

ПОИСК ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К *GLOBODERA PALLIDA* И К PVX В КОЛЛЕКЦИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Клименко Н. С.¹, Гавриленко Т. А.^{1,2}, Костина Л. И.¹,
Мамадбокирова Ф. Т.², Антонова О. Ю.^{1*}

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) 190000, Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42–44
e-mail: olgaant326@mail.ru

² Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная 7–9

Большой ущерб картофелеводству наносят цистообразующие нематоды, к которым относятся два вида: *Globodera pallida* (Stone) Behrens – объект внешнего карантина и *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens – объект внутреннего карантина в Российской Федерации. Создание сортов картофеля, устойчивых к *G. rostochiensis* является одним из приоритетных направлений российской селекции уже несколько десятилетий, в то время как целенаправленный поиск источников устойчивости к *G. pallida* в нашей стране до последнего времени фактически не проводился, поскольку данный патоген в России не выявлен, хотя обнаружен в соседних странах. Возможности проведения отбора устойчивых к *G. pallida* генотипов с использованием традиционных фитопатологических методов предельно ограничены, поэтому информация о наличии в отечественном селекционном генофонде источников устойчивости к данному патогену имеет особое значение.

В статье представлены результаты молекулярного скрининга 160 сортов российской селекции и селекции стран ближнего зарубежья из коллекции ВИР на наличие аллель-специфичного маркера гена *Gpa2*, обеспечивающего устойчивость селекционных сортов картофеля к *G. pallida* (патотипам Pa2/Pa3). Показано, что среди 160 сортов выборки 19 имеют диагностический фрагмент маркера гена *Gpa2* – *Gpa2*-2. Выделенные в молекулярном скрининге 19 сортов одновременно содержали аллель-специфичные маркеры гена *Rx1*, контролирующего устойчивость к вирусу X картофеля (PVX).

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, селекционные сорта, маркер опосредованная селекция (MAS), ДНК-маркеры *R*-гены, *Globodera pallida*, вирус X картофеля

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Конфликт интересов отсутствует.

Благодарности: Исследование выполнено в рамках темы НИР 0662-2019-0004.

Клименко Н. С., Гавриленко Т. А., Костина Л. И., Мамадбокирова Ф. Т., Антонова О. Ю. Поиск источников устойчивости к *Globodera pallida* и к PVX в коллекции отечественных сортов картофеля с использованием молекулярных маркеров. Биотехнология и селекция растений. 2019; 2(1): 42-48. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-42-48

Klimenko N. S., Gavrilenko T. A., Kostina L. I., Mamadbokirova F. T., Antonova O. Yu. Search for resistance sources to *Globodera pallida* and potato virus X in the collection of potato varieties using molecular markers. Plant Biotechnology and Breeding. 2019; 2(1): 42-48. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-42-48

Клименко Н. С. orcid.org/0000-0002-5432-6466
Гавриленко Т. А. orcid.org/0000-0002-2605-6569
Костина Л. И. orcid.org/0000-0002-6413-9189
Мамадбокирова Ф. Т. orcid.org/0000-0002-7625-6892
Антонова О. Ю. orcid.org/0000-0001-8334-8069

SEARCH FOR RESISTANCE SOURCES TO *GLOBODERA PALLIDA* AND POTATO VIRUS X IN THE COLLECTION OF POTATO VARIETIES USING MOLECULAR MARKERS

Klimenko N. S.¹, Gavrilenko T. A.^{1,2}, Kostina L. I.¹,
Mamadbokirova F. T.², Antonova O. Yu.¹

¹ N. I. Vavilov All-Russian Institute, Plant Genetic Resources (VIR), Saint-Petersburg 190000, Russia
e-mail: olgaant326@mail.ru

² St. Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russia

Great damage to potato production is caused by cyst nematodes, which include two species: *Globodera pallida* (Stone) Behrens, the object of external quarantine, and *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens, the object of internal quarantine in the Russian Federation. The breeding of varieties resistant to the *G. rostochiensis* has long been one of the priorities of Russian potato breeding, while a targeted search for sources of resistance to *G. pallida* in our country until recently was not actually carried out, since this pathogen was not detected in Russia, although it was traced in neighboring countries. The possibilities of selection of *G. pallida*-resistant genotypes using traditional phytopathological methods are extremely limited, so the information about the presence of markers of resistance genes to this pathogen in the domestic breeding gene pool is of particular importance.

Here we present the results of molecular screening of 160 varieties bred in Russia and in adjacent countries from the collection of VIR for the presence of markers of *Gpa2* gene, which provides resistance of potato varieties to *G. pallida* (Pa2/Pa3 pathotypes).

It is shown that among 160 varieties of the analyzed subset 19 have a diagnostic fragment of the allele-specific marker of the *Gpa2* gene – *Gpa2*-2. These 19 varieties isolated in molecular screening simultaneously contained allele-specific markers of the *Rx1* gene controlling resistance to potato virus X (PVX).

Keywords: *Solanum tuberosum*, potato varieties, MAS, DNA markers of *R*-genes, *Globodera pallida*, potato virus X

УДК: 635.21:631.523:631.527:632.6+631.467

Поступила в редакцию: 15.01.2019

Принята к публикации: 19.02.2019

Введение

Большой ущерб картофелеводству наносят цистообразующие нематоды, к которым относятся два вида: золотистая картофельная нематода *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens и бледная картофельная нематода *Globodera pallida* (Stone) Behrens. Вид *G. rostochiensis* имеет пять патотипов (Ro1 — Ro5), вид *G. pallida* имеет три патотипа (Pa1, Pa2/Pa3). Помимо значительных потерь урожая у восприимчивых сортов картофеля (до 50% согласно Trudgill, 1986), опасность распространения цистообразующих нематод связана с долговременной потерей зараженных территорий для возделывания картофеля, поскольку цисты могут сохранять жизнеспособность в почве до 20 лет (Evans, Stone, 1977).

G. rostochiensis и *G. pallida* широко распространены в странах Южной и Северной Америки, Азии, Африки и в странах западной Европы (EPPO, 2003, 2014; САВI / EPPO, 2011, 2015). На территории Российской Федерации выявлен только один вид *G. rostochiensis* (и один его патотип — Ro1), который распространен очагами в 7 федеральных округах на территории общей площадью более полутора миллионов гектаров (Khiutti et al., 2017). Согласно Bradshaw et al. (2006) ген *H1* обеспечивает эффективную защиту сортов картофеля против патотипа Ro1 *G. rostochiensis* уже более 50 лет. Доминантный аллель гена *H1* широко распространен в зарубежных сортах и часто (30–60%) встречается в проанализированных российских сортах (Birjukova et al., 2008; Antonova et al., 2016; Klimenko et al., 2017). Создание сортов картофеля, устойчивых к золотистой картофельной нематоде является одним из приоритетных направлений отечественной селекции уже несколько десятилетий.

Второй вид цистообразующих нематод — *Globodera pallida* — является более агрессивным видом, так как способен поражать сорта картофеля устойчивые к *G. rostochiensis*, несущие доминантный аллель гена *H1* (Khiutti et al., 2017). Вид *G. pallida* в РФ пока не обнаружен (Limantseva et al., 2014; Khiutti et al., 2017). В то же время, существует большая опасность ухудшения фитосанитарной ситуации и появления в РФ бледной картофельной нематоды из-за регулярных поставок семенного картофеля из зарубежных стран, а также из-за обнаружения *G. pallida* в сопредельных с Россией государствах: Норвегии, Финляндии (Holgado, Magnusson, 2010; EPPO, 2014), и в Украине (Pylypenko et al., 2005). Поскольку бледная картофельная нематода является объектом внешнего карантина, целенаправленный поиск источников устойчивости к этому виду нематод в РФ до последнего времени фактически не проводился.

Использование маркер-ориентированной селекции позволяет выявлять источники устойчивости и проводить превентивную селекцию на устойчивость к объекту внешнего карантина — *G. pallida* — до момента появления патогена на территории России, а также проводить работы по пирамидированию *R*-генов устойчивости к разным видам нематод.

Ген *Gpa2* является основным (major) геном, контролирующим устойчивость селекционных сортов картофеля к бледной картофельной нематоде (патотипам Pa2/Pa3) (van der Voort et al., 1997; van der Vossen et al., 2000). *Gpa2* картирован на дистальном участке хромосомы XII, в составе небольшого кластера, включающего 4 гомологичные *RGH*-(*Resistance Gene Homologues*) последовательности, две из которых идентифицированы как гены *Gpa2* и *Rx1*, одна (*SH-RGH1*) — как ген устойчивости к неизвестному патогену, и еще одна является псевдогеном (Bendahmane et al., 1999; van der Vossen et al., 2000). В пределах этого кластера ген *Gpa2* расположен проксимально, а ген *Rx1* (детерминирующий устойчивость к вирусу X картофеля — PVX) — дистально по отношению к центромере. На основании ко-сегрегационного анализа расстояние между этими генами оценивается в 0,02 сМ (van der Vossen et al., 2000; van der Voort et al., 1999). Для скрининга на наличие доминантного аллеля гена *Gpa2* в разное время были разработаны несколько маркеров. CAPS-маркеры 77R/HaeIII (van der Voort et al., 1997) и GP34/TaqI (Milczarek et al., 2011), сцепленные с *Gpa2*, оказались недостаточно эффективны — совпадение результатов MAS анализа с данными фитопатологических тестов составило только 6,7% и 26,7% соответственно (Milczarek et al., 2011). Позднее были предложены внутригенные маркеры *Gpa2*-1 и *Gpa2*-2, которые в настоящее время преимущественно используются в MAS (Asano et al., 2012; Makhanko et al., 2014), в том числе российскими исследователями (Birjukova et al., 2015, 2016; Gavrilenko et al., 2018; Sajnakova et al., 2018).

Аналогично, для выявления доминантных аллелей гена *Rx1* первыми были разработаны многочисленные CAPS-маркеры (Bendahmane et al., 1997; Kanyuka et al., 1999). Из них наиболее часто в молекулярном скрининге применялся маркер CP60/DdeI_350 (Gebhardt et al., 2006), однако постепенно накапливалась информация о том, что этот маркер не способен дифференцировать разные гены устойчивости к PVX-*Rx1* (хромосома XII) и *Rx2* (хромосома V) (Ahmadvand et al., 2013).

Японскими исследователями (Mori et al., 2011) был разработан STS-маркер PVX_1230, сцепленный с геном *Rx1*. Этот маркер активно используется и в настоящее время (Birjukova et al., 2015, 2016; Sajnakova et al., 2018), но ряд авторов сообщает о его нестабильной амплификации и о наличии ложнопозитивных сигналов у восприимчивых сортов (Nie et al., 2017; Gavrilenko et al., 2018). На основе выравнивания последовательностей генов *Rx1* и *Rx2* были разработаны внутригенные маркеры 1Rx1 и 5Rx1, специфично детектирующие доминантные аллели гена *Rx1* (Ahmadvand et al., 2013). Эти маркеры эффективны при скрининге материала зарубежной селекции (Ahmadvand et al., 2013; Nie et al., 2017) и начинают использоваться российскими исследователями и селекционерами (Gavrilenko et al., 2018). Вирус X картофеля (PVX) распространен повсеместно и относится к экономически значимым патогенам картофеля.

Цель работы состояла в проведении молекулярного скрининга селекционных сортов картофеля из коллекции ВИР и идентификации генотипов с диагностическими фрагментами аллель-специфичных маркеров гена *Gpa2*, определяющего устойчивость к объекту внешнего карантинного вредителя – бледной картофельной нематоды, а также маркеров гена *Rx1*, детерминирующего устойчивость к PVX. Следует отметить, что информация о распространении доминантного аллеля гена *Gpa2* в генофонде отечественных сортов ограничена, поскольку в известных нам работах указывались только MAS-позитивные сорта, а данные о MAS-негативных сортах не приводились (Makhanok et al., 2014; Birjukva et al., 2015, 2016).

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 160 отечественных селекционных сортов картофеля из коллекции ВИР, которые перечислены в разделе «Результаты». Сорта картофеля предварительно были верифицированы

куратором коллекции д-ром биол. наук Л. И. Костиной по комплексу морфологических характеристик. В качестве положительных контролей при проведении молекулярного скрининга использовали сорта, для которых в литературе было ранее показано присутствие диагностических фрагментов определенных маркеров — гена *Gpa2* для сорта Atlantic (Asano et al., 2012) и маркеров гена *Rx1* для сортов Cara и Sante (Ahmadvand et al., 2013).

Выделение ДНК. Для получения препаратов ДНК использовали листья растений из полевого генбанка ВИР. ДНК выделяли с использованием ранее модифицированного нами метода СТАВ-экстракции (Gavrilenko et al., 2013); в случае сильного загрязнения препаратов полифенольными соединениями проводили дополнительную очистку при помощи поливинилпирролидона.

MAS. Молекулярный скрининг был проведен с использованием аллель-специфичных STS-маркеров *R*-генов, детерминирующих устойчивость к *G. pallida* (патотипы Pa2 и Pa3) и к PVX. Сведения об использованных маркерах и праймерах представлены в таблице 1.

Таблица 1. Используемые в работе маркеры *R*-генов устойчивости
Table 1. DNA markers of *R*-genes used in this study

Ген	Хромосома	Маркер	T°m	Последовательности праймеров	Размер диагностического фрагмента (п. о.)	Литературный источник
Устойчивость к <i>Globodera pallida</i> (патотипы Pa2 и Pa3)						
<i>Gpa2</i>	XII	<i>Gpa2-2</i>	60	F: GCACTTAGAGACTCATGCCA R: ACAGATTGTTGGCAGCGAAA	452	Asano et al. 2012
Устойчивость к ХБК						
<i>Rx1</i>	XII	PVX	58	RxSP-S3 (F): ATCTTGGTTTGAATACATGG RxSP-A2 (R): CACAATATTGGAAGGATTCA	1230	Mori et al., 2011
		1Rx1	60	F: GGAGAAATCCTGCAATATAAT R: CGACCGAACTTACATTTCCC	974	Ahmadvand et al., 2013
		5Rx1	62	F: TCAGGGCAAACCCSTAACAC R: ATCGGCCTAGAGTGACATCG	186	Ahmadvand et al., 2013

ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 40 нг ДНК картофеля, 1х реакционный буфер (Диалат, Москва), 2,5 мМ MgCl₂, по 0,5 мМ каждого из нуклеотидтрифосфатов (dNTP's), 200 нМ прямого и обратного праймеров, и 1 ед. *Taq*-полимеразы (фирма «Диалат», Москва, <http://dialat.ru/>). Условия ПЦР соответство-

вали предложенным разработчиками праймеров (табл. 1). ПЦР-продукты разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле в присутствии бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ свете. Все анализы проводили не менее чем в трех повторностях.

Результаты и обсуждение

Для идентификации носителей доминантного аллеля гена *Gra2* устойчивости к бледной картофельной нематоде был проведен молекулярный скрининг 160 отечественных селекционных сортов картофеля с аллель-специфичным маркером *Gra2-2*. Данные молекулярного скрининга анализируемой выборки представлены на рисунке 1 и в таблице 2. По результатам скрининга выборки были выделены 19 сортов (11,9%), генерирующих диагностический фрагмент размером 452 п. о. (рисунок 1 А). Из 160 проанализированных сортов, 154 были проанализированы впервые, а 6 сортов — Вектар, Живица, Одиссей (Makhanko et al., 2014), Дарковичский, Россиянка и Утенок (Birjukova et al., 2015) ранее уже участвовали в молекулярном скрининге с маркером *Gra2-2*. Эти 6 сортов были MAS-положительными как по нашим данным, полученным при изучении образцов

коллекции ВИР, так и по данным указанных выше авторов, анализировавших сорта из коллекций институтов-оригинаторов.

Ранее большинство (144 из 160) изученных в данной работе сортов из коллекции ВИР было также протестировано нами на наличие маркеров генов устойчивости к другому виду цистообразующих нематод — золотистой картофельной нематоды *G. rostochiensis* (патотип Ro1) (Antonova et al., 2016; Klimenko et al., 2017). Сопоставление этих данных с результатами настоящей работы позволило выявить пять сортов (Бежицкий, Живица, Пранса, Пролисок, Россиянка) с маркерами генов устойчивости к обоим видам нематод — *G. pallida* и *G. rostochiensis* — объектам внешнего и внутреннего карантина соответственно. Маркерные профили сортов Живица и Россиянка совпадают с указанными ранее в литературных источниках (Makhanko et al., 2014; Birjukova et al., 2015).

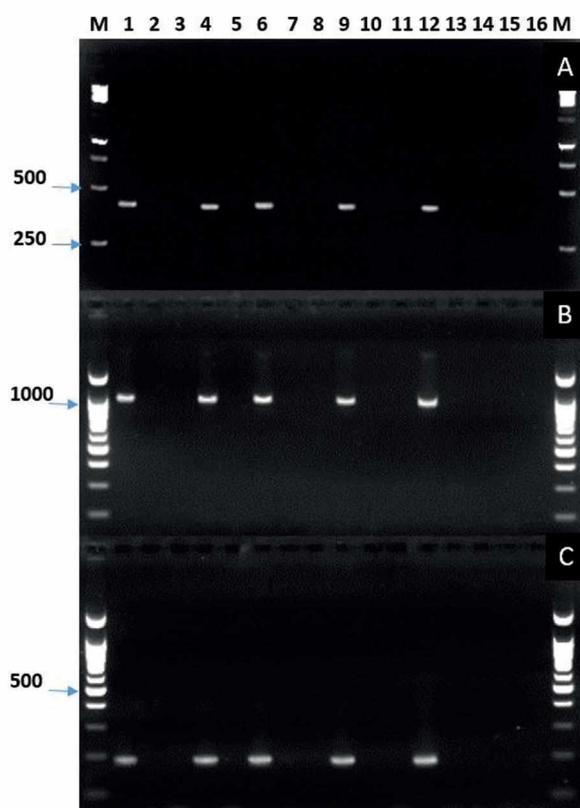


Рис. 1. Диагностические фрагменты маркеров гена *Gra2* (А – маркер *Gra2-2*) и гена *Rx1* (В – маркер 1Rx1, С – маркер 5Rx1) при ПЦР-анализе 16 сортов картофеля: 1 – Алиса, 2 – Антошка, 3 – Белоснежка, 4 – Приморский, 5 – Приекульский ранний, 6 – Рамзай, 7 – Прибрежный, 8 – Рассвет, 9 – Теща, 10 – Резерв, 11 – Северянин, 12 – Чайка, 13 – Фермер, 14 – Чая, 15 – Фокинский, 16 – Эффект. М – маркеры молекулярного веса (А – маркер «1 kb», В и С – маркер «100 bp+1500», оба маркера фирмы «СибЭнзим»)

Fig. 1. The diagnostic fragments of markers of genes *Gra2* (A – marker *Gra2-2*) and *Rx1* (B – marker 1Rx1, C – marker 5Rx1) detected in PCR analysis of 16 potato varieties: 1 – Alisa, 2 – Antoshka, 3 – Belosnezhka, 4 – Primorskij, 5 – Priekul'skij rannij, 6 – Ramzaj, 7 – Pribrezhnyj, 8 – Rassvet, 9 – Teshcha, 10 – Rezerv, 11 – Severyanin, 12 – Chajka, 13 – Fermer, 14 – Chaya, 15 – Fokinskij, 16 – Effekt. M – molecular weight markers (A – marker «1 kb», B and C – marker «100 bp+1500», both markers from SibEnzyme)

Та же самая выборка из 160 сортов была использована для молекулярного скрининга с тремя маркерами гена *Rx1* — PVX, 1Rx1 и 5Rx1. Ранее мы отмечали нестабильную амплификацию маркера PVX (Gavrilenko et al., 2018). В данном исследовании при использовании маркера PVX также периодически наблюдались регулярные несовпадения результатов разных повторностей у ряда образцов. Поэтому в дальнейшем мы опирались на результаты MAS с внутригенными маркерами 1Rx1 и 5Rx1 (рис. 1 В, С),

для которых все повторности совпадали. Все 160 сортов выборки были впервые проскринированы на наличие маркеров 1Rx1 и 5Rx1. Диагностические фрагменты обоих этих маркеров были выявлены у 19 сортов (11,9% выборки). Эти же сорта одновременно обладали и маркером *Gpa2-2* гена *Gpa2* (табл. 2), что, очевидно, объясняется тесным сцеплением генов *Gpa2* и *Rx1* (van der Vossen et al., 1999, 2000; van der Voort et al., 1999).

Таблица 2. Результаты молекулярного скрининга 160 сортов картофеля с использованием маркеров генов *Gpa2* и *Rx1*

Table 2. Results of molecular screening of 160 varieties with the markers of *Gpa2* and *Rx1* genes

Ген			Название сорта
<i>Gpa2</i>	<i>Rx1</i>		
Маркер			
<i>Gpa2-2</i>	1Rx1	5Rx1	
1	1	1	<p><i>N=19</i></p> <p>— Алиса, Бежицкий, Болвинский, Букет, Дарковичский, Победа, Пранса, Приморский, Рамзай, Россиянка, Теща, Утенок, Чайка, Юбилейный Осетии (RUS).</p> <p>— Вектар, Живица, Одиссей (BLR).</p> <p>— Бородянский розовый, Пролисок (UKR).</p>
0	0	0	<p><i>N=141</i></p> <p>— Аврора, Алена, Аметист, Амур, Антошка, Барин, Барон, Белоснежка, Белуха, Большевик, Брат-2, Бронницкий, Брянская новинка, Брянский деликатес, Брянский красный, Брянский надежный, Брянский ранний, Вармас, Веселовский 2–4, Ветеран, Виза, Волжский, Вятка, Горизонт, Горноуральский, Горянка, Губернатор, Диво, Донцовский, Дружный, Жаворонок, Загадка, Зауральский, Звездочка, Зольский, Имандра, Искра, Кабардинский, Калинка, Каменский, Камераз, Катюша (селекция ПСВИР), Кемеровский, Колпашевский, Корневский, Кормилец, Корона, Красавица, Красная горка, Красная заря, Красная роза, Красноуфимский, Кристалл, Кустаревский, Ладожский, Лазарь, Лакомка, Лекарь, Лидер, Лорх, Маугли, Москворецкий, Мурманский, Мусинский, Надежда, Нальчикский, Нарт 1, Нарымка, Наука, Никулинский, Огниво, Октябренок, Олимп, Парус, Погарский, Престиж, Прибрежный, Призер, Приобский, Рапсодия, Рассвет, Резерв, Ресурс, Русич, Рябиноушка, Сапрыкинский, Свенский, Северянин, Сентябрь, Синева, Скороплодный, Смена, Сокольский, Солнышко, Томич, Успех, Фаленский, Фермер, Филатовский, Фокинский, Хибинский ранний, Чай, Шаман, Шурминский 2, Энергия, Эффект, Юбилей Жукова, Юпитер (RUS).</p> <p>— Альпинист, Архидея, Гарант, Гранат, Здабытак, Комсомолец-20, Лазурит, Ласунак, Лошицкий, Манифест, Нарочь, Пригожий 2, Росинка (Расінка), Синтез, Скарб, Темп, Явар (BLR).</p> <p>— Гарт, Зарево, Катюша (Украина), Луговской, Лыбидь, Незабудка, Нестеровский, Ромашка, Румянка, Русалка, Украинский розовый (UKR)</p> <p>— Варсна (LTU).</p> <p>— Лаймдота, Приекульский ранний (LVA).</p> <p>— Магс (EST).</p> <p>— Светлячок (MDA).</p>

В скобках указана страна происхождения сортов: RUS – Россия, BLR – Белоруссия, UKR – Украина, LTU – Литва, LVA – Латвия, MDA – Молдавия, EST – Эстония

Заключение

Результаты молекулярного скрининга с маркером гена *Gra2* позволяют идентифицировать потенциально устойчивые к *G. pallida* сорта картофеля и проводить в дальнейшем превентивную селекцию на устойчивость к данному объекту внешнего карантина. В данной работе среди 160 сортов выборки идентифицированы 19 (11,9%) сортов с диагностическим фрагментом аллель-специфичного маркера гена *Gra2* – *Gra2*–2.

С учетом полученных нами ранее данных молекулярного скрининга 33 сортов селекции ЛенНИИСХ «Белогорка» среди которых было выявлено пять с маркерами гена *Gra2* (Алый парус, Даная, Оредежский, Сиреневый туман, Чароит) (Gavrilenko et al., 2018), суммарно среди 193 отечественных сортов идентифицировано 24 (12,4%) потенциальных источников устойчивости к бледной картофельной нематоде. Отметим, что ряд MAS-позитивных сортов уже районированы в регионах РФ (<http://www.kartofel.org>), сопредельных со странами, в которых была

обнаружена бледная картофельная нематода. Так, сорта: Бородинский розовый, Живица, Одиссей, Чайка рекомендованы для выращивания в Северо-Западном регионе, граничащем с Финляндией, а сорта Бородинский розовый, Букет, Живица, Одиссей, Победа – в Центрально-Черноземном районе, граничащем с Украиной.

Все сорта с аллель-специфичным маркером *Gra2*–2 гена *Gra2* одновременно имели и аллель-специфичные маркеры 1Rx1 и 5Rx1 гена *Rx1*. Можно заключить, что отечественные селекционеры, создавая сорта, устойчивые к вирусу X картофеля, одновременно отбирали и потенциальные источники устойчивости к бледной картофельной нематоде.

Особый интерес для последующих селекционных работ, направленных на дальнейшее пирамидирование генов устойчивости к разным патогенам, представляют сорта, сочетающие маркеры генов устойчивости к обоим видам цистообразующих нематод *G. pallida*, *G. rostochiensis* и к вирусу X картофеля: Бежицкий, Живица, Пранса, Пролисок, Россиянка, а также Алый парус, Даная.

References/Литература

- Ahmadvand R, Wolf I, Gorji AM, Polgár Z, Taller J (2013) Development of molecular tools for distinguishing between the highly similar *Rx1* and *Rx2* PVX extreme resistance genes in tetraploid potato. *Potato Res*; 56(4): 277–291. DOI: 10.1007/s11540-013-9244-y
- Antonova OY, Shvachko NA, Novikova LY, Shuvalov OY, Kostina LI, Klimenko NS, Shuvalova AR, Gavrilenko TA (2016) 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*; 20(5): 596–606 [in Russian] (Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Новикова Л.Ю., Шувалов О.Ю., Костина Л.И., Клименко Н.С., Шувалова А.Р., Гавриленко Т.А. 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. Т. 20. № 5. С. 596–606). DOI: 10.18699/VJ16.181
- Asano K, Kobayashi A, Tsuda S, Nishinaka M, Tamiya S (2012) DNA marker-assisted evaluation of potato genotypes for potential resistance to potato cyst nematode pathotypes not yet invading into Japan. *Breed Sci*; 62(2): 142–150. DOI: 10.1270/jsbbs.62.142
- Bendahmane A, Kanyuka K, Baulcombe DC (1997) High-resolution genetical and physical mapping of the *Rx* gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. *Theor Appl Genet*; 95: 153–162. DOI: 10.1007/s001220050543
- Bendahmane A, Kanyuka K, Baulcombe DC (1999) The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell*; 11: 781–791. DOI: 10.1105/tpc.11.5.781
- Biryukova VA, Zhuravlev AA, Abrosimova SB, Kostina LI, Hromova LM, Shmyglya IV, Morozova NN, Kirsanova SN (2008) Using of molecular markers of the *H1* and *Gro1* genes of *Globodera rostochiensis* resistance (Ispol'zovanie molekulyarnykh markerov genov *H1* i *Gro1* ustojchivosti k zolotistoj kartofel'noj nematode). *Dokl. RASHN — Reports of the RAAS*; 6: 3–6 [in Russian] (Бирюкова В.А., Журавлев А.А., Абросимова С.Б., Костина Л.И., Хромова Л.М., Шмыгля И.В., Морозова Н.Н., Кирсанова С.Н. Использование молекулярных маркеров генов *H1* и *Gro1* устойчивости к золотистой картофельной нематоде // Доклады РАСХН. 2008. № 6. С. 3–6).
- Biryukova VA, Shmyglya IV, Abrosimova SB, Zapekina TI, Meleshin AA, Mityushkin AV, Manankov VV (2015) The search for sources of resistance genes to pathogens among the samples of plant breeding and genetics collections of All-Russian A. G. Lorch Research Institute of Potato Farming using molecular markers. *Zashhita kartofelya — Potato Protection*; 1: 3–7 [in Russian] (Бирюкова В.А., Шмыгля И.В., Абросимова С.Б., Запекина Т.И., Мелешин А.А., Митюшкин А.В., Мананков В.В. Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ с использованием молекулярных маркеров // Защита картофеля. 2015. № 5. С. 3–7).
- Biryukova VA, Shmyglya IV, Melyoshin AA, Mityushkin AV, Manankov VV, Abrosimova SB (2016) The study of genetic collections of the Lorch Potato Research Institute using molecular markers. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK — Achievements of Science and Technology of AIC*; 30(10): 22–26 [in Russian] (Бирюкова В.А., Шмыгля И.В., Мелешин А.А., Митюшкин А.В., Мананков В.В., Абросимова С.Б. Изучение генетических коллекций ВНИИ картофеля хозяйства с помощью молекулярных маркеров // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30. № 10. С. 22–26).
- Bradshaw JE, Bryan GJ, Ramsay G. (2006) Genetic recourses (including wild and cultivated *Solanum* species) and progress in their utilization in potato breeding. *Potato Res*. 49: 49–65. DOI 10.1007/s11540-006-9002-5
- CABI/EPPO. *Globodera rostochiensis*. Distribution maps of plant diseases. 2011. <http://www.cabi.org>.
- CABI/EPPO. *Synchytrium endobioticum*. Distribution maps of plant diseases. 2015. <http://www.cabi.org>.
- EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests. 2003. <https://www.eppo.int>.
- EPPO. Pest quarantine database. Paris, France. 2014. <http://www.eppo.int>.
- Evans K, Stone AR (1977) A Review of the Distribution and Biology of the Potato Cyst-Nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *International Journal of Pest Management*; 23(2): 178–189. DOI: 10.1080/09670877709412426
- Gavrilenko T, Antonova O, Shuvalova A, Krylova E, Alpatyeva N, Spooner D, Novikova L (2013) Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genet Resour Crop Evol*; 60(7): 1997–2015. DOI: 10.1007/s10722-013-9968-1
- Gavrilenko TA, Klimenko NS, Antonova OY, Lebedeva VA, Evdokimova ZZ, Gadjiyev NM, Apalikova OV, Alpatyeva NV, Kostina LI, Zoteyeva NM, Mamadbokirova FT, Egorova KV (2018) Molecular screening of potato varieties bred in the northwestern zone of the Russian Federation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*; 22(1): 35–45 [in Russian] (Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Гаджиев Н.М., Аналикова О.В., Алпатьева Н.В.,

- Костина Л. И., Зотеева Н. М., Мамадбокирова Ф. Т., Егорова К. В. Молекулярный скрининг сортов и гибридов картофеля северо-западной зоны Российской Федерации // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 1. С. 35–45. DOI: 10.18699/VJ18.329
- Gebhardt C, Bellin D, Henselewski H, Lehmann W, Schwarzfischer J, Valkonen JPT (2006) Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. *Theor Appl Genet*, 112(8): 1458–1464. DOI: 10.1007/s00122-006-0248-8
- Holgado R, Magnusson C (2010) Management of PCN (*Globodera* spp.) populations under Norwegian conditions. *Aspects of Applied Biology*; 103: 85–92.
- Kanyuka K, Bendahmane A, Rouppe van der Voort JNAM, Vossen EAG, Baulcombe DC (1999) Mapping of intra-locus duplications and introgressed DNA: Aids to map-based cloning of genes from complex genomes illustrated by physical analysis of the *Rx* locus in tetraploid potato. *Theor Appl Genet*; 98(5): 679–689. DOI: 10.1007/s001220051121
- Khiutti AV, Antonova OY, Mironenko TA, Gavrilenko OS, Afanasenko OS (2017) Potato Resistance to Quarantine Diseases. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*; 7(8): 833–844 [in Russian] (Кхиутти А. В., Антонова О. Ю., Мироненко Н. В., Гавриленко Т. А., Афанасенко О. С. Устойчивость картофеля к карантинным болезням // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 1. С. 51–61). DOI: 10.18699/VJ17.223
- Klimenko NS, Antonova OY, Kostina LI, Mamadbokirova FT, Gavrilenko TA (2017) 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*; 178(4): 66–75 [in Russian] (Клименко Н. С., Антонова О. Ю., Костина Л. И., Мамадбокирова Ф. Т., Гавриленко Т. А. Маркер-опосредованная селекция отечественных сортов картофеля с маркерами генов устойчивости к золотистой картофельной нематоды (патотип Ro1) // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2017. Т. 178. № 4. С. 66–75). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-66-75
- Limantseva L, Mironenko N, Shuvalov O, Antonova O, Khiutti A, Novikova L, Afanasenko O, Spooner D, Gavrilenko T (2014) Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions from the Vavilov Institute of Plant Industry. *Plant Breeding*; 133(5): 660–665. DOI: 10.1111/pbr.12195
- Makhanko OV, Seliverstova AI, Drobot NI, Schurko KA, Yakovleva GA (2014) Detection of genes conferring resistance to nematodes in potato varieties using SCAR-markers (Detekcija genov ustojchivosti k cistoobrazujushhim nematodam v sortoobrazcah kartofelja s pomoshh'ju SCAR-markerov). *Zashhita kartofelya — Potato Protection*; 1: 17–18 [in Russian] (Маханько О. В., Свищверстова А. И., Дробот Н. И., Щурко К. А., Яковлева Г. А. Детекция генов устойчивости к цистообразующим нематодам в сортообразцах картофеля с помощью SCAR-маркеров // Защита картофеля. 2014. № 1. С. 17–18).
- Milczarek D, Flis B, Przetakiewicz A (2011) Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. *Am J Potato Res*; 88(3): 245–255. DOI: 10.1007/s12230-011-9189-0
- Mori K, Sakamoto Y, Mukojima N, Tamiya S, Nakao T, Ishii T, Hosaka R (2011) Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica*; 180(3): 347–355. DOI: 10.1007/s10681-011-0381-6
- Nie X, Dickison V, Brooks S, Nie B, Singh M, De Koeeyer D, Murphy A (2018). High resolution DNA melting assays for detection of *Rx1* and *Rx2* for high-throughput marker-assisted selection for extreme resistance to *Potato virus X* in tetraploid potato. *Plant Disease*; 102(2): 382–390. DOI: 10.1094/PDIS-07-17-0968-RE
- Ohbayashi K, Nakata N, Chaya M, Komura K (2010) Development of a detection method of resistance to potato disease and pest using DNA markers. 1. Detection methods of resistance to *potato virus X*, potato cyst nematode and late blight. *Bull Nagasaki Agri Fore Tech Dev Cen*; 1: 1–26.
- Pylypenko LA, Uehara T, Phillips MS, Sigareva DD, Blok VC (2005) Identification of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in the Ukraine by PCR. *European Journal of Plant Pathology*; 111(1): 39–46. DOI: 10.1007/s10658-004-2732-9
- Rouppe van der Voort J, Kanyuka K, van der Vossen E, Bendahmane A, Mooijman P, Klein-Lankhorst R, Stiekema W, Baulcombe D, Bakker J (1999) Tight physical linkage of the nematode resistance gene *Gpa2* and the virus resistance gene *Rx* on a single segment introgressed from the wild species *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* CPC1673 into cultivated potato. *Mol. Plant-Microbe Interact*; 12(3): 197–206. DOI: 10.1094/MPMI.1999.12.3.197
- Rouppe van der Voort J, Wolters P, Folkertsma R, Hutten R, van Zandvoort P, Vinke H, Kanyuka K, Bendahmane A, Jacobsen E, Janssen R, Bakker J (1997) Mapping of the cyst nematode resistance locus *Gpa2* in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*; 95(5–6): 874–880. DOI: 10.1007/s001220050638
- Sajnakova AB, Romanova MS, Krasnikov SN, Litvinchuk OV, Alekseev YA, Nikulin AV, Terent'eva EV (2018) Testing potato collection samples for the presence of genes for resistance to phytopathogens by means of DNA markers. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii — Vavilov Journal of Genetics and Breeding*; 22(1): 18–24 [in Russian] (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. Т. 22. № 1. С. 18–24. DOI 10.18699/VJ18.326
- Trudgill DL (1986). Yield losses caused by potato cyst nematodes: a review of the current position in Britain and prospects for improvements. *Ann Appl Biol*; 108: 181–198. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1986.tb01979.x
- Van der Vossen EAG, van der Voort JR, Kanyuka K, Bendahmane A, Sandbrink H., Baulcombe DC, Bakker J, Stiekema WJ, Klein-Lankhorst RM (2000) Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. *Plant J*; 23(5): 567–576. DOI: 10.1046/j.1365-313x.2000.00814.x
- <http://www.dialat.ru>
<http://www.kartofel.org>