 2023).

Все праймеры из набора Hosaka и Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), определяющие разные типы пластидной ДНК, за исключением праймеров для детекции А-типа, позволяют амплифицировать фрагменты небольших размеров (от 127 пн до 443 пн) (см. табл. 1), поэтому их возможно использовать для изучения длительно хранящихся гербарных образцов, ДНК которых может быть сильно деградирована. Так, например, с использованием маркера H1 (диагностический фрагмент 202 пн) Т-тип хлДНК был определен у образцов европейских сортов картофеля, заложенных в гербарий с 1700 по 1910 год (Ames, Spooner, 2008), и у аутентичных гербарных образцов чилийского картофеля, собранных в Чили в 1928 году (Gavrilenko et al., 2023). Сопоставление результатов анализа полиморфизма в различных локусах хлДНК у образцов чилийского картофеля, собранных около 100 лет назад, с более поздними сборами позволило изучить процессы генетической эрозии (Gavrilenko et al., 2023).

Использование праймеров А, генерирующих ампликон размером 1178 пн, для выявления А-типа хлДНК среди старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов культурных видов картофеля проблематично, что было показано нами ранее (Gavrilenko et al., 2023). Возможным подходом к решению данной проблемы является разработка новых праймеров, образующих более короткие ампликоны, что и было осуществлено в настоящей работе.

Материалы и методы

Материал для исследований: а) выборка старых гербарных образцов культурных видов картофеля возрастом ~100 лет, включающая 24 аутентичных образца из гербария ВИР (WIR), заложенных на хранение в 1928-1931 годах; б) выборка аналогичного таксономического состава, включающая 22 живых образца, собранных в Южной Америке во второй половине XX века, сохраняемых в *in vitro* коллекции ВИР (табл. 2).

Для детекции разных типов хлДНК в качестве контроля были использованы сорта картофеля из *in vitro* коллекции ВИР, у которых ранее были определены различные типы пластидной ДНК: 'Аляска' и 'Легенда', имеющие W- и Т-типы хлДНК, соответственно (Lihodeevskiy, Shanina, 2022; Oskina et al., 2023); сорт 'Катюша', обладающий А-типом хлДНК (Sanetomo, Gebhardt, 2015; Gavrilenko et al., 2019), был представлен двумя образцами – живым из *in vitro* коллекции ВИР и 58-летним из Гербария ВИР (см. табл. 2).

Таблица 2. Растительный материал для исследования

Table 2. The studied plant material

Вид*/ Species*	Число образцов/ Number of accessions	Номер образца/ Accession number
Образцы культурных видов картофеля из гербарной коллекции ВИР – 25 образцов (в скобках указан номер гербарного листа в гербарии ВИР) / Cultivated potato species from the herbarium collection of VIR – 25 accessions (the number of the herbarium sheet in the VIR herbarium is given in parentheses)		
<i>Solanum andigenum</i> Juz. et Buk.	18	44 (WIR-38416д), 84 (WIR-38381д), 191с (WIR-38955), 1009а (WIR-37494(69794)), 1227 (WIR-37143), 1253 (WIR-37157), 1256 (WIR-37027), 1260 (WIR-37369), 1306 (WIR-37559), 1468а (WIR-37056), 1522b (WIR-70774), 1525 (WIR-без номера), 1526 (WIR-38661), 1536 (WIR-без номера), 1640 (WIR-1434), 1656 (WIR-1423), 1659 (WIR-1426), 1663b (WIR-1419)
<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	2	1783 (WIR-без номера), 1858а (WIR-70815)
<i>S. stenotomum</i> Juz. et Buk.	4	1319 (WIR-70797), 1681 (WIR-1552), 1743 (WIR-1551), 1556b (WIR-70732)
<i>S. tuberosum</i> L. (сорт/ cultivar)	1	‘Катюша’ (WIR-21944)
Образцы из <i>in vitro</i> коллекции ВИР (25 образцов) / Accessions from the VIR <i>in vitro</i> collection (25 accessions)		
<i>S. andigenum</i>	14	VIR 1690, VIR 1714, VIR 1764, VIR 1771, VIR 1775, VIR 1796, VIR 3041, VIR 3172, VIR 3231, VIR 3240, VIR 4793, VIR 5606, VIR 8201, VIR 8931
<i>S. chaucha</i>	4	VIR 24674, VIR 24676, VIR 24677, VIR 24684
<i>S. stenotomum</i>	4	VIR 3558, VIR 8890, VIR 8903, VIR 16911
<i>S. tuberosum</i> Контрольные образцы (сорта/ cultivars)	3	‘Аляска’ (и-641838), ‘Катюша’ (и-643498), ‘Легенда’ (и-641840)**

* – название вида указано согласно системе, разработанной С.В. Юзепчуком и С.М. Букасовым (Juzepczuk, Bukasov, 1929)/ the name of the species is indicated according to the system developed by S.V. Juzepchuk and S.M. Bukasov (Juzepczuk, Bukasov, 1929).

**В скобках указаны номера интродукции (и-) для образцов из коллекции *in vitro* ВИР/ The introduction numbers (и-) for accessions from the *in vitro* collection of VIR are given in parentheses.

Выделение и очистка ДНК из гербарного материала была проведена на колонках при помощи готового набора для выделения геномной ДНК из растительных образцов DNEasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany). Выделение ДНК из свежей растительной ткани *in vitro* растений проводили модифицированным методом СТАВ-экстракции (Gavrilenko et al., 2013).

Праймеры разработаны при помощи компьютерной программы Primer3Plus (Untergasser et al., 2007) и дополнительно проверены на отсутствие внутренних шпилек и самоотжига при помощи инструмента OligoAnalyzer™ Tool, доступного на онлайн-платформе Integrated DNA Technologies (IDT, 2025).

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 40 нг геномной ДНК картофеля, 1× реакционный буфер, 2,5 мМ MgCl₂, 0,5 мМ каждого из dNTP's, 0,5 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Taq-полимеразы. Последовательности праймеров и температуры отжига приведены в таблице 3. Условия ПЦР в целом соответствовали указанным в литературе. Для

обеспечения большей специфичности все программы содержали функцию Touchdown: в первом цикле температура отжига была на 5°C выше требуемой и на протяжении 5 циклов понижалась на 1°C/цикл. Для пары праймеров A494 была использована следующая программа: 3 мин – 94°C, 8 циклов [45 с – 94°C, 1 мин – 51°C с понижением на 0,5°C/цикл, 1 мин – 72°C], 30 циклов [45 с – 94°C, 45 с. – 47°C, 1 мин – 72°C], 5 мин – 72°C.

Рестрикция. ПЦР-продукты, полученные при использовании праймеров SAC, A, A22 и A494, обрабатывали рестриктазой BamHI («СибЭнзим», Россия) в течение 12 часов согласно инструкции производителя.

Электрофорез проводили в 2% агарозном геле с использованием буфера TBE с окраской бромистым этидием и визуализацией в проходящем УФ свете.

Статистическая обработка данных проведена на основе анализа таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат (χ^2).

Результаты и обсуждение

Для разработки праймеров мы использовали последовательность пластидного генома *S. tuberosum* сорта 'Desiree', депонированную в международном генном банке GenBank NCBI: DQ231562.1 (GenBank, 2024), в которой определили сайты отжига праймеров А, рекомендованных К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012). Во фланкированном этими праймерами участке идентифицировали сайт GGATCG, в котором замена G-C, харак-

терная для хлДНК А-типа, образовала рестрикционный сайт GGATCC, опознающийся рестриктазой BamHI. Было подобрано несколько пар праймеров, специфичных для последовательностей вокруг этого сайта, из которых наилучшим вариантом были признаны праймеры А494 (рис. 1). Кроме относительно небольшого размера ПЦР-продукта (499 пн), преимуществом этих праймеров является наличие в ампликоне еще одного дополнительного BamHI-сайта (см. рис. 1), что позволяет проводить контроль успешности работы рестриктазы.

```
aactttttgaactctattccttaattgagtatagaagtatagaacggtttagttacaagagttg
aattcgaggaaagtataaaatataggaaagtcccagggttaataaaaaaactaagactctaaa
ctcaaatacaaaaataatgaaccttcaacctcaaattcctatttgaacaactttttattgttatt
gatccatttgaatcattactaaactaaaatagcttactcaatctcgacgattgcttattcatag
gctattatgagttcaagacaagccgctatggtgaaattggtagacacgctgctcttaggaagca
gtgctaattgcatctcggttcgagtcgagtgccgcatagcatcttctaaaaaggataaataga
tcttataatgaattcaattcccgaatttccatttttagaattatgtaattaagggactcttctttt
ttaagattttttatgatatttttcaaccttagagcatatattaactcacatttcccttttcgatcg
tttcaattgtaattacaattcattttgataaccttttttagtcgatgaaattgtaaaactatacga
ttcgtcagaaaagggcataatagttacttttttctgtataacaggattattagttactcgttgg
atttcttcaggacatttcccactaagcgatttatatgaatcattaatttttccctttcatggagtt
tctcccttattcatataattccataatttcaaaaaaatgttttaattttaagtaaaataactgg
accaagtgctattttgacccaaggctttgctacttcagggtatttttaactgaaatacaccaatct
ggaatatattagtagcttcttcaatctgagtggttaataatgcacgtaagtatgatgatattgg
gctatgcagcccttttatgtGGATCGttattatcagtagcacttctagtgtattacatttcgaaa
aaacagaaagctttttttataagagcaatgggttttttaaacgagtcatttttcttggtgaaaat
gttgctgaaaataacttcgtttttttgtgctaaaaattattacagggtcccaattgattcaacaat
tggtattattggagttatcggtttattagtttaggtttacttttttaaccataggaatcctttc
gggagcgggatgggctaataagagcgtgggggtcctattggaattgGGATCCaaaagaaacttg
gcatttattacttggtatcgattttgcaattttattacatactcgaacaaatagaaatttgcggg
gtccaaattctgcaattgtagcgtctatagggttttcttataatttgatattgctattttgggg
caatctatttaggaatagggttacatagttatggttcttttccatcaacatttaattgaattcaa
gacaagttattacaaatacaagagcgggcgacgcattgtatgaaccagcatgcggaccgtgtga
atcaaatattgtattgatgttcatcacgg
```

Рис. 1. Фрагмент последовательности хлДНК DQ231562.1 сорта 'Desiree' с указанием положения А-праймеров, рекомендованных К. Hosaka и R. Sanetomo (по Hosaka, Sanetomo, 2012) и праймеров А494, разработанных в настоящем исследовании

Последовательности А-праймеров (Hosaka, Sanetomo, 2012) выделены зеленым цветом; последовательности праймеров А494 – желтым. Последовательности праймеров А22 на этом рисунке не выделены, но приведены в Gavrilenko et al., 2023. Сайт рестрикции GGATCG, где выявлена замена, обозначен полужирным курсивом красным цветом, дополнительный сайт рестрикции GGATCC обозначен полужирным курсивом синим цветом. Размер диагностического фрагмента у образцов с А-типом хлДНК составляет 313 пн, в случае остальных типов пластидной ДНК – 403 пн.

Fig. 1. The fragment of cpDNA sequence DQ231562.1 of cv. 'Desiree' with A-primers recommended by K. Hosaka и R. Sanetomo (according to Hosaka, Sanetomo, 2012) and positions of the A494 primers designed in this study

The sequences of A-primers (Hosaka, Sanetomo, 2012) are highlighted in green; those of A494 primers are highlighted in yellow. The sequences of A22-primers are not highlighted, but are given in Gavrilenko et al., 2023. The GGATCG restriction site where the substitution was revealed is shown in bold italics in red, the additional restriction site GGATCC is shown in bold italics in blue. The size of the diagnostic fragment for A-type is 313 bp, for all other types – 403 bp

Для детекции А-типа пластидной ДНК мы использовали три пары праймеров: праймеры А из набора К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), разработанные нами ранее праймеры А22 (Gavrilenko et al., 2023), а также подобранная в данном исследовании пара

праймеров А494, которая была апробирована на двух выборках одинакового таксономического состава, включавших старые гербарные образцы и образцы из *in vitro* коллекции. Результаты представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4. Типы хлДНК у образцов культурных видов картофеля из *in vitro* коллекции ВИР, установленные с использованием праймеров из набора К. Hosaka и R. Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), и праймеров А22, А494, разработанных нами для определения А-типа хлДНК

Table 4. Types of cpDNA in accessions of cultivated potato species from the VIR *in vitro* collection, determined using primers from the K. Hosaka, R. Sanetomo set (Hosaka, Sanetomo, 2012), and primers A22, A494 developed by us for determining the A-type of cpDNA

	Вид/ Species	Номер образца/ Accession number	Маркер/ Marker						Тип хлДНК/ Type of cpDNA
			H1	S	SAC/ BamHI	A/ BamHI	A22/ BamHI	A494/ BamHI	
1	<i>Solanum andigenum</i> Juz. et Buk.	VIR 1690	0	0	0	+	+	+	A
2	"	VIR 1714	0	0	0	+	+	+	A
3	"	VIR 1764	0	0	0	+	+	+	A
4	"	VIR 1771	0	0	0	+	+	+	A
5	"	VIR 1775	0	0	0	+	+	+	A
6	"	VIR 1796	0	0	0	+	+	+	A
7	"	VIR 3041	0	0	0	+	+	+	A
8	"	VIR 3172	0	0	0	+	+	+	A
9	"	VIR 3231	+	0	+	0	0	0	T
10	"	VIR 3240	0	0	0	+	+	+	A
11	"	VIR 4793	0	0	0	+	+	+	A
12	"	VIR 5606	0	0	0	+	+	+	A
13	"	VIR 8201	0	0	0	+	+	+	A
14	"	VIR 8931	+	0	+	0	0	0	T
15	<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	VIR 24674	0	0	0	+	+	+	A
16	"	VIR 24676	0	0	0	+	+	+	A
17	"	VIR 24677	0	0	0	+	+	+	A
18	"	VIR 24684	0	0	0	+	+	+	A
19	<i>S. stenotomum</i> Juz. et Buk.	VIR 3558	0	0	0	+	+	+	A
20	"	VIR 8890	0	0	0	+	+	+	A
21	"	VIR 8903	0	0	0	+	+	+	A
22	"	VIR 16911	0	0	0	+	+	+	A
Контрольные образцы/ Control accessions									
23	<i>S. tuberosum</i> L. (сорта/ cultivars)	‘Аляска’	0	0	+	0	0	0	W
24	"	‘Катюша’	0	0	0	+	+	+	A
25	"	‘Легенда’	+	0	+	0	0	0	T

“+” – наличие диагностического фрагмента; “0” – отсутствие диагностического фрагмента

Как и ожидалось, для образцов растений из *in vitro* коллекции трудностей с амплификацией не возникло – у контрольных сортов были подтверждены уста-

новленные ранее типы хлДНК: Т – у сорта ‘Легенда’, W – ‘Аляска’ и А – у сорта ‘Катюша’ (см. табл. 4). Среди 14 образцов *S. andigenum* выявлены два образца

с Т-типом. У оставшихся 12 образцов *S. andigenum*, как и у всех проанализированных в данной работе образцов *S. chaucha* и *S. stenotomum* идентифицирован А-тип хлДНК (см. табл. 4). Таким образом, на 21 живом образце показано полное 100% совпадение результатов определения А-типа хлДНК с использованием всех трех пар праймеров.

Сложности с получением ампликонов с парой праймеров А из набора Hosaka, Sanetomo (Hosaka, Sanetomo, 2012), генерирующей ампликон размером 1178 пн, возникли при использовании препаратов ДНК, выделенных из старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов. В этом случае результаты амплификации были получе-

ны только для пяти (20%) образцов из 25 изученных (рис. 2А). С парой праймеров А22 ампликоны размером 805 пн были получены только для девяти (36%) образцов, тогда как при использовании новой пары праймеров А494 фрагменты размером 494 пн были получены для 22 (88%) из 25 изученных образцов (рис. 2В; см. табл. 5). При сравнении результативности амплификации с праймерами А и А22 статистически значимых различий не выявлено ($p=0,208$). В то же время, результативность использования праймеров А494 была достоверно выше ($p<0,001$), как в сравнении с результатами, полученными с праймерами А, так и с праймерами А22.

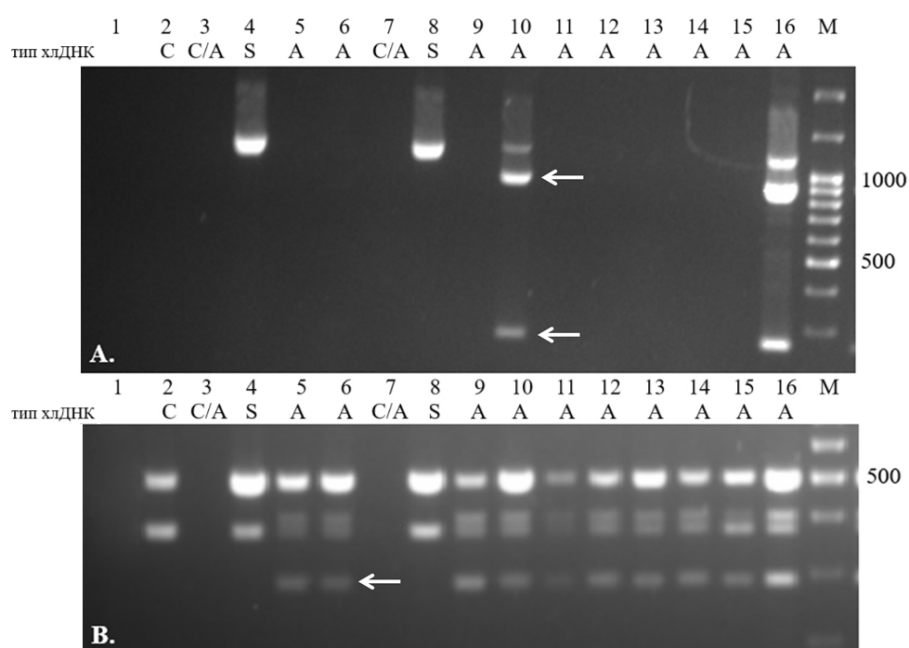


Рис. 2. Определение типов хлДНК у старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов андийских видов картофеля

Использованы следующие маркеры: (А.) маркер A/BamHI; (В.) маркер (A494/BamHI) 1 – вода (отрицательный контроль);

- 2 – *S. andigenum* 1663b (WIR-1419); 3 – *S. andigenum* 1656 (WIR-1423); 4 – *S. andigenum* 1640 (WIR-1434);
5 – *S. andigenum* 1659 (WIR-1426); 6 – *S. andigenum* 1009a (WIR-37494 (69794)); 7 – *S. andigenum* 191c (WIR-38955);
8 – *S. stenotomum* 1319 (WIR-70797); 9 – *S. stenotomum* 1681 (WIR-1552); 10 – *S. stenotomum* 1743 (WIR-1551);
11 – *S. andigenum* 1227 (WIR-37143); 12 – *S. andigenum* 1253 (WIR-37157); 13 – *S. andigenum* 1256 (WIR-37027);
14 – *S. andigenum* 1260 (WIR-37369); 15 – *S. chaucha* 1858a (WIR-70815); 16 – сорт 'Катюша' (WIR-21944);
M – маркер молекулярного веса. Стрелкой указаны диагностические фрагменты А-типа хлДНК.

Fig 2. Detection of cpDNA types in the old (~ 100 years old) herbarium specimens of Andean cultivated potato species

The following markers were used: (A.) A/BamHI; (B.) A494/BamHI

- 1 – water (negative control); 2 – *S. andigenum* 1663b (WIR-1419); 3 – *S. andigenum* 1656 (WIR-1423); 4 – *S. andigenum* 1640 (WIR-1434);
5 – *S. andigenum* 1659 (WIR-1426); 6 – *S. andigenum* 1009a (WIR-37494 (69794)); 7 – *S. andigenum* 191c (WIR-38955);
8 – *S. stenotomum* 1319 (WIR-70797); 9 – *S. stenotomum* 1681 (WIR-1552); 10 – *S. stenotomum* 1743 (WIR-1551);
11 – *S. andigenum* 1227 (WIR-37143); 12 – *S. andigenum* 1253 (WIR-37157); 13 – *S. andigenum* 1256 (WIR-37027);
14 – *S. andigenum* 1260 (WIR-37369); 15 – *S. chaucha* 1858a (WIR-70815); 16 – cultivar 'Katyusha' (WIR-21944);
M – molecular weight standard. The arrow indicates diagnostic fragments of A-type cpDNA

Среди образцов культурного вида *S. andigenum*, длительно хранящихся в гербарии, большая часть (13 из 18) имели А-тип хлДНК, у одного – выявлен S-тип и у одного образца установлен С-тип пластидной ДНК. Один

образец *S. stenotomum* обладал S-типом, оставшиеся три образца имели А-тип хлДНК. У двух изученных образцов *S. chaucha* установлен А-тип хлДНК (см. табл. 5).

Таблица 5. Типы хлДНК у старых (возрастом ~100 лет) гербарных образцов культурных видов картофеля
Table 5. cpDNA types in the old (~100 years old) herbarium specimens of cultivated potato species

	Вид/ Species	Номер образца/ Specimen number	Номер гербарного листа/ Herbarium number	Год гербаризации/ Year of herbarization	Маркер/ Marker						Тип хлДНК/ Type of cpDNA
					H1	S	SAC/ BamHI	A/ BamHI	A22/ BamHI	A494/ BamHI	
1	<i>S. andigenum</i> Juz. et Buk.	44	WIR-38416д	1930	0	0	0	н/а	н/а	+	A
2	"	84	WIR-38381д	1928	0	0	0	н/а	н/а	н/а	A или C
3	"	191с	WIR-38955	1929	0	0	0	н/а	н/а	н/а	A или C
4	"	1009а	WIR-37494 (69794)	1931	0	0	0	н/а	н/а	+	A
5	"	1227	WIR-37143	1931	0	0	0	н/а	н/а	+	A
6	"	1253	WIR-37157	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
7	"	1256	WIR-37027	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
8	"	1260	WIR-37369	1929	0	0	0	н/а	+	+	A
9	"	1306	WIR-37559	1931	0	0	0	н/а	н/а	+	A
10	"	1468а	WIR-37056	1929	0	0	0	+	+	+	A
11	"	1522b	WIR-70774	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
12	"	1525	–	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
13	"	1526	WIR-38661	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
14	"	1536	–	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
15	"	1640	WIR-1434	1929	0	+	0	н/а	н/а	0	S
16	"	1656	WIR-1423	1929	0	0	0	н/а	н/а	н/а	A или C
17	"	1659	WIR-1426	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
18	"	1663b	WIR-1419	1929	0	0	0	н/а	0	0	C
19	<i>S. stenotomum</i> Juz. et Buk.	1319	WIR-70797	1929	0	+	0	0	0	0	S
20	"	1556b	WIR-70732	1929	0	0	0	+	+	+	A
21	"	1681	WIR-1552	1929	0	0	0	н/а	н/а	+	A
22	"	1743	WIR-1551	1929	0	0	0	+	+	+	A
23	<i>S. chaucha</i> Juz. et Buk.	1783	–	1928	0	0	0	н/а	+	+	A
24	"	1858а	WIR-70815	1929	0	0	0	н/а	+	+	A
Контрольный образец с A-типом хлДНК/ Control accession with A-type cpDNA											
25	Сорт/ Cultivar	'Катюша'	WIR-21944	1967	0	0	0	+	+	+	A
Число образцов в выборке из 25 образцов, у которых были выявлены диагностические фрагменты A-типа хлДНК/ The number of samples in the 25-sample set in which diagnostic fragments of type A cpDNA were detected											
					–	–	–	5/25	9/25	22/25	

«+» – наличие диагностического фрагмента; «0» – отсутствие диагностического фрагмента; н/а – нет амплификации с праймерами, детектирующими A-тип хлДНК. Серый фон акцентирует неоднозначность идентификации у трех гербарных образцов: «+» – presence of a diagnostic fragment; «0» – absence of a diagnostic fragment; н/а – no amplification with primers detecting A-type cpDNA. The grey background emphasizes the ambiguity of identification in three herbarium specimens.

Для трех гербарных образцов *S. andigenum* установить тип хлДНК так и не удалось, так как для них не были получены диагностические фрагменты ни с одним из использованных маркеров А-типа хлДНК (А, А22, А494). В данном случае мы уверены, что эти образцы не имеют ни Т-, ни S-типа, поскольку полученные с праймерами Н1 и NTCP6 ампликоны не имели соответствующих делеций 241 пн и 48 пн; кроме того, ампликон, полученный с использованием праймеров SAC, не расщепился рестриктазой BamHI (см. табл. 1); следовательно, у этих образцов может быть или А, или С тип хлДНК (на рисунке 2 обозначены как С/А).

В результате разработки пары праймеров А494, дополняющих набор ПЦР-маркеров К. Hosaka и R. Sanetomo для идентификации разных типов хлДНК культурных видов картофеля (Hosaka, Sanetomo, 2012), появилась возможность привлечения в молекулярно-генетические исследования широких выборок исторических гербарных образцов.

Заключение

Продемонстрирована возможность идентификации А-типа пластидной ДНК у исторических образцов культурных видов картофеля, хранящихся ~100 лет в Гербарии культурных растений мира, их диких родичей и сорных растений (WIR). С использованием новых праймеров А494 диагностические фрагменты ожидаемого размера были получены у 88% изученных гербарных образцов андийских культурных видов. Планируются дальнейшие исследования обширных выборок исторических гербарных образцов картофеля с использованием дополненного набора ПЦР маркеров, детектирующих различные типы хлДНК.

References/Литература

- Ames M., Spooner D.M. DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato. *American Journal of Botany*. 2008;95(2):252-257. DOI: 10.3732/ajb.95.2.252
- Bryan G.J., McNicoll J., Ramsay G., Meyer R.C., De Jong W.S. Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999;99:859-867. DOI: 10.1007/s001220051306
- Bukarov S.M. The cultivated plants of Mexico, Guatemala and Colombia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1930; Suppl. 47:1-307. [in Russian] (Букасов С.М. Возделываемые растения Мексики, Гватемалы и Колумбии. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1930; Приложение 47:1-307).
- Bukarov S.M. The potatoes of South America and their breeding possibilities. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1933; Suppl. 58:1-192. [in Russian] (Букасов С.М. Картофели Южной Америки и их селекционное использование. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1933; Приложение 58:1-192).
- Chukhina I.G., Dorofeyev V.I., Gavrilenko T.A., Krylova E.A., Ovchinnikova A.B. Type specimens of *Solanum* genus section *Petota* Dumort. (Solanaceae) taxa in the N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (WIR) and the V.L. Komarov Botanical Institute (LE): new findings and updates. *Turczaninowia*. 2017;20(2):97-105. [in Russian] (Чухина И.Г., Дорофеев В.И., Гавриленко Т.А., Крылова Е.А., Овчинникова А.Б. Типовые материалы таксонов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* (Solanaceae) Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР, WIR) и Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (БИИ РАН, LE): новые находки и уточнения. *Turczaninowia*. 2017;20(2):97-105). DOI: 10.14258/turczaninowia.20.2.8
- Chukhina I.G., Gavrilenko T.A., Smekalova T.N. Catalogue of the VIR global collection. Issue 833. Nomenclatural types stored in the VIR herbarium: genus *Solanum* L. (family Solanaceae Juss.) St. Petersburg: VIR; 2016. [in Russian] (Чухина И.Г., Гавриленко Т.А., Смекалова Т.Н. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 833. Номенклатурные типы, хранящиеся в гербарии ВИР: род *Solanum* L. (сем. Solanaceae Juss.). Санкт-Петербург: ВИР; 2016).
- Dabney J., Meyer M., Pääbo S. Ancient DNA damage. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013;5(7):a012567. DOI: 10.1101/cshperspect.a012567
- Fomina N.A., Antonova O.Y., Chukhina I.G., Gavrilenko T.A. Herbarium collections in molecular genetic studies. *Turczaninowia*. 2019;22(4):104-118. [in Russian] (Фомина Н.А., Антонова О.Ю., Чухина И.Г., Гавриленко Т.А. Гербарные коллекции в молекулярно-генетических исследованиях. *Turczaninowia*. 2019; 22(4):104-118). DOI: 10.14258/turczaninowia.22.4.12
- Gavrilenko T., Chukhina I., Antonova O., Krylova E., Shipilina L., Oskina N., Kostina L. Comparative analysis of the genetic diversity of Chilean cultivated potato based on a molecular study of authentic herbarium specimens and present-day gene bank accessions. *Plants*. 2023;12(1):174. DOI: 10.3390/plants12010174
- Gavrilenko T.A., Antonova O.Yu., Shuvalova A.R., Krylova E.A., Alpatyeva N.V., Spooner D.M., Novikova L.Yu. 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/s10722013-9968-1
- 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
- GeneBank NCBI, National Center for Biotechnology Information; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/> [accessed Dec. 3, 2024]
- Hosaka K. Who is the mother of the potato? – restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA of cultivated potatoes. *Theoretical and Applied Genetics*. 1986;72(5):606-618. DOI: 10.1007/BF00288998.
- Hosaka K. Successive domestication and evolution of the Andean potatoes as revealed by chloroplast DNA restriction endonuclease analysis. *Theoretical and applied genetics*. 1995;90(3-4):356-363. DOI: 10.1007/BF00221977
- Hosaka K. Distribution of the 241 bp deletion of chloroplast DNA in wild potato species. *American Journal of Potato Research*. 2002;79:119-123. DOI: 10.1007/BF02881520
- Hosaka K. T-type chloroplast DNA in *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* was conferred from some populations of *S. tarijense* Hawkes. *American Journal of Potato Research*. 2003;80:21-32. DOI: 10.1007/BF02854553
- Hosaka K. Evolutionary pathway of T-type Chloroplast DNA in potato. *American Journal of Potato Research*. 2004;81:153-158. DOI: 10.1007/BF02853613
- Hosaka K., Hanneman R.E. The origin of the cultivated tetraploid potato based on chloroplast DNA. *Theoretical and applied genetics*. 1988a;76(2):172-176. DOI: 10.1007/BF00257842
- Hosaka K., Hanneman R.E. Origin of chloroplast DNA diversity in the Andean potatoes. *Theoretical and applied genetics*. 1988b;76(3):333-340. DOI: 10.1007/BF00265332
- Hosaka K., Sanetomo R. Comparative differentiation in mitochondrial and chloroplast DNA among cultivated potatoes and closely related wild species. *Genes and genetic systems*. 2009;84(5):371-378. DOI: 10.1266/ggs.84.371
- 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;125:1237-1251. DOI: 10.1007/s00122-012-1909-4
- Hosaka K., Ogiwara Y., Matsubayashi M., Tsunewaki K. Phylogenetic relationship between the tuberous *Solanum* species as revealed by restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA. *The Japanese Journal of Genetics*. 1984;59:349-369. DOI: 10.1266/jjg.59.349
- Hosaka K., Zoeten G.A., Hanneman R.E. Cultivated potato chloroplast DNA differs from the wild type by one deletion – evidence and implications. *Theoretical and Applied Genetics*. 1988;75:741-745.
- Hughey J.R., Gabrielson P.W. Comment on “Acquiring DNA sequence data from dried archival red algae (Florideophyceae) for the purpose of applying available names to contemporary genetic species: a critical assessment”. *Botany*. 2012;90(12):1191-1194. DOI: 10.1139/b2012-102
- IDT, Integrated DNA Technologies; 2025 [website]. Available from: <https://eu.idtdna.com/calculator/sequence-analyzer> [accessed Aug. 23, 2025]
- Juzepczuk S.W., Bukasov S.M. A contribution to the question of the origin of the potato. In: *Proceedings of the USSR Congress of Genetics, Plant- and Animal-Breeding; 1929 January 10-16*. Leningrad; 1929. Vol. 3. p.593-611. [in Russian] (Юзепчук С.В., Букасов С.М. К вопросу о происхождении картофеля. В кн.: *Труды Всесоюзного съезда по генетике, селекции, семеноводству и племенному животноводству; 10-16 января 1929*. Ленинград; 1929. Т. 3. С.593-611).
- Korovina O.N., Belozor N.I., Chernomorskaya N.M. (comp.). Catalogue of the VIR global collection. Issue 327, Part 2. Catalogue of the types of plant taxa preserved at the VIR Herbarium (Catalogus typorum taxarum plantarum in Herbario VIR conservatorium). O.N. Korovina (ed.). Leningrad: VIR; 1985. [in Russian] (Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 327, ч. 2. Каталог типов таксонов растений, хранящихся в гербарии ВИР/ сост. О.Н. Коровина, Н.И. Белозор, Н.М. Черноморская; под ред. О.Н. Коровиной. Ленинград: ВИР; 1985).
- Krinitsina A.A., Sizova T.V., Zaika M.A., Speranskaya A.S., Sukhorukov A.P. A rapid and cost-effective method for DNA extraction from archival herbarium specimens. *Biochemistry Moscow*. 2015;80:1478-1484. DOI: 10.1134/S0006297915110097
- Lekhnovich V.S. New taxons within the species *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1983;79:45-49. [in Russian] (Лехнович В.С. Новые таксоны внутри вида *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1983;79:45-49).
- Lihodeevskiy G.A., Shanina E.P. The use of long-read sequencing to study the phylogenetic diversity of the potato varieties plastome of the Ural selection. *Agronomy*. 2022;12:846. DOI: 10.3390/agronomy12040846
- Oskina N.A., Gavrilenko T.A., Chukhina I.G. Typification of intraspecific taxa in *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(4):163-173. [in Russian] (Оськина Н.А., Гавриленко Т.А., Чукина И.Г. Типификация внутривидовых таксонов *Solanum andigenum* Juz. et Buk. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(4):163-173). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-163-173
- Ovchinnikova A., Krylova E., Gavrilenko T., Smekalova T., Zhuk M., Knapp S., Spooner D. Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section *Petota*: Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2011;165(2):107-155. DOI: 10.1111/j.1095-8339.2010.01107.x
- Papalini S., Di Vittori V., Pieri A., Allegranza M., Frascarelli G., Nanni L., Bitocchi E., Bellucci E., Gioia T., Pereira L.G., Susek K., Tenaillon M., Neumann K., Papa R. Challenges and opportunities behind the use of herbaria in paleogenomics studies. *Plants*. 2023;12(19):3452. DOI: 10.3390/plants12193452
- Sanetomo R., Gebhardt C. Cytoplasmic genome types of European potatoes and their effects on complex agronomic traits. *BMC Plant Biology*. 2015;15:162. DOI: 10.1186/s12870-015-0545-y
- Särkinen T., Staats M., Richardson J.E., Cowan R.S., Bakker F.T. How to Open the Treasure Chest? Optimising DNA extraction from herbarium specimens. *PLOS ONE*. 2012;7(8):e43808. DOI: 10.1371/journal.pone.0043808
- Spooner D.M., Núñez J., Trujillo G., Del Rosario Herrera M., Guzmán F., Ghislain M. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2007;104(49):19398-19403. DOI: 10.1073/pnas.0709796104
- Sukhotu T., Hosaka K. Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome*. 2006;49(6):636-647. DOI: 10.1139/g06-014
- Sukhotu T., Kamijima O., Hosaka K. Nuclear and chloroplast DNA differentiation in Andean potatoes. *Genome*. 2004;47(1):46-56. DOI: 10.1139/g03-105
- Sukhotu T., Kamijima O., Hosaka K. Genetic diversity of the Andean tetraploid cultivated potato (*Solanum tuberosum* L. subsp. *andigena* Hawkes) evaluated by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome*. 2005;48(1):55-64. DOI: 10.1139/g04-086
- Sukhotu T., Kamijima O., Hosaka K. Chloroplast DNA Variation in the Most Primitive Cultivated Diploid Potato Species *Solanum stenotomum* Juz. et Buk. and its putative wild ancestral species using high-resolution markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2006;53:53-63. DOI: 10.1007/s10722-004-0573-1
- Untergasser A., Nijveen H., Rao X., Bisseling T., Geurts R., Leunissen J.A. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research*. 2007;35(2):71-74. DOI: 10.1093/nar/gkm306

Информация об авторах

Наталья Алексеевна Оськина, научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, n.fomina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4401-4995>

Ольга Юрьевна Антонова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая, лаборатория молекулярной селекции и ДНК-паспортизации, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Татьяна Андреевна Гавриленко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Information about the authors

Natalia A. Oskina, Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, n.fomina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4401-4995>

Olga Yu. Antonova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head, Laboratory of Molecular Breeding and DNA Passportization, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Tatjana A. Gavrilenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Вклад авторов:

Концептуализация – ТАГ

Методология, валидация, исследование – ОЮА, НАО

Написание черновика – все авторы – ТАГ, ОЮА, НАО

Написание – ТАГ

Рецензирование – редактирование – ТАГ

Все авторы прочитали и согласились с данной версией рукописи

Author contribution:

Conceptualization – TAG

Methodology, Validation, Investigation – OYuA, NAO

Writing of the original draft – all the authors: TAG, OYuA, NAO

Writing – TAG

Reviewing – Editing – TAG

All authors have read and approved the current version of the manuscript

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 10.06.2025; одобрена после рецензирования 14.08.2025; принята к публикации 15.09.2025.

The article was submitted on 10.06.2025; approved after reviewing on 14.08.2025; accepted for publication on 15.09.2025.