

Дикие родичи и межвидовые гибриды картофеля – исходный материал для селекции на устойчивость к золотистой нематоде

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-173-184



УДК 635.21: 631.522/.524

Поступление/Received: 26.08.2020

Принято/Accepted: 23.12.2020

Н. В. МИРОНЕНКО^{1,2*}, Е. В. РОГОЗИНА³, А. А. ГУРИНА³,
А. В. ХЮТТИ^{1,2}, Н. А. ЧАЛАЯ³, О. С. АФАНАСЕНКО^{1,2}

Wild relatives and interspecific hybrids of potato as source materials in breeding for resistance to golden nematode

N. V. MIRONENKO^{1,2*}, E. V. ROGOZINA³, A. A. GURINA³,
A. V. KHIUTTI^{1,2}, N. A. CHALAYA³, O. S. AFANASENKO^{1,2}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского Отделения РАН, 630090 Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, *✉ nina2601mir@mail.ru

³Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44 ✉ rogozinaelena@gmail.com

¹All-Russian Research Institute of Plant Protection, 3 Shosse Podbelskogo, Pushkin, St. Petersburg 196608, Russia

²Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the RAS, 10 Lavrentyeva Ave., Novosibirsk 630090, Russia *✉ nina2601mir@mail.ru

³N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia ✉ rogozinaelena@gmail.com

Актуальность. Использование в селекции картофеля преимущественно генов *H1* и *Gro1-4* устойчивости к золотистой картофельной нематоде (ЗКН) свидетельствует о необходимости расширения генетического разнообразия устойчивости к этому патогену. **Материалы и методы.** Материалом служили 34 генотипа диких видов картофеля северо- и южноамериканского происхождения, 14 межвидовых гибридов и 10 сортов. Для оценки образцов на устойчивость к ЗКН, патотипу Ro1, использовали фитопатологический тест и молекулярный скрининг на маркера генов *H1* и *Gro1-4*. Продукты амплификации маркера гена *Gro1-4* секвенировали. **Результаты.** Из 34 образцов два генотипа *Solanum brachystotrichum* (Bitt.) Rydb., четыре *S. lesteri* Hawkes et Hjerting и один *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm. оказались восприимчивы к ЗКН, остальные были высоко- и среднеустойчивы (HR и MR). Детерминация устойчивости у 13 генотипов южноамериканских видов *S. alandiae* Cárđ., *S. × doddsii* Corr., *S. kurtzianum*, *S. leptophyes* Bitt. и *S. yungasense* Hawkes обусловлена геном *Gro1-4*. У остальных 14 генотипов предполагается наличие генов устойчивости, неидентичных генам *H1* и *Gro1-4*. Гибриды *S. tuberosum* L. с устойчивыми к ЗКН образцами диких видов *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. sparsipilum* (Bitt.) Juz. et Buk., *S. alandiae* и *S. × doddsii* унаследовали признак устойчивости к нематоде, генетическая детерминация которого обусловлена либо геном *Gro1-4*, либо отличными от *H1* и *Gro1-4* генами. Секвенирование участка гена *Gro1-4* показало, что изменения в структуре этого участка по сравнению с референсной последовательностью не оказало влияния на выраженность признака устойчивости. **Заключение.** Впервые найдены источники устойчивости к ЗКН среди североамериканских видов *S. brachystotrichum* (к-23201) и *S. lesteri* (к-24475). Среди диких южноамериканских видов *Solanum* выявлены источники, устойчивость которых детерминирована отличными от *H1* и *Gro1-4* генами. Устойчивые межвидовые гибриды могут являться донорами гена устойчивости *Gro1-4* и новых генов устойчивости.

Ключевые слова: *Solanum* spp., сорта, маркеры генов *H1* и *Gro1-4*, секвенирование маркера *Gro1-4*.

Background. Predominant use of the *H1* and *Gro1-4* genes of resistance to golden nematode (PGN) in potato breeding requires widening the gene pool of resistance to this pathogen. **Materials and methods.** Thirty-four genotypes of wild potatoes from North and South Americas, 14 interspecific hybrids, and 10 Russian potato cultivars were studied for PGN resistance. Screening for resistance to PGN pathotype Ro1 and molecular screening for the presence of *H1* and *Gro1-4* gene markers were performed. Amplification products of the *Gro1-4* gene marker were sequenced. **Results.** Only seven among the studied 34 potato genotypes (two of *S. brachystotrichum* (Bitt.) Rydb., four of *S. lesteri* Hawkes et Hjerting, and one of *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm.) were susceptible to PGN, while the rest demonstrated high or medium resistance. Molecular screening for the presence of *H1* and *Gro1-4* gene markers allowed us to identify *Gro1-4* in 13 South American genotypes of *S. alandiae* Cárđ., *S. × doddsii* Corr., *S. kurtzianum*, *S. leptophyes* Bitt., and *S. yungasense* Hawkes. The remaining 14 genotypes may supposedly contain resistance genes non-identical to *H1* or *Gro1-4*. Hybrids of *S. tuberosum* L. with medium-resistant wild accessions of *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. sparsipilum* (Bitt.) Juz. et Buk., *S. alandiae*, and *S. × doddsii* inherited PGN resistance determined either by the *Gro1-4* gene or genes non-identical to *H1* or *Gro1-4*. Sequencing a fragment of the *Gro1-4* gene showed that changes in the structure of this fragment in orthologous genes did not affect the feature of resistance to PGN pathotype Ro1. **Conclusion.** For the first time, sources of resistance to PGN were found among the North American species *S. brachystotrichum* (k-23201) and *S. lesteri* (k-24475). Among the wild South American *Solanum* spp., sources of resistance determined by genes different from *H1* or *Gro1-4* were identified. Resistant interspecific hybrids can serve as donors of the *Gro1-4* resistance gene or new resistance genes.

Key words: *Solanum* spp., cultivars, *H1* and *Gro1-4* gene markers, *Gro1-4* marker sequencing.

Введение

Золотистая картофельная нематода (ЗКН) *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens является опасным вредителем картофеля во всем мире и относится к видам внешнего и внутреннего карантина, вызывающим потери урожая более чем 80% (Normes OEPP / EPP0 Standards, 2017). Карантинные мероприятия и возделывание устойчивых сортов являются сдерживающими факторами распространения этого паразита. Наиболее эффективным методом контроля является возделывание устойчивых сортов (Rousselle-Bourgeois, Mugniéry, 1995). Большинство сортов картофеля (55,8%), внесенных в Госреестр селекционных достижений, обладают устойчивостью к патотипам Ro1 и Ro4 *G. rostochiensis* (Mironenko et al., 2020). Эта устойчивость в большинстве случаев детерминирована генами *H1* и *Gro1-4* (Antonova et al., 2016; Gavrilenko et al., 2018). По данным молекулярного скрининга, среди отечественных сортов значительно преобладают сорта, защищенные геном *H1* (Klimentko et al., 2017). Ген *H1* с момента своего открытия в 1952 г. был успешно передан от *Solanum tuberosum* L. subsp. *andigena* L. (Juz. & Bukasov) Hawkes во многие коммерческие сорта, обеспечивая до настоящего времени устойчивость к наиболее распространенным патотипам Ro1 и Ro4 ЗКН (Bakker et al., 2004; Khiutti et al., 2017). Однако длительное возделывание сортов, защищенных одним геном устойчивости, создает условия адаптивной эволюции патогена и неизбежно приводит к потере устойчивости. Появление патотипов ЗКН, способных поражать сорта картофеля, защищенные геном *H1*, было отмечено в США в 1995–1996 гг. (Brodie, 1995, 1996) и Польше в 2013 г. (Przetakiewicz, 2013, 2017).

Известно, что центром генетического разнообразия видов секции *Petota* Dumort. (или видов картофеля) рода *Solanum* L. является регион Центральных Анд Южной Америки, где существует длительная коэволюция патогенов и их хозяев. На территории Перу и Боливии находится центр возникновения и распространения цистообразующих (золотистой и бледной) нематод (Sosa-Moss, 1987; Plantard et al., 2008). Второй генцентр разнообразия диких родичей картофеля находится в Северной Америке на территории Мексики (Hawkes, 1990). Полагают, что появление золотистой нематоды в странах Центральной и Северной Америки, в том числе и в Мексике, является результатом распространения инфекции с семенным картофелем (Sosa-Moss, 1987). Традиционно поиск источников новых генов устойчивости к патогену проводят в центрах видового и генетического разнообразия возделываемых растений и их дикорастущих родичей. Скрининг дикорастущих и культурных видов рода *Solanum* по устойчивости к разным видам цистообразующих нематод проведен на образцах из коллекций генных банков России, США, Великобритании, Германии и Нидерландов. Устойчивость к разным патотипам ЗКН обнаружена у образцов южноамериканских диких видов картофеля *S. acaule* Bitt., *S. alandiae* Cárđ., *S. berthaultii* Hawkes, *S. brevicaulis* Bitt., *S. × doddsii* Corr., *S. gourlayi* Hawkes, *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm., *S. leptophyes* Bitt., *S. megistacrolobum* Bitt., *S. microdontum* Bitt., *S. mochiquense* Ochoa, *S. multidissectum* Hawkes, *S. neocardenasii* Hawkes et Hjerting, *S. okadae* Hawkes et Hjerting, *S. oplocense* Hawkes, *S. pampasense* Hawkes, *S. raphanifolium* Cárđ. et Hawkes, *S. sparsipilum* (Bitt.) Juz. et Buk., *S. spegazzinii* Bitt., *S. × sucrense* Hawkes, *S. vernei* Bitt. et Wittm. (Castelli et al., 2003; Dalamu et al.

2012). Новые источники устойчивости к ЗКН были выявлены также среди образцов североамериканских диких видов картофеля, таких как *S. trifidum* Corr., *S. × semidemissum* Juz., *S. schenkii* Bitt., *S. brachycarpum* Corr. (Castelli et al., 2003). Коллекция картофеля ВИР представляет разнообразие возделываемого картофеля и его дикорастущих сороричей (Kiru, Rogozina, 2017). Этот генфонд является неисчерпаемым ресурсом для проведения фундаментальных и прикладных научных исследований, в том числе для решения вопросов продовольственной безопасности России и всего человечества. На основе коллекционных образцов диких южноамериканских *Solanum* spp. в ВИР созданы гибриды с *S. tuberosum*, в том числе уникальные, в родословной которых присутствуют виды, впервые вовлеченные в селекцию (Rogozina et al., 2008; Rogozina et al., 2012). Однако генетическая природа устойчивости выделенных форм *Solanum* spp. и межвидовых гибридов малоизучена. Вследствие этого выявление источников известных и новых генов устойчивости к ЗКН среди образцов диких видов и межвидовых гибридов картофеля из коллекции ВИР является актуальной задачей исследований.

Цель данной работы – охарактеризовать устойчивость к ЗКН образцов диких видов и межвидовых гибридов картофеля из коллекции ВИР и с помощью молекулярных маркеров известных генов определить генетическую природу устойчивости к ЗКН.

Материалы и методы

Материалом исследования являлись образцы клоновой коллекции картофеля ВИР: дикорастущие клубнеобразующие виды *Solanum* (34 генотипа), межвидовые гибриды F1 (14 генотипов) и три дигиплоиды сортов *S. tuberosum*: Apta, Delos и Kardula (2n = 24), использованные в качестве материнских форм при получении гибридов F1 (табл. 1). Исследованные генотипы дикорастущих видов получены из семян коллекционных образцов и сохраняются в виде клонов путем получения клубней у оранжерейных растений. Исследованы растения южноамериканских видов *S. alandiae* (4 генотипа), *S. × doddsii* (7), *S. kurtzianum* (5), *S. leptophyes* (1), *S. sparsipilum* (1), *S. spegazzinii* (1), *S. yungasense* Hawkes (2), а также североамериканских – *S. bulbocastanum* Dun. (5), *S. brachystotrichum* (3), *S. lesteri* (5). Межвидовые гибриды F1 отобраны в потомстве скрещивания дигиплоидных сортов картофеля с устойчивыми к ЗКН генотипами диких видов *S. alandiae*, *S. × doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. leptophyes* и *S. sparsipilum*, выделенными в результате ранее проведенных исследований (Rogozina et al., 2008; Chalaya et al., 2012).

В анализ были добавлены пять сортов как стандарты на устойчивость и восприимчивость к патотипу Ro1 ЗКН (см. табл. 1) и 15 сортов, в том числе новые, российской селекции, устойчивые к ЗКН по данным Госреестра (State Register..., 2020): 'Гулливёр' (включен в Госреестр в 2018), 'Вираж' (2018), 'Танай' (2011), 'Сафó' (2009), 'Юна' (2013), 'Юбилей' (2009), 'Кумач' (2019), 'Гранд' (2016), 'Северное сияние' (2018) и 'Садон' (2020) (см. табл. 1). Контролем восприимчивости в фитопатологическом тесте являлись сорта 'Désirée' (к-19544) и 'Невский' (к-10736). Контролем устойчивости служили сорта 'Red Scarlett' (к-12096), 'Найда' (к-12157) и 'Сударыня' (к-12206).

Оценка на устойчивость к ЗКН. Оценку на устойчивость образцов картофеля к *G. rostochiensis* проводили по

Таблица 1. Материал исследования

Table 1. Research material

Группа генофонда / Gene pool group	Вид, сорт или гибрид / Species, cultivar or hybrid	Число генотипов (номер коллекционного образца по каталогу ВИР) / Number of genotypes (accession number accord- ing to the VIR catalogue)
Виды картофеля из Северной Америки серий: / Potato species from North America, series:		
Pinnatisecta*	<i>S. brachystotrichum</i>	3 (к-21254, к-23197, к-23201)
Bulbocastana	<i>S. bulbocastanum</i>	5 (24866, к-24868)
Polyadenia	<i>S. lesteri</i>	5 (к-24475)
Виды картофеля из Южной Америки серий: / Potato species from South America, series:		
Tuberosa	<i>S. alandiae</i>	4 (к-19443, к-20408, к-21240)
	<i>S. × doddsii</i>	7 (к-19817, к-20704, к-20709)
	<i>S. kurtzianum</i>	5 (к-16862, к-19289, к- 20038, к-20041)
	<i>S. leptophyes</i>	1 (к-5764)
	<i>S. sparsipilum</i>	1 (к-20700)
	<i>S. spgazzinii</i>	1 (к-20101)
Yungasensa	<i>S. yungasense</i>	2 (к-2820)
Межвидовые гибриды F1 / Interspecific F1 hybrids	Apta × <i>S. sparsipilum</i>	1
	Delos × <i>S. alandiae</i>	3
	Delos × <i>S. × doddsii</i>	2
	Kardula × <i>S. kurtzianum</i>	3
	Kardula × <i>S. leptophyes</i>	5
Дигамплоиды (2n) – родители гибридных популяций; сорта (4n) стандарты восприимчивости и устойчивости / Dihaploids (2n) are the parents of hybrid populations; cultivars (4n) are re- ference standards of susceptibility and re- sistance	Apta (2n)	1
	Kardula (2n)	1 (к-12066)
	Delos (2n)	1
	Désirée (4n) стандарт восприимчивости / susceptibility standard	1 (к-19544)
	Невский (4n) стандарт восприимчивости / susceptibility standard	1 (к-10736)
	Сударыня (4n) стандарт устойчивости / resistance standard	1 (к-12206)
	Наяда (4n) стандарт устойчивости / resistance standard	1 (к-12157)
	Red Scarlett (4n) стандарт устойчивости / resistance stan- dard	1 (к-12096)
Сорта российской селекции, зарегистрированные в Госреестре селекционных достижений: Кумач, Гранд, Гулливер, Садон, Виразж, Танай, Юна, Сафо, Северное сияние, Юбиляр / Russian cultivars registered in the State Register for Selection Achievements: Kumach, Grand, Gulliver, Sadon, Virazh, Tanay, Yuna, Safo, Severnoye siyaniye, Yubilyar		

* – по системе Дж. Хокса (Hawkes, 1990)

* – according to J. Hawkes' system (1990)

известной методике (Yakovleva, Dolyagina, 1993) с небольшими модификациями. Растения выращивали в пластиковых горшках объемом 500 см³, наполовину наполненных почвой (по одному клубню в каждый горшок).

В каждый горшок вносили суспензию инокулюма ЗКН в концентрации 3500 яиц и личинок на 100 см³ почвы из размноженной популяции, собранной в Ленинградской области и типированной до патотипа Ro1 (Liantseva et al., 2014). После инокуляции клубней дополнительно досыпали почву до верха горшка. Горшки оставляли в контролируемых условиях при температуре 22°C. Образцы и сорта картофеля высаживали в пятикратной повторности и двукратной биологической. Учет результатов заражения проводили через три месяца, достаточный период для развития цист ЗКН. Оценка результатов заражения проводили по числу образовавшихся цист на видимых участках корней на коме почвы. Отсутствие цист свидетельствовало о высокой устойчивости (HR). На некоторых образцах мы наблюдали образование меньших по размеру и более удлиненных пустых цист (1–5 штук), в связи с чем эти генотипы были оценены нами как среднеустойчивые (MR). Наличие цист (1 и более), заполненных яйцами и личинками, соответствовало восприимчивости (S).

Молекулярный скрининг проведен с использованием ДНК-маркеров гена *H1*, детерминирующего устойчивость к патотипам Ro1/Ro4 ЗКН, и гена *Gro1-4*, контролирующего устойчивость к патотипу Ro1 ЗКН. Использован ДНК-маркер *Gro1-4* гена *Gro1-4* и маркеры 57R

и TG689 гена *H1*. Праймеры и условия ПЦР приведены в оригинальных работах (Gebhardt et al., 2006; Schultz et al., 2012; Milczarek et al., 2011).

Продукты ПЦР визуализировали в 1,7-процентном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, и документировали в системе BioDocII (Biometra GmbH, Германия).

Продукты амплификации маркера гена *Gro1-4* секвенировали с использованием тех же праймеров в фирме «Бигль» на платформе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, США). Для выявления консенсусной последовательности секвенируемого фрагмента гена использовали программу DNA Baser Assembler. Для множественного выравнивания как нуклеотидных, так и аминокислотных последовательностей использовали программу ClustalW (Thompson et al., 1994). Визуализацию выравнивания производили при помощи SnapGene Viewer 5.1.5. В качестве референсной использовали последовательность мРНК *S. tuberosum* из базы данных GenBank NCBI AY196151.1.

Результаты

Фитопатологический и молекулярный анализ устойчивости к золотистой картофельной нематоды (ЗКН) образцов диких видов и сортов

Характеристика диких видов и сортов картофеля по устойчивости к патотипу Ro1 ЗКН и наличию маркеров генов устойчивости представлена в таблице 2.

Таблица 2. Молекулярная и фитопатологическая характеристика образцов диких видов и сортов картофеля по устойчивости к золотистой нематоды, патотипу Ro1

Table 2. Molecular and phytopathological characteristics of wild potato species and cultivar accessions according to their resistance to golden nematode, pathotype Ro1

Название вида, сорта / Name of the species or cultivar	Номер образца по каталогу ВИР (генотип) /Accession number according to the VIR catalogue (genotype)	Маркеры гена / Genetic markers			Группа устойчивости / Resistance group
		<i>H1</i>		<i>Gro1-4</i>	
		57R	TG689	Gro1-4	
Североамериканские виды / North American species					
<i>S. brachystotrichum</i>	21254 (223-2018)	1	0	0	S
<i>S. brachystotrichum</i>	23197 (224-2018)	1	0	0	S
<i>S. brachystotrichum</i>	23201 (226-2018)	1	0	0	HR
<i>S. bulbocastanum</i>	24866 (300-2018)	0	0	0	HR
<i>S. bulbocastanum</i>	24868 (301-2018)	0	0	0	HR.
<i>S. bulbocastanum</i>	24868 (302-2018)	0	0	0	HR
<i>S. bulbocastanum</i>	24868 (303-2018)	0	0	0	HR
<i>S. bulbocastanum</i>	24868 (304-2018)	0	0	0	HR
<i>S. lesteri</i>	24475 (208-2018)	0	0	0	S
<i>S. lesteri</i>	24475 (209-2018)	0	0	0	HR
<i>S. lesteri</i>	24475 (212-2018)	0	0	0	S
<i>S. lesteri</i>	24475 (213-2018)	0	0	0	S
<i>S. lesteri</i>	24475 (214-2018)	0	0	0	S
Южноамериканские виды / South American species					
<i>S. alandiae</i>	19443 (305-2018)	0	0	1*	HR
<i>S. alandiae</i>	20408 (306-2018)	0	0	1	HR

Таблица 2. Продолжение
Table 2. Continued

Название вида, сорта / Name of the species or cultivar	Номер образца по каталогу ВИР (генотип) /Accession number according to the VIR catalogue (genotype)	Маркеры гена / Genetic markers			Группа устойчивости / Resistance group
		H1		Gro1-4	
		57R	TG689	Gro1-4	
<i>S. alandiae</i>	21240 (307-2018)	0	0	1*	HR
<i>S. alandiae</i>	21240 (308-2018)	0	0	0	MR
<i>S. × doddsii</i>	19817 (309-2018)	0	0	1*	HR
<i>S. × doddsii</i>	19817 (310-2018)	0	0	1	HR
<i>S. × doddsii</i>	19817 (311-2018)	0	0	1*	HR
<i>S. × doddsii</i>	19817 (312-2018)	0	0	1*	HR
<i>S. × doddsii</i>	20709 (314-2018)	0	0	0	HR
<i>S. × doddsii</i>	20704 (43-2018)	0	0	0	HR
<i>S. × doddsii</i>	20704 (44-2018)	0	0	0	MR
<i>S. kurtzianum</i>	16862 (58-2018)	0	0	0	S
<i>S. kurtzianum</i>	19289 (61-2018)	0	0	0	MR
<i>S. kurtzianum</i>	20038 (324-2018)	0	0	1	HR
<i>S. kurtzianum</i>	20038 (325-2018)	0	0	1	HR
<i>S. kurtzianum</i>	20041 (326-2018)	0	0	1	HR
<i>S. leptophyes</i>	5764 (356-2019)	0	0	1	HR
<i>S. sparsipilum</i>	20700 (328-2018)	0	0	0	HR
<i>S. spgazzinii</i>	20101 (28-2018)	0	0	0	MR
<i>S. yungasense</i>	2820 (332-2018)	0	0	1	HR
<i>S. yungasense</i>	2820 (333-2018)	0	0	1	HR
Сорта / Cultivars					
Наяда / Nayada	12157	1	1	0	HR
Сударыня / Sudarynya	12206	1	1	1*	HR
Red Scarlett	12096	–	–	–	HR
Невский / Nevsky	10736	0	0	0	S
Désirée	19544	0	0	0	S
Гулливер / Gulliver	25455	0	–	0	R**
Вираз / Virazh	25454	1	–	0	R**
Танай / Tanay	25140	1	–	0	R**
Сафо / Safo	25460	0	–	0	R**
Юна / Yuna	25462	1	–	0	R**
Кумач / Kumach	–	1	–	1	R**
Гранд / Grand	25435	1	–	1	R**
Садон / Sadon	–	1	–	1	R**
Северное сияние / Severnoye siyaniye	–	0	–	0	R**
Юбиляр / Yubilyar	24627	1	–	0	R**

Примечание: HR – отсутствие цист, высокая устойчивость; MR – наличие пустых цист от 1 до 5; S – наличие цист с яйцами и личинками (1 и более)

* – продукты амплификации секвенированы;

** – данные по устойчивости взяты из Государственного реестра селекционных достижений, допущенных к использованию; «–» – нет данных

Note: HR means no cysts, high resistance; MR means the presence of empty cysts from 1 to 5; S means the presence of cysts with eggs and larvae (1 or more)

* amplification products are sequenced;

** data on resistance were taken from the State Register for Selection Achievements Admitted for Usage; “–” means no data

В клоновой коллекции дикорастущих видов картофеля ВИР из 34 генотипов выявлены семь восприимчивых (из двух образцов *S. brachystotrichum*, четырех *S. lesteri* и одного *S. kurtzianum*); остальные отнесены к высокоустойчивым и среднеустойчивым к ЗКН. На сортах 'Невский' и 'Désirée', используемых в качестве контроля восприимчивости, число образовавшихся цист составляло более 100 на растение. Изученные 14 устойчивых сортов, а также стандарты устойчивости – сорта 'Red Scarlett', 'Наяда' и 'Сударыня' не имели цист на корнях растений (см. табл. 2).

Образцы из североамериканского центра происхождения были представлены как устойчивыми, так и восприимчивыми генотипами: два восприимчивых среди трех генотипов *S. brachystotrichum* (получены из семян коллекционных образцов к-21254, к-23197, к-23201) и четыре из пяти изученных генотипов *S. lesteri* (образец к-24475).

Среди южноамериканских видов картофеля выделен только один восприимчивый генотип, остальные генотипы были высоко- и среднеустойчивыми к ЗКН (см. табл. 2).

Проведен скрининг образцов диких видов на присутствие генов устойчивости к патотипу Ro1 ЗКН с использованием маркеров генов *H1* и *Gro1-4*. Диагностический фрагмент 452 п.о. маркера 57R гена *H1* выявлен у трех генотипов вида *S. brachystotrichum*. Диагностический фрагмент маркера TG689 гена *H1* не обнаружен в анализируемых образцах (см. табл. 2).

Маркер *Gro1-4* гена *Gro1-4* не выявлен в североамериканских образцах, но обнаружен у 13 генотипов южноамериканских видов: *S. alandiae* (3), *S. × doddsii* (4), *S. kurtzianum* (3), *S. leptophyes* (1), *S. yungasense* (2) (см. табл. 2). Пример результатов амплификации образцов диких видов с маркером *Gro1-4* приведен на рисунке 1.

Из 10 сортов российской селекции, устойчивых к ЗКН по данным Госреестра, у трех сортов: 'Кумач', 'Гранд' (к-25435), 'Садон' найдены маркеры к обоим генам: *Gro1-4* и *H1*. У четырех сортов – 'Виразж' (к-25454), 'Танай' (к-25140), 'Юна' (к-25462), 'Юбиляр' (к-24627) – найден только маркер 57R гена *H1*. У сортов 'Сафо' (к-25460), 'Северное сияние' и 'Гулливер' (к-25455) маркеры 57R и *Gro1-4* не обнаружены.

Фитопатологический и молекулярный анализ устойчивости межвидовых гибридов к золотистой картофельной нематодe (ЗКН)

Характеристика родительских форм и гибридов картофеля по устойчивости к патотипу Ro1 ЗКН и наличию маркеров генов устойчивости представлена в таблице 3.

На корнях растений дигаплоидов Apta, Kardula и Delos, являющихся родительскими компонентами межвидовых гибридов картофеля, обнаружено в среднем по двум биологическим повторностям 31, 15 и 50 цист на растение соответственно, что подтверждает их восприимчивость к ЗКН.

Среди 14 генотипов межвидовых гибридов F1 выявлено семь высокоустойчивых (HR), шесть среднеустойчивых (MR), у которых на корнях образовались по 2-3 пустых цисты, и один восприимчивый генотип (на корнях растений в среднем 34 цисты на растение). Высокоустойчивые генотипы (HR) получены в комбинациях Kardula × *S. leptophyes* к-5764, Kardula × *S. kurtzianum* к-20041 и Apta × *S. sparsipilum* к-20700. В комбинациях с участием в качестве восприимчивого родителя дигаплоида Delos на корнях гибридных растений образовались по 2-5 пустых цист (MR), тогда как у устойчивых родительских компонентов скрещиваний цисты не об-

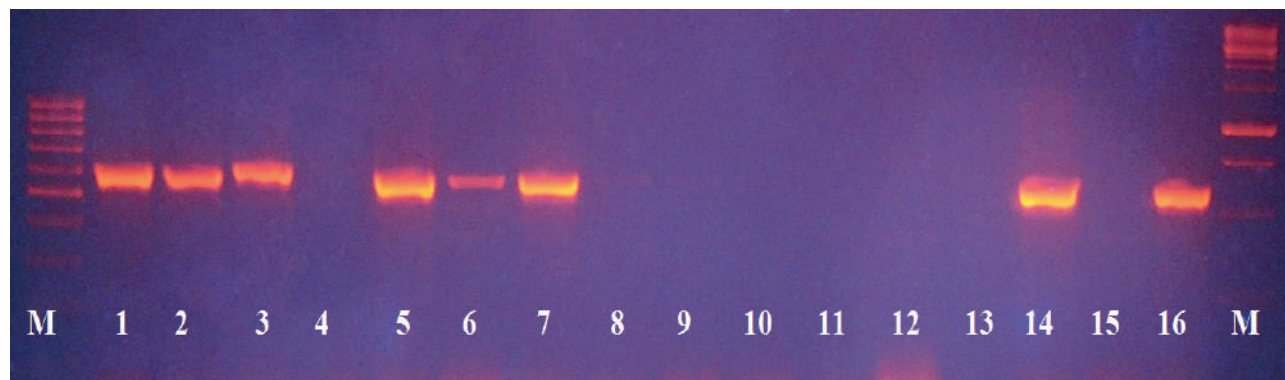


Рис. 1. Продукты амплификации маркера *Gro1-4* у образцов диких видов картофеля.

Размер – 602 пн. Слева М – маркер молекулярных весов 100 пн, справа – 1 кб (Fermentas). **1–3** – *S. alandiae* (генотип 305-2018 образца к-19443, генотип 306-2018 образца к-20408 и генотип 307-2018 образца к-21240); **4** – *S. alandiae* (генотип 308-2018 образца к-21240); **5–7** – *S. × doddsii* (генотипы 309-2018, 311-2018 и 312-2018 образца к-19817); **8–9** – *S. × doddsii* (генотипы 43-2018, 44-2018 образца к-20704), **10** – *S. × doddsii* (генотип 314-2018 образца к-20709); **11–12** – *S. kurtzianum* (генотип 58-2018 образца к-16862, генотип 61-2018 образца к-19289); **13** – *S. sparsipilum* (генотип 328-2018 образца к-20700); **14** – *S. yungasense* (генотип 332-2018 образца к-2820); **15** – негативный контроль (вода); **16** – сорт Сударыня

Fig. 1. Amplification products of the *Gro1-4* marker for wild potato species.

Size: 602 bp. Left M: molecular weight marker 100 bp; right M: 1 kb (Fermentas). **1–3** – *S. alandiae* (genotype 305-2018, accession k-19443; genotype 306-2018, accession k-20408; and genotype 307-2018, accession k-21240); **4** – *S. alandiae* (genotype 308-2018, accession k-21240); **5–7** – *S. × doddsii* (genotypes 309-2018, 311-2018 and 312-2018, accession k-19817); **8–9** – *S. × doddsii* (genotypes 43-2018 and 44-2018, accession k-20704); **10** – *S. × doddsii* (genotype 314-2018, accession k-20709); **11–12** – *S. kurtzianum* (genotype 58-2018, accession k-16862; and genotype 61-2018, accession k-19289); **13** – *S. sparsipilum* (genotype 328-2018, accession k-20700); **14** – *S. yungasense* (genotype 332-2018, accession k-2820); **15** – negative control (water); **16** – cv. Sudarynya

Таблица 3. Молекулярная и фитопатологическая характеристика межвидовых гибридов картофеля и их родителей по устойчивости к золотистой нематоде, патотипу Ro1

Table 3. Molecular and phytopathological characteristics of interspecific potato hybrids and their parents according to their resistance to golden nematode, pathotype Ro1

Название и номер по каталогу ВИР (генотип) / Name and VIR catalogue number (genotype)	Маркеры гена / Genetic markers			Группа устойчивости / Resistance group
	H1		Gro1-4	
	57R	TG689	Gro1-4	
Родители / Parents				
Kardula (38-2019)	0	0	0	S
<i>S. kurtzianum</i> κ-20041 (326-2018)	0	0	1	HR
<i>S. leptophyes</i> κ-5764 (356-2019)	0	0	1	HR
Гибриды F1 / F1 hybrids				
Kardula × <i>S. kurtzianum</i> κ-20041 (767-2018)	0	0	0	MR
Kardula × <i>S. kurtzianum</i> κ-20041 (768-2018)	0	0	0	S
Kardula × <i>S. kurtzianum</i> κ-20041 (769-2018)	0	0	0	HR
Kardula × <i>S. leptophyes</i> κ-5764 (773-2018)	0	0	0	HR
Kardula × <i>S. leptophyes</i> κ-5764 (774-2018)	0	0	1*	HR
Kardula × <i>S. leptophyes</i> κ-5764 (775-2018)	0	0	0	HR
Kardula × <i>S. leptophyes</i> κ-5764(778-2018)	0	0	0	HR
Kardula × <i>S. leptophyes</i> κ-5764 (779-2018)	0	0	1*	HR
Родители / Parents				
Apta (40-2019)	0	0	0	S
<i>S. sparsipilum</i> κ-20700 (328-2018)	0	0	0	HR
Гибриды F1 / F1 hybrids				
Apta × <i>S. sparsipilum</i> κ-20700 (782-2018)	0	0	0	HR
Родители / Parents				
Delos (37-2019)	–	–	–	S
<i>S. alandiae</i> κ-19443 (305-2018)	0	0	1	HR
<i>S. alandiae</i> κ-21240 (307-2018)	0	0	1	HR
<i>S. × doddsii</i> κ-20709 (314-2018)	0	0	0	HR
Гибриды F1 / F1 hybrids				
Delos × <i>S. alandiae</i> κ-19443 (702-2018)	0	0	0	MR
Delos × <i>S. alandiae</i> κ-19443 (704-2018)	0	0	1*	MR
Delos × <i>S. alandiae</i> κ-21240 (705-2018)	0	0	0	MR
Delos × <i>S. × doddsii</i> κ-20709 (733-2018)	0	0	0	MR
Kardula × <i>S. × doddsii</i> κ-20709 (736-2018)	0	0	0	MR

* продукт амплификации секвенирован / amplification products are sequenced;
 «–» – нет данных / no data

разовались, что соответствовало реакции HR (см. табл. 3).

В комбинации скрещивания дигаплоида Kardula с диким видом *S. kurtzianum* к-20041 выделены гибриды F1, контрастные по реакции на нематоду – устойчивый, среднеустойчивый и восприимчивый.

В родительских формах и гибридах не выявлены маркеры гена *H1*. Маркер гена *Gro1-4* обнаружен у 4 образцов диких видов, использованных в качестве отцовских форм, – *S. kurtzianum* к-20041, *S. leptophyes* к-5764, *S. alandiae* к-19443 и *S. alandiae* к-21240 – и в 3 гибридах: Kardula × *S. leptophyes* к-5764 (774-2018), Kardula × *S. leptophyes* к-5764 (779-2018) и Delos × *S. alandiae* к-19443 (704-2018). Показана возможность наследования маркера гена *Gro1-4* в потомстве межвидовых гибридов.

Анализ нуклеотидной последовательности маркера *Gro1-4*

Продукты амплификации маркера *Gro1-4* у пяти образцов южноамериканских видов картофеля, трех межвидовых гибридов (рис. 2) и сорта ‘Сударыня’ были секвенированы. Нуклеотидные последовательности выравнивали относительно референсной последовательности AY196151.1 гена *Gro1-4*. Сравнимые последовательности были гомологичны в среднем на 98%. Наиболее значительные отличия найдены в двух последовательностях: у гибрида F1 Kardula × *S. leptophyes* (2-Gro1) и одного из генотипов *S. × doddssii* (к-19817) (6-Gro1) (см. рис. 2). Отличия в гибриде связаны с наличием небольшой (3 нуклеотида) вставки и ряда замен



Рис. 2. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей маркера *Gro1-4* из отдельных образцов диких видов и межвидовых гибридов картофеля, а также участка функционального гена *Gro1-4*.

Обозначения: AY196151.1 – референсная последовательность участка гена *Gro1-4* (Paal et al., 2004); 1-Gro1 – F1 (Delos × *S. alandiae* к-19443) (генотип 704-2018); 2-Gro1 – F1 (Kardula × *S. leptophyes* к-5764) (генотип 774-2018); 3-Gro1 – F1 (Kardula × *S. leptophyes* к-5764) (генотип 779-2018); 4-Gro1 – *S. × doddssii* (к-19817, генотип 309-2019); 5-Gro1 – *S. × doddssii* (к-19817, генотип 311-2018); 6-Gro1 – *S. × doddssii* (к-19817, генотип 312-2018); 7-Gro1 – *S. alandiae* (к-19443, генотип 305-2018); 8-Gro1 – *S. alandiae* (к-21240, генотип 307-2018); 9 – сорт Сударыня.

Нуклеотидные замены и вставки выделены цветом

Fig. 2. Multiple alignment of nucleotide sequences for the *Gro1-4* marker in selected accessions of wild potato species and interspecific hybrids as well as for a fragment of the functional *Gro1-4* gene.

Designations: AY196151.1 – reference sequence of the *Gro1-4* gene fragment (Paal et al., 2004); 1-Gro1 – F1 (Delos × *S. alandiae* к-19443) (genotype 704-2018); 2-Gro1 – F1 (Kardula × *S. leptophyes* к-5764) (genotype 774-2018); 3-Gro1 – F1 (Kardula × *S. leptophyes* к-5764) (genotype 779-2018); 4-Gro1 – *S. × doddssii* (к-19817, genotype 309-2019); 5-Gro1 – *S. × doddssii* (к-19817, genotype 311-2018); 6-Gro1 – *S. × doddssii* (к-19817, genotype 312-2018); 7-Gro1 – *S. alandiae* (к-19443, genotype 305-2018); 8-Gro1 – *S. alandiae* (к-21240, genotype 307-2018); 9 – cv. Sudarynya.

Nucleotide substitutions and insertions are highlighted in color

вблизи нее, которые повлекли за собой изменение участка из 7 аминокислот (с 984 по 990). У образца *S. × doddsii* (к-19817, 312-2018) 10 замен аминокислот сосредоточены почти по всей длине маркера. Кроме того, он имеет протяженную (27 нуклеотидов: АТАССС-АСАТГААААТАТАААТГАААС) вставку в некодирующей области второго интрона, влияние которой на формирование белка, кодируемого геном *Gro1-4*, и его уровень экспрессии требует дополнительных исследований.

У остальных образцов выявлены единичные SNP, которые крайне редко приводят к заменам аминокислот, хотя стоит отметить, что у гибрида *Delos × S. alandiae* к-19443 (704-2018) (образец 1-Gro1) присутствуют несколько замен, которые отсутствуют у устойчивой родительской формы *S. alandiae* (7-Gro1).

Обсуждение результатов

Основным способом защиты от ЗКН является возделывание устойчивых сортов. Большинство коммерческих сортов картофеля защищены генами, контролирующими абсолютную устойчивость к ЗКН: геном *H1*, картированным на дистальном конце длинного плеча хромосомы V (Gebhardt et al., 1993), и геном *Gro1-4* – на хромосоме VII (Barone et al., 1990). Известно, что широкое возделывание генетически однородных сортов создает условия адаптационных изменений в популяциях патогена, которые могут привести к потере устойчивости. В отношении ЗКН отмечены случаи появления новых патотипов, размножающихся на сортах, защищенных геном *H1* (Brodi, 1995, 1996; Przetakiewicz, 2013, 2017). Поэтому существует необходимость расширения генетического разнообразия устойчивости картофеля к ЗКН.

Формирование устойчивости *Solanum* spp. к цистообразующим нематодам (золотистой и бледной картофельным нематодам) произошло в результате их совместной эволюции на территории Южной Америки. Как наиболее вероятный центр их происхождения рассматривают территорию соседних районов юга Перу и Боливии (Sosa-Moss, 1987). В связи с этим поиск доноров новых генов устойчивости целесообразно проводить среди образцов южноамериканских диких видов картофеля. Источники устойчивости к нематоде, обнаруженные среди североамериканских видов картофеля, представляют интерес для изучения вопросов возникновения и эволюции генов устойчивости к вредным организмам.

Проведен параллельный анализ признака устойчивости и наличия маркеров генов *H1* и *Gro1-4*. Большинство изученных образцов диких видов североамериканского происхождения и все образцы из Южной Америки отличались высокой устойчивостью к патотипу Ro1 ЗКН.

Из трех образцов *S. brachystotrichum*, у которых обнаружен маркер 57R, у двух образцов наличие маркера не совпадает с фенотипом устойчивости, что, по-видимому, свидетельствует о наличии в геноме этого вида участков ДНК, гомологичных сайтам праймирования для маркера 57R. Практически полное совпадение наличия маркера 57R с устойчивостью к ЗКН показано для сортов картофеля (Antonova et al., 2016; Gavrilenko et al., 2018). В связи с этим возможно, что полная устойчивость третьего образца *S. brachystotrichum* к-23201 связана не с геном *H1*, а с другим неизвестным генетическим фактором. Для до-

стоверных выводов о генетической природе устойчивости *S. brachystotrichum* к ЗКН требуются дополнительные исследования. Другие образцы североамериканских видов (пять генотипов *S. bulbocastanum* и один генотип *S. lesteri*) также отличались высокой устойчивостью к ЗКН, но маркеров известных *R*-генов у них не обнаружено. Эти виды относятся к третьему генному пулу клубнеобразующих *Solanum* spp., и потому вовлечение устойчивых форм в селекцию методом половой гибридизации не представляется возможным.

Устойчивые к ЗКН образцы среди южноамериканских диких видов *S. alandiae*, *S. × doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. sparsipilum* (Castelli et al., 2003) и среди образцов североамериканского вида *S. bulbocastanum* были выявлены ранее (van Soest et al., 1983).

У образцов *S. alandiae* к-21240 (308-2018), *S. × doddsii*, к-20709 (314-2018), к-20704 (43-2018 и 44-2018, *S. sparsipilum* к-20700 (328-2018) и *S. spegazzinii* к-20101 (28-2018), отличающихся высокой и средней устойчивостью к ЗКН, не выявлены маркеры генов *H1* и *Gro1-4*. По-видимому, устойчивость этих образцов детерминирована иными генетическими факторами. Подтверждена устойчивость к ЗКН генотипа *S. yungasense* (к-2820), который был выделен как источник этого признака в ранее проведенных исследованиях (Chalaya et al., 2012). По классификации Дж. Хокса (Hawkes, 1990), *S. yungasense* относится к серии *Yungasensa*, в состав которой входит вид *S. chacoense*, форма которого, выделенная как источник признака нематодоустойчивости, была эффективно использована в селекции российских сортов картофеля (Biryukova et al., 2015). В отличие от имеющего широкий ареал *S. chacoense* (расположенного на территории Аргентины, Боливии, Бразилии, Уругвая и Парагвая), вид *S. yungasense* произрастает только в Боливии.

Виды *S. alandiae*, *S. × doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. sparsipilum*, по классификации Дж. Хокса (Hawkes, 1990), относятся к серии *Tuberosa*, которая включает три географические группы клубнеобразующих *Solanum* spp. Названные виды, как и уже использованные в селекции на устойчивость к ЗКН *S. spegazzinii* и *S. vernei*, относятся к группе видов, произрастающих на территории Боливии и Аргентины (Turner, Evans, 1998).

У 13 образцов пяти южноамериканских видов *S. alandiae*, *S. × doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. leptophyes* и *S. yungasense* выявлен маркер *Gro1-4* (см. табл. 2). Известно, что ген *Gro1* привнесен в сорта картофеля от дикорастущего вида *S. spegazzinii* Bitter (Kreike et al., 1996) и картирован на VII хромосоме (Barone et al., 1990). *Gro1* представляет кластер генов типа TIR-NB-LRR (Paal et al., 2004). Член этого семейства, ген *Gro1-4*, контролирует устойчивость к Ro1; его продуктом является белок из 1136 аминокислот, который содержит рецептор Till-interleukin-1 (TIR), нуклеотид-связывающий сайт (Nucleotide-binding site – NBS), домены с повторами, богатыми лейцином (LRR), и С-терминальный домен с неизвестной функцией (Paal et al., 2004). Структура гена представлена в работе Nunziata et al. (2010). Маркер *Gro1-4* размером 602 пн является частью гена *Gro1-4* и включает часть (~253 пн) второго экзона (NBS), второй интрон (76 пн) и начало (~273 пн) третьего экзона (LRR), расположенные между 12 561 и 13 163 нуклеотидами на референсной последовательности AY196151.1 гена *Gro1-4*, представленной в базе NSBI GeneBank.

Результаты секвенирования маркера *Gro1-4* у пяти образцов двух диких видов *S. × doddsii* и *S. alandiae* и трех образцов гибридов *S. alandiae* и *S. leptophyes* с *S. tubero-*

сут показали, что выявленный полиморфизм нуклеотидной последовательности не влияет на изменчивость признака устойчивости к ЗКН изученных образцов картофеля. Выявленные SNP в основном представляют синонимичные замены нуклеотидов, которые не влияют на структуру кодируемого белка (данные сравнения аминокислотных последовательностей не приводятся). Вставка трех нуклеотидов в одном гибридном образце также, вероятно, не повлияла существенно на структуру белка.

Вопрос о влиянии большой вставки размером 27 нуклеотидов, обнаруженной в некодируемой области интрона у образца *S. × doddsii* (к-19817, генотип 312-2018), на конечный результат трансляции белка остается открытым. Сам факт обнаружения вставки в ортологичном гене *Gro1-4* у одной из трех изученных линий *S. × doddsii* к-19817, которые получены из семян родительского образца, сложно объяснить. Для этого требуются дополнительные исследования.

В целом можно с достаточным основанием предположить, что у ряда изученных образцов диких видов, у которых выявлен маркер *Gro1-4*, за исключением линии *S. × doddsii* (к-19817, генотип 312-2018), присутствует функциональный ген *Gro1-4*, который ответственен за устойчивость к ЗКН. Однако, учитывая тот факт, что другие образцы, у которых маркер не был выявлен, также показали высокую устойчивость к ЗКН, мы вправе предполагать также наличие иных генетических детерминантов устойчивости.

В работе впервые оценены на наличие ДНК-маркеров генов устойчивости к ЗКН 10 сортов, которые, по данным Государственного реестра селекционных достижений, отличаются устойчивостью к ЗКН. По наличию молекулярных маркеров можно предположить, что у сортов 'Кумач', 'Гранд', 'Садон' устойчивость детерминирована двумя генами: *Gro1-4* и *H1*; у сортов 'Вираж', 'Танай', 'Юна', 'Юбиляр' – геном *H1*. У сортов 'Сафо', 'Северное сияние' и 'Тулливёр' ДНК-маркеры 57R и *Gro1-4* не обнаружены.

У гибридов *Kardula × S. leptophyes* к-5764 (774-2018), *Kardula × S. leptophyes* к-5764 (779-2018) и *Delos × S. alandiae* к-19443 (704-2018) обнаружен маркер гена *Gro1-4*, нуклеотидная последовательность которого в основном совпадает с референсной, а выявленный полиморфизм не влияет на структуру кодируемого белка. Это дает основание предполагать, что гибриды получили от отцовской формы функциональный ген устойчивости. Другие гибриды *S. tuberosum* с устойчивыми к ЗКН образцами диких видов *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. sparsipilum*, *S. alandiae* и *S. × doddsii* унаследовали признак устойчивости к нематоду, генетическая детерминация которого обусловлена, вероятно, отличными от *H1* и *Gro1-4* генами. Гибриды первого поколения от скрещивания *S. tuberosum* и диплоидных южноамериканских диких видов картофеля *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. sparsipilum* по морфологическим признакам надземной части растений более близки растениям отцовской (дикой) формы, а по морфологическим признакам клубней (окраска, форма и размер) происходит расщепление. Отобранные для данного исследования клоны F1 по продуктивности клубней значительно превосходят отцовскую (дикую) форму (Chalaya N., устное сообщение). Межвидовые гибриды, сочетающие положительные качества обеих родительских форм, являются ценным материалом для селекции.

Заключение

Таким образом, среди образцов североамериканских и южноамериканских диких видов и сортов картофеля, зарегистрированных в Госреестре селекционных достижений, выявлены генотипы, устойчивость которых детерминирована как генами *H1* и *Gro1-4*, так и отличными от них генетическими факторами. Устойчивые межвидовые гибриды могут являться донорами новых генов устойчивости. Полученные данные по секвенированию маркера *Gro1-4* позволяют предполагать, что гибриды получили от отцовской формы функциональный ген устойчивости *Gro1-4*, который наследуется в потомстве.

Работа поддержана грантом РФ № 16-16-04073; сохранение образцов клоновой коллекции и создание межвидовых гибридов картофеля выполнено в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 16-16-04073; conservation of accessions in the clonal collection and development of interspecific potato hybrids were carried out within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 "Collections of vegetatively propagated crops (potato, fruit, berry and ornamental crops, grapes) and their wild relatives at VIR: studying and sustainable utilization".

Литература/References

- Antonova O.Y., Shvachko N.A., Novikova L.Y., Shuvalov O.Y., Kostina L.I., Klimenko N.S. et al. Genetic diversity of potato varieties bred in Russia and near-abroad countries based on polymorphism of SSR-loci and markers associated with resistance R-genes. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(5):596-606. [in Russian] (Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Новикова Л.Ю., Шувалов О.Ю., Костина Л.И., Клименко Н.С. и др. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по данным полиморфизма SSR-локусов и маркеров R-генов устойчивости. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(5):596-606). DOI: 10.18699/VJ16.181
- Bakker E., Achenbach U., Bakker J., van Vliet J., Peleman J., Segers B. et al. A high-resolution map of the H1 locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109(1):146-152. DOI: 10.1007/s00122-004-1606-z
- Barone A., Ritter E., Schachtschabel U., Debener T., Salamini F., Gebhardt C. Localization by restriction fragment length polymorphism mapping in potato of a major dominant gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Molecular and General Genetics*. 1990;224(2):177-182. DOI: 10.1007/bf00271550
- Biryukova V.A., Shmyglya I.V., Abrosimova S.B., Zapekina T.I., Meleshin A.A., Mityushkin A.V. et al. The search for sources of resistance genes to pathogens among the samples of plant breeding and genetics collections of All-Russian A.G. Loh Research Institute of Potato Farming using molecular markers. *Zashchita kartofelya = Potato*

- Protection*. 2015;1:3-7. [in Russian] (Бирюкова В.А., Шмыгля И.В., Абросимова С.Б., Запекина Т.И., Мелешин А.А., Митюшкин А.В. и др. Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекции ВНИИКХ с использованием молекулярных маркеров. *Защита картофеля*. 2015;1:3-7).
- Brodie B.V. The identification and distribution of a second pathotype of potato cyst nematodes in the United States. *Nematologica*. 1996;26(3):246.
- Brodie B.V. The occurrence of a second pathotype of potato cyst nematodes in New York. *Journal of Nematology*. 1995;27:493-494.
- Castelli L., Ramsay G., Bryan G., Neilson S.J., Phillips M.S. New sources of resistance to the potato cyst nematodes *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* in the Commonwealth Potato Collection. *Euphytica*. 2003;129(3):377-386. DOI: 10.1023/A:1022264111096
- Chalaya N.A., Biryukova V.A., Kiru S.D. New sources of resistance to golden potato cyst nematode (*G. rostochiensis* Woll.) from VIR Collection of wild potato species. *Izvestiya Saint-Petersburg State Agrarian University*. 2012;26:45-50. [in Russian] (Чалая Н.А., Бирюкова В.А., Киру С.Д. Новые источники устойчивости к золотистой картофельной нематоде (*Globodera rostochiensis* Woll.) из коллекции дикорастущих видов картофеля ВИР. *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*. 2012;26: 45-50).
- Dalamu B.V., Umamaheshwari R., Sharma R., Kaushik S., Joseph T., Singh B. et al. Potato cyst nematode (PCN) resistance: genes, genotypes and markers – an update. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*. 2012;44(2):202-228.
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Antonova O.Yu., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Gadjiyev N.M. et al. Molecular screening of potato varieties bred in the northwestern zone of the Russian Federation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1):3545. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Гаджиев Н.М. и др. 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
- Gebhardt C., Mugniéry D., Ritter E., Salamini F., Bonnel E. Identification of RFLP markers closely linked to the *H1* gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Theoretical and Applied Genetics*. 1993;85(5):541-544. DOI: 10.1007/bf00220911
- Hawkes J.G. The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. London: Belhaven Press; 1990.
- Khiutti A.V., Antonova O.Yu., Mironenko N.V., Gavrilenko T.A., Afanasenko O.S. Potato resistance to quarantine diseases. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):51-61. [in Russian] (Хютти А.В., Рыбаков Д.А., Гавриленко Т.А., Афанасенко О.С. Устойчивость картофеля к карантинным болезням. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):51-61). DOI: 10.18699/VJ17.223
- Kiru S.D., Rogozina E.V. Mobilization, conservation and study of cultivated and wild potato genetic resources. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):7-15. [in Russian] (Киру С.Д., Рогозина Е.В. Мобилизация, сохранение и изучение генетических ресурсов культивируемого и дикорастущего картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):7-15). DOI: 10.18699/VJ17.219
- Klimenko N.S., Antonova O.Yu., 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. Маркеропосредованная 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
- Kreike C.M., Kok-Westeneng A.A., Vinke J.H., Stiekema W.J. Mapping of QTLs involved in nematode resistance, tuber yield and root development in *Solanum* sp. *Theoretical and Applied Genetics*. 1996;92(3-4):463-470. DOI: 10.1007/BF00223694
- Limantseva L., Mironenko N., Shuvalov O., Antonova O., Khiutti A., Novikova L. et al. Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions from the Vavilov Institute of Plant Industry. *Plant Breeding*. 2014;133(5):660-665. DOI: 10.1111/pbr.12195
- Milczarek D., Flis B., Przetakiewicz A. Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. *American Journal of Potato Research*. 2011;88(3):245-255. DOI: 10.1007/s12230-011-9189-0
- Mironenko N.V., Gavrilenko T.A., Khiutti A.V., Afanasenko O.S. Quarantine nematode species and pathotypes potentially dangerous for domestic potato production: populations diversity and genetic of resistance. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. [preprint] 2020. [in Russian] (Мироненко Н.В., Гавриленко Т.А., Хютти А.В., Афанасенко О.С. Потенциально опасные для отечественного картофелеводства карантинные виды и патотипы нематод: изменчивость популяций и генетика устойчивости. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. [в печати] 2020.
- Normes OEPP / EPPO Standards. PM 7/40 (4) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Bulletin OEPP / EPPO Bulletin*. 2017;47(2):174-197. DOI: 10.1111/epp.12391
- Nunziata A., Ruggieri V., Greco N., Frusciante L., Barone A. Genetic diversity within wild potato species (*Solanum* spp.) revealed by AFLP and SCAR markers. *American Journal of Plant Sciences*. 2010;1(2):012. DOI: 10.4236/ajps.2010.12012
- Paal J., Henselewski H., Muth J., Meksem K., Menéndez C.M., Salamini F. et al. Molecular cloning of the potato *Gro1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant Journal*. 2004;38(2):285-297. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2004.02047.x
- Plantard O., Picard D., Valette S., Scurrah M., Grenier E., Mugniéry D. Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology*. 2008;17(9):2208-2218. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2008.03718.x
- Przetakiewicz A. The first report of *Globodera rostochiensis* pathotypes Ro5 occurrence in Poland. *Plant Disease*. 2013;97(8):1125. DOI: 10.1094/PDIS-12-12-1156-PDN
- Przetakiewicz A., Milczarek D., Zimnoch-Guzowska E., Flis B. Improvement level of nematode resistance in

- potato facing changes in population of *Globodera* spp. *The Journal of Animal and Plant Sciences*. 2017;27(6):1958-1962.
- Rogozina E.V., Guskova L.A., Limantseva L.A. Donor of potato resistance to golden nematode *Globodera rostochiensis* Woll. Ro1. *Plant Protection News*. 2008;(1):39-41. [in Russian] (Рогозина Е.В., Лиманцева Л.А., Гуськова Л.А. Новые источники и донор устойчивости картофеля к золотистой картофельной нематоде *Globodera rostochiensis* Woll., патотип Ro1. *Вестник защиты растений*. 2008;(1):39-44).
- Rogozina E.V., Limantseva L.A., Biryukova V.A. Donors of resistance to pathotype Ro1 of golden nematode in potato that are derived from *Solanum alandiae* Card. *Russian Agricultural Sciences*. 2012;(3):16-19. [in Russian] (Рогозина Е.В., Лиманцева Л.А., Бирюкова В.А. Доноры устойчивости к патотипу Ro1 золотистой картофельной нематоды, производные от *Solanum alandiae* Card. *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2012;(3):16-19).
- Rousselle-Bourgeois F., Mugniéry D. Screening tuber-bearing *Solanum* spp. for resistance to *Globodera rostochiensis* Ro1 Woll. and *G. pallida* Pa2/3 Stone. *Potato Research*. 1995;38:241-249. DOI: 10.1007/BF02359906
- Schultz L., Cogan N.O.I., Mclean K., Dale M.F.B., Bryan G.J., Forster J.W. et al. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *H1*-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
- Sosa-Moss C. Cyst nematodes in Mexico, Central and South America. *Nematologia Mediterranea*. 1987;15(1):1-12.
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1 "Plant varieties" (official publication). Moscow; 2019. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва; 2019). URL: https://gossortrf.ru/wp-content/uploads/2019/07/REESTR_2019-3.pdf [дата обращения: 17.07.2020].
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 1994;22(22):4673-4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673
- Turner S.J., Evans K. The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *Globodera pallida* Stone). In: R. Marks and B. Brodie (eds). *Potato Cyst Nematodes. Biology, Distribution and Control*. Cambridge, UK: University Press; 1998. p.7-26.
- Yakovleva V.A., Dolyagina A.B. (eds). The procedure for testing potato varieties and hybrids for resistance to the causal agent of potato wart disease (pathotype I) and golden potato nematode (pathotype Ro1) (Polozheniye o porjadke ispytaniya sortov i gibridov kartofelya na ustojchivost k vzbuditelyu raka kartofelya (patotip I) i zolotistoy kartofelnoy nematode (patotip Ro1). Moscow; 1993. [in Russian] (Положение о порядке испытания сортов и гибридов картофеля на устойчивость к возбудителю рака картофеля (патотип I) и золотистой картофельной нематоде (патотип Ro1) / под ред. В.А. Яковлевой, А.Б. Долягина. Москва; 1993).

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Мироненко Н.В., Рогозина Е.В., Гурина А.А., Хютти А.В., Чалая Н.А., Афанасенко О.С. Дикие родичи и межвидовые гибриды картофеля – исходный материал для селекции на устойчивость к золотистой нематоде. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(4):173-184. DOI:10.30901/2227-8834-2020-4-173-184

Mironenko N.V., Rogozina E.V., Gurina A.A., Khiutti A.V., Chalaya N.A., Afanasenko O.S. Wild relatives and interspecific hybrids of potato as source materials in breeding for resistance to golden nematode. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(4):173-184. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-173-184

ORCID

Mironenko N.V. <https://orcid.org/0000-0003-3383-2973>
 Rogozina E.V. <https://orcid.org/0000-0002-2743-068x>
 Gurina A.A. <https://orcid.org/0000-0002-1791-3063>
 Khiutti A.V. <https://orcid.org/0000-0003-1479-7746>
 Chalaya N.A. <https://orcid.org/0000-0002-8515-7941>
 Afanasenko O.S. <https://orcid.org/0000-0001-7368-0797>

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/10.30901/2227-8834-2020-4-173-184>

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

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest