

УДК 631.529:635.20

**Н. М. Зотеева¹,
Ю. Тарвацка²**

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44
e-mail: zotyeva@rambler.ru

² Институт биохимии и биофизики Польской Академии Наук, Pawinskiego Street 5a, 02-106. Варшава, Польша

Ключевые слова:

картофель, виды, плоидность, скрещиваемость

Поступление:

19.06.2018

Принято:

19.09.2018

**МЕКСИКАНСКИЙ ВИД КАРТОФЕЛЯ
SOLANUM NEOANTIPOVICZII BUK. (= *S.
STOLONIFERUM* SCHLECHTD.) ИЗ
ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СЕРИИ
LONGIPEDICELLATA BUK. ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ**

Актуальность. Основываясь на классификации видов картофеля, опубликованной Д. Хоксом, в мире существует более 200 клубнеобразующих видов рода *Solanum* L. Многие из них обладают ценными свойствами, способными улучшить отдельные признаки у культивируемых сортов. Виды картофеля образуют полный полиплоидный ряд, который варьирует от 24 (диплоиды) до 72 (гексаплоиды) хромосом. Культивируемый вид *Solanum tuberosum* L. является тетраплоидом с числом хромосом $2n = 48$ и EBN (Endosperm Balance Number) = 4. Многие селекционные программы включают межвидовую гибридизацию, однако ряд видов до сих пор еще не использован в селекции. При гибридизации растений картофеля часто возникают трудности. Барьер скрещиваемости существует благодаря различию в числе хромосом и EBN у родительских видов. Актуальность исследования заключается в уточнении уровня плоидности растений образца *S. neoantipoviczii* к-8505, обладающего многими селекционно ценными признаками и его способности скрещиваться с другими видами. **Материал и методы.** Материалом служили образцы диких видов картофеля: *S. neoantipoviczii* Buk. (nan), *S. berthaultii* Hawk. (ber), *S. ruiz-ceballosii* Card. (rzc), *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm. (ktz), *S. papita* Rydb. (pta), *S. phureja* Juz. et Buk. (phu), *S. tuberosum* L. (tub) и оригинальный гибрид *S. microdontum* Bitt. × *S. tarijense* Hawk. (mcd × tar), различающиеся по числу хромосом и EBN (Endosperm Balance Number) и изученные нами ранее по ценным для селекции признакам. Подсчет хромосом производили в метафазах меристематических клеток корней *S. neoantipoviczii*, срезаемых с растений *in vitro*. Скрещивания проводили на декапетированных побегах материнских растений. **Результаты и выводы.** Растения образца *S. neoantipoviczii* к-8505, оказались в основном (87%) тетраплоидными ($4x$, $2n = 48$). Результативными были скрещивания с растениями образцов диких видов *S. berthaultii*, *S. kurtzianum*, *S. papita*, *S. ruiz-ceballosii* и гибрида *S. microdontum* × *S. tarijense*, а также культурных видов *S. phureja* и *S. tuberosum*. Низкое число семян на одну ягоду (12,2) получено только в скрещиваниях с растениями вида *S. kurtzianum* и несколько большее (35,5) — с растениями *S. berthaultii*. В комбинациях скрещиваний с остальными видами их число составило от 50,4 до 106,6. Образец *S. neoantipoviczii* к-8505 может быть успешно использован в межвидовой гибридизации.

N. M. Zoteyeva¹,
Yu. Tarwacka²

¹ N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,
42, 44, Bolshaya Morskaya St.,
St. Petersburg, 190000, Russia,
e-mail: zoteyeva@rambler.ru

² Institute of Biochemistry and Biophysics,
Polish Academy of Sciences, Pawinskiego
St. 5a, 02-106 Warsaw, Poland

Key words:

potato species, ploidy, crossability

Received:

19.06.2018

Accepted:

19.09.2018

THE MEXICAN POTATO SPECIES *SOLANUM NEOANTIPOVICZII* BUK. (= *S. STOLONIFERUM* SCHLECHTD.) FROM THE TAXONOMIC SERIES *LONGIPEDICELLATA* BUK. AND ITS USE IN INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION

Background. There are more than 200 tuber-bearing species in the genus *Solanum* L. Many of them possess valuable traits able to improve some characteristics in present-day potato cultivars. Wild potato species have formed an entire ploidy series ranging from diploid to hexaploid. Many wild species have not yet been used in potato breeding. A barrier exists in crosses due to differences in chromosome numbers and EBN of parental species. In our previous evaluation of the accession *S. neoantipoviczii* Buk. VIR k-8505 was found to be highly resistant to *Phytophthora infestans* and to tree strains of *Potato Virus Y* (PVY) conferring resistance through the gene *Ry_{sto}*. In J. Hawkes's monography this species is mentioned as synonymous to *S. stoloniferum* Schlecht. Russian taxonomist S. M. Bukasov recognized it as an independent species. At the same time D. Correll hypothesized that this species is the hybrid between tetraploid *S. stoloniferum* and diploid *S. verrucosum* Schlecht. We counted the chromosome number in thirty seedlings of the accession *S. neoantipoviczii* k-8505 and studied the crossability of this accession in combinations with several other species. **Material and methods.** The plants of the species: *S. neoantipoviczii* Buk (female parent), original hybrid *S. microdontum* Bitt. × *S. tarijense* Hawk., *S. berthaultii* Hawk., *S. ruiz-ceballosii* Card., *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm., *S. papita* Rydb., *S. phureja* Juz. et Buk. and *S. tuberosum* L. (male parents) differing in chromosome numbers and previously studied for useful traits were included in hybridization. The chromosome counting was performed in meristem root cells, extracted from *in vitro* plants. Hybridization was performed using cut branches of female parents after bud decapitation. **Results and conclusions.** Plants of the accession *S. neoantipoviczii* k-8505 were basically found tetraploid. In the crosses of *S. neoantipoviczii* used as the female parent, seeds were obtained in combinations with the accessions of wild (*S. berthaultii*, *S. kurtzianum*, *S. papita*, *S. ruiz-ceballosii*, hybrid *S. microdontum* × *S. tarijense*) and cultivated (*S. phureja*, *S. tuberosum*) potato species. Low seed numbers were recorded in the crosses with *S. kurtzianum* and *S. berthaultii*. In crosses with the other species, the seed number varied from 50.4 to 106.6.

Введение

Дикие виды картофеля широко используются в селекции. Они несут гены многих ценных признаков, главным образом, устойчивости к болезням и вредителям, а также стрессовым факторам среды. Виды картофеля образуют полный полиплоидный ряд, который варьирует от 24 (диплоиды) до 72 (гексаплоиды) хромосом (Hawkes, 1992, Hijmans et al., 2007). При гибридизации растений картофеля часто возникают трудности (Hermesen, Sawicka 1979; S. Jansky 2006). Барьер для результативной скрещиваемости существует из-за различия в числе хромосом и EBN у родительских видов. При гибридизации с использованием растений ряда диких видов возникают трудности получения гибридных семян и фертильного гибридного потомства. Аллотетраплоидные виды из серии *Longipedicellata* имеют число EBN 2, что приводит к трудностям в получении фертильного потомства от скрещиваний с ними.

В процессе таксономического анализа С. М. Букасовым параллельно с формированием коллекции образцов диких видов картофеля ВИР в конце 20-х годов прошлого столетия было описано несколько форм *Solanum stoloniferum* Schlechtd., среди которых: *S. antipoviczii* Buk., *S. reddickii* Buk., *S. neoantipoviczii* Buk., *S. ajuscoense* Buk., *S. candellarianum* Buk., различающиеся деталями листьев и цветков, в частности, окраской венчика (Букасов, 1972). В последней опубликованной классификации видов картофеля *S. neoantipoviczii* не выделен ни в ранге вида, ни в ранге подвида (= *S. stoloniferum*) (Spooner et al., 2014).

Виды серии *Longipedicellata* являются носителями генов устойчивости к экономически значимым болезням картофеля – фитофторозу и вирусу Y (PVY). Данные из литературы, а также результаты полевого и лабораторного изучения, проведенного нами в разные годы на большом количестве материала, показывают, что растения *S. stoloniferum* обладают высокой устойчивостью листьев к *P. infestans* (Киселев, 1968; Зотеева, 2004; Darsow et al., 2002, Bradshaw et al., 2005). Устойчивость образцов *S. stoloniferum* к PVY, обеспечиваемая геном устойчивости *Ry_{sto}*, установлена многими исследователями (Valkonen, 1997; Kryszczuk et al., 2000). В наших предыдущих исследованиях у образца *S. neoantipoviczii* VIR к-8505 найдена высокая устойчивость к фитофторозу и к трем штаммам вируса картофеля Y (PVY) (Zoteyeva et al., 2012), обусловленная наличием гена *Ry_{sto}* (Zoteyeva et al., 2014) что указывает на его высокую селекционную ценность. Результаты изучения устойчивости к болезням образца *S. neoantipoviczii* к-8505 указывают на его высокую ценность. Этот образец может служить источником устойчивости для усиления у сортов картофеля устойчивости к фитофторозу и вирусу картофеля Y. Способность к скрещиванию растений *S. neoantipoviczii* с другими видами исследована нами впервые. В статье приведены данные изучения образца *S. neoantipoviczii* VIR к-8505 по числу хромосом и способности скрещиваться с растениями других видов с разным числом хромосом и EBN.

Материал и методы

Материалом служили образцы диких видов картофеля: *S. neoantipoviczii* (nan), *S. berthaultii* (ber), *S. ruiz-ceballosii* (rzc), *S. kurtzianum* (ktz), *S. papita* (pta), *S. phureja* (phu), *S. tuberosum* (tub) и оригинальный гибрид *S. microdontum* × *S. tarijense* (mcd × tar), различающиеся по числу хромосом и EBN (Endosperm Balance Number) и изученные нами ранее по ценным для селекции признакам.

Подсчет хромосом производили в метафазах меристематических клеток корней *S. neoantipoviczii*, срезанных с растений *in vitro* на 7–10 день после последнего пассажа. Верхушки корней в течение 3 часов обрабатывали 0,05% водным раствором колхицина для накопления метафазных пластинок и фиксировали свежеприготовленным раствором Карнуа в течение 48 часов при температуре 4°C. Фиксированную ткань выдерживали в течение 50 мин при 37°C в следующем растворе: 1% целлюлоза Onozuka R-10, 1% целлюлоза из *Aspergillus niger* (0,32 единицы/мг, Serva), 20% пектолиаза (0,70 единицы/мг, Serva) и 10 мМ лимонный буфер, pH 4,8. Препараты из раздавленных кончиков корней окрашивали DAPI и просматривали под флуоресцентным микроскопом, оборудованным камерой CCD и программой Analysis 3.0 фирмы Olympus.

Скрещивания проводили на декапетированных побегах материнских растений. Цветки материнских растений подвергали кастрации за 2 дня до опыления. Пыльцу собирали с растений мужских родительских форм. Высушенную пыльцу наносили на рыльца пестиков кастрированных цветков.

Результаты и обсуждение

Вид *S. neoantipoviczii* Buk. был описан С. М. Букасовым (1930) и помещен в таксономическую серию *Longipedicellata* Buk. Этот вид филогенетически тесно связан с тетраплоидным *S. stoloniferum* Schlecht. и в классификации Д. Хокса (Hawkes, 1990) указан как синоним *S. stoloniferum*. В то же время Д. Корелл (Corell, 1962) считает *S. neoantipoviczii* естественным гибридом *S. stoloniferum* с диплоидным *S. verrucosum* Schlecht. В связи с этими разногласиями и получением информации о плоидности данного образца, используемого нами в гибридизации с другими видами, представляется, что исследование числа хромосом у него весьма актуально.

Проведенный подсчет хромосом показал, что растения *S. neoantipoviczii* являются тетраплоидными. Число хромосом, подсчитанное в 30-ти образцах, было неодинаковым, с очевидным преобладанием тетраплоидных растений с 48-ю хромосомами (87% просмотренных метафаз; табл. 1). Типичный образец представлен на рисунке. В четырех метафазах (13%) число хромосом составило 24 и 36 (см. табл. 1).

Таблица 1. Подсчет хромосом в метафазах клеток корневой меристемы у образца мексиканского вида картофеля *Solanum neoantipovichii* Buk.
Table 1. Chromosome counting in root meristem of the Mexican potato species *Solanum neoantipovichii* Buk.

Образец	Исследовано метафазных пластинок [=100%]	Число хромосом	Число метафазных пластинок
<i>S. neoantipoviczii</i> к-8505	30	24	2
		36	2
		46–48	26 [87%]

В результате проведенных скрещиваний с образцами диких видов картофеля получены семена в комбинациях с растениями видов: *S. phureja* Juz. et Buk. 2x, 2n=24, *S. berthaultii* Hawk. 2x, 2EBN, *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm. 2x, 2EBN, *S. papita* Rydb. 4x, 2EBN, *S. ruiz-ceballosii* Card. (2x, 2EBN), *S. tuberosum* (4x, 4EBN), а также оригинальным гибридом *S. microdontum* (2x, 2EBN) × *S. tarijense* (2x, 2EBN). В комбинациях скрещиваний *S. neoantipoviczii* с двумя разными образцами вида

S. kurtzianum отмечено низкое число гибридных семян. Комбинации скрещиваний различались между собой по среднему числу гибридных семян в 1 ягоде – 3,8 у к-12489 и 12,2 у к-12489. Небольшое число семян отмечено также в комбинациях скрещиваний с *S. berthaultii*. В комбинациях с образцами других видов число семян на 1 ягоду было достаточно высоким – от 50,4 до 106,6 (табл. 2).

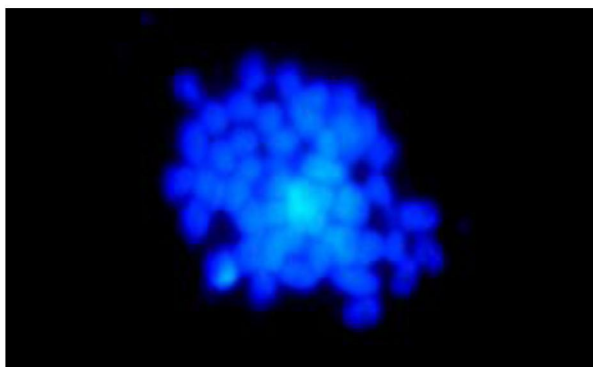


Рисунок. Метафазная пластинка образца мексиканского вида картофеля
Solanum neoantipovichii Buk. (2n = 48)
Figure. Metaphase plate of an accession of the Mexican potato species
Solanum neoantipovichii Buk. (2n = 48)

Таблица 2. Комбинации успешных скрещиваний
Solanum neoantipoviczii с другими видами
Table 2. Combinations of the successful crosses between
Solanum neoantipoviczii and other species

♀	Плоидность, EBN	♂	Плоидность, EBN	Число опыленных цветков	Среднее число семян на 1 ягоду
nan*	4x, 2EBN	ber	2x, 2EBN	15	35,5
nan	4x, 2EBN	ktz к-12488	2x, 2EBN	15	12,2
nan	4x, 2EBN	ktz к-12489	2x, 2EBN	10	3,8
nan	4x, 2EBN	pta	4x, 2EBN	20	101
nan	4x, 2EBN	rcb	2x, 2EBN	15	74,7
nan	4x, 2EBN	phu	2x, 2EBN	15	68,0
nan	4x, 2EBN	tub	4x, 4EBN	12	106,6
nan	4x, 2EBN	(mcd × tar)	2x, 2EBN × 2x, 2EBN	10	50,4

*Аббревиатура видов картофеля: nan = *S. neoantipoviczii*, ber = *S. berthaultii*, mcd = *S. microdontum*, tar = *S. tarijense*, rzc = *S. ruiz-ceballosii*, ktz = *S. kurtzianum*, pta = *S. papita*, phu = *S. phureja*, tub = *S. tuberosum*.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что скрещивания растений *S. neoantipoviczii* могут быть результативными как в комбинациях с диплоидными (*S. phureja*, *S. berthaultii*, *S. kurtzianum*, *S. ruiz-ceballosii*, *S. microdontum* × *S. tarijense*), так и тетраплоидными (*S. tuberosum*, *S. papita*) видами, обладающими различной плоидностью и числом EBN.

Работа выполнена при частичной поддержке в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИА по теме № 0662-2018-0010 «Создание форм, линий, генетических источников и доноров новых эффективных генов и полигенов, контролируемых хозяйственно ценные признаки, а также выведение

сорт нового поколения с надежной генетической защитой от вредоносных болезней и вредителей, высокой продуктивностью и качеством продукции», номер государственной регистрации ЕГИСУ НИОКР АААА-А16-116040710365-6.

References/Литература

- Bukasov S. M. The cultivated plants of Mexico, Guatemala and Colombia // Supplement 47-th to the Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant Breeding, 1930, 307 p. [in Russian] (Букасов С. М. Возделываемые растения Мексики Гватемалы и Колумбии // Приложение 47 к Тр. по прикладной бот., ген. и сел. 1930. 307 с.).
- Bukasov S. M., Kateraz A. Ya. In book "Potato breeding and seed science" // L., "Kolos" ed., 1972, 358 pp. [in Russian] (Букасов С. М., Камераз А. Я. // В кн. Селекция и семеноводство картофеля. Л. : изд. «Колос», 1972, 358 с.).
- Kiselev I. I. Selection of basic material for late blight race specific potato breeding // Ph.D Thesis, Leningrad, VIR, 1968, 20 p. [in Russian] (Киселев И. И. Выделение исходного материала для селекции картофеля на устойчивость к специализированным расам фитофторы : автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. Л. : ВИР, 1968, 20 с.).
- Zoteyeva N. M., Chrzanowska M., Evstratova L. P., Fasulati S. R., Yusupov T. M. Resistance of wild potato species accessions to diseases and pests // Catalogue of world VIR's collection, St. Petersburg : VIR, 2004, iss. 761, 88 p. [in Russian] (Зотеева Н. М., Хжановска М., Евстратова Л. П., Фасулати С. Р., Юсупов Т. М. Устойчивость образцов диких видов картофеля к болезням и вредителям // Каталог мировой коллекции ВИР. СПб. : ВИР. 2004. Вып. 761. 88 с.).
- Correll D. S. The potato and its wild relatives // Contributions from the Texas Research Foundation, Botanical Studies, 1962, pp. 1–606.
- Bradshaw John E., Ramsay Gavin. Utilisation of the Commonwealth Potato Collection in potato breeding // Euphytica, 2005, vol. 146, pp. 9–19
- Darsow U. Systematic prebreeding of potato for late blight resistance on tetraploid and diploid level // In: Abstr. 15h Trien. Conf. EAPR, Hamburg, Germany, 14-19 July, 2002, pp. 116.
- Douche, D. S., Maas D., Jastrzebski K. R., Chase R. W. Assessment of potato breeding programs in the USA over the last century // Crop Sci., 1996, vol. 36, pp. 1544–1552.
- Hawkes J. G. The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources // Belhaven Press, Oxford, 1990, 259 p.
- Hermesen J. G., E. Sawicka. Incompability and incongruity in tuber-bearing *Solanum* species // In: J. C. Jellis and D. E. Richardson (Eds.), The Production of New Potato Varieties: Technological advances, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1979, pp. 172–185.
- Jansky S. Overcoming hybridization barriers in potato // Review Plant Breeding, 2006, vol. 125, pp. 1–12.
- Kryszczuk A., Pakosinska M., Zoteyeva N., Lebecka R., Zimnoch-Guzowska E., Chrzanowska M. Resistance to PVX and PVY in 49 accessions of 15 wild *Solanum* species from the VIR potato collection in St. Petersburg // EUCARPIA, Section Potatoes. Warsaw, Poland, July 3-7, 2000, p. 32.
- Scurrah M., Gamboa C., Chumbiauca C., Salas A., Visser R. G. F. Hybridization between wild and cultivated potato species in the Peruvian Andes and biosafety implications for deployment of GM potatoes // Euphytica, 2008, vol. 164, pp. 881–892 DOI 10.1007/s10681-007-9641-x.
- Spooner D. M., Ghislain M., Simon R., Jansky S. H., Gavrilenko T. Systematics, Diversity, Genetics, and Evolution of Wild and Cultivated Potatoes // Bot. Rev., 2014, vol. 80, pp. 283–383. DOI: 10.1007/s12229-014-9146-y.
- Valkonen J. Novel resistances to four potyviruses in tuber-bearing potato species, and temperature-sensitive expression of hypersensitive resistance to potato virus // Annals of Applied Biology, 1997, vol. 130, pp. 91–104.
- Zoteyeva Nadezhda, Mirosława Chrzanowska, Bogdan Flis, Ewa Zimnoch-Guzowska. Resistance to Pathogens of the Potato Accessions from the Collection of N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR) // American Journal of Potato Research, 2012, vol. 89, pp. 277–293.
- Zoteyeva Nadezhda, Ieva Mezaka, Daiga Vilcāne, Ulrika Carlson-Nilsson, Ilze Skrabule, Nils Rostoks. Assessment of genes *R1* and *R3* conferring resistance to late blight and of gene *R_{Yst}* conferring resistance to Potato Virus Y in two wild species accessions and their hybrid progenies // Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B, 2014, vol. 68, pp. 133–141. DOI: 10.2478/prolas-2014 - 0015.