

# Исследование коллекционных образцов картофеля на наличие генетических маркеров устойчивости к фитопатогенам

А.Б. Сайнакова<sup>1</sup>✉, М.С. Романова<sup>1</sup>, С.Н. Красников<sup>1</sup>, О.В. Литвинчук<sup>1</sup>, Я.И. Алексеев<sup>2,3</sup>, А.В. Никулин<sup>2</sup>, Е.В. Терентьева<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа – филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук, Томск, Россия

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

<sup>3</sup> ООО «Синтол», Москва, Россия

Создание устойчивых к фитопатогенам сортов – наиболее надежный и экономичный способ снижения потерь урожайности картофеля. Выведение таких сортов возможно при использовании в селекционной работе генетических источников устойчивости. Применение ДНК-маркеров для идентификации ценных генотипов, в том числе форм с несколькими генами устойчивости, позволяет существенно повысить эффективность селекции. Разработка технологии мультиплексной ПЦР для одновременного тестирования сортов и селекционных линий по нескольким генам, контролирующим устойчивость к вирусам и нематодам, является новым подходом в использовании ДНК-маркеров. Цель работы: скрининг методом мультиплексной ПЦР образцов картофеля коллекции Нарымского отдела селекции и семеноводства СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН на наличие генов устойчивости к золотистой и бледной нематодам, раку, а также вирусам X и Y. Проведена оценка 40 образцов на присутствие в геноме генов устойчивости к раку картофеля (*Sen1*), к вирусу X (*Rx*), вирусу Y (*Ryadg*, *Rychc*, *Rysto*), золотистой цистообразующей картофельной нематоде (*H1*, *Gro1-4*), бледной картофельной нематоде (*Gpa2*) с помощью генетических маркеров. В выборку вошли 2 сорта, 3 популяции, полученные от самоопыления сорта Идеал, и 35 индивидуально отобранных гибридов картофеля. В результате исследования маркер NL25 (ген *Sen1*) обнаружен у 19 образцов; маркер PVX (ген *Rx*) – у 13 образцов; маркер RYSC3<sup>312</sup> (ген *Ryadg*) – у 10 образцов; маркер YES3-3A<sup>341</sup> (ген *Rysto*) – у 5 образцов; маркеры TG 689<sup>141</sup>, 57R<sup>450</sup>, N195<sup>337</sup> (ген *H1*) – у 12 образцов; маркер Gro1-4-1<sup>602</sup> (ген *Gro1-4*) – у 6 образцов; маркер Gpa2-2<sup>452</sup> (ген *Gpa2*) – у 13 образцов. По комплексу хозяйственно полезных признаков выделился образец С-31-15, обладающий высокими показателями урожайности и качества и являющийся носителем генетических маркеров устойчивости к вирусам X (*Rx*), Y (*Rysto*), золотистой цистообразующей картофельной нематоде (*H1*, *Gro1-4*), бледной нематоде (*Gpa2*).

Ключевые слова: картофель; селекция; коллекционные образцы; гены устойчивости; ДНК-маркеры.

## Testing potato collection samples for the presence of genes for resistance to phytopathogens by means of DNA markers

A.B. Saynakova<sup>1</sup>✉, M.S. Romanova<sup>1</sup>, S.N. Krasnikov<sup>1</sup>, O.V. Litvinchuk<sup>1</sup>, Ya.I. Alekseev<sup>2,3</sup>, A.V. Nikulin<sup>2</sup>, E.V. Terentjeva<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Siberian Institute of Agriculture and Peat Research – the Branch of the Siberian Federal Agricultural Biotechnology Science Center RAS, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Limited Liability Company Syntol, Moscow, Russia

The development of phytopathogen-resistant varieties is the most reliable and economic way to reduce potato yield losses. Breeding of such varieties is possible by using genetic sources of resistance. The use of DNA markers for identification of valuable genotypes, including forms with several resistance genes, makes it possible to significantly improve breeding efficiency. The development of a multiplex PCR technique and using it to simultaneously test varieties and breeding lines for several genes that control the resistance to viruses and nematodes is a new approach to using DNA markers. This study is aimed at screening samples from the collection of the Narym Department of Breeding and Seed Production of the Siberian Research Institute of Agriculture and Peat (the Branch of the Siberian Federal Agrobiotechnology Research Center, the Russian Academy of Sciences) using the multiplex PCR technique, for genes for resistance to *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallidas*, potato wart disease, viruses X and Y. 40 samples were tested by means of genetic markers to identify genes for resistance to potato wart disease (*Sen1*), virus X (*Rx*), virus Y (*Ryadg*, *Rychc*, *Rysto*), *Globodera rostochiensis* (*H1*, *Gro1-4*) and *Globodera pallida* (*Gpa2*), in the genome. The sample included two varieties, three populations produced by self-pollination of the Ideal variety, and 35 individually selected potato hybrids. As a result, we identified marker NL25 (*Sen1*) in 19 samples; marker PVX (*Rx*) in 13 samples; marker RYSC3<sup>312</sup> (*Ryadg*) in 10 samples; marker YES3-3A<sup>341</sup> (*Rysto*) in 5 samples; markers TG 689<sup>141</sup>, 57R<sup>450</sup>, N195<sup>337</sup> (*H1*) in 12 samples; marker Gro1-4-1<sup>602</sup> (*Gro1-4*) in 6 samples; marker Gpa2-2<sup>452</sup> (*Gpa2*) in 13 samples. In terms of economically valu-

able traits, sample C-31-15 is noted for high yield and quality indicators. It carries genes for resistance to potato virus X (Rx), Y (Rysto), *Globodera rostochiensis* (H1, Gro1-4), and *Globodera pallida* (Gpa2).

Key words: potatoes; breeding; collection samples; resistance genes; DNA markers.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:**

Сайнакова А.Б., Романова М.С., Красников С.Н., Литвинчук О.В., Алексеев Я.И., Никулин А.В., Терентьева Е.В. Исследование коллекционных образцов картофеля на наличие генетических маркеров устойчивости к фитопатогенам. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(1):18-24. DOI 10.18699/VJ18.326

**HOW TO CITE THIS ARTICLE:**

Saynakova A.B., Romanova M.S., Krasnikov S.N., Litvinchuk O.V., Alekseev Ya.I., Nikulin A.V., Terentjeva E.V. Testing potato collection samples for the presence of genes for resistance to phytopathogens by means of DNA markers. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(1):18-24. DOI 10.18699/VJ18.326 (in Russian)

Картофель – важнейшая сельскохозяйственная культура, которая характеризуется большой адаптивностью, пластичностью и потенциальной продуктивностью. Возделывается в 130 странах мира, для России является стратегическим продуктом. Это одна из наиболее поражаемых болезнями и вредителями культур. В настоящее время насчитывают около 30 наиболее распространенных болезней картофеля, ежегодные потери урожая от которых составляют 10–60 % (Кузнецова, 2007). Постоянным фактором, снижающим урожай картофеля, является развитие вирусных болезней, приводящих к его вырождению. Создание сортов картофеля, устойчивых к фитопатогенам, наиболее надежный и экономичный способ снижения потерь урожайности.

На территории Российской Федерации к объектам внутреннего и внешнего карантина относятся только два возбудителя заболеваний картофеля – *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. (рак картофеля) и *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens (золотистая цистообразующая картофельная нематода – ЗКН) (Национальный доклад, 2017). Вызываемые ими болезни распространены в большинстве стран мира (EPPO, 2003, 2014; SABI/EPPO, 2011, 2015). В настоящее время выявлено 43 патотипа возбудителя рака картофеля и 5 патотипов ЗКН. На территории РФ обнаружен только первый (D1) патотип возбудителя рака и Ro1 патотип ЗКН (Мироненко и др., 2009; Limantseva et al., 2014). Бледная картофельная нематода *G. pallida* (Stone) Behrens на территории РФ не выявлена (Limantseva et al., 2014), хотя в странах Европейского союза встречается повсеместно. Химических средств борьбы против этих возбудителей нет, поэтому основным способом защиты является возделывание устойчивых сортов картофеля. Обязательное требование для включения в реестр селекционных достижений новых сортов картофеля – устойчивость к возбудителю рака.

Традиционная схема селекции картофеля основана на фенотипической оценке и отборе образцов, соответствующих модели сорта. Продолжительность селекции от гибридизации до передачи перспективных номеров на государственное сортоиспытание составляет более десяти лет. Использование в исследованиях достижений молекулярной генетики позволяет современным ученым создавать новые технологии селекции (Симаков и др., 2006; Milbourne et al., 2007; Carputo, Frusciante, 2011; Slater et al., 2014; Mori et al., 2015).

Многие селекционно ценные признаки картофеля, в том числе устойчивость к вирусам X, Y, S, вирусу скру-

чивания листьев картофеля (ВСЛК), цистообразующим нематодам, раку, имеют моногенно-доминантную природу (Росс, 1989).

Применение маркеров для идентификации ценных генотипов, в том числе форм с несколькими генами устойчивости, позволяет существенно повысить эффективность отбора на ранних этапах селекции (Gebhardt et al., 2006; Simko et al., 2007; Gebhardt, 2013; Slater et al., 2013). Новым подходом в использовании ДНК-маркеров является разработка технологии мультиплексной ПЦР для одновременного тестирования сортов и селекционных линий по нескольким генам, контролирующим устойчивость к вирусам и нематодам (Mori et al., 2011; Asano et al., 2012; Slater et al., 2013; Бирюкова и др., 2016, 2017). Это во много раз увеличивает результативность маркер-контролируемого отбора (marker-assisted selection – MAS) и повышает надежность тестирования, так как обычно в число амплифицируемых фрагментов входит контрольный ПЦР-продукт, присутствующий у всех образцов, что минимизирует ложноотрицательные результаты (Хютти и др., 2017).

Наиболее известны в этом направлении работы японских ученых. Это система для выявления маркеров ряда R-генов, определяющих устойчивость к основным патогенам картофеля: вирусам X (маркер PVX) и Y (маркер Ry186), к *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens (маркер N146) и race 1 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (маркер R1) (Mori et al., 2011). Другая система (маркеры N146, N195, Gpa2-2 и Gro1-4-1) позволяет одновременно проводить скрининг на присутствие всех основных генов устойчивости к цистообразующим нематодам (Asano et al., 2012).

Для развития селекции картофеля большое значение имеет скрининг сортов и исходных родительских форм на наличие генов устойчивости к болезням и вредителям (Бирюкова и др., 2015; Антонова и др., 2016; Ермишин и др., 2016). Молекулярно-генетическая характеристика гибридов картофеля, используемых селекционерами в качестве доноров устойчивости к наиболее вредоносным патогенам, делает более обоснованным подбор родительских пар для скрещивания. Вовлечение в гибридизацию генетически разнообразных источников позволяет сочетать в гибридном потомстве высокую и стабильную устойчивость к основным фитопатогенам с комплексом хозяйственно ценных признаков.

Цель работы – скрининг методом мультиплексной ПЦР образцов коллекции Нарымского отдела селекции и семе-

новодства Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа (СибНИИСХиТ) – филиала СФНЦА РАН на наличие генов устойчивости к золотистой и бледной нематодам, раку, X- и Y-вирусам картофеля.

### Материалы и методы

Материалом для исследования служили 40 образцов картофеля из коллекционного питомника Нарымского отдела селекции и семеноводства СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН. В выборку вошли 2 сорта, 3 популяции, полученные от самоопыления сорта Идеал, и 35 индивидуально отобранных гибридов картофеля.

В гибридных комбинациях использовались сорта Alvara, Bora valley, Gala, Kolette, Labadia, Sante, Виктория, Идеал, Кандидат, Колобок, Луговской, Русский сувенир, Сказка, Удача, а также ранее созданные гибриды 99-6-10, 128-6, 94.10-20, 1м, 2м, 6м, 1с, 2с. Происхождение исследованных образцов приведено в табл. 1.

Мультиплексная ПЦР проведена для определения ДНК-маркеров восьми генов (табл. 2), контролирующих устойчивость картофеля к наиболее опасным патогенам: нематодам – золотистой цистообразующей (*G. rostochiensis*) патотипа Ro1, Ro4 (гены *H1*, *Gro1-4*) и бледной (*G. pallida*) патотипа Pa2 (ген *Gpa2-2*); к вирусам картофеля Y (гены *Rysto*, *Ryadg* и *Rychc*) и X (ген *Rx1*) и к возбудителю рака картофеля (*S. endobioticum*) патотипа 1 (ген *Sen1*).

Для выделения ДНК из образцов гомогенизировали 200 мг ткани клубня картофеля в гомогенизаторе Pre-

cellys 24. Дальнейшее выделение проводили с использованием набора «ГМО-МагноСорб» (ООО «Синтол») по стандартному протоколу с помощью роботизированной станции Савраска-02 (ООО «Синтол», Россия).

Аmplификацию продуктов восьми реакций: RYSC3 (Kasai et al., 2000), Ry186 (Mori et al., 2011), YES3-3A (Song et al., 2005), TG 689 (Brodie et al., 1999; Бирюкова и др., 2008), 57R (Schultz et al., 2012), N195 (Asano et al., 2012), Gro1-4-1 (Asano et al., 2012), Gpa2-2 (Asano et al., 2012) выполняли в мультиплексе с использованием 2.5× реакционной смеси для ПЦР M428 (ООО «Синтол») (рис. 1) по следующему протоколу амплификации:

- 1) 94 °C, 10 мин;
- 2) 5 циклов – 94 °C, 30 с; 68 °C, 30 с; 72 °C, 1 мин;
- 3) 35 циклов – 94 °C, 30 с; 58 °C, 30 с; 72 °C, 1 мин;
- 4) 94 °C, 30 с; 72 °C, 5 мин.

Аmplификацию двух более длинных фрагментов – NL25 (Hehl et al., 1999) и PVX (Mori et al., 2011) также проводили совместно (рис. 2):

- 1) 94 °C, 10 мин;
- 2) 5 циклов – 94 °C, 30 с; 68 °C, 30 с; 72 °C, 1.5 мин;
- 3) 35 циклов – 94 °C, 30 с; 58 °C, 30 с; 72 °C, 1.5 мин;
- 4) 94 °C, 30 с; 72 °C, 5 мин.

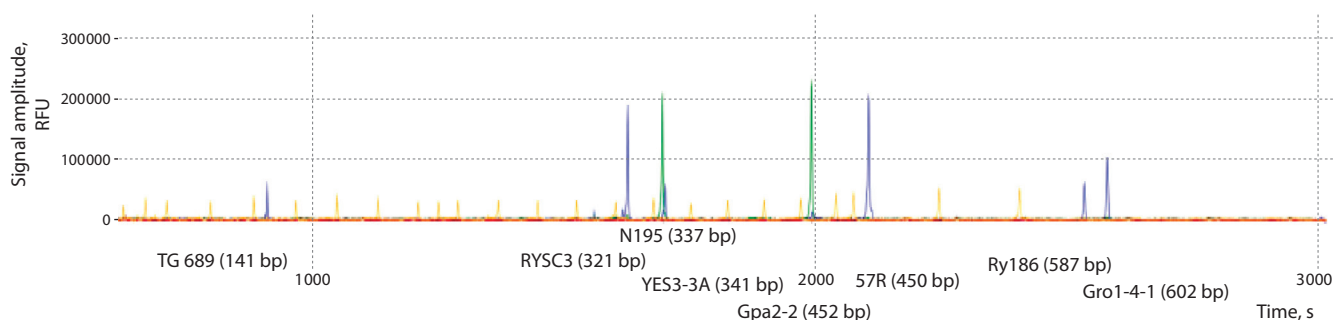
Продукты амплификации идентифицировали с помощью капиллярного генетического анализатора «Нанофор 05» (Институт аналитического приборостроения РАН). Для этого прямые праймеры были помечены флуоресцентными красителями 6FAM или 5R6G (ООО «Син-

**Table 1.** Origin of accessions used for genetic analysis to identify genes for resistance to plant pathogens

Accession	Cross	Accession	Cross
Nevskiy	Veselovskiy × Kandidat	C-26-15	1m × 94.10-20
Flamingo	99-6-10 × Bora valley	C-27-15	1m × 94.10-20
C-112-03	Sante × Ideal	C-30-15	1m × 94.10-20
C-3-13	F <sub>1</sub> Ideal	C-31-15	1m × 94.10-20
C-38-14	Udacha × 128-6	C-41-15	6m × 94.10-20
C-42-14	Skazka × 128-6	C-47-15	Udacha × Bora valley
C-46-14	Skazka × 128-6	C-43-15	6m × 94.10-20
C-47-14	Skazka × 128-6	C-48-15	Udacha × Bora valley
C-49-14	Skazka × 128-6	C-56-15	3-86-9 × Viktoriya
C-87-14	Kolobok × Bora valley	C-57-15	3-86-9 × Viktoriya
C-121-14	Kolobok × Bora valley	C-67-15	F <sub>1</sub> Ideal
C-130-14	Lugovskoy × Russkiy souvenir	C-39-16	Gala × 128-6
C-132-14	Alvara × Russkiy souvenir	C-41-16	Kolette × Gala
C-183-14	F <sub>1</sub> Ideal	C-42-16	Kolette × Gala
C-2-15	1s × 128-6	C-43-16	Kolette × Gala
C-3-15	1s × 128-6	C-44-16	BP 808 × 88.16/20
C-6-15	Bora valley × 128-6	C-45-16	BP 808 × 88.16/20
C-7-15	1s × 128-6	C-50-16	BP 808 × 88.34/14
C-8-15	2s × 128-6	C-51-16	BP 808 × 88.34/14
C-21-15	2m × 94.10-20	C-55-16	Labadia × Gala

**Table 2.** *R* genes and DNA markers used for molecular screening

Gene	Chromosome	Trait	DNA marker (size)	Reference
<i>Ryadg</i>	XI	Resistance to PVY	RYSC3 (321 bp)	Kasai et al., 2000
<i>Rysto</i>	XII	»	YES3-3A (341 bp)	Song et al., 2005
<i>Rychc</i>	VII	»	Ry186 (587 bp)	Mori et al., 2011
<i>H1</i>	V	Resistance to <i>G. rostochiensis</i> Ro1, Ro4	TG 689 (141 bp)	Brodie et al., 1999; Бирюкова и др., 2008
			57R (450 bp)	Schultz et al., 2012
			N195 (337 bp)	Asano et al., 2012
<i>Gro1-4</i>	VII	Resistance to <i>G. rostochiensis</i> Ro1, Ro4	Gro1-4-1 (602 bp)	»
<i>Gpa2</i>	XII	Resistance to <i>G. pallida</i> Pa2	Gpa2-2 (452 bp)	»
<i>Rx</i>	XII	Resistance to PVX	PVX (1230 bp)	Mori et al., 2011
<i>Sen1</i>	XI	Resistance to potato canker	NL25 (1400 bp)	Hehl et al., 1999



**Fig. 1.** Chromatographic resolution of eight reactions: RYSC3, Ry186, YES3-3A, TG 689, 57R, N195, Gro1-4-1, and Gpa2-2.



**Fig. 2.** Chromatographic resolution of two reactions: NL25 and PVX.

тол»). Капиллярный электрофорез имеет высокую разрешающую способность, что позволяет идентифицировать близкие по длине фрагменты, в том числе за счет использования различающихся по спектру флуорофоров. Полученные данные анализировали с использованием программы «ДНК Фрагментный анализ» (ИАП РАН).

### Результаты и обсуждение

Скрининг 40 образцов картофеля, проведенный методом мультиплексной ПЦР, выявил в исследованном наборе сортов и гибридов генотипы с маркерами генов *H1* и *Gpa2*, контролирующими устойчивость к золотистой цистообразу-

ющей и бледной нематодам, гена *Sen1*, обеспечивающего устойчивость к раку картофеля, и генов *Rx* и *Ryadg*, *Rysto*, обеспечивающих иммунитет картофеля к X- и Y-вирусам соответственно. Маркер Ry186 гена *Rychc* (устойчивость к Y-вирусу картофеля) у генотипов выборки не обнаружен.

Выделены образцы с маркерами генов устойчивости к раку картофеля (*Sen1*), вирусу X (*Rx*), вирусу Y (*Ryadg*, *Rysto*), золотистой цистообразующей картофельной нематоды (*H1*, *Gro1-4*), бледной нематоды (*Gpa2*) (табл. 3).

Выбор маркеров для выявления генов устойчивости основан на результатах отечественных и зарубежных исследователей по оценке корреляционных связей между

**Table 3.** Results of studies of potato accessions with DNA markers for genes for resistance to potato canker, X and Y viruses, *Globodera rostochiensis*, and *Globodera pallida*

Accession	NL25	PVX	RYSC3 <sup>312</sup>	Ry186 <sup>587</sup>	YES3-3A <sup>341</sup>	TG 689 <sup>141</sup>	57R <sup>450</sup>	N195 <sup>337</sup>	Gro1-4-1 <sup>602</sup>	Gpa2-2 <sup>452</sup>
	Resistance gene									
	<i>Sen1</i>	<i>Rx</i>	<i>Ryadg</i>	<i>Rychc</i>	<i>Rysto</i>	<i>H1</i>	<i>Gro1-4</i>			<i>Gpa2</i>
	Potato canker	PVX	PVY				<i>Globodera rostochiensis</i>			<i>Globodera pallida</i>
C-42-14	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-47-14	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-49-14	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-130-14	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-121-14	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0
C-183-14	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-7-15	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+
C-31-15	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+
C-47-15	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
C-43-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-48-15	+	+	0	0	0	+	+	+	0	+
C-87-14	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+
C-38-14	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-2-15	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-3-15	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+
C-26-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-27-15	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+
C-30-15	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+
C-41-15	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+
C-56-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-57-15	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-46-14	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
C-39-16	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0
C-41-16	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0
C-42-16	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0
C-43-16	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0
C-50-16	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0
C-51-16	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
C-55-16	+	+	0	0	0	+	+	+	0	+
C-132-14	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
C-6-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-8-15	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
C-21-15	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+
C-67-15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-44-16	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-45-16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-3-13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C-112-03	0	+	0	0	0	+	+	+	0	+
Nevksiy	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Flamingo	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0

маркерами генов и устойчивостью образцов картофеля к фитопатогенам.

Считается, что доминантный аллель гена *Sen1* полностью блокирует развитие и репродукционные способности *S. endobioticum* (патотип 1) (Lellbach, Effmert, 1990). На сегодняшний день в практически ориентированных исследованиях наиболее используемым остается маркер устойчивости к возбудителю рака картофеля NL25<sup>1400</sup>. Молекулярный скрининг выявляет этот маркер почти у всех изученных ракоустойчивых отечественных сортов (Лукша и др., 2012; Бирюкова и др., 2015; Антонова и др., 2016). В наших исследованиях наличие этого маркера определено у 19 образцов.

Предложенные в работе (Mori et al., 2011) маркеры PVX и Ry186 используются для выявления *R*-генов, определяющих устойчивость к вирусам X и Y картофеля соответственно. Маркер PVX гена устойчивости к вирусу X (*Rx*) диагностирован у 13 из исследованных образцов. Маркер Ry186 гена *Ryhc* среди образцов исследованной выборки не обнаружен. Маркер RYSC3<sup>312</sup> гена *Ryaag* обнаружен у 10 образцов, маркер YES3-3A<sup>341</sup> гена *Rysto* – у 5 образцов. Маркеры сразу двух генов устойчивости к вирусу Y (*Ryaag*, *Rysto*) имеются только у образца С-121-14.

Считается, что из идентифицированных в настоящее время генов, контролирующих устойчивость к золотистой и бледной нематодам, наиболее эффективную защиту обеспечивают гены *H1*, *GroVI*, *GroI* и *Gpa2* (Хютти и др., 2017). Согласно литературным данным, доминантный аллель гена *H1* интрогрессирован в селекционные сорта от единичных нематодоустойчивых образцов *S. tuberosum* ssp. *andigenum* и *S. vernei* (Тохореус, Huijsman, 1953), а ген *GroI-4* – от образцов *S. spagazzinii* (Barone et al., 1990).

На устойчивость к *G. rostochiensis* в отечественных и зарубежных исследованиях чаще всего используется SCAR-маркер TG 689 гена *H1* (Бирюкова и др., 2008, 2015; Galek et al., 2011; Milczarek et al., 2011, 2014; Shultz et al., 2012; Антонова и др., 2016). Маркер N195, сцепленный с локусом *H1*, предложен группой японских ученых (Asano et al., 2012). В молекулярном скрининге генотипов картофеля на наличие гена устойчивости к золотистой цистообразующей картофельной нематоде в настоящее время также активно используется маркер 57R, сцепленный с локусом гена *H1*, – как в России (Бирюкова и др., 2015; Антонова и др., 2016), так и за рубежом (Shultz et al., 2012, Milczarek et al., 2014). Ген *GroI-4* тоже имеет большое практическое значение для селекции на устойчивость к глободерозу. Для его идентификации был разработан одноименный внутригенный SCAR-маркер *GroI-4* (Gebhardt et al., 2006).

В исследованной выборке носителями гена устойчивости к золотистой цистообразующей картофельной нематоде *GroI-4* являются 6 образцов, гена *H1* – 12 образцов, и только у двух образцов (С-31-15 и С-27-15) выявлены оба гена.

Ген *Gpa2* обеспечивает устойчивость селекционных сортов к бледной картофельной нематоде (патотипы Pa2 и Pa3) (Van der Voort et al., 1997; Van der Vossen et al., 2000). Он локализован в составе общего кластера вместе с генами устойчивости к другим патогенам, в частности геном *Rx*, детерминирующим устойчивость к вирусу X картофеля. Маркеры *Gpa2-2*<sup>452</sup> (гена *Gpa2*) и PVX (гена *Rx*)

обнаружены у 13 образцов. Образец С-87-14 обладает генами устойчивости к раку картофеля, бледной нематоде, золотистой нематоде (ген *GroI-4*), вирусам X и Y (*Rysto*).

Из 40 исследованных генотипов картофеля максимальное число маркеров пяти генов устойчивости (к вирусам X (*Rx*), Y (*Rysto*), золотистой цистообразующей картофельной нематоде (*H1*, *GroI-4*), бледной нематоде (*Gpa2*)) обнаружено у образца С-31-15, обладающего по результатам полевых испытаний также высокими показателями урожайности и качества. Выделенный по результатам исследований гибридный образец С-31-15 является источником комплекса хозяйственно ценных признаков, в том числе устойчивости к нескольким вредоносным фитопатогенам картофеля.

## Acknowledgments

This work was supported by the Federal Agency for Scientific Organizations, Program for support of bioresource collections, project 0778-2017-0099. Experiments were conducted with the use of the equipment of the Biotechnology Shared Access Center, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology. DNA isolation was supported by the Russian Ministry of Education and Science, project 14.579.21.0012 of June 5, 2014, ID RFMEFI57914X0012.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Antonova O.Yu., Shvachko N.A., Novikova L.Yu., Shuvalov O.Yu., Kostina L.I., Klimenko N.S., Shuvalova A.R., Gavrilenko T.A. 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. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(5):596-606. DOI 10.18699/VJ16.181 (in Russian)
- Asano K., Kobayashi A., Tsuda S., Nishinaka M., Tamiya S. DNA marker assisted evaluation of potato genotypes for potential resistance to potato cyst nematode pathotypes not yet invading into Japan. *Breed. Sci.* 2012;62:142-150. DOI 10.1270/jsbbs.62.142.
- 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*. *Mol. Gen. Genet.* 1990;224(2):177-182. DOI 10.1007/BF00271550.
- Biryukova V.A., Shmyiglyya I.V., Abrosimova S.B., Manankov V.V., Mityushkin A.V., Rogozina E.V., Kiru S.D., Chalaya N.A., Meleshin A.A., Zharova V.A. The use of molecular markers in breeding for potato cyst nematode resistance. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektcii = Proceedings on Applied Botany, Genetics, and Breeding*. 2017;178(1):92-103. (in Russian)
- Biryukova V.A., Shmyiglyya I.V., Abrosimova S.B., Zapekina T.I., Meleshin A.A., Mityushkin A.V., Manankov V.V. Molecular marker-based search for sources of genes for resistance to pathogens among accessions of breeding-genetic collections of the All-Russia Research Institute of Potato Farming. *Zashhita kartofelya = Potato Protection*. 2015;1:3-7. (in Russian)
- Biryukova V.A., Shmyiglyya I.V., Meleshin A.A., Mityushkin A.V., Manankov V.V., Abrosimova S.B. Study of genetic collections of the All-Russia Research Institute of Potato Farming with the help of molecular markers. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2016;30(10):22-26. (in Russian)
- Biryukova V.A., Zhuravlev A.A., Abrosimova S.B., Kostina L.I., Khromova L.M., Shmyiglyya I.V., Morozova N.N., Kirsanova S.N. Use of molecular markers of *H1* and *GroI* genes for resistance to golden

- potato nematode. Doklady Rossiyskoy Akademii Selskokhozyaystvennykh Nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences. 2008;6:3-6. (in Russian)
- Brodie M., Overstall P., Giorgi L. Multicentre, double-blind, randomised comparison between lamotrigine and carbamazepine in elderly patients with newly diagnosed epilepsy. *Epilepsy Research*. 1999;37(1):81-87.
- CABI/EPPO. *Globodera rostochiensis*. Distribution maps of plant diseases. 2011. Available at <http://www.cabi.org>
- CABI/EPPO. *Synchytrium endobioticum*. Distribution maps of plant diseases. 2015. Available at <http://www.cabi.org>
- Carputo D., Frusciantone L. Classical genetics and traditional breeding. In: Bradeen J.M., Haynes K.G. (Eds.) *Genetics, Genomics and Breeding of Potatoes*. Enfield, NH: Science Publ., 2011:20-40.
- EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests. 2003. Available at <https://www.eppo.int/>
- EPPO. Pest quarantine database. Paris, France, 2014. Available at <http://www.eppo.int/>
- Ermishin A.P., Svitoch O.V., Voronkova E.V., Luksha V.A., Gukasyan O.N., Polyukhovich Yu.V., Zharich V.M. Otsenka iskhodnogo materiala kartofelya po sostavu i allel'nomu sostoyaniyu genov ustoyчивости k bolezniam i vreditelyam s tsel'yu optimizatsii podbora roditel'skikh form dlya gibridizatsii: metodicheskie rekomendatsii [Assessment of the initial potato material by the composition and allelic state of genes for resistance to diseases and pests in order to optimize the selection of parental forms for crossing: methodical recommendations]. Minsk: Pravo i ekonomika Publ., 2016. (in Russian)
- Galek R., Rurek M., De Jong W.S., Pietkiewicz G., Augustyniak H., Sawicka-Sienkiewicz E. Application of DNA markers linked to the potato *H1* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of *Globodera rostochiensis*. *J. Appl. Genetics*. 2011;52(4):407-411. DOI 10.1007/s13353-011-0056-y.
- Gebhardt C. Bridging the gap between genome analysis and precision breeding in potato. *Trends Genet.* 2013;29(4):248-256. DOI 10.1016/j.tig.2012.11.006.
- Gebhardt C., Bellin D., Henselewski H., Lehmann W., Schwarzfischer J., Valkonen J. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. *Theor. Appl. Genet.* 2006;112(8):1458-1464. DOI 10.1007/s00122-006-0248-8.
- Hehl R., Faurie E., Hesselbach J., Salamini F., Whitham S., Baker B., Gebhardt C. TMV resistance gene *N* homologues are linked to *Synchytrium endobioticum* resistance in potato. *Theor. Appl. Genet.* 1999;98:379-386.
- Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A., Valkonen J.P.T., Gebhardt C., Watanabe K.N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ryadg* based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*. 2000;43:1-8.
- Khiutti A.V., Antonova O.Yu., Mironenko N.V., Gavrilenko T.A., Afanasenko O.S. Potato resistance to quarantine diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):51-61. DOI 10.18699/VJ17.223. (in Russian)
- Kuznetsova M.A. Potato protection. *Zashchita i Karantin Rasteniy* = Plant Protection and Quarantine. 2007;5:62(2). (in Russian)
- Lellbach H., Effmert M. Ergebnisse einer Diallelanalyse zur Vererbung der Resistenz gegen *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc., pathotyp 1 (D1) bei Kartoffeln (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Res.* 1990;33(2):251-256.
- Limantseva L., Mironenko N., Shuvalov O., Antonova O., Khiutti A., Novikova L., Afanasenko O., Spooner D., Gavrilenko T. Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions from the Vavilov Institute of Plant Industry. *Plant Breed.* 2014;133(5):660-665.
- Luksha V.I., Voronkova E.V., Gukasyan O.N., Ermishin A.P. Evaluation of primary dihaploids of *S. tuberosum* for the presence of resistance genes to diseases and pests by PCR analysis. *Sbornik nauchnykh trudov Instituta genetiki i tsitologii NAN Belarusi «Molekulyarnaya i prikladnaya genetika»* [Proceedings of the Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, series "Molecular and Applied Genetics"]. Minsk, 2012;13:82-87. (in Russian)
- Milbourne D., Pande B., Bryan G.J. Ch. 12. Potato. In: Kole C. (Ed.). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Vol. 3. Pulses, Sugar and Tuber Crops. Springer, 2007; 205-236.
- Milczarek D., Flis B., Przetakiewicz A. Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. *Am. J. Potato Res.* 2011;88:245-255. DOI 10.1007/s12230-011-9189-0.
- Milczarek D., Przetakiewicz A., Kaminski P., Flis B. Early selection of potato clones with the *H1* resistance gene – the relation of nematode resistance to quality characteristics. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2014;50(4):278-284.
- Mironenko N.V., Hjuutti A.V., Afanasenko O.S. Characteristics of *Synchytrium endobioticum* populations by virulence, aggressiveness and DNA markers. *Mikologiya i fitopatologiya* = Mycology and Phytopathology. 2009;43(5):460-469. (in Russian)
- Mori K., Asano K., Tamiya S., Nakao T., Mori M. Challenges of breeding potato cultivars to grow in various environments and to meet different demands. *Breed. Sci.* 2015;65:3-16. DOI 10.1270/jsbbs.65.3.
- Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Nakao T., Ishii T., Hosaka K. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica*. 2011;180:347-355.
- Natsional'nyy doklad o karantinnom fitosanitarnom sostoyanii na territorii Rossiyskoy Federatsii v 2016 godu [National report on quarantine phytosanitary conditions in the Russian Federation in 2016]. Available at <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/nd2017.pdf>. (accessed 17 December 2017) (in Russian)
- Ross H. Potato breeding - Problems and perspectives. *Suppl. to J. Plant Breeding*, Paul Parey, Berlin and Hamburg, 1986. [Russ. ed.: Ross H. Selektsiya kartofelya – problemy i perspektivy. Moscow, Agropromizdat, 1989].
- Schultz L., Cogan N.O.I., McLean K., Dale M.F.B., Bryan G.J., Forster J.W., Slater A.T. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *H1*-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Breed.* 2012; 131:315-321. DOI 10.1111/j.1439-0523.2012.01949.x.
- Simakov E.A., Sklyarova N.P., Yashina I.M. *Methodical Guide on the Technology of the Potato Breeding Process*. Moscow: Dostizheniya nauki i tekhniki APK Publ., 2006. (in Russian)
- Simko I., Jansky S., Stephenson S., Spooner D. Genetics of resistance to pests and disease. In: Vreugdenhil R., Vreugdenhil D., Bradshaw J., Gebhardt Ch., Govers F., Taylor M., MacKerron D., Ross H. (Eds.) *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*. Amsterdam: Elsevier, 2007;7:117-155.
- Slater A.T., Cogan N.O., Forster J.W. Cost analysis of the application of marker-assisted selection in potato breeding. *Mol. Breed.* 2013; 32(2):299-310. DOI 10.1007/s11032-013-9871-7.
- Slater A.T., Cogan N.O., Hayes B.J., Schultz L., Dale M.F., Bryan G.J., Forster J.W. Improving breeding efficiency in potato using molecular and quantitative genetics. *Theor. Appl. Genet.* 2014;127(11):2279-2292. DOI 10.1007/s00122-014-2386-8.
- Song Y.S., Hepting L., Schweizer G., Hartl L., Wenzel G., Schwarzfischer A. Mapping of extreme resistance to PVY (*Ry<sup>stn</sup>*) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. *Theor. Appl. Genet.* 2005;111:879-887.
- Toxopeus H.J., Huijsman C.A. Breeding for resistance to potato root eelworm. I. Preliminary data concerning the inheritance and the nature of resistance. *Euphytica*. 1953;2(3):180-186. DOI 10.1007/BF00053725.
- Van der Voort J.R., Wolters P., Folkertsma R., Hutten R., van Zandvoort P., Vinke H., Kanyuka K., Bendahmane A., Jacobsen E., Janssen R., Bakker J. Mapping of the cyst nematode resistance locus *Gpa2* in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 1997;95(5):874-880. DOI 10.1007/s001220050638.
- Van der Vossen E.A.G., van der Voort J.R., Kanyuka K., Bendahmane A., Sandbrink H., Baulcombe D.C., Bakker J., Stiekema W.J., Klein-Lankhorst R.M. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. *Plant J.* 2000;23(5):567-576. DOI 10.1046/j.1365-3113x.2000.00814.x.