

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕНОСА ДНК-МАРКЕРОВ ГЕНОВ ДИКОГО АЛЛОТЕТРАПЛОИДНОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ *Solanum stoloniferum* В ГЕНОМ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ СУБГЕНОМНОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ И ПРИМЕНЯЕМЫХ СХЕМ ИНТРОГРЕССИИ

© 2023 г. А. П. Ермишин¹ *, А. В. Левый¹, А. С. Агеева¹, Е. В. Воронкова¹, В. И. Лукша¹, О. Н. Гукасян¹, В. М. Жарич¹

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, 220072 Беларусь

*e-mail: ermishin@igc.by

Поступила в редакцию 26.12.2022 г.

После доработки 21.02.2023 г.

Принята к публикации 06.03.2023 г.

Одним из факторов, затрудняющих использование дикого аллотетраплоидного вида картофеля *Solanum stoloniferum* Schldt et Bouchet (геном AABB) в селекции, являются геномные различия с *S. tuberosum* L. (AAAA). Однако в литературе практически отсутствует информация о том, какие ценные гены этого дикого вида расположены на субгеноме В и каким образом происходит их перенос в геном *S. tuberosum*. Целью настоящей работы было определение субгеномной принадлежности ряда генов *S. stoloniferum* с использованием оригинального подхода, основанного на различиях в наследовании маркеров этих генов первым поколением беккрасса (BC₁) культурным картофелем удвоенных триплоидных гибридов (6х, AAAABB) в зависимости от их расположения на субгеноме А или В, анализ наследования маркеров в BC₂ и BC₃ в рамках четырех схем интрогрессии и маркер-опосредованной селекции по гену устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*. Маркеры генов устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*, *R3b*, *R2*, генов устойчивости к PVY *Ry_{sto}*, *Ry_{adg}*, гена устойчивости к раку картофеля *Sen2* локализованы на субгеноме В, а гена *Ry_{chc}* устойчивости к PVY – на субгеноме А *S. stoloniferum*. Наблюдала спорадическое появление гибридов BC₁ без маркеров, что можно объяснить редкими случаями рекомбинации гомеологичных хромосом субгеномов А и В. Наследование маркеров в BC₂ (близкое к 1 : 1) в целом соответствовало ожидаемому при случайной передаче потомству BC₂ отдельных хромосом субгенома В. В BC₃ отобрано несколько перспективных для селекции гибридов с маркером гена *Rpi-sto1*.

Ключевые слова: беккросс, ДНК-маркеры, геномные различия, интрогрессия генов, межвидовая гибридизация, картофель.

DOI: 10.31857/S0016675823070056, **EDN:** QKFUVA

Дикий аллотетраплоидный вид картофеля *Solanum stoloniferum* рассматривают как ценный источник генов устойчивости к болезням и вредителям для использования в селекции. Многие образцы *S. stoloniferum* известны как носители генов крайней устойчивости к вирусам PVY, PVX, PVA и PVV [1, 2], а также устойчивости к фитофторозу, бактериальным болезням и вредителям картофеля [3–5]. Некоторые ценные гены *S. stoloniferum*, прежде всего устойчивости к PVY, нашли применение в селекции и представлены в значительном количестве сортов картофеля. Однако используется лишь ограниченный генофонд этого вида, что связано с наличием ряда репродуктивных барьеров, затрудняющих его интрогрессию в геном культурного картофеля. Основная проблема –

принадлежность *S. stoloniferum* и *S. tuberosum* к разным группам скрещиваемости в отношении постзиготного барьера, обусловленного так называемым балансовым числом эндосперма (EBN): первый относят к 4х (2EBN), а второй – к 4х (4EBN) видам [6]. Кроме того, гибридизация сопряжена с односторонней несовместимостью, при которой гибридные семена удается получить только при использовании дикого вида в качестве материнской формы [7], а полученные гибриды характеризуются мужской стерильностью, связанной с цитоплазмой дикого вида [4, 8–10].

Отдельного внимания заслуживают геномные различия между *S. stoloniferum* (геномный состав AABB) и *S. tuberosum* (AAAA), которые могут затруднять интрогрессию ценных генов, локализо-

ванных на субгеноме В, из-за нарушений в мейозе межвидовых гибридов [11]. Геном В, характерный для североамериканских диплоидных и аллополиплоидных видов картофеля, имеет относительно высокую степень гомологии с геномом А. G. Marks [12] наблюдал у гаплоида аллотетраплоидного дикого вида *S. polytrichon* Rydb. (= *S. stoloniferum*; геномный состав АВ) высокую частоту формирования бивалентов в мейозе (в среднем 7, 9, максимум 12). Образование в мейозе преимущественно бивалентов отмечено у гибридов, полученных при опылении пыльцой *S. stoloniferum* (ААВВ) тетраплоидных гибридов (АААА) между 6х *S. demissum* Lindl. и диплоидными (АА) южноамериканскими видами *S. gibberulosum* Juz. et Buk. (= *S. chacoense* Bitt.), *S. simplicifolium* Bitt. (= *S. microdontum* Bitt.), *S. goniocalyx* Juz. et Buk. (= *S. stenotomum* Juz. et Buk.) [13].

Аналогичную картину описал Prohach (цит. по [14]) у гибридов между 4х *S. acaule* Bitt. (сегментарный аллотетраплоид ААА^аА^а) и 4х *S. stoloniferum* (ААВВ): было выявлено в среднем 1.9 унивалентов и 19 бивалентов, а также 0.9 тривалентов и 1.4 квадринавалентов на клетку. В клетках межвидовых гибридов сродство гомеологичных хромосом геномов А и В было выше, чем у полигаплоидов [14]. J. Hermesen, M. Ramanna [15] наблюдали нормальное образование бивалентов у диплоидных межвидовых гибридов *S. verrucosum* Schtdl × × *S. bulbocastanum* Dun. (геномный состав АВ). Аналогичная картина отмечена также у тетраплоидных трехвидовых гибридов 6х (*S. acaule* × *S. bulbocastanum*)² × 2х *S. phureja* Juz. et Buk. [16, 17]. Недавно Т. Gavrilenko et al. [18] и S. Kikuchi et al. [19], используя метод геномной гибридизации *in situ* (GISH), продемонстрировали возможность интрогрессии генетического материала генома В полиплоидных межвидовых гибридов в геном А гибридов их беккрасса культурным картофелем.

Однако считается общепринятым, что гомеологичная рекомбинация с участием хромосом геномов А и В может быть неэффективной в случае наличия в клетках межвидовых гибридов парных хромосом, принадлежащих одному из геномов [11, 20–22]. Такая ситуация складывается, например, при вовлечении в селекцию диких аллотетраплоидных видов картофеля, в том числе *S. stoloniferum*. Большинство методов преодоления их нескрещиваемости с культурным картофелем основано на получении полиплоидных (чаще всего 6х) межвидовых гибридов, которые затем включают в программы беккрасса на культурный картофель [21, 23–28].

Первый беккросс сортами *S. tuberosum* полиплоидных межвидовых гибридов приводит к формированию потомства с непарными хромосомами субгенома В. Поскольку нормальный синнаписс ожидается только между гомологичными

хромосомами субгенома А таких гибридов, возникает вопрос о возможности интрогрессии генетического материала субгенома В в геном А культурного картофеля. В литературе отсутствует информация о специально проведенной субгеномной локализации ценных генов *S. stoloniferum*, а также характере их переноса в геном культурного картофеля в зависимости от принадлежности к субгеномам А или В.

Ранее нами реализован ряд новых схем вовлечения в селекцию образца *S. stoloniferum* PI205522 с целью маркер-опосредованной интрогрессии в геном культурного картофеля гена устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия *Rpi-sto1* (гомолога известного гена *Rpi-blb1* из *S. bulbocastanum*) и получения мужски фертильных межвидовых гибридов [29, 30]. Помимо гена *Rpi-sto1*, у этого образца выявлены ДНК-маркеры других генов устойчивости к фитофторозу (*R2*, *R3b*), а также к PVY (*Ry_{adg}*, *Ry_{sto}*, *Ry_{chc}*), раку картофеля (*Sen2*) ([31], настоящая статья).

В настоящей работе представлены результаты использования оригинального подхода для определения субгеномной принадлежности ряда генов *S. stoloniferum* PI 205522, основанного на различиях в наследовании маркеров этих генов первым поколением беккрасса (BC₁) на культурный картофель гексаплоидных межвидовых гибридов (удвоенных триплоидных гибридов, ААААВВ) в зависимости от их расположения на субгеноме А или В. Исходные триплоидные гибриды IGC15/118.3 и IGC15/114.52 (ААВ) были получены в результате гибридизации между *S. stoloniferum* (sto) PI205522 (ААВВ) и диплоидными линиями *S. tuberosum* (tub) (АА). Один из субгеномов А межвидовых гибридов происходит от дикого вида, а второй – от культурного картофеля. Эти межвидовые гибриды, как и sto PI 205522, несут семь маркеров генов устойчивости. Они могут быть расположены на субгеноме А, субгеноме В или на обоих субгеномах дикого вида.

Митотически удвоенные 6х клоны имеют две копии субгенома В sto PI 205522 и в случае расположения генов на субгеноме В они будут представлены у межвидовых гибридов в гомозиготном состоянии. Следует ожидать отсутствие расщепления по таким генам в BC₁ при преимущественном спаривании гомологичных хромосом в мейозе межвидовых гибридов. Аналогичная картина расщепления очевидно имеет место, если гены расположены на обоих субгеномах дикого вида.

Митотически удвоенные 6х клоны также имеют две копии субгенома А sto PI 205522 и в случае расположения генов на субгеноме А они будут представлены у межвидовых гибридов в гомозиготном состоянии. Кроме того, они имеют две копии генома А культурного картофеля, которые, как правило, не имеют маркеров изучаемых ге-

нов. Таким образом, их можно рассматривать в качестве аналогов дуплексов автотетраплоидного картофеля (4х сортов с двумя копиями генов), которые демонстрируют расщепление 5 : 1 (3.67 : 1 в случае хроматидного расщепления) в потомстве от скрещивания с нуллиплексными тестерами [32–34].

Целью настоящего исследования было:

– изучить наследование названных генов в первом поколении беккросса (BC₁) на культурный картофель *S. tuberosum* 6х межвидовых гибридов, что позволит определить возможную их принадлежность к субгенам А или В *S. stoloniferum* PI 205522;

– изучить наследование этих генов в последующих поколениях беккросса (BC₂ и BC₃) в рамках четырех схем интрогрессии с использованием маркер-опосредованной селекции по гену *Rpi-sto1*, отбора по полевой устойчивости к фитофторозу и по признакам культурного картофеля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал

В качестве материала использовали *S. stoloniferum* PI 205522 (семена получены из генбанка по картофелю США NRSP-6), диплоидную S_vS_v-линию IGC08/168.4 (F₂ 2х *S. tuberosum* × *S. verrucosum*) [35], фертильную диплоидную линию IGC10/1.21 [36], межвидовые гибриды и их потомство от беккроссирования на сорта культурного картофеля, полученное в результате реализации четырех схем интрогрессии (рис. 1).

Схемы интрогрессии

Первая и вторая схемы – традиционные. Они включают получение триплоидных межвидовых гибридов, митотическое удвоение их хромосом и беккроссирование полученных гексаплоидных клонов на сорта картофеля. В первой схеме использован 6х клон IGC15/118.3.C6.2016, полученный с помощью обработки колхицином 3х гибрида 2х S_vS_v-линия *S. tuberosum* × *S. stoloniferum* PI 205522 [31]. Для получения BC₁ использован сорт Katahdin (в качестве опылителя), BC₂ – сорт Quarta (в качестве опылителя), BC₃ – сорта Свитанок Киевский, Уладар (в качестве опылителя), Янка (в качестве материнской формы). Для целей генетического анализа наследования в BC₁ комплекса маркеров генов устойчивости к болезням, выявленных у sto PI 205522, также использовали гибриды IGC19/334.n между IGC15/118.3.C6.2016 и 2х линией tub IGC17n8, формирующей фертильную нередуцированную пыльцу (у нее отсутствует шесть из восьми маркеров, выявленных у PI 205522). Во второй схеме использован 6х меж-

видовой гибрид IGC15/114.52.C5.2017, полученный в результате митотического удвоения хромосом 3х гибрида sto PI 205522 × 2х линия tub IGC10/1.21. В анализ включено потомство от его скрещивания с линией IGC17n8 – гибриды IGC19/330.n.

Третья и четвертая схемы интрогрессии имеют целью повысить вероятность гомеологичной рекомбинации субгеномов А и В [30]. В схеме 3 использован 4х межвидовой гибрид IGC16/36.1, полученный в результате опыления 6х клон IGC15/118.3.C6.2016 2х линией tub IGC10/1.21 (BC₁, предполагаемая геномная формула – AAAB). В настоящей статье представлены результаты анализа потомства от скрещивания IGC16/36.1 (в качестве материнской формы) с тестерной линией IGC17n8 – гибриды IGC19/305.n. В схеме 4 использован в качестве материнской формы 5х гибрид IGC15/103.53 (предполагаемый геномный состав AAABB), выделенный среди гибридов sto PI 205522 × 2х tub IGC10/1.21. Очевидно, его образование связано с формированием 2n яйцеклеток sto PI 205522. Для получения BC₁ (гибрид IGC17/192.4) был использован сорт Quarta (в качестве опылителя), BC₂ – сорта Quarta и Labadia (гибриды соответственно IGC19/323.n и IGC19/335.n).

Поскольку один из субгеномов А у IGC15/103.53 в непарном состоянии, предполагалось, что у гибридов BC₁ будет представлена только часть его хромосом. Это должно ускорить процесс достижения тетраплоидного уровня беккроссированием межвидового гибрида с культурным картофелем и повысить вероятность интрогрессии в геном культурного картофеля генетического материала субгена В за счет представленности у пентаплоидного гибрида не одного (как в традиционной схеме интрогрессии), а двух копий субгена В. Еще более перспективным для повышения вероятности гомеологичной рекомбинации представлялся гибрид IGC16/36.1 (4х, AAAB), имеющий в непарном состоянии два полных набора хромосом субгеномов А и В. Следует отметить, что скрещивания гибридов IGC16/36.1 и IGC15/103.53 с культурным картофелем в значительной степени затруднены (очевидно из-за различий их EBN) [30].

ДНК-маркеры

С целью изучения наследования генов устойчивости sto PI 205522 в рамках четырех схем интрогрессии проводили детекцию ряда маркеров у исходных межвидовых гибридов и их гибридов беккросса на культурный картофель. Это маркеры RYSC3₃₂₁, Yes3-3A₃₄₁ и RY364-14₂₉₈ генов устойчивости к PVY *Ry_{adg}*, *Ry_{sto}* и *Ry_{chc}* соответственно, маркеры 517/1519₇₅₀, R2₂₅₀₀ и R3b₃₇₈ генов устойчивости к фитофторозу (патоген *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) *Rpi-sto1*, R2 и R3b соот-

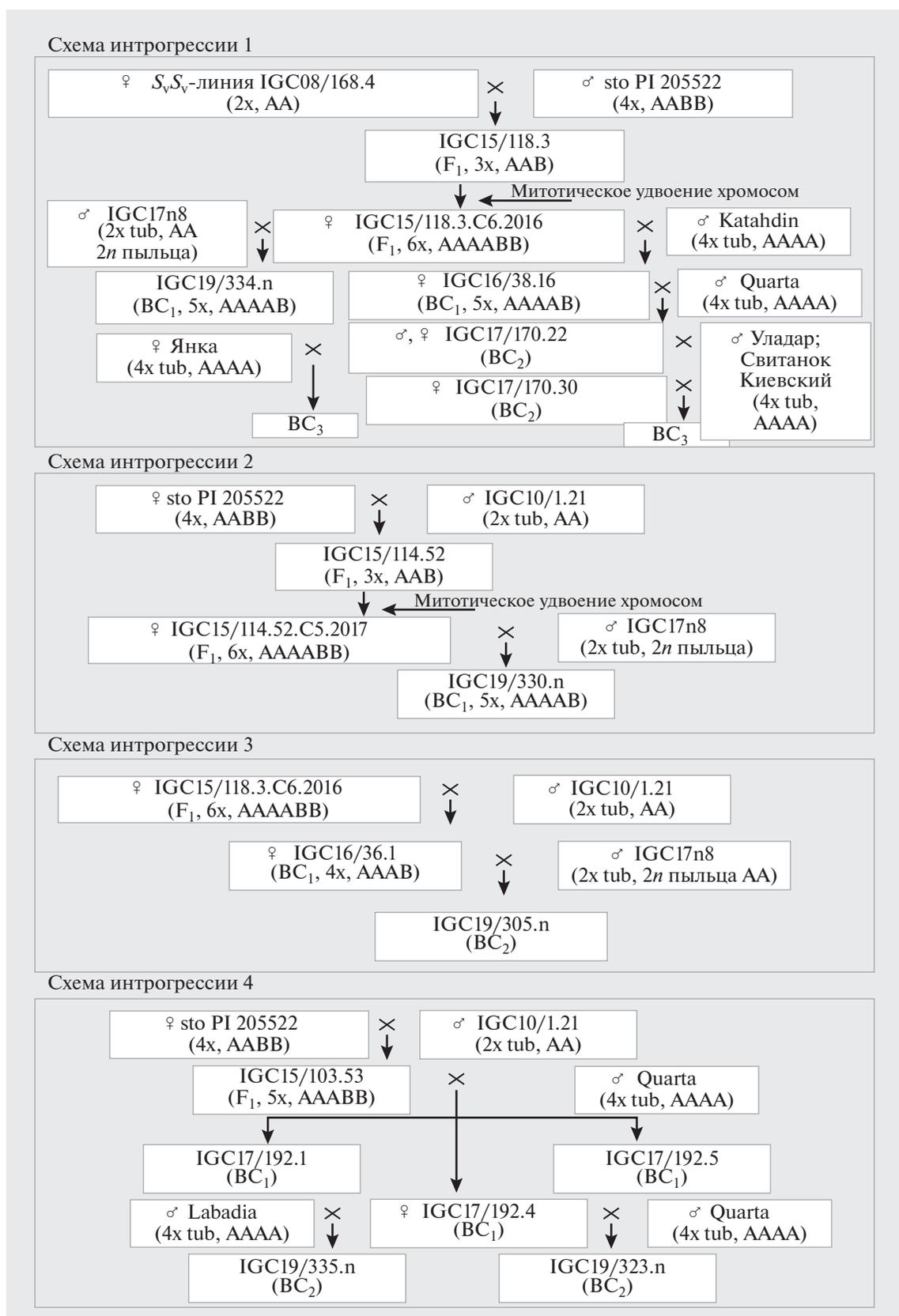


Рис. 1. Схемы интрогрессии генетического материала *S. stoloniferum* PI 205522 в геном культурного картофеля: традиционные (1 и 2) и имеющие целью повышение вероятности рекомбинации гомеологичных хромосом субгеномов А и В (3 и 4). В скобках приведены предполагаемые плоидность и геномный состав.

Таблица 1. ДНК-маркеры, использованные в работе

Маркер	Ген	Хромосома	Праймеры (5'–3')	Ссылка
SolB ₄₆₉	<i>FLint2</i>	III	F: ATAАСТСТCAAATACGAAACAAA R: СТСТGТААСТGTCCTAGATTCTGTGT	[42]
RYSC ₃₂₁	<i>Ry_{adg}</i>	XI	F: ATACACTCATCTAAATTTGATGG R: AGGATATACGGCATCATTTTTCCGA	[37]
Yes3-3A ₃₄₁	<i>Ry_{sto}</i>	XII	F: TAACTCAAGCGGAATAACCC R: AATTCACCTGTTTACATGCTTCTTGTG	[9]
RY364-14 ₂₉₈	<i>Ry_{chc}</i>	IX	F: СТАТТААAGTCTGGTACTAGGACG R: GGCTATATGTTCAATGAATTCATGCTAA	[38]
517/1519 ₇₅₀	<i>Rpi-sto1</i>	VIII	F: CATTCCAACTAGCCATCTTGG R: TATTCAGATCGAAAGTAC	[3]
R2 ₂₅₀₀	<i>R2</i>	IV	F: ATGGCTGATGCCTTTCTATCATTTGC R: TCACAACATATAATTCGGCTTC	[39]
R3b ₃₇₈	<i>R3b</i>	XI	F: GTCGATGAATGCTATGTTTCTCGAGA R: ACCAGTTTCTTGCAATTCAGATTG	[40]
5450_3 ₁₀₄₆	<i>Sen2</i>	XI	F: ATGATCATTGATGGCAGCAG R: GGGCATTTTGGAGCATAAAA	[41]
TG689	<i>H1</i>	V	F: TAAAАСТСТTGGTTATAGCCTAT R: AATAGAATGTGTTGTTTACCAA	[43]

ветственно, маркер 5450_3₁₀₄₆ гена *Sen2* устойчивости к раку картофеля (патоген *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc.) табл. 1) [3, 9, 37–41]. Дополнительно детектировали SCAR-маркер SolB₄₆₉, специфический для субгенома В аллотетраплоидных видов картофеля серии *Longipedicillata* Buk. Этот маркер разработан на основе полиморфных последовательностей интрона 2 FLORICAULA/LEAFY (Flint2), который широко используется таксономистами растений [42]. У гибридов BC₃ также детектировали маркер TG689₁₄₁ гена *H1* устойчивости к нематоду *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behr. [43].

Выделение и очистку ДНК осуществляли из листьев растений с использованием наборов “DNA purification Kit” производства фирмы “Thermo Scientific” (ЕС) в соответствии с рекомендациями производителя и нашими модификациями. Синтез праймеров осуществлен в ОДО “Праймтех” (Минск, Беларусь). ПЦР проводили на термоциклере “GenAmp System 2700”, “PE Applied Biosystems” (США). Применялся унифицированный состав реакционной смеси: препарат тотальной ДНК в конечном объеме 100 нг, праймеры – 0.4 мкМ, dNTP – 0.25 мМ, MgCl₂ – 2.5 мМ, Taq-ДНК-полимераза – 1 ед. Для детекции маркера R2₂₅₀₀ использовали 2.0 ед. *Pfu* ДНК-полимеразы и реакционную смесь, рекомендованную ООО АртБиоТех (Минск, Беларусь), которая включала 100 нг ДНК, 0.4 мкМ праймеров, 2.0 мМ dNTP, 2.0 мМ MgCl₂.

Программы ПЦР для амплификации соответствующих маркеров были следующие:

SolB₄₆₉ – один цикл 3 мин при 94°C; далее 35 циклов по 15 с при 94°C, 15 с при 60°C, 30 с при 72°C; 1 цикл 5 мин при 72°C.

RYSC₃₂₁ – два цикла 9 мин при 93°C; далее 35 циклов по 45 с при 94°C, 45 с при 56°C и 60 с при 72°C; один цикл 5 мин при 72°C.

Yes3-3A₃₄₁ – один цикл 2 мин при 94°C; далее 10 циклов по 40 с при 94°C, 40 с при 60°C и 60 с при 72°C; далее 30 циклов по 40 с при 94°C, 40 с при 55°C и 60 с при 72°C; один цикл 10 мин при 72°C.

RY364-14₂₉₈ – один цикл 10 мин при 95°C; далее 35 циклов по 30 с при 94°C, 30 с при 55°C и 90 с при 72°C; один цикл 5 мин при 72°C.

517/1519₇₅₀ – один цикл 7 мин при 95°C; далее 38 циклов по 20 с при 95°C, 20 с при 58°C и 2 мин при 72°C; один цикл 7 мин при 72°C.

R2₂₅₀₀ – один цикл 7 мин при 95°C; далее 38 циклов по 20 с при 95°C, 20 с при 58°C и 2 мин при 72°C; один цикл 7 мин при 72°C.

R3b₃₇₈ – один цикл 7 мин при 95°C; далее 38 циклов по 20 с при 95°C, 20 с при 58°C и 2 мин при 72°C; один цикл 7 мин при 72°C.

5450_3₁₀₄₆ – один цикл 3 мин при 93°C; далее 35 циклов по 2 мин при 93°C, 45 с при 58°C и 1.5 мин при 72°C; один цикл 10 мин при 72°C.

TG689₁₄₁ – один цикл 3 мин при 95°C; далее 35 циклов по 20 с при 94°C, 20 с при 55°C и 30 с при 72°C; один цикл 3 мин при 72°C.

Продукты амплификации разделяли с помощью электрофореза в 1.5%-ном агарозном геле с бромистым этидием и визуализировали в ультрафиолетовом свете.

Для определения характера расщепления гибридов по отдельным маркерам анализировали ДНК 17–38 растений на комбинацию скрещивания. Соответствие полученного расщепления теоретически ожидаемому при различных вариантах скрещиваний подтверждали с помощью метода хи-квадрат.

Для получения поколений беккрасса межвидовых гибридов BC₂ и BC₃ отбирали наиболее продуктивные гибриды с признаками культурного картофеля (компактное гнездо клубней правильной формы и с мелкими глазками), не имеющие симптомов фитофтороза в конце периода вегетации (устойчивость 9 баллов по 9-балльной шкале) в течение как минимум двух лет полевых испытаний, несущие маркер 517/1519₇₅₀ гена устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*. Место полевых испытаний гибридов (г. Минск, Беларусь) характеризуется ежегодными эпифитотиями фитофтороза (в годы испытаний отмечено сильное поражение патогеном восприимчивых сортов Уладар, Одиссей, Янка и Лилея).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Представленность маркеров sto PI 205522 у родительских форм и межвидовых гибридов F₁

У 2х S_vS_v-линии IGC08/168.4, использованной в качестве материнского родителя для гибридизации с sto PI 205522, обнаружены маркеры R2₂₅₀₀ и R3b₃₇₈, что может затруднять анализ их наследования в последующих поколениях беккрасса. У гибрида F₁ IGC15/118.3 и его удвоенного с помощью колхицина клона представлены все взятые в анализ маркеры.

У 2х родительской линии IGC10/1.21, выступавшей в качестве опылителя при получении межвидового гибрида IGC15/114.52, маркеры образца дикого вида не выявлены. У названного гибрида и соответствующего митотически удвоенного бх клона обнаружены все маркеры, за исключением маркера RY364-14₂₉₈ гена *Ry_{che}*. Пентаплоидный гибрид IGC15/103.5 имел все маркеры дикого вида (табл. 2).

Наследование маркеров sto PI 205522 гибридами BC₁

Как видно из табл. 2, гибриды BC₁ IGC16/38.n, IGC16/39.n, IGC19/334.n и IGC19/330.n демонстрировали отсутствие расщепления по маркерам генов устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*, R2 и R3b, генов устойчивости к PVY *Ry_{adg}* и *Ry_{sto}*, а также по маркерам 5450_3₁₀₄₆ и SolB₄₆₉, что указывает

на локализацию этих генов на субгеноме В. Спорадическое появление гибридов без вышеупомянутых маркеров в некоторых гибридных комбинациях (IGC19/334.n по маркеру Yes3-3A₃₄₁, IGC19/330.n по маркерам 5450_3₁₀₄₆ и SolB₄₆₉) можно объяснить скорее редкими случаями гомеологической рекомбинации хромосом субгеномов А и В в мейозе бх клонов, чем расположением этих генов на субгеноме А. Расщепление 15 : 2 в случае Yes3-3A₃₄₁ у IGC19/334.n соответствует ожидаемому 5 : 1 для анализирующих скрещиваний дуплекса ($\chi^2 = 0.17$, $\chi_{0.05}^2 = 3.84$) и 3.67 : 1 ($\chi^2 = 0.57$). Однако все 38 гибридов между материнской формой, бх клоном IGC15/118.3.C6.2016 и другим тестером, сортом Katahdin (IGC16/38.n и IGC16/39.n) имели этот маркер. В свою очередь, расщепление 22 : 1 по маркеру SolB₄₆₉ у IGC19/330.n также соответствует 5 : 1 и 3.67 : 1 ($\chi^2 = 1.85$ и $\chi^2 = 2.99$), однако у IGC19/334.n, IGC16/38.n и IGC16/39.n отсутствовало расщепление по этому маркеру. Кроме того, маркер SolB₄₆₉ является специфическим для субгенома В аллотетраплоидных видов картофеля [42].

В настоящем эксперименте возможно присутствие у гибридов BC₁ дополнительных копий некоторых изучаемых генов на субгеноме А, которые они могли получить от культурного картофеля. В частности, гены R2 и R3b могли быть перенесены не только от дикого вида, но и от S_vS_v-линии, а гены *Ry_{adg}* и *Sen2* – от тестера IGC17n8. В случае маркера 5450_3₁₀₄₆ гена *Sen2* у гибридов IGC19/330.n расщепление 22 : 1 соответствует ожидаемому 11 : 1 ($\chi^2 = 0.63$) для скрещиваний между 4х дуплексом и 4х симплексом. Несмотря на отсутствие расщепления у IGC19/334.n (17 : 0) по этому маркеру и как результат расщепление 39 : 1 у 40 аналогичных гибридов BC₁ (IGC19/330.n и IGC19/334.n), не исключается расположение *Sen2* на субгеноме А у sto PI 205522 ($\chi^2 = 1.33$). Напротив, отсутствие расщепления у гибридов IGC19/334.n (17 : 0) и IGC19/330.n (23 : 0) по маркерам генов R2, R3b и *Ry_{adg}* указывает на расположение этих генов скорее на субгеноме В, чем субгеноме А.

Значительная часть гибридов BC₁ IGC19/334.n и IGC19/330.n не имела маркера RY364-14₂₉₈ гена *Ry_{che}*, что очевидно связано с его локализацией на субгеноме А sto PI 205522. Расщепление 18 : 5 в случае с IGC19/330.n соответствует ожидаемому 5 : 1 для тестерных скрещиваний 4х дуплекса ($\chi^2 = 0.19$; $\chi_{0.05}^2 = 3.84$), отклонение от ожидаемого расщепления у IGC19/334.n (9 : 8, $\chi^2 = 3.62$) было недостоверным.

У тетраплоидного гибрида BC₁ IGC16/36.1 (схема интрогрессии 3) представлены все использованные маркеры. У гибрида IGC17/192.4 (схема

Таблица 2. Наличие маркеров генов устойчивости и специфического для субгенома В маркера SolB₄₆₉ у межвидовых гибридов *S. stoloniferum* PI 205522, их родительских форм; наследование маркеров в потомстве беккрасса межвидовых гибридов на культурный картофель в рамках четырех схем интрогрессии

Родители, гибриды	ДНК-маркеры							
	517/1519 ₇₅₀	R2 ₂₅₀₀	R3b ₃₇₈	RYSC3 ₃₂₁	Yes3-3A ₃₄₁	RY364-14 ₂₉₈	5450_3 ₁₀₄₆	SolB ₄₆₉
Родители								
<i>S. stoloniferum</i> PI 205522	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>S_vS_v</i> -линия IGC08/168.4	0	1	1	0	0	0	0	0
IGC10/1.21	0	0	0	0	0	0	0	0
IGC17n8	0	0	0	1	0	0	1	0
Katahdin	0	0	0	1	0	0	0	0
Quarta	0	1	0	0	0	1	1	0
Labadia	0	0	0	0	0	0	1	0
Традиционные схемы интрогрессии								
Схема 1: F ₁ IGC15/118.3.C6.2016	1	1	1	1	1	1	1	1
BC ₁ IGC16/38.n, IGC16/39.n (IGC15/118.3.C6.2016 × Katahdin)	38 : 0*	Н.д.	Н.д.	Н.д.	38 : 0	Н.д.	Н.д.	38 : 0
BC ₁ IGC19/334.n (IGC15/118.3.C6.2016 × IGC17n8)	17 : 0	17 : 0	17 : 0	17 : 0	15 : 2	9 : 8	17 : 0	17 : 0
BC ₂ IGC17/170.n (IGC16/38.16 × Quarta)	14 : 16**	9 : 6	10 : 5	10 : 5	13 : 17**	2 : 13	8 : 7	10 : 20**
Схема 2: F ₁ IGCC15/114.52.C5.2017	1	1	1	1	1	1	1	1
BC ₁ IGC19/330.n (IGC15/114.52.C5.2017 × IGC17n8)	23 : 0	23 : 0	23 : 0	23 : 0	23 : 0	18 : 5	22 : 1	22 : 1
Схемы интрогрессии, имеющие целью повысить вероятность рекомбинации гомеологичных хромомом субгеномов А и В								
Схема 3: BC ₁ IGC16/36.1	1	1	1	1	1	1	1	1
BC ₂ IGC19/305.n (IGC16/36.1 × IGC17n8)	8 : 15	23 : 0	15 : 8	23 : 0	12 : 11	7 : 16	18 : 5	10 : 13
Схема 4: F ₁ IGC15/103.53	1	1	1	1	1	1	1	1
BC ₁ IGC17/192.4 (IGC15/103.53 × Quarta)	1	1	1	0	1	0	1	1
BC ₂ IGC19/323.n (IGC17/192.4 × Quarta)	5 : 10	12 : 3	8 : 7	0 : 15	5 : 10	7 : 8	15 : 0	3 : 12
BC ₂ IGC19/335.n (IGC17/192.4 × Labadia)	9 : 9	12 : 6	15 : 3	0 : 18	4 : 14	0 : 18	12 : 6	8 : 10

Примечание. 1 – маркер представлен, 0 – маркер отсутствует, Н.д. – нет данных. * Гибриды с маркером : гибриды без маркера. ** Данные, опубликованные ранее [31].

интрогрессии 4) отсутствовали маркеры генов Ry_{che} и Ry_{adg} . Оба гибрида отличались, прежде всего, высокой устойчивостью к фитофторозу в течение ряда лет полевых испытаний и наличием маркера 517/1519₇₅₀ гена *Rpi-sto1* (табл. 2).

Следует отметить наличие маркеров RYSC₃₂₁ и 5450_3₁₀₄₆ у тестера IGC17n8, использованного для получения гибридов BC₂ в нескольких схемах, что может затруднять анализ интрогрессии соответствующих генов дикого вида в геном культурного картофеля.

Наследование маркеров *sto PI 205522* гибридами BC₂

В табл. 2 представлены результаты анализа 30 гибридов BC₂ IGC17/170.n (схема интрогрессии 1) по маркерам 517/1519₇₅₀, Yes3-3A₃₄₁ и SolB₄₆₉, опубликованным ранее [31], а также части этой гибридной популяции (15 гибридов) по маркерам других генов устойчивости к болезням, выявленным у *sto PI 205522*. Расщепление гибридов IGC17/170.n по маркеру целевого гена *Rpi-sto1* соответствовало 1 : 1 (14 : 16). Аналогичный характер наследования в BC₂ выявлен и для других генов *sto PI 205522*, которые были локализованы на субгеноме В по результатам анализа расщепления у BC₁. По маркеру SolB₄₆₉ наблюдали отклонение от ожидаемого расщепления в сторону повышенной доли гибридов без маркера (10 : 20), однако оно было статистически недостоверным ($\chi^2 = 3.33$; $\chi^2_{0.05} = 3.84$).

Наследование маркеров специфичных для *sto PI 205522* генов гибридами BC₂ в рамках схем 3 и 4 в целом не отличалось от такового для гибридов традиционных схем. Эффективность переноса маркера 517/1519₇₅₀ в BC₂ IGC19/305.n в рамках схемы интрогрессии 3 соответствовала расщеплению 1 : 2 (8 : 15). Такой же она была у гибридов IGC19/323.n (IGC17/192.4 × Quarta) схемы интрогрессии 4 – 5 : 10. Однако среди других гибридов BC₂ этой схемы, IGC19/335.n (IGC17/192.4 × Labadia), доли генотипов с маркером и без маркера были равны (9 : 9). Аналогичная картина наследования в BC₂ схем 3 и 4 была характерна и для маркеров R3b₃₇₈, Yes3-3A₃₄₁ и SolB₄₆₉ – расщепление, близкое к 1 : 1 с разной степенью смещения в сторону генотипов, имеющих или не имеющих маркера.

Обращает внимание отсутствие расщепления в BC₂ по некоторым маркерам в ряде комбинаций скрещивания: все гибриды с маркером у IGC19/305.n по R2₂₅₀₀ и RYSC₃₂₁, у IGC19/323.n по Sen2₁₀₄₆; все гибриды без маркера у IGC19/323.n и IGC19/335.n по RYSC₃₂₁ и у IGC19/335.n по маркеру RY364-14₂₉₈ гена Ry_{che} . Это можно объяснить отсутствием или наличием и аллельным состоя-

нием (присутствием одной или нескольких копий) анализируемых генов у тестеров и гибридов BC₁, отобранных для получения BC₂.

Наличие маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям у гибридов BC₃

В табл. 3 представлены результаты детекции маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям у гибридов BC₃, отобранных по признакам культурного картофеля и высокой устойчивости к фитофторозу. Большинство гибридов (6 из 9) имело маркер целевого гена *Rpi-sto1*. У некоторых из них также присутствовал маркер гена устойчивости к фитофторозу R2. Его происхождение у отдельных генотипов может быть разным: как от *sto PI 205522*, так и от родительской S_vS_v-линии IGC08/168.4 или сорта Quarta, использованных при беккроссировании межвидовых гибридов. Третий из использованных маркеров генов устойчивости к фитофторозу R3b у отобранных гибридов BC₃ не выявлен.

Из маркеров генов устойчивости к PVY у отобранных гибридов BC₃ представлен только RYSC₃₂₁: он имелся у шести из девяти гибридов. Однако, как и в случае с маркером гена R2, его происхождение остается неясным. Интересно, что маркер SolB₄₆₉, специфичный для субгенома В *S. stoloniferum*, сохранился у трех гибридов. У двух гибридов BC₃, в том числе наиболее продуктивного IGC18/161.32, обнаружен маркер гена устойчивости к нематоду, что улучшает их перспективы использования в селекции. Для гибрида IGC18/161.32 также характерна высокая мужская фертильность, что позволило успешно использовать его в скрещиваниях 2021 и 2022 г. в качестве опылителя с рядом сортов картофеля.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей статье представлены результаты определения субгеномной локализации ряда генов *sto PI 205522* на основании данных о наследовании их ДНК-маркеров в первом поколении беккросса 6х межвидовых гибридов (AAAABB) на культурный картофель 4х *S. tuberosum*. Полученные нами результаты подтвердили В-геномную специфичность маркера SolB₄₆₉. В свою очередь, соответствие полученных результатов ожидаемому характеру наследования в BC₁ маркеров, расположенных на субгеноме В, указывает на эффективность предложенного подхода. По этой причине не был неожиданным установленный факт расположения гена *Rpi-sto1* на субгеноме В *sto PI 205522*. Существует предположение [3, 44], что *Rpi-sto1* является функциональным гомологом гена устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия *Rpi-blb1* дикого 2х вида карто-

Таблица 3. Наличие маркеров генов устойчивости и специфического для субгена *B* маркера *SoIB*₄₆₉ у гибридов *BC*₃ программы маркер-опосредованной интрогрессии гена *Rpi-sto1 S. stoloniferum* PI 205522 в геном культурного картофеля

Гибриды, сорта	Происхождение	ДНК-маркеры								
		517/1519 ₇₅₀	R2 ₂₅₀₀	R3b ₃₇₈	RYS3 ₃₂₁	Yes3-3A ₃₄₁	RY364-14 ₂₉₈	5450_3 ₁₀₄₆	TG689	SoIB ₄₆₉
IGC18/161.32	Янка × IGC17/170.22	1	0	0	1	0	0	0	1	0
IGC18/164.35a	IGC17/170.22 × Свитанок Киевский	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IGC18/164.38	IGC17/170.22 × Свитанок Киевский	0	1	0	1	0	0	0	0	1
IGC18/164.40	IGC17/170.22 × Свитанок Киевский	1	0	0	1	0	0	0	0	0
IGC18/164.42	IGC17/170.22 × Свитанок Киевский	1	1	0	0	0	0	0	0	1
IGC18/164.45	IGC17/170.22 × Свитанок Киевский	0	1	0	1	0	0	1	0	0
IGC18/163.7	IGC17/170.22 × Уладар	1	1	0	0	0	0	0	0	1
IGC18/163.13	IGC17/170.22 × Уладар	1	1	0	1	0	0	0	0	0
IGC18/165.10	IGC17/170.30 × Свитанок Киевский	1	1	0	0	0	0	0	1	0
Родительские гибриды <i>BC</i> ₂ и сорта										
IGC17/170.22	IGC16/38.16 × Quarta	1	1	0	1	0	0	1	0	1
IGC17/170.30	IGC16/38.16 × Quarta	1	1	1	0	1	1	1	1	0
Янка		0	0	0	1	0	1	1	1	0
Свитанок Киевский		0	0	0	0	0	0	0	0	0
Уладар		0	0	0	1	0	0	0	1	0

Примечание. 1 – маркер представлен, 0 – маркер отсутствует.

феля из Мексики *S. bulbocastanum* (геном ВВ), и этот вид является одним из предков *S. stoloniferum* (в качестве источника субгенома В). Кроме того, выглядит естественным расположение гена *Ry_{che}* на субгеноме А sto PI 205522, поскольку этот ген является характерным для А-геномных видов картофеля. Напротив, локализация на субгеноме В генов устойчивости к фитофторозу *R2* и *R3b*, а также гена *Ry_{adg}* устойчивости к PVY оказалась неожиданной, поскольку эти гены также ассоциируются, прежде всего, с А-геномными видами картофеля. Семья *R2* включает большую группу гомологичных генов различного происхождения, локализованных на хромосоме IV [45]. У *S. stoloniferum* рассматривают *Rpi-blb3* в качестве гомолога гена *R2* [45], а ген *Rpi-sto2* — гомолога *R3b* [46]. Однако в литературе отсутствует информация о субгеномной локализации этих генов у *S. stoloniferum*. Не установлено и субгеномное расположение гена *Ry_{sto}* устойчивости к PVY. Таким образом, нам впервые удалось прояснить эту ситуацию.

Согласно нашим данным [47], у диплоидных межвидовых гибридов между sto PI 205522 и 2х линией IGC10/1.21, предположительно сохранивших субгеном В дикого вида, выявлены маркеры генов устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*, *R3b*, устойчивости к PVY *Ry_{sto}* и *Ry_{adg}*, а также маркер SolB₄₆₉. Это подтверждает приведенные выше результаты настоящего исследования.

Определение субгеномной принадлежности ряда генов устойчивости к болезням *S. stoloniferum* имеет большое практическое значение, так как позволяет прогнозировать уровень сложности их интрогрессии в геном культурного картофеля. В частности, наши результаты указывают на то, что перенос большинства изученных генов может быть затруднен из-за их расположения на субгеноме В.

Высокая степень соответствия выявленного характера наследования в ВС₁ ожидаемому для генов, локализованных на субгеноме В (отсутствие расщепления), означает, что спаривание хромосом в мейозе бх межвидовых гибридов преимущественно интрагеномное, а гомеологическая рекомбинация А и В субгеномов отмечена только в редких случаях. Так, мы выявили спорадическое появление гибридов ВС₁, не несущих маркеры гена *Ry_{sto}* (хромосома XII) и последовательности ДНК *FLint2* (хромосома III), что можно объяснить гомеологической рекомбинацией. Известно, что ген *Ry_{sto}* устойчивости к PVY был успешно интрогрессирован от *S. stoloniferum* [4, 25] и присутствует у многих сортов картофеля.

Этот вывод подтвержден результатами цитогенетического исследования ряда межвидовых гибридов и их беккроссного поколения, использованных в настоящей работе [18]. Авторы с помощью метода

GISH выявили одну—две рекомбинантные хромосомы А/В в мейозе двух гибридов ВС₁ (IGC16/38.16, IGC17/192.4) и двух гибридов ВС₂ (IGC17/170.30, IGC19/305.5). Кроме того, они получили данные, указывающие на то, что спаривание хромосом субгенома А преимущественно интрагеномное, а большинство хромосом субгенома В остается в виде унивалентных как у гибридов ВС₁, так и у гибридов ВС₂.

Как видно из табл. 2, расщепления изучаемых маркеров в ВС₂ варьировали в довольно широких пределах. Это ожидалось, принимая во внимание данные [48] по вариации гомеологичных хромосом у беккроссных поколений аналогичных бх межвидовых гибридов. Наличие некоторых из изучаемых маркеров у сортов и линий культурного картофеля и их отсутствие у части гибридов ВС₁, использованных для беккроссирования, могли вносить свой вклад в эту вариацию (табл. 2, схемы интрогрессии 3 и 4). Так, легко объяснить отсутствие расщепления в некоторых популяциях ВС₂ мультиплексным состоянием соответствующих генов у родительских форм *S. tuberosum* или отсутствием маркеров у родительских гибридов ВС₁, отобранных для получения гибридов ВС₂.

В целом наследование маркеров в ВС₂ в рамках четырех схем интрогрессии (расщепление, близкое к 1 : 1 с различной степенью отклонения) соответствовало ожидаемому как при случайном переносе потомству соответствующих хромосом субгенома В, так и при образовании рекомбинантных А/В хромосом.

Следует отметить продемонстрированную в работе возможность отбора генотипов ВС₂ с широким набором использованных маркеров: в качестве примера можно рассматривать IGC17/170.22 и IGC17/170.30 (табл. 3). Однако нам не удалось перенести отобранным гибридам ВС₃ гены *R3b*, *Ry_{sto}* и *Ry_{che}*, а маркер гена *Sen2* был представлен только у одного гибрида. Неясно, связано это с выбранной программой селекции (отбор по признакам культурного картофеля, полевой устойчивости к фитофторозу и наличию маркера гена *Rpi-sto1*), с недостаточно большой популяцией гибридов ВС₃ (около 900 семян первого года, 56 семян первой клубневой репродукции) или с характером переноса потомству генов дикого вида в зависимости от их геномной локализации. Более того неясно произошла ли интрогрессия генов субгенома В дикого вида в геном А гибридов ВС₃ или у них имеются дополнительные хромосомы субгенома В с соответствующими генами.

Важно то, что мы впервые продемонстрировали в настоящей работе возможность успешной маркер-опосредованной интрогрессии ценного гена устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1* от *S. stoloniferum* к культурному картофелю, исполь-

зую оригинальные S_vS_v -линии. Отобрано несколько гибридов BC_3 , перспективных для селекции по комплексу признаков культурного картофеля (относительно высокой продуктивности клубней правильной формы и с мелкими глазками), высокой полевой устойчивости к фитофторозу, наличию маркера гена *Rpi-sto1* и мужской фертильности.

Сложно сделать заключение об эффективности схем интрогрессии 3 и 4 для улучшения гомеологического спаривания хромосом субгеномов А и В в поколениях беккрасса. Как видно из результатов статьи [18], беккроссирование гибрида IGC15/103.53 (схема интрогрессии 4) на культурный картофель позволило получить гибрид BC_1 IGC17/192.4, у которого представлена одна рекомбинантная А/В хромосома, а в потомстве гибрида IGC16/36.1 (схема интрогрессии 3) получен гибрид BC_2 IGC19/305.5, который имеет две хромосомы субгенома В с фрагментами хромосом субгенома А. Тем не менее ограниченное количество изученных межвидовых гибридов не позволяет сделать заключение, что эти схемы лучше традиционных схем интрогрессии. Гибрид BC_1 IGC16/38.16, имеющий две рекомбинантные А/В хромосомы, был получен в рамках традиционной схемы интрогрессии 1 [18].

Существенным фактором, который может минимизировать преимущества схем интрогрессии 3 и 4, является плохая скрещиваемость с культурным картофелем гибридов IGC16/36.1 (4х, АААВ) и IGC15/103.53 (5х, АААВВ) из-за более низких значений их эффективной ploидности по сравнению с 4ЕВN *S. tuberosum* (4х, АААА) [30]. Кроме того, выяснилось, что те гибриды, которые все-таки удалось получить (BC_2 IGC19/305.5, схема 3; BC_1 IGC17/192.1 и IGC17/192.4, схема 4), неожиданно имели четыре полных набора хромосом генома А [18], т.е. они существенно не отличались по составу хромосом от аналогичных гибридов традиционных схем интрогрессии. Материнские родители этих гибридов, IGC16/36.1 (4х, АААВ) и IGC15/103.53 (5х, АААВВ), имели 12 непарных хромосом субгенома А (один набор), которые наследуются в беккроссном потомстве случайным образом. Появление вышеупомянутых гибридов можно объяснить только тем, что в процессе оплодотворения имеет место отбор яйцеклеток, которые имеют 2ЕВN благодаря тому, что они получили полный набор (12) хромосом непарного субгенома А. Это обеспечивает образование жизнеспособных семян в результате оплодотворения таких яйцеклеток (имеющих 24 хромосомы субгенома А) 2ЕВN пыльцой сортов картофеля. Появление гибрида BC_2 IGC19/305.5, гибридов BC_1 IGC17/192.1 и IGC17/192.4 также указывает на преимущественно интрагеномное спаривание хромосом в мейозе у их родителей, что приводит к образованию 2ЕВN гамет с увеличенным коли-

чеством хромосом субгенома А. Следовательно создание благоприятных условий для гомеологической рекомбинации хромосом путем использования схем интрогрессии 3 и 4 (непарное состояние хромосом субгеномов А и В) не гарантирует положительных результатов. Разработка схем интрогрессии, имеющих целью повышение вероятности гомеологической рекомбинации хромосом субгеномов А и В, по-прежнему остается актуальной.

Таким образом, результаты настоящего исследования, с одной стороны, подтвердили сложность проблемы интрогрессии в геном культурного картофеля генов дикого аллотетраплоидного вида картофеля *S. stoloniferum*. Показано, что многие гены ценных для селекции признаков этого вида могут располагаться на субгеноме В и их перенос в геном А затруднен из-за преимущественно интрагеномного спаривания хромосом в мейозе межвидовых гибридов и в поколениях их беккрасса культурным картофелем. С другой стороны, отмечены редкие случаи гомеологической рекомбинации хромосом субгеномов А и В, что позволяет осуществить интрогрессию генов, локализованных на субгеноме В. Однако остается неясным, все ли хромосомы субгенома В способны к гомеологической рекомбинации или только часть из них.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б20Р-418).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Solomon-Blackburn R.M., Barker H.* A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: Genes, genetics and mapped location // *Heredity*. 2001. V. 86. P. 8–16. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00798.x>
2. *Zimnoch-Guzowska E., Yin Z., Flis B.* Sources and effectiveness of potato PVY resistance in IHAR's breeding research // *Am. J. Potato Res.* 2013. V. 90. P. 21–27. <https://doi.org/10.1007/s12230-012-9289-5>
3. *Wang M., Allefs S., van den Berg R.G. et al.* Allele mining in *Solanum*: Conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum* // *Theor. Appl. Genet.* 2008. V. 116. P. 933–943. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0725-3>
4. *Ross H.* Potato breeding. Problems and perspectives // *Adv. Plant Breed. (Suppl.)*. 1986. V. 13. 132 p.

5. Ortiz R. Potato breeding via ploidy manipulations // Plant Breed. Reviews. 1998. V. 16. P. 15–86. <https://doi.org/10.1002/9780470650110.ch2>
6. Jackson S.A., Hanneman R.E., Jr. Crossability between cultivated and wild tuber- and non-tuber-bearing *Solanum* // Euphytica. 1999. V. 109. P. 51–67. <https://doi.org/10.1023/A:1003710817938>
7. Hayes R.J., Dinu I.I., Thill C.A. Unilateral and bilateral hybridization barriers in inter-series crosses of 4x 2EBN *Solanum stoloniferum*, *S. pinnatisectum*, *S. cardiophyllum* and 2x 2EBN *S. tuberosum* haploids and haploid-species hybrids // Sex. Plant Reprod. 2005. V. 17. P. 303–311. <https://doi.org/10.1007/s00497-005-0244-1>
8. Lössl A., Götz M., Braun A., Wenzel G. Molecular markers for cytoplasm in potato: Male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production // Euphytica. 2000. V. 116. P. 221–230. <https://doi.org/10.1023/A:1004039320227>
9. Song Ye-Su, Schwarzfischer A. Development of STS markers for selection of extreme resistance (*Rysto*) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars // Am. J. Potato Res. 2008. V. 85. P. 159–170. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9044-0>
10. Анисимова И.Н., Гавриленко Т.А. Цитоплазматическая мужская стерильность и перспективы ее использования в селекционно-генетических исследованиях и семеноводстве картофеля // Вавил. журн. генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 1. С. 83–95. <https://doi.org/10.18699/VJ17.226>
11. Spooner D.M., Rodriguez F., Polgar Z. et al. Genomic origins of potato polyploids: GBSSI gene sequencing data // Plant Genome. Suppl. Crop Sci. 2008. V. 48. (Suppl. 1). P. S27–S36. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.09.0504tpg>
12. Marks G.E. A polyhaploid plant of *Solanum polytrichon* Rydb. // Nature (London). 1955. V. 175. P. 469. <https://doi.org/10.1038/175469a0>
13. Magoon M.L., Hougas R.W., Cooper D.C. Chromosome pairing at different ploidy levels in the tuber bearing *Solanums* // J. Genet. 1960. V. 57. P. 279–298. <https://www.ias.ac.in/article/fulltext/jgen/057/02-03/0279-0297>
14. Dvorak J. Evidence for genetic suppression of heterogenous chromosome pairing in polyploidy species of *Solanum*, sect. *Petota* // Canadian J. Genet. Cytol. 1983. V. 25. P. 530–538. <https://doi.org/10.1139/g83-080>
15. Hermesen J.G.Th., Ramanna M.S. Barriers to hybridization of *Solanum bulbocastanum* Dun. and *S. verrucosum* Schlecht. and structural hybridity in their F1 plants // Euphytica. 1976. V. 25. P. 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00041523>
16. Hermesen J.G.Th., Ramanna M.S. Meiosis in different F1-hybrids of *Solanum acaule* BITT × *S. bulbocastanum* Dun. and its bearing on genome relationship, fertility and breeding behavior // Euphytica. 1969. V. 18. P. 27–35. <https://doi.org/10.1007/bf00021979>
17. Ramanna M.S., Hermesen J.G.Th. Somatic chromosome elimination and meiotic chromosome pairing in the triple hybrid 6x-(*Solanum acaule* × *S. bulbocastanum*) × × 2x-*S. phureja* // Euphytica. 1971. V. 20. P. 470–481. <https://doi.org/10.1007/BF00034200>
18. Gavrilenko T.A., Pendinen G.I., Yermishin A.P. GISH analysis of the introgression of the B subgenome genetic material of wild allotetraploid species *Solanum stoloniferum* into backcrossing progenies with potato // Agronomy. 2022. V. 12. Pub. 787. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040787>
19. Kikuchi S., Ishii H., Hosaka K., Sanetomo R. Behavior of chromosomes from the Mexican wild diploid species *Solanum pinnatisectum* in the interspecific hybrid with cultivated potato and its backcross progenies // Euphytica. 2022. V. 218. Pub. 56. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03003-1>
20. Adiwilaga K.D., Brown C.R. Use of 2n pollen-producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild species germplasm to cultivated tetraploid potato gene pool // Theor. Appl. Genet. 1991. V. 81. P. 645–652. <https://doi.org/10.1007/BF00226732>
21. Bamberg J.B., Hanneman R.E., Jr., Palta J.P., Harbage J.F. Using disomic 4x (2EBN) potato species germplasm via bridge species *Solanum commersonii* // Genome. 1994. V. 37. P. 866–870. <https://doi.org/10.1139/g94-122>
22. Watanabe K., Arbizu C., Schmiediche P. Potato germplasm enhancement with disomic tetraploid *Solanum acaule*. I. Efficiency of introgression // Genome. 1992. V. 35. P. 53–57. <https://doi.org/10.1139/g92-009>
23. Lamm R. Investigation of some tuber-bearing *Solanum* hybrids // Hereditas. 1953. V. 39. P. 97–112. <https://doi.org/10.1111/j1601-5223.1953.tb03404.x>
24. Swaminathan M.S. Notes on induced polyploids in the tuber-bearing *Solanum* species and their crossability with *S. tuberosum* // Am. Potato J. 1951. V. 28. P. 472–489. <https://doi.org/10.1007/BF02854980>
25. von Wangenheim K.H. Zur Ursache der Kreuzungsschwierigkeiten zwischen *Solanum tuberosum* L. und *S. acaule* BITT. bzw. *S. stoloniferum* Schldtl. & Bouchet // Zeitschrift für Pflanzenzüchtung. 1954. V. 34. P. 7–48.
26. Лебедева Н.А. Изменение свойств и признаков картофеля под влиянием полиплоидии и использование экспериментальной полиплоидии в селекции картофеля: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев: Акад. наук Украинской ССР, 1966. 38 с.
27. Camadro E.L., Espinillo J.C. Germplasm transfer from the wild tetraploid species *Solanum acaule* Bitt. to the cultivated potato *S. tuberosum* L using 2n eggs // Am. Potato J. 1990. V. 67. P. 737–749. <https://doi.org/10.1007/BF03044524>
28. Watanabe K.N., Orillo M., Vega S. et al. Potato germplasm enhancement with disomic tetraploid *Solanum acaule*. II. Assessment of breeding value of tetraploid F1 hybrids between tetrasomic tetraploid *S. tuberosum* and

- S. acaule* // Theor. Appl. Genet. 1994. V. 88. P. 135–140. <https://doi.org/10.1007/BF00225888>
29. Yermishin A.P., Levy A.V., Voronkova E.V. et al. Overcoming unilateral incompatibility in crosses with wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schldtl. & Bouchet // Euphytica. 2017. V. 213. Pub. 249. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-2041-y>
 30. Антонова О.Ю., Ермишин А.П., Левый А.В. и др. Разработка хромосом-специфичных ДНК-маркеров для изучения интрогрессивной гибридизации картофеля с диким мексиканским аллотетраплоидным видом *Solanum stoloniferum* Schldtl. & Bouchet // Биотехнология и селекция растений. 2019. Т. 2. № 4. С. 24–35. <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-4-о3>
 31. Левый А.В. Интрогрессия в *Solanum tuberosum* L. генов устойчивости к Y-вирусу картофеля и фитофторозу дикого аллотетраплоидного вида *S. stoloniferum* Schldtl. & Bouchet: Дис. ... канд. биол. наук. Минск: Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси, 2019. 151 с.
 32. Bradshaw J.E., Mackay G.R. Breeding strategies for clonally propagated potatoes // Potato Genetics. Wallingford (UK): CABI, 1994. P. 109–132.
 33. Ortiz R., Peloquin S.J. Use of 24 chromosome potatoes (diploids and diplandroids) for genetical analysis // Potato Genetics. Wallingford (UK): CABI, 1994. P. 133–154.
 34. Ермишин А.П., Светоч О.В., Воронкова Е.В. и др. Определение состава и аллельного состояния генов устойчивости к болезням и вредителям у родительских линий картофеля с помощью ДНК-маркеров // Генетика. 2016. Т. 52. № 5. С. 569–578.
 35. Полохович Ю.В., Маханько О.В., Савчук А.В. и др. Создание линий-посредников для преодоления межвидовой несовместимости у картофеля // Изв. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. 2010. № 2. С. 51–58.
 36. Ермишин А.П., Воронкова Е.В. Создание исходного материала для маркер-опосредованной селекции родительских линий картофеля (*Solanum tuberosum* L.) на диплоидном уровне // С.-хоз. биология. 2017. Т. 52. № 1. С. 50–62. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.1.50rus>
 37. Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A. et al. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ryadg* based on a common feature of plant disease resistance genes // Genome. 2000. V. 43. P. 1–8. <https://doi.org/10.1139/g99-092>
 38. Mori K., Mukojima N., Nakao T. et al. Germplasm release: Saikai 35, a male and female fertile breeding line carrying *Solanum phureja*-derived cytoplasm and potato cyst nematode resistance (*HI*) and potato virus Y resistance (*Ry_{chc}*) genes // Am. J. Potato Res. 2012. V. 89. P. 63–72. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9221-4>
 39. Kim H.J., Lee H.R., Jo K.R. et al. Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and Ma R9 is conferred by multiple stacked R genes // Theor. Appl. Genet. 2012. V. 124. P. 923–935. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1757-7>
 40. Rietman H., Bijsterbosch G., Cano L.M. et al. Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors // Mol. Plant Microbe Interact. 2012. V. 25. P. 910–919. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-12-0010-R>
 41. Plich J., Przetakiewicz J., Śliwka J. et al. Novel gene *Sen2* conferring broad-spectrum resistance to *Synchytrium endobioticum* mapped to potato chromosome XI // Theor. Appl. Genet. 2018. V. 131. P. 2321–2331. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3154-y>
 42. Drobyazina P.E., Khavkin E.E. Floricaula/Leafy intron 2-based markers of wild *Solanum* species and genomes for introgression breeding // PPO-Special Report Schepers H.T.A.M. 2012. V. 15. P. 187–192.
 43. Milczarek D., Flis B., Przetakiewicz A. Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. // Am. J. Potato Res. 2011. V. 88. P. 245–255. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9189-0>
 44. Fadina O.A., Beketova M.P., Kuznetsova M.A. et al. Polymorphisms and evolution of *Solanum bulbocastanum* genes for broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* // Russ. J. Plant Physiol. 2019. V. 66. P. 950–957. <https://doi.org/10.1134/S1021443719060062>
 45. Vleeshouwers V.G.A.A., Raffaele S., Vossen J. et al. Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors // Ann. Rev. Phytopathol. 2011. V. 49. P. 25.1–25.25. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095326>
 46. Champouret N. Functional genomics of *Phytophthora infestans* effectors and *Solanum* resistance genes: PhD thesis. Wageningen Univ., 2010. 153 p.
 47. Ермишин А.П., Левый А.В., Воронкова Е.В. и др. Диплоидные гибриды между диким аллотетраплоидным видом картофеля *Solanum stoloniferum* Schldtl. & Bouchet и диплоидными клонами культурного картофеля *S. tuberosum* L., имеющие геном В дикого вида // Докл. НАН Беларуси. 2017. Т. 61. № 5. С. 80–89.
 48. Sanetomo R., Ono S., Hosaka K. Characterization of crossability in the crosses between *Solanum demissum* and *S. tuberosum*, and the F₁ and BC₁ progenies // Am. J. Potato Res. 2011. V. 88. P. 500–510. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9217-0>

Peculiarities of Transfer of DNA Markers of Wild Allotetraploid Potato Species *Solanum stoloniferum* to Backcross Progenies Depending on Their Subgenomic Location and Used Schemes of Introgression

A. P. Yermishin^{a, *}, A. V. Levy^a, A. S. Ageeva^a, E. V. Voronkova^a, V. I. Luksha^a,
O. N. Gukasian^a, and V. M. Zharich^a

^a*Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220072 Belarus*

**e-mail: ermishin@igc.by*

Genomic difference between wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schldtl et Bouchet (genome AABB) and *S. tuberosum* L. (AAAA) is one of the factors hampering its use in breeding. However, there is practically no information on valuable genes of this species located in the subgenome B and on the way of their transfer into the genome A of cultivated potatoes. The objectives of this research were to identify subgenomic location of a set of *S. stoloniferum* genes using an original approach based on a difference of inheritance of DNA markers of the genes in backcross BC₁ of chromosome doubled triploid hybrids (6x, AAAABB) to 4x *S. tuberosum* dependent on belonging to A or B subgenome; to study their inheritance in BC₂ and BC₃ in the framework of four introgression schemes and marker assisted selection of the gene *Rpi-sto1*. The markers of late blight (LB) resistance genes *Rpi-sto1*, *R3b*, *R2*, potato virus Y (PVY) resistance genes *Ry_{sto}*, *Ry_{adg}* were located on the subgenome B and the marker of PVY resistance gene *Ry_{chc}* – on the subgenome A. We observed an appearance of unexpected sporadic hybrids free of markers in BC₁ that may be explained by rare cases of homeological recombination of A and B subgenome chromosomes. The segregation of the markers in BC₂ (close to 1 : 1) matched in general to that expected in the case of random transfer of the corresponding chromosomes of the subgenome B. Some promising for breeding hybrids have been selected in BC₃ having the marker of the gene *Rpi-sto1*.

Keywords: backcross, DNA markers, gene introgression, genomic differences, interspecific hybridization, potato.