



Использование андрогенеза *in vitro* для вовлечения в селекцию межвидовых гибридов *Solanum tuberosum* L. с диким аллотетраплоидным видом картофеля *S. stoloniferum* Schltdl. et Bouché

А. П. Ермишин, А. С. Агеева, Е. В. Воронкова, В. И. Лукша, О. Н. Гукасян, В. М. Жарич

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

Автор, ответственный за переписку: Александр Петрович Ермишин, ermishin@igc.by

Дикий аллотетраплоидный вид картофеля из Мексики *Solanum stoloniferum* Schltdl. & Bouché рассматривают как ценный источник генов устойчивости к болезням и вредителям для использования в селекции. Однако интрогрессия генов устойчивости этого вида в селекционный материал затруднена из-за жестких межвидовых репродуктивных барьеров. Один из них – геномные различия между *S. stoloniferum* (геномный состав AABB) и *S. tuberosum* L. (AAAA). Это ставит под сомнение возможность переноса в геном культурного картофеля многообразия ценных генов дикого вида, локализованных на хромосомах его генома В. Предлагается получать тетраплоидные (4х, AAAB) межвидовые гибриды с *S. stoloniferum*, у которых предпосылки для гомеологической рекомбинации выше, чем у обычно используемых в схемах интрогрессии пентаплоидных гибридов (AAAAAB). Однако тетраплоидные гибриды имеют эффективную пloidность 3 EBN, что затрудняет их беккроссирование на культурный картофель (4х, 4 EBN). Так, попытки вовлечь в гибридизацию с сортами картофеля полученный нами тетраплоидный гибрид *S. stoloniferum* IGC16/36.1 в течение ряда лет были безуспешными. Для решения проблемы нами предложено использовать методический прием, основанный на получении тетраплоидных растений-регенерантов в культуре пыльников этого гибрида. Целью настоящего исследования было оценить эффективность применения этого приема.

В 2018 году было получено тридцать одно растение-регенерант (андрогенные клоны, андроклоны) в культуре пыльников гибрида IGC 16/36.1. Большинство андроклонов превосходили исходный гибрид по мощности габитуса и интенсивности цветения. В результате скрещиваний 2019 года получено 1039 гибридных семян (8,7 семян/ опыление) между 21 андроклоном и сортом 'Lemhi Russet', 1017 семян (7,5 семян/ опыление) между 23 андроклонами и сортом 'Quarta', 716 семян (12,3 семян/ опыление) между 11 андроклонами и диплоидной линией IGC 17n8, способной образовывать фертильную нередуцированную (2n) пыльцу. Семена обладали высокой всхожестью – 70-90%. Среди андроклонов, давших потомство в скрещиваниях с сортами, выявлены генотипы, несущие маркеры генов устойчивости к фитофторозу (*Rpi-sto1*, *R2* и *R3b*), PVY (*Ry_{adg}*, *Ry_{sto}* и *Ry_{chc}*) и раку картофеля *Sen2*, отмеченные у исходного образца *S. stoloniferum* PI 205522 и у гибрида IGC 16/36.1. Несмотря на сложный характер наследования анализируемых маркеров в поколениях, которые были получены от беккросса андроклонов, выделен ряд гибридов, несущих несколько маркеров, в том числе гена *Rpi-sto1* высокой устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия. Отобраны гибриды с относительно высокой клубневой продуктивностью и признаками культурного картофеля (клубнями правильной формы с мелкими глазками), обладающие высокой полевой устойчивостью к фитофторозу. Обсуждаются перспективы использования андроклонов тетраплоидного межвидового гибрида IGC 16/36.1 для повышения частоты гомеологической A/B рекомбинации хромосом.

Ключевые слова: межвидовая гибридизация, культура пыльников, интрогрессия генов

Благодарности: работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Биотехнологии» (2016–2020 гг.), задание 2.51 «Интрогрессия в селекционный материал генов дикого вида картофеля *S. stoloniferum* с помощью андрогенеза *in vitro* межвидовых гибридов».

Для цитирования: Ермишин А.П., Агеева А.С., Воронкова Е.В., Лукша В.И., Гукасян О.Н., Жарич В.М. Использование андрогенеза *in vitro* для вовлечения в селекцию межвидовых гибридов *Solanum tuberosum* L. с диким аллотетраплоидным видом картофеля *S. stoloniferum* Schltdl. et Bouché. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(1):21-34. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-01

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-ol

The use of *in vitro* androgenesis for the involvement of interspecific hybrids between *Solanum tuberosum* L. and wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schltdl. et Bouché into breeding

Alexander P. Yermishin, Anastasiya S. Ageeva, Elena V. Voronkova, Victoriya I. Luksha, Olga N. Gukasian, Victor M. Zharich

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Corresponding author: Alexander P. Yermishin, ermishin@igc.by

Wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schltdl. & Bouché from Mexico is regarded as a valuable source of resistance genes for use in breeding. However, introgression of its resistance genes into breeding material is hampered by a set of reproductive barriers. The genomic difference between *S. stoloniferum* (genome AABB) and *S. tuberosum* L. (AAAA) is one of them. This makes questionable the possibility of transferring a variety of valuable genes of the wild species localized on the chromosomes of its genome B into the genome of cultivated potatoes. It is proposed to produce tetraploid (4x, AAAB) interspecific hybrids of *S. stoloniferum*, which are regarded as more promising for homoeological recombination than pentaploid (5x, AAAAB) hybrids commonly used in the introgression schemes. However, the effective ploidy of tetraploid hybrids (3EBN) hinders their backcrossing to cultivated potatoes (4 EBN). For instance, our attempts to involve the tetraploid hybrid of *S. stoloniferum* IGC16/36.1 obtained by us into hybridization with potato varieties were unsuccessful for a number of years. To solve this problem, we suggested a technique based on the production of 4x plants obtained in anther culture of this hybrid. The present research was aimed at assessing the efficiency of this approach.

Thirty-one plants were obtained in anther culture (androgenic clones, androclones) of the hybrid IGC16/36.1 in 2018. Most of them exceeded the initial hybrid in habitus strength and flowering intensity. As a result of crosses made in 2019, 1039 hybrid seeds were obtained from crossing 21 androclones with the 'Lemhi Russet' variety (8.7 seeds/pollination), 1017 seeds (7.5 seeds/pollination) from crosses of 23 androclones with the 'Quarta' variety, and 716 seeds (12.3 seeds/pollination) from crosses of 11 androclones and a diploid potato line IGC 17n8 capable of producing fertile unreduced (2n) pollen. The hybrid seeds had good germination rate of 70-90%. Among the androclones that gave progeny in crosses with potato varieties, we identified genotypes carrying DNA markers of late blight (LB) resistance genes *Rpi-sto1*, *R2* and *R3b*, PVY resistance genes *Ry^{adg}*, *Ry^{sto}* and *Ry^{che}*, and potato wart disease resistance gene *Sen2* (these markers were found in the initial accession of *S. stoloniferum* PI 205522 and in the IGC 16/36.1 hybrid). Despite the complex nature of inheritance of the analyzed markers in progenies of backcrosses of androclones, a number of isolated hybrids carried several markers, including those of the *Rpi-sto1*, a broad-spectrum gene for high resistance to late blight. Hybrids with relatively high tuber productivity, features of cultivated potatoes such as regularly shaped tubers with small eyes, and high field resistance to late blight were selected.

The prospects for using androclones of the tetraploid interspecific hybrid IGC 16/36.1 for increasing the frequency of homoeologous A/B recombination of chromosomes are discussed.

Keywords: interspecific hybridization, anther culture, gene introgression

Acknowledgments: the research was performed within the framework of the State research program "Biotechnologies" (2016–2020), Assignment 2.51 "Introgression of the genes of wild potato species *S. stoloniferum* into breeding material by means of *in vitro* androgenesis of interspecific hybrids"

For citation: Yermishin A.P., Ageeva A.C., Voronkova E.V., Luksha V.I., Gukasian O.N., Zharich V.M. The use of *in vitro* androgenesis for the involvement of interspecific hybrids between *Solanum tuberosum* L. and wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schltdl. et Bouché into breeding. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(1):21-34. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2024-1-ol

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Yermishin A.P., Ageeva A.C., Voronkova E.V., Luksha V.I., Gukasian O.N., Zharich V.M., 2024

Введение

Дикий аллотетраплоидный вид картофеля из Мексики *Solanum stoloniferum* Schltdl. & Bouché рассматривают в качестве перспективного источника генов устойчивости к вирусам и фитофторозу. Однако интрогрессия генов устойчивости от *S. stoloniferum* в селекционный материал сильно затруднена из-за жестких межвидовых репродуктивных барьеров: односторонней несовместимости, постзиготной несовместимости (нарушения развития эндосперма гибридных семян), цитоплазматической мужской стерильности межвидовых гибридов (Yermishin et al., 2021).

Одним из существенных факторов, которые могут затруднять интрогрессию ценного генофонда *S. stoloniferum* (геномный состав AABB) в селекционный материал, являются геномные различия с культурным картофелем *S. tuberosum* L. (геномный состав AAAA) (Yermishin et al., 2021). Большинство методов вовлечения *S. stoloniferum* в селекцию основано на получении полиплоидных (чаще всего 6х) межвидовых гибридов и последующем их беккроссировании на культурный картофель (Swaminathan, 1951; Lamm, 1953; von Wangenheim, 1954; Camadro, Espinillo, 1991; Watanabe et al., 1992; Yermishin et al., 2017; Brown, 1988; Adiwilaga, Brown, 1991; Bamberg et al., 1994). Анализ мейоза 6х гибрида (AAAABB) и растений первого (BC_1) и второго (BC_2) поколений беккросса с помощью GISH (Genomic In Situ Hybridization) показал преимущественное спаривание гомологичных хромосом, отмечены лишь единичные случаи гомеологичной рекомбинации. В беккроссных поколениях хромосомы генома В были представлены в основном унивалентами (Gavrilenko et al., 2022). В связи с этим возникает вопрос о возможности интрогрессии генетического материала разных хромосом генома В мексиканского картофеля *S. stoloniferum* в геном культурного картофеля.

Для повышения вероятности спаривания хромосом геномов А и В нами предложено получать тетраплоидные межвидовые гибриды (AAAB), которые имеют геном В и геном А в непарном состоянии. Считается, что предпосылки для гомеологичной рекомбинации у таких гибридов выше, чем у пентаплоидных гибридов с геномным составом AAAAB (Adiwilaga, Brown, 1991; Bamberg, 1994; Spooner et al., 2008). Прямое подтверждение правомерности этого предположения получили Гавриленко с соавторами (Gavrilenko et al. 2015), которые выявили с помощью методов молекулярной цитогенетики образование до семи межгеномных бивалентов на клетку в мейозе у регенерантов (2х, AE) соматических гибридов *S. tuberosum* + *S. etuberosum* (4х, AAEE), полученных в результате андрогенеза, в то время как у исходных амфидиплоидов наблюдали преимущественное спаривание гомологичных хромосом геномов А и Е.

Тетраплоидные гибриды между аллотетраплоидными видами и культурным картофелем удалось получить благодаря большому объему скрещиваний и использованию

приема «двойного опыления» (rescue pollination) в сочетании с культурой *in vitro* незрелых зародышей или семян (Iwanaga et al., 1991; Watanabe et al., 1992; Janssen et al., 1997; Panahandeh et al., 2008). Эффективность гибридизации между аллотетраплоидными видами и сортами культурного картофеля очень низкая, прежде всего, из-за различий их эффективной плоидности (балансового числа эндосперма – EBN). Отмечена зависимость успеха гибридизации от генотипов использованных родительских форм и от условий окружающей среды при проведении скрещиваний. Тетраплоидные межвидовые гибриды имеют эффективную плоидность 3 EBN, что затрудняет их беккроссирование на культурный картофель (эффективная плоидность 4 EBN).

В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси реализован ряд новых схем вовлечения в селекцию ценного генофонда *S. stoloniferum* (Yermishin et al., 2017; Antonova et al., 2019). В частности, использование в качестве посредника оригинальных диплоидных S_vS_v линий (F_2 2х *S. tuberosum* × *S. verrucosum* Schltdl.) позволило преодолеть одностороннюю несовместимость в скрещиваниях с *S. stoloniferum* и получить гексаплоидные межвидовые гибриды S_vS_v линия × *S. stoloniferum*, которые обладали мужской фертильностью в результате митотического удвоения хромосом триплоидных гибридов. Эти гексаплоидные гибриды были вовлечены в скрещивания с сортами культурного картофеля и фертильной диплоидной линией *S. tuberosum* IGC 10/1.21 [6х (2х S_vS_v линия × *S. stoloniferum* PI 20522) × 2х *S. tuberosum* IGC 10/1.21], в результате чего были получены соответственно пентаплоидные (AAAAB) и один тетраплоидный гибрид IGC 16/36.1 (4х, 3 EBN, AAAB) первого поколения беккросса на культурный картофель.

Тетраплоидный гибрид IGC 16/36.1 (4х, 3 EBN, AAAB) представляет большой интерес для селекции, так как он несет ряд ценных генов дикого вида, прежде всего ген *Rpi-stol* высокой устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия. Однако этот гибрид имел пониженную мужскую фертильность и не завязывал ягоды от самоопыления. Его в течение двух лет не удавалось вовлечь в гибридизацию с сортами культурного картофеля (Antonova et al., 2019).

Для решения данной проблемы нами использован методический прием, основанный на получении тетраплоидных растений-регенерантов (андрогенных клонов, андроклонов) в культуре пыльников гибрида IGC 16/36.1 и последующих скрещиваний их с сортами культурного картофеля. Предполагается, что в процессе микроспорогенеза происходит рекомбинация генетических факторов, контролирующих EBN, и появляется вероятность выплывания среди андроклонов индивидуальных растений с эффективной плоидностью, близкой к 4 EBN и, благодаря этому, способных скрещиваться с сортами культурного картофеля (Yermishin et al., 2008).

Целью настоящего исследования было оценить эффективность применения андрогенеза *in vitro* для повыше-

ния скрещиваемости межвидового гибрида IGC 16/36.1 (4х, 3 EBN, AAAB) с сортами культурного картофеля *S. tuberosum* (4х, 4 EBN, AAAA).

Материал и методы

В качестве материала использовали межвидовой гибрид IGC 16/36.1, [6х (2х *S_vS_v* линия × *S. stoloniferum* PI 205522) × 2х *S. tuberosum* IGC 10/1.21], тридцать одно тетраплоидное растение-регенерант (андроклон), полученный в культуре пыльников IGC 16/36.1, и потомство от скрещивания гибрида и некоторых из андроклонов с сортами картофеля ‘Lemhi Russet’, ‘Quarta’ и диплоидной линией *S. tuberosum* IGC 17n8, формирующей фертильную диплоидную (2n) пыльцу (Yermishin et al., 2016). Проводили сравнение ряда селекционных показателей названных гибридов с показателями первого поколения беккрасса на культурный картофель (линию IGC 17n8) гексаплоидных (2n=6х, AAAABB) межвидовых гибридов IGC 15/118.3.C6.2016 (2х *S_vS_v* линия × sto PI 205522) и IGC 15/114.52.C5.2017 (sto PI 205522 × 2х tbr IGC 10/1.21), полученных в результате митотического удвоения хромосом у соответствующих триплоидных гибридов.

Получение андроклонов IGC 16/36.1. Растения, доноры пыльников, выращивали в сосудах с почвой в боксовых теплицах в апреле-мае 2018 года. Использовали естественное освещение, поддерживали температуру 18-25°C днем и 15-18°C ночью. Растения, начиная с периода бутонизации, досвечивали в течение двух часов в сутки лампами ДРИ-2000-6, создающими освещенность 20 тыс. люкс. Для индукции каллюсообразования в культуре пыльников использовали питательную среду следующего состава: минеральные элементы и витамины по Nitsch (Nitsch, Nitsch, 1969), 6% сахарозы, 6-бензиламинопурин 5 мг/л, α-нафтилуксусная кислота 1 мг/л, мезоинозитол 100 мг/л. Кислотность среды – pH 5,8. Условия культивирования: температура 20-22°C под лампами дневного света (16 часов – день, 8 часов – ночь), освещенность 1000 люкс. Для получения растений-регенерантов образовавшиеся каллюсы переносили на питательную среду, содержащую минеральные элементы и витамины по Murashige, Skoog (Murashige, Skoog, 1962): 2% сахарозы, 1,5 мг/л бензиламинопурина, 0,5 мг/л α-нафтилуксусной кислоты, 0,5 мг/л зеатина. Кислотность среды – pH 5,8. Условия культивирования: температура 22°C днем, 18°C ночью. Описанная методика обеспечивает, как правило, получение андроклонов того же уровня пloidности, что и исходные растения (Yermishin et al., 2008). Важнейшим элементом технологии является выращивание растений-доноров пыльников с применением дополнительного освещения лампами дуговыми ртутными с иодидами металлов ДРИ-2000-6, что позволяет существенно повысить их способность к андрогенезу *in vitro* (Yermishin, 1998). Метод получения андроклонов был успешно использован для вовлечения в селекцию тетраплоидных соматических гибридов 2х *S. tuberosum* +

S. bulbocastanum (Yermishin et al., 2008).

Гибридизация. Для проведения гибридизации растения родительских форм выращивали при естественном освещении в условиях закрытого грунта на биологической опытной станции Института генетики и цитологии НАН Беларуси (г. Минск). Клубни или рассаду с 5-6 настоящими листьями высаживали 15-20 мая. Схема посадки растений: расстояние между рядами 70 см, между растениями в ряду – 50 см. Условия окружающей среды в 2017-2019 годах были типичными для летнего периода в Беларуси. Для предотвращения самоопыления проводили кастрацию цветков материнских образцов на стадии нераскрывшихся окрашенных бутонов. Раскрывшиеся неопыленные цветки в соцветии удаляли.

Оценка продуктивности и признаков культурного картофеля у андроклонов и у их потомства, оценка полевой устойчивости андроклонов к фитофторозу. Пробирочные растения высаживали в горшочки (1 л) с торфогрунтом «Двина» и выращивали сначала в боксовой теплице при 20-25°C, затем переносили в условия открытого грунта на участок между теплицами, оборудованный устройством для полива. Семена гибридов замачивали одни сутки в растворе гиббереллина (100 мг/л), проращивали в плошках с торфогрунтом «Двина». Сеянцы пикировали в горшочки объемом 1 л, наполненные таким же торфогрунтом «Двина», и выращивали в условиях открытого грунта как описано выше. По завершении вегетации учитывали показатели клубневой продуктивности: массу клубней, количество клубней с растения, среднюю массу клубня, а также признаки культурного картофеля: длину столонов, форму клубней, глубину глазков (в баллах от 1 до 9). Миниклубни андроклонов и их потомство от скрещивания с сортами, полученные соответственно в 2019 и 2020 годах, высаживали в поле.

Оценку полевой устойчивости к фитофторозу гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов осуществляли в 2020 году визуальным способом в баллах (от 1 до 9), их беккросного потомства – в 2021 году. В последнем случае учитывали степень поражения листовой поверхности растений (от 0 до 100%) три раза с интервалом в 7-10 дней, начиная с первого появления признаков поражения фитофторозом на восприимчивых к болезни сортах картофеля. По результатам наблюдений для каждого изучаемого образца рассчитывали показатель rADPC (relative area under the disease progress curve; Shaner, Finney, 1977; Fry, 1978). 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’.

ДНК-маркеры. У исходного образца *S. stoloniferum* PI 205522 и полученных на его основе межвидовых гибридов, в том числе IGC 16/36.1, были выявлены ДНК-маркеры ряда генов устойчивости к болезням картофеля. Это – маркеры 517/1519₇₅₀, R2₂₅₀₀ и R3b₃₇₈ генов

устойчивости к фитофторозу *Rpi-sto1*, *R2* и *R3b* соответственно (Wang et al., 2008; Kim et al., 2012; Rietman et al., 2012), маркеры RYSC3₃₂₁, Yes3-3A₃₄₁ и RY364-14₂₉₈ генов устойчивости к PVY *Ry_{adg}*, *Ry_{sto}* и *Ry_{chc}* соответственно (Kasai et al., 2000; Song, Schwarzfischer, 2008; Mori et al., 2012), маркер 5450_3₁₀₄₆ гена устойчивости к раку картофеля *Sen2* (Plich et al., 2018), а также SCAR-маркер SolB₄₆₉, специфический для генома В аллотетраплоидных видов картофеля серии *Longipedicillata* Buk. (Drobyazina, Khavkin, 2012). С целью изучения наследования этих генов у андроклонов и их беккроссного потомства на культурный картофель производили детекцию названных маркеров. Условия выделения и амплификации ДНК описаны ранее (Yermishin et al., 2023). Для определения характера расщепления гибридов по отдельным маркерам анализировали ДНК от 22-36 растений на комбинацию скрещивания.

Для оценки эффективности скрещиваний (семян/опыление – количество полученных гибридных семян/количество опыленных цветков) с тестерами исходного гибрида IGC 16/36.1 (контроль) и отдельных андроклонов, а также для оценки соответствия полученного расщепления по наличию ДНК-маркеров теоретически ожидаемому при различных вариантах скрещиваний, использовали метод «χ-квадрат».

Результаты

Характеристика гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов по показателям клубневой продуктивности и устойчивости к фитофторозу

По данным полевых испытаний межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов в 2020 году установлено, что названный гибрид и большинство андроклонов практически не поражались фитофторозом (устойчивость 8-9 баллов). Устойчивость исходного гибрида по результатам оценки составила восемь баллов. Тринадцать из 31 андроклона не имели признаков поражения фитофторозом (устойчивость 9 баллов).

Исходный межвидовой гибрид обладал слабым клубнеобразованием и имел длинные столоны, что объясняется присутствием у него значительной доли генома дикого вида. Три андроклона не образовали клубней, а один из андроклонов (IGC 16/36.1.5) отличался слабым ростом и сформировал лишь один мелкий клубень. Остальные андроклоны заметно превосходили исходный межвидовой гибрид по интенсивности роста и клубнеобразованию. Клубни у всех андроклонов имели правильную форму, часть из них были способны формировать относительно крупные клубни с мелкими глазками. Однако все андроклоны имели длинные столоны.

Беккроссирование межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов на культурный картофель

В 2019 году были проведены скрещивания тетраплоидного межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов с тестерами – сортами картофеля ‘Lemhi Russet’, ‘Quarta’ и формирующей нередуцированную диплоидную (2n) пыльцу диплоидной линией IGC 17n8. Попытки вовлечь IGC 16/36.1 в гибридизацию с сортами в 2017 и 2018 годах, а также получить ягоды от его самоопыления, были неудачными.

В 2019 году, в благоприятных для гибридизации картофеля условиях окружающей среды, IGC 16/36.1 удалось скрестить с картофелем сорта ‘Quarta’ и линией IGC 17n8, но ягоды от самоопыления гибрид IGC 16/36.1 не завязал. Большинство андроклонов заметно превосходили IGC 16/36.1 по интенсивности цветения. Двадцать шесть андроклонов из 31 завязали ягоды в результате самоопыления, что говорит о более высокой функциональной фертильности их пыльцы по сравнению с исходным гибридом.

В результате скрещиваний 21 андроклона с сортом ‘Lemhi Russet’ получено 68 ягод с семенами (1039 семян; 8,7 семян/опыление), 23 андроклона с сортом ‘Quarta’ – 66 ягод (1017 семян; 7,5 семян/опыление), 11 андроклонов с линией IGC 17n8 – 33 ягоды (716 семян; 12,3 семян/опыление). Не удалось вовлечь в гибридизацию с сортами только три андроклона: IGC 16/36.1.2, IGC 16/36.1.16 и IGC 16/36.1.17. Ряд андроклонов достоверно превосходили исходный гибрид по эффективности гибридизации с тестерами (таблица 1).

По результатам гибридизации с сортами-тестерами и наличию ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY и фитофторозу, прежде всего, маркера 517/1519₇₅₀ гена *Rpi-sto1*, для дальнейшего анализа интрогрессии соответствующих генов в геном культурного картофеля в процессе беккроссирования межвидового гибрида были отобраны андроклоны IGC 16/36.1.1, IGC 16/36.1.8, IGC 16/36.1.9, IGC 16/36.1.13, IGC 16/36.1.18 и IGC 16/36.1.25, имевшие высокие показатели клубнеобразования и полевой устойчивости к фитофторозу, и с участием которых получено достаточное для анализа количество гибридных семян.

Показатели всхожести семян гибридов от скрещивания межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов с сортами картофеля

В таблице 2 представлены данные по всхожести гибридных семян и количеству высаженных в грунт сеянцев. Как видно из таблицы, гибридные семена от скрещивания гибрида IGC 16/36.1 с сортами имели высокую всхожесть (более 90%), которая существенно превосходила показатели всхожести семян гибридов, полученных с участием исходного гексаплоидного гибрида IGC15/118.3.C6.2016 (*S_vS_v* линия × *sto* PI 205522); послед-

ний составил 18%. Аналогичный гексаплоидный гибрид, при получении которого дикий вид был использован в качестве материнской формы, 6х (sto PI 205522 × tbr 10/1.21), давал гибридные семена с высокой всхожестью (83%). В большинстве комбинаций скрещивания андроклонов с сортами и линией IGC 17n8 отмечена относительно высокая всхожесть гибридных семян (70-90%). Пониженная всхожесть наблюдалась в случае семян, полученных в результате самоопыления отдельных андроклонов (IGC 16/36.1.1, IGC 16/36.1.25). Таким образом, использование в скрещиваниях с сортами картофеля андроклонов тетраплоидного межвидового гибрида IGC 16/36.1 позволяет в большинстве случаев получить гибридные семена, обладающие высокой всхожестью.

**Показатели клубневой продуктивности
и признаки культурного картофеля у сеянцев
от беккрасса на культурный картофель
межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его
андроклонов**

В процессе интрогрессии ценных генов дикого вида в селекционный материал большое значение имеет то, насколько быстро удастся элиминировать нежелательные признаки дикого вида. В случае гибридов с *S. stoloniferum* к нежелательным признакам дикого вида относят низ-

кую клубневую продуктивность (вплоть до отсутствия клубнеобразования в условиях умеренных широт), очень длинные и ветвистые столоны, клубни неправильной формы с глубокими глазками.

Как видно из таблицы 3, эффективность окультуривания беккрессного потомства тетраплоидного межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов заметно выше по сравнению с беккрессом гексаплоидных межвидовых гибридов (две последние строки). Это выражается в более высокой клубневой продуктивности потомства, более низкой доле сеянцев, не сформировавших клубни, и заметно большей частоте гибридов с клубнями, имеющими глазки средней глубины и мелкие глазки. Такую ситуацию несложно объяснить тем, что гибрид IGC 16/36.1 представляет собой первое поколение от беккрасса (BC_1) межвидового гибрида 6х ($S_v S_v$ линия × sto PI 205522) на культурный картофель. Однако важно отметить, что с практической точки зрения уже во втором поколении BC_2 от возвратных скрещиваний IGC 16/36.1 имеется возможность отбирать весьма продуктивные сеянцы с комплексом признаков культурного картофеля, что для межвидовой гибридизации картофеля является редким явлением. По результатам оценки 365 гибридных сеянцев было отобрано 95 (26%) с лучшими показателями признаков культурного картофеля для последующих испытаний в полевых условиях.

Таблица 1. Результаты скрещиваний межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов с тестерами
Table 1. Results of crossing the interspecific hybrid IGC 16/36.1 and its androgenic clones with testers

Материнские формы/ Female forms	Опылители/ Pollinators											
	'Lembi Russet'				IGC 17n8				'Quarta'			
	Опылений, число/ Pollinations, number	Ягод, число/ Berries, number	Семян, число/ Seeds, number	Семян на опыление, число/ Seeds per pollination, number	Опылений, число/ Pollinations, number	Ягод, число/ Berries, number	Семян, число/ Seeds, number	Семян на опыление, число/ Seeds per pollination, number	Опылений, число/ Pollinations, number	Ягод, число/ Berries, number	Семян, число/ Seeds, number	Семян на опыление, число/ Seeds per pollination, number
IGC 16/36.1	-	-	-	-	7	1	33	4,7	4	1	24	6,0
IGC 16/36.1.1 ¹	7	5	90	12,9	-	-	-	-	3	0	0	0
IGC 16/36.1.3	7	2	15	2,1	4	3	23	5,8	-	-	-	-
IGC 16/36.1.4	2	1	0	0	2	1	16	8,0	-	-	-	-
IGC 16/36.1.5	6	5	115	19,2	4	2	31	7,8	4	2	64	16,0
IGC 16/36.1.6	3	1	12	4,0	-	-	-	-	3	2	41	13,7
IGC 16/36.1.7	8	3	54	6,8	4	2	44	11,0	3	2	43	14,3
IGC 16/36.1.8	5	3	67	13,4	4	2	19	4,8	9	4	70	7,8
IGC 16/36.1.9	3	2	0	0	-	-	-	-	7	2	37	5,3
IGC 16/36.1.10	4	4	44	11,0	-	-	-	-	3	3	40	13,3
IGC 16/36.1.11	4	4	36	9,0	-	-	-	-	2	1	0	0
IGC 16/36.1.12	4	3	22	5,5	-	-	-	-	6	5	54	9,0
IGC 16/36.1.13	5	5	101	20,2	7	6	149	21,3**	7	6	72	10,3
IGC 16/36.1.14	5	0	0	0	-	-	-	-	7	1	10	1,4
IGC 16/36.1.15	8	5	103	12,9	-	-	-	-	7	3	54	7,7
IGC 16/36.1.18	9	8	109	12,1	-	-	-	-	1	0	0	0
IGC 16/36.1.19	4	4	57	14,3	-	-	-	-	4	3	59	14,8
IGC 16/36.1.20	1	0	0	0	-	-	-	-	8	4	60	7,5
IGC 16/36.1.21	3	2	29	9,7	-	-	-	-	7	1	8	1,1
IGC 16/36.1.22	1	1	29	29,0	9	6	112	12,4	9	7	119	13,2
IGC 16/36.1.23	-	-	-	-	4	3	89	22,3**	4	1	0	0
IGC 16/36.1.24	3	0	0	0	6	1	31	5,2	8	3	20	2,5
IGC 16/36.1.25	1	1	13	13,0	-	-	-	-	7	6	122	17,4
IGC 16/36.1.26	8	8	130	16,3	-	-	-	-	10	5	43	4,3
IGC 16/36.1.27	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1	11	2,2
IGC 16/36.1.28	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1	18	6,0
IGC 16/36.1.29	-	-	-	-	10	6	179	17,9**	4	2	63	15,8
IGC 16/36.1.30	-	-	-	-	4	1	23	5,8	1	0	0	0
IGC 16/36.1.31	3	1	13	4,3	-	-	-	-	2	1	9	4,5
Итого по андроклонам:	120	68	1039	8,7	58	33	716	12,3*	136	66	1017	7,5

¹Здесь и ниже в столбце перечислены андроклоны гибрида IGC 16/36.1 (последняя цифра – номер андроклона).
*P≤0,05; **P≤0,01

Таблица 2. Показатели всхожести семян от скрещивания межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андрогенных клонов с тестерами; семян от самоопыления андрогенных клонов

Table 2. Germination of seeds from crosses between the interspecific hybrid IGC 16/36.1 and its androgenic clones and testers; seeds from self-pollination of androgenic clones

Комбинация скрещивания/ Cross combination	Посажено семян, число/Planted seeds, number	Проросших семян, число/ Germinated seeds, number	Всхожесть семян, %/ Seed germination rate, %
16/36.1 × 'Quarta'	24	22	91,7
16/36.1 × IGC 17n8	33	30	90,9
16/36.1.6 × 'Quarta'	41	34	82,9
16/36.1.9 × 'Quarta'	37	31	83,8
16/36.1.13 × 'Quarta'	50	38	76,0
16/36.1.25 × 'Quarta'	50	41	82,0
16/36.1.1 × 'Lemhi Russet'	50	42	84,0
16/36.1.8 × 'Lemhi Russet'	50	35	70,0
16/36.1.13 × 'Lemhi Russet'	50	33	66,0
16/36.1.18 'Lemhi Russet'	50	33	66,0
16/36.1.13 × IGC 17n8	50	46	92,0
16/36.1.1 (св.оп.*)	22	4	18,2
16/36.1.6 (св.оп.)	35	23	65,7
16/36.1.8 (св.оп.)	39	25	64,1
16/36.1.9 (св.оп.)	28	16	57,1
16/36.1.13 (св.оп.)	62	46	74,2
16/36.1.18 (св.оп.)	83	42	50,6
16/36.1.25 (св.оп.)	12	4	33,3
IGC 15/118.3.C6.2016 [6x (205522 × 10/1.21)] × 17n8	100	83	83,0
IGC 15/114.52.C5.2017 [6x (S _v S _v × 205522)] × 17n8	100	18	18,0

* – неконтролируемое свободное опыление

Полевая устойчивость к фитофторозу сеянцев от беккросса на культурный картофель межвидового гибрида IGC 16/36.1. и его андроклонов

Представленные в таблице 4 результаты оценки полевой устойчивости к фитофторозу первой клубневой репродукции беккросса IGC 16/36.1 и его андроклонов свидетельствуют об их относительно высокой устойчивости к патогену. Их значения гADPC не имели достоверных отличий от соответствующих показателей гибридов контрольных популяций 6x (S_vS_v линия × sto PI 205522) × IGC 17n8 и 6x (sto PI 205522 × IGC tbr 10/1.21) × IGC 17n8, для которых характерна высокая долговре-

менная устойчивость к фитофторозу, поскольку все они являются носителями гена *Rpi-sto1*. Важно отметить, что среди гибридов от беккросса IGC 16/36.1 и его андроклонов на культурный картофель выделено 16 гибридов, не имеющих признаков поражения фитофторозом (устойчивость 9 баллов), обладающих относительно высокой клубневой продуктивностью и комплексом признаков культурного картофеля. Несмотря на выявленную вариацию гADPC потомства отдельных андроклонов и эффективность отбора устойчивых к фитофторозу гибридов между собой и относительно беккроссного потомства исходного гибрида IGC 16/36.1, достоверных различий между ними не выявлено. Одной из причин этого мог быть небольшой объем выборки изучаемых гибридов.

Таблица 3. Показатели клубневой продуктивности и признаки культурного картофеля у сеянцев, полученных от беккросса межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андрогенных клонов на культурный картофель (Минск, 2020)

Table 3. Tuber productivity and the characters of backcross progeny of the interspecific hybrid IGC 16/36.1 and its androgenic clones to cultivated potatoes (Minsk, 2020)

Комбинация скрещивания/ Cross combination	Масса клубней с растения, г/ Weight of tubers per plant, g	Количество клубней с растения/ Number of tubers per plant	Средняя масса клубня, г/ Average tuber weight, g	Максимальное значение массы клубней с растения, г/ Maximal tuber weight per plant, g	Сеянцев, не образовавших клубни, %/ Seedlings without tuber formation, %	Глубина глазков клубней, баллы/ Depth of tuber eyes, points	Сеянцев с мелкими глазками клубней (9 баллов), %/ Seedlings with small tuber eyes (9 points) , %
16/36.1 × 'Quarta'	24,4±0,3	3,3±0,4	7,1±0,01	79,5	4,8	5,9±0,6	30,0
16/36.1 × 17n8	34,1±0,2	3,8±0,5	10,2±0,01	152,1	6,7	6,9±0,4	42,9
16/36.1.6 × 'Quarta'	16,2±2,8	3,3±0,4	4,8±0,68	69,5	6,5	7,1±0,4	51,7
16/36.1.9 × 'Quarta'	27,7±0,2	3,5±0,5	7,7±0,01	97,3	13,3	8,1±0,3	63,0
16/36.1.13 × 'Quarta'	29,1±5,7	2,6±0,4	9,8±1,69	82,4	15,6	6,5±0,5	40,0
16/36.1.25 × 'Quarta'	27,9±0,3	2,4±0,4	12,1±0,01	101,6	25,0	7,4±0,3	52,0
16/36.1.1 × 'Lemhi Russet'	37,0±0,5	3,1±0,4	9,6±0,01	180,5	19,0	7,1±0,4	55,9
16/36.1.8 × 'Lemhi Russet'	22,1±0,3	2,3±0,3	7,8±0,01	81,8	18,8	7,3±0,4	53,9
16/36.1.13 × 'Lemhi Russet'	29,1±4,5	2,6±0,4	9,8±1,28	82,4	15,6	7,5±0,3	54,2
16/36.1.18 × 'Lemhi Russet'	35,1±0,4	2,7±0,4	11,1±0,01	129,9	19,4	6,9±0,4	41,7
16/36.1.13 × 17n8	29,1±0,2	2,6±0,3	9,8±0,01	82,4	15,6	7,6±0,3	57,9
6x (S ₁ × PI205522) × 17n8	13,1±0,2	3,6±0,3	3,5±0,01	33,2	0	5,3±0,5	11,1
6x (PI205522×10/1.21) × 17n8	21,7±3,6	2,5±0,3	6,4±0,79	75,7	18,7	5,1±0,5	19,2

Таблица 4. Полевая устойчивость к фитофторозу поколения от беккросса на культурный картофель межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андрогенных клонов (первая клубневая репродукция, Минск, 2021)

Table 4. Late blight field resistance in a progeny from backcrossing the interspecific hybrid IGC 16/36.1 and its androgenic clones to cultivated potatoes (the first tuber reproduction, Minsk, 2021)

Комбинация скрещивания/ Cross combination	Количество гибридов, число/ Number of hybrids	Гибридов без симптомов поражения фитофторозом, число/ Hybrids without disease symptoms, number	Эффективность отбора по устойчивости к фитофторозу, % Efficiency of selection for LB resistance, %	rADPC
16/36.1 × 'Quarta'	5	5	100	0,150±0,000
16/36.1 × 17n8	25	4	16,0	0,078±0,016
16/36.1.9 × 'Quarta'	12	3	25,0	0,058±0,018
16/36.1.13 × 'Quarta'	3	1	33,3	0,092±0,081
16/36.1.25 × 'Quarta'	8	5	62,5	0,031±0,016
16/36.1.1 × 'Lemhi Russet'	5	1	20,0	0,042±0,024
16/36.1.8 × 'Lemhi Russet'	5	0	0	0,031±0,003
16/36.1.13 × 'Lemhi Russet'	4	1	25,0	0,055±0,038
16/36.1.18 × 'Lemhi Russet'	23	1	4,4	0,094±0,026
16/36.1.13 × 17n8	5	0	0	0,222±0,073
Итого:	95	21	22,1	
Контрольные популяции гибридов				
6х ($S_v S_v \times PI205522$) × 17n8	2	0	0	0,014±0,009
6х ($PI205522 \times 10/1.21$) × 17n8	12	6	50	0,019±0,009

Наследование ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням *S. stoloniferum* PI 205522 гибридами от беккросса на культурный картофель межвидового гибрида IGC 16/36.1 и его андроклонов

Как видно из таблицы 5, характер наследования маркеров в потомстве от беккросса IGC 16/36.1 на культурный картофель в большинстве случаев соответствовал тому, что наблюдают в результате анализирующих скрещиваний сортов картофеля, которые являются симплексами по отдельным генам устойчивости, с тестерами-нуллиплексами (расщепление 1:1) (Yermishin et al., 2016). При этом в отдельных случаях имел место избыток гибридов-носителей рецессивных (*Rpi-sto1*, Ry_{chc}) или доминантных аллелей (*R3b*). Однако отличие от ожидаемого расщепления было статистически недостоверным. Расщепление гибридов по маркерам, которые были представлены как у IGC 16/36.1, так и у тестеров, существенно отличалось. По маркеру гена *Sen2* оно соответствовало 3:1 ($\chi^2=0,52$; $\chi^2_{0,05}=3,84$), что характерно для гибридов между симплексами по соответствующим генам, а по маркеру гена Ry_{adg} расщепление отсутствовало. Также отмечено отсутствие расщепления по маркеру гена *R2*, несмотря на то, что у тестера IGC 17n8 этот маркер выявлен не был.

Характер наследования маркеров в потомстве от беккросса на культурный картофель у большинства

андроклонов аналогичен описанному для потомства IGC 16/36.1. Однако в ряде случаев отмечены существенные различия. В частности, это касается наследования маркера гена *R2* у гибридов IGC 16/36.1.13 × IGC 17n8 и IGC 16/36.1.18 × 'Lemhi Russet', маркера гена *R3b* у гибридов IGC 16/36.1.1 × 'Lemhi Russet', маркера гена Ry_{adg} у гибридов IGC 16/36.1.13 × IGC 17n8 и маркера гена Ry_{sto} у гибридов IGC 16/36.1.1 × 'Lemhi Russet' и IGC 16/36.1.18 × 'Lemhi Russet'.

Обсуждение

Результаты настоящего исследования показали, что использование метода культуры пыльников в случае тетраплоидного (3 EBN, AAAB) межвидового гибрида IGC 16/36.1 дало возможность получить тетраплоидные растения-регенеранты (андроклоны), несущие унаследованные от него гены устойчивости к болезням и способные скрещиваться с сортами культурного картофеля. В результате получен исходный материал, представляющий значительный интерес для селекции.

Ранее метод культуры пыльников был успешно использован для вовлечения в селекцию тетраплоидных соматических гибридов между дигаплоидами *S. tuberosum* и диким диплоидным видом картофеля *S. bulbocastanum* (3 EBN, AABB), которые до этого не удавалось вовлечь в возвратные скрещивания с культурным картофелем (Yermishin et al., 2008).

Таблица 5. Наличие ДНК-маркеров генов устойчивости и маркера SolB₄₆₉ генома В у гибрида IGC 16/36.1 и его андрогенных клонов, и наследование маркеров в потомстве от их беккросса на культурный картофель

Table 5. Presence of resistance gene markers and B genome marker SolB₄₆₉ in IGC 16/36.1 hybrid and its androgenic clones, and markers inheritance by progenies from their backcrossing to cultivated potatoes

Гибриды, андрогенные клоны, тестеры/ Hybrids, androgenic clones, testers	ДНК-маркеры/ DNA markers							
	517-1519 ₇₅₀	R2 ₂₅₀₀	R3b ₃₇₈	RYSC ₃₂₁	Yes3-3A ₃₄₁	RY364-14 ₂₉₈	5450_3 ₁₀₄₆	SolB ₄₆₉
IGC 16/36.1	1*	1	1	1	1	1	1	1
AK IGC 16/36.1.1	1	1	1	1	1	1	1	1
AK IGC 16/36.1.13	1	1	1	1	1	1	1	1
AK IGC 16/36.1.18	1	1	1	1	1	1	1	1
IGC 17n8	0	0	0	1	0	0	1	0
‘Lemhi Russet’	0	0	0	1	0	0	1	0
IGC 16/36.1 × IGC 17n8	8:15**	23:0	15:8	23:0	12:11	7:16	18:5	10:13
IGC 16/36.1.13 × IGC 17n8	10:26	14:22 ^{0.01}	16:20	19:17 ^{0.01}	24:12	10:26	27:9	11:25
IGC 16/36.1.1 × ‘Lemhi Russet’	13:20	30:3	31:2 ^{0.01}	32:1	28:5 ^{0.01}	16:17	30:3	16:17
IGC 16/36.1.18 × ‘Lemhi Russet’	10:12	16:6 ^{0.01}	19:3	21:1	18:4 ^{0.05}	8:14	20:1	10:12

*1 – маркер представлен, 0 – маркер отсутствует

**Гибриды с маркером: гибриды без маркера

^{0.05}Расщепление достоверно отличается от контроля – IGC 16/36.1 × IGC 17n8 ($P \leq 0,05$, $\chi^2_{0,05} = 3,84$)

^{0.01}Расщепление достоверно отличается от контроля – IGC 16/36.1 × IGC 17n8 ($P \leq 0,01$, $\chi^2_{0,01} = 6,63$)

Тетраплоидные растения-регенеранты соматических гибридов были способны, в отличие от исходных гибридов, к успешному опылению гаплопродюсером IvP 35 (*S. phureja* Juz. & Bukasov), а полученный дигаплоид – к гибридизации с фертильными диплоидными клонами *S. tuberosum*.

Как видно из таблицы 5, в анализ наследования маркеров генов устойчивости к болезням беккроссным потомством были включены андроклоны, сохранившие все ДНК-маркеры, представленные у исходного межвидового гибрида. Это можно объяснить следующим образом. Использованная методика культуры пыльников обеспечивает, как правило, получение андроклонов того же уровня ploидности, что и исходные растения. Во-первых, это может быть результатом удвоения числа хромосом в процессе культивирования каллюсных культур, происходящих от гаплоидных микроспор пыльников, и регенерации растений. Во-вторых, такого типа растения-регенеранты могут быть получены из каллюсных клеток, ведущих свое происхождение от микроспор с нередуцированным (2n) числом хромосом. В-третьих, не исключен вариант происхождения андроклонов от соматических клеток пыльника или остатков тычиночной нити. Принимая во внимание наличие заметных различий между андроклонами и исходным гибридом по морфологическим признакам, фертильности и скрещиваемости с тестерами, наиболее вероятным представляется второй вариант, то есть развитие андроклонов из нередуцированных микроспор.

В пользу этого вывода говорят также представлен-

ные в таблице 5 различия в характере наследования маркеров потомством отдельных андроклонов по сравнению с потомством исходного межвидового гибрида. Анализируя эти результаты, следует иметь в виду, что генетическая структура тетраплоидного межвидового гибрида IGC 16/36.1 (геномный состав AAAB) существенно отличается от геномного состава культурного картофеля (AAAA). Присутствие у него в непарном состоянии одного из геномов А и генома В дикого вида, может приводить к существенным нарушениям спаривания принадлежащих им хромосом и рекомбинации между ними (Gavrilenko et al., 2022). Следствием этого могут быть, с одной стороны, существенные различия в характере наследования маркеров IGC 16/36.1 и его андроклонов по сравнению с тем, что имеет место в скрещиваниях между сортами культурного картофеля. С другой стороны, это же может привести к формированию необычного состава хромосом у андроклонов IGC 16/36.1 и более сложному характеру наследования их маркеров по сравнению с исходным гибридом. В частности, беккроссное потомство IGC 16/36.1 может наследовать наряду с обычными рекомбинантными хромосомами генома А также рекомбинантные хромосомы А/В и разное количество интактных (не участвовавших в спаривании) хромосом геномов А и В. Аналогичный состав могут иметь андроклоны и их потомство. Дополнительную генетическую вариацию при формировании геномов андроклонов может вносить изменчивость, связанная с культивированием каллюсных клеток, а также с отбором клеток, способных дать начало

растениям-регенерантам.

Важным фактором, который может оказывать влияние на характер наследования маркеров, может быть их расположение в геномах А или В дикого вида (и, соответственно, получившего их межвидового гибрида). Согласно выводам, сделанным в нашей недавней публикации (Yermishin et al. 2023), все анализируемые маркеры *S. stoloniferum* PI 205522, за исключением маркера RY364-14²⁹⁸ гена *Ry_{chc}*, локализованы в геноме В дикого вида. Как видно из таблицы 5, в потомстве исходного гибрида IGC 16/36.1 отмечено расщепление по маркеру гена *Ry_{chc}*, расположенному в геноме А, не отличающееся достоверно от 1:1, что характерно для скрещивания тетраплоидов культурного картофеля, являющихся симплексами по соответствующим генам, с нуллиплексами. Аналогичное расщепление выявлено по маркеру SolB₄₆₉, а также по маркерам генов *Rpi-stol*, *R3b*, *Ry_{sto}*, локализованным в геноме В. Однако такой характер наследования этих маркеров может быть связан со случайной передачей потомству соответствующих хромосом генома В гибрида IGC 16/36.1, не вступивших в синапсис с хромосомами генома А, а также рекомбинантных А/В хромосом, несущих эти маркеры. По маркеру гена *Ry_{adg}* отмечено отсутствие расщепления в потомстве гибрида IGC 16/36.1: все потомки имели этот маркер. Это может быть отчасти связано с наличием маркера гена *Ry_{adg}* у тестера – линии IGC 17n8, а также с повышенной частотой передачи потомству хромосом генома В от IGC 16/36.1 или рекомбинантных А/В хромосом, несущих этот маркер. Аналогичное расщепление в потомстве IGC 16/36.1 по маркеру гена *R2* можно объяснить только второй из названных причин. Что касается расщепления гибридов IGC 16/36.1 и его андроклонов по маркеру гена *Sen2*, то оно соответствовало 3:1, и это характерно для гибридизации между сортами-симплексами. Следует заметить, что мы не исключали возможность локализации этого гена в геноме А мексиканского картофеля *S. stoloniferum* PI 205522 (Yermishin et al. 2023). В таком случае его наследование беккроссным потомством межвидового гибрида и его андроклонов, как и в случае маркера гена *Ry_{chc}*, не должно отличаться от того, что наблюдают в скрещиваниях между сортами культурного картофеля.

Намерение вовлечь в селекцию межвидовой гибрид IGC 16/36.1 во многом продиктовано тем, что, как отмечалось выше, его использование может повысить вероятность интрогрессии в геном культурного картофеля ценных генов *S. stoloniferum*, расположенных в геноме В. Однако данные, полученные при изучении мексиканского картофеля, говорят о том, что его применение для целей интрогрессии генов может быть недостаточно эффективным из-за его низкой скрещиваемости с сортами культурного картофеля (Antonova et al., 2019; Yermishin et al., 2023) и невысокой частоты образования рекомбинантных А/В хромосом в процессе беккроссирования тех гибридов, которые удалось получить (Gavrilenko et al., 2022). Также установлено, что одним из возможных путей преодоле-

ния постзиготной несовместимости гибрида IGC 16/36.1 в скрещиваниях с сортами культурного картофеля является образование яйцеклеток с полным набором из 12 хромосом непарного генома А и, вследствие этого, имеющих 2 EBN. В результате оплодотворения таких яйцеклеток пылью сортов картофеля с 2 EBN происходит образование жизнеспособных семян (с 24 хромосомами генома А). Полученные гибриды существенно не отличаются по составу хромосом от аналогичных гибридов, полученных с использованием традиционных схем интрогрессии (Gavrilenko et al., 2022; Yermishin et al., 2023).

Использование андроклонов IGC 16/36.1 может исправить ситуацию. Как видно из результатов настоящего исследования, некоторые андроклоны достоверно превосходили исходный межвидовой гибрид по эффективности скрещиваний с сортами *S. tuberosum* и были способны завязывать семена, обладающие высокой всхожестью. Следовательно, эффективная плоидность таких андроклонов близка к 4 EBN. Появление описанных выше гибридов от беккросса IGC 16/36.1 маловероятно. Кроме того, многие андроклоны, в отличие от IGC 16/36.1, были способны формировать функционально фертильную пыльцу, что делает возможным получение потомства от их самоопыления. Следовательно, их гаметы генетически более сбалансированы, чем гаметы исходного гибрида. Важно отметить, что появлению андроклонов с описанными выше свойствами предшествовало мейотическое деление материнских клеток пыльцы, образование каллюса из микроспор и отбор каллюсных клеток, способных давать начало растениям-регенерантам. Есть основание полагать, что эти факторы способны оказывать влияние на процесс гомеологичной рекомбинации хромосом межвидового гибрида и таким образом повысить вероятность интрогрессии в геном культурного картофеля ценных генов дикого вида, локализованных в его геноме В. Дальнейшие исследования призваны подтвердить или опровергнуть это предположение.

Заключение

Таким образом, использование предложенного метода культуры пыльников позволило получить андроклоны тетраплоидного (3 EBN, AAAB) межвидового гибрида IGC 16/36.1, несущие гены устойчивости к болезням и способные скрещиваться с сортами культурного картофеля. Это обеспечило перенос беккроссному потомству ряда ценных для селекции генов *S. stoloniferum* PI 205522, несмотря на сложный характер их наследования. В результате получен исходный материал, представляющий значительный интерес для селекции. В частности, отобран ряд гибридов с комплексом признаков культурного картофеля, обладающих высокой полевой устойчивостью к фитофторозу и являющихся носителями гена *Rpi-stol* высокой устойчивости к фитофторозу широкого спектра действия.

References/Литература

- 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. *Theoretical and Applied Genetics*. 1991;81(5):645-652. DOI: 10.1007/BF00226732
- Antonova O.Yu., Yermishin A.P., Levy A.V., Ageeva A.S., Voronkova E.V., Gavrilenko T.A. Development of chromosome-specific markers for a study on introgressive hybridization of potato with the wild Mexican allotetraploid species *Solanum stoloniferum* Schltdl. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(4):24-35. [in Russian] (Антонова О.Ю., Ермишин А.П., Левый А.В., Агеева А.С., Воронкова Е.В. Гавриленко Т.А. Разработка хромосома-специфичных ДНК-маркеров для изучения интрогрессивной гибридизации картофеля с диким мексиканским аллотетраплоидным видом *Solanum stoloniferum* Schltdl. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(4):24-35). DOI: 10.30901/2658-6266-2019-4-e3
- Bamberg J.B. Allelism of endosperm balance number (EBN) in *Solanum acaule* Bitt. and other wild potato species. *Theoretical and Applied Genetics*. 1994;89(6):682-686. DOI: 10.1007/BF00223705
- 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;37(5):866-870. DOI: 10.1139/g94-122
- Brown C.R. Characteristics of 2n pollen producing triploid hybrids between *Solanum stoloniferum* and cultivated diploid potatoes. *American Potato Journal*. 1988;65(2):75-84. DOI: 10.1007/BF02867455
- 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. *American Journal of Potato Research*. 1991;67(11):737-749. DOI: 10.1007/BF03044524
- Drobyszina P.E., Khavkin E.E. FLORICAULA/LEAFY intron 2-based markers of wild *Solanum* species and genomes for introgression breeding. In: H.T.A.M. Schepers (ed.). *PPO-Special Report no. 15*. Wageningen: DLO Foundation; 2012. p.187-192.
- Fry W.E. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology*. 1978;68:1650-1655. DOI: 10.1094/Phyto-68-1650
- Gavrilenko T.A., Pendinen G.I., Rokka V.-M. Antonova O.Y. Thieme R. Homeologous chromosome pairing in distant allohaploid hybrids of the genus *Solanum*. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2015;5(3):182-190. DOI: 10.1134/S2079059715030065
- 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;12(4):787. DOI: 10.3390/agronomy12040787
- Iwanaga M., Freyre R., Watanabe K. Breaking of the crossability barriers between disomic tetraploid *Solanum acaule* and tetrasomic tetraploid *S. tuberosum*. *Euphytica*. 1991;52(3):183-191. DOI: 10.1007/00029395
- Janssen G.J.W., van Norel A., Verkerk-Bakker B., Janssen R., Hoogendoorn J. Introgression of resistance to root-knot nematodes from wild Central American *Solanum* species into *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997;95(3):490-496. DOI: 10.1007/s001220050588
- Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A., Valkonen J.P., 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):1-8. DOI: 10.1139/g99-092
- Kim H.-J., Lee H.R., Jo K.-R., Mortazavian S.M.M., Huigen D.J., Evenhuis B., Kessel G., Visser R.G.F., Jacobsen E., Vossen J.H.. Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and MaR9 is conferred by multiple stacked *R* genes. *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;124(5):923-935. DOI: 10.1007/s00122-011-1757-7
- Lamm R. Investigation of some tuber-bearing *Solanum* hybrids. *Hereditas*. 1953;39(1-2):97-112. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1953.tb03404.x
- Mori K., Mukojima N., Nakao T., Tamiya S., Sakamoto Y., Sohbaru N., Hayashi K., Watanuki H., Nara K., Yamazaki K., Ishii T., Hosaka K. Germplasm release: Saikai 35, a male and female fertile breeding line carrying *Solanum phureja*-derived cytoplasm and potato cyst nematode resistance (*H1*) and *Potato Virus Y* resistance (*Ry_{che}*) genes. *American Journal of Potato Research*. 2012;89(10):63-72. DOI: 10.1007/s12230-011-9221-4
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(13):473-479. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Nitsch J.P., Nitsch C. Haploid plants from pollen grains. *Science*. 1969;163(3862):85-87. DOI: 10.1126/science.163.3862.85
- Panahandeh J., Valizadeh M., Khosroshahly M., Yermishin A.P. Khoei F.R., Mahna N. Microsporogenesis and crossing behavior of a tetraploid, interspecific inter-EBN hybrid potato. *Scientia Horticulturae*. 2008;116(4):348-353. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.02.006
- Plich J., Przetakiewicz J., Śliwka J., Flis B., Wasilewicz-Flis I., Zimnoch-Guzowska E. Novel gene *Sen2* conferring broad-spectrum resistance to *Synchytrium endobioticum* mapped to potato chromosome XI. *Theoretical and Applied Genetics*. 2018;131(3):2321-2331. DOI: 10.1007/s00122-018-3154-y
- Rietman H., Bijsterbosch G., Cano L.M., Lee H.-R., Vossen J.H., Jacobsen E., Visser R.G.F., Kamoun S., Vleeshouwers V.G.A.A. Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2012;25(7):910-919. DOI: 10.1094/MPMI-01-12-0010-R
- Shaner G., Finney R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*. 1977;67(8):1051-1056. DOI: 10.1094/Phyto-67-1051
- Song Ye-S., Schwarzfischer A. Development of STS markers for selection of extreme resistance (*Ry_{sto}*) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. *American Journal of Potato Research*. 2008;85(2):159-170. DOI: 10.1007/s12230-008-9044-0
- Spooner D.M., Rodríguez F., Polgár Z., Ballard H.E. Jr., Jansky S.H. Genomic origins of potato polyploids: GBSSI gene sequencing data. *The Plant Genome [A Supplement to Crop Science]*. 2008;48(1):S-27-S-36. DOI: 10.2135/cropsci.2007.09.0504tpg
- Swaminathan M.S. Notes on induced polyploids in the tuber-bearing *Solanum* species and their crossability with *Solanum tuberosum*. *American Journal of Potato Research*. 1951;28(1):472-489. DOI: 10.1007/BF02854980
- Wang M., Allefs S., van den Berg R.G., Vleeshouwers V.G.A.A., van der Vossen E.A.G., Vosman B. Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2008;116(7):933-943. DOI: 10.1007/s00122-008-0725-3
- Wangenheim K.H. von. Zur Ursache der Kreuzungsschwierigkeiten zwischen *Solanum tuberosum* L. und *S. acaule* Bitt. bzw. *S. stoloniferum* Schlecht. et Bouche. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*. 1954;34:7-48 [in German].
- Watanabe K., Arbizu C., Schmiediche P. Potato germplasm enhancement with disomic tetraploid *Solanum acaule*. I. Efficiency of introgression. *Genome*. 1992;35(1):53-57. DOI: 10.1139/g92-009
- Yermishin A.P. Genetic basis of breeding potato for heterosis (Geneticheskiye osnovy selektsii kartofelya na geterozis). Minsk: Tekhnologiya; 1998. [in Russian] (Ермишин А.П. Генетические основы селекции картофеля на гетерозис. Минск: Технология, 1998).
- Yermishin A.P., Makhan'ko O.V., Voronkova E.V. Production of potato breeding material using somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. dihaploids and wild diploid species *Solanum bulbocastanum* Dunal. from Mexico. *Russian Journal of Genetics*. 2008;44(5):559-566. DOI: 10.1134/S1022795408050086
- Yermishin A.P., Svitoch O.V., Voronkova E.V., Gukasian O.N., Luksha V.I. Determination of the composition and the allelic state of disease and pest resistance genes in potato parental lines using DNA markers. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(5):498-506. DOI: 10.1134/S1022795416050057
- Yermishin A.P., Levy A.V., Voronkova E.V., Polyukhov Yu.V.,

Ageeva A.S. Overcoming unilateral incompatibility in crosses with wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schldtl. & Bouchet. *Euphytica*. 2017;213(11):249. DOI: 10.1007/s10681-017-2041-y

Yermishin A.P., Voronkova E.V., Levy A.V. Involvement of valuable gene pool of wild tetraploid (2 EBN) potato species into breeding (Vovlecheniye v selektsiyu tsennogo genofonda dikikh tetraploidnykh (2 EBN) vidov kartofelya). In: A.P. Yermishin (ed). *Interspecific hybridization in potato breeding = Mezhdovidovaya gibridizatsiya v selektsii kartofelya*. Minsk: Belaruskaya navuka; 2021. p.255-302. [in Russian] (Ермишин А.П., Воронкова Е.В., Левый А.В. Вовлечение

в селекцию ценного генофонда диких тетраплоидных (2 EBN) видов картофеля. В кн.: Межвидовая гибридизация в селекции картофеля / под ред. А.П. Ермишина. Минск: Белорусская наука, 2021. С.255-302).

Yermishin A.P., Levy A.V., Ageeva A.S., Voronkova E.V., Luksha V.I., Gukasian O.N., Zharich V.M. Specifics 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. *Russian Journal of Genetics*. 2023;59(7):642-653. DOI: 10.1134/S1022795423 0070050

Информация об авторах

Александр Петрович Ермишин, доктор биологических наук, профессор, заведующий, лаборатория генетики картофеля, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, ermishin@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-3106-4926>

Анастасия Сергеевна Агеева, аспирант, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, nastya_ageeva95@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5720-3588>

Елена Васильевна Воронкова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория генетики картофеля, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, e.voronkova@igc.by, <https://orcid.org/0000-0001-9747-8622>

Виктория Ивановна Лукша, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория генетики картофеля, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, saphyjana2@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-7139-4876>

Ольга Николаевна Гукасян, научный сотрудник, лаборатория генетики картофеля, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, gukasyan.olya@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0006-9795-8363>

Виктор Михайлович Жарич, научный сотрудник, лаборатория генетики картофеля, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, 220072 Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, Trubo_dur@tut.by, <https://orcid.org/0009-0003-6114-9204>

Information about the authors

Alexander P. Yermishin, Dr. Sci. (Biology), Professor, Head, Laboratory of Potato Genetics, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Belarus, ermishin@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-3106-4926>

Anastasiya S. Ageeva, postgraduate student, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Belarus, nastya_ageeva95@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5720-3588>

Elena V. Voronkova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Potato Genetics, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Belarus, e.voronkova@igc.by, <https://orcid.org/0000-0001-9747-8622>

Victoriya I. Luksha, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Potato Genetics, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Belarus, saphyjana2@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-7139-4876>

Olga N. Gukasian, Researcher, Laboratory of Potato Genetics, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Belarus, gukasyan.olya@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0006-9795-8363>

Victor M. Zharich, Researcher, Laboratory of Potato Genetics, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya Street, Minsk, 220072 Belarus, Trubo_dur@tut.by, <https://orcid.org/0009-0003-6114-9204>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.10.2023; одобрена после рецензирования 26.01.2024; принята к публикации 28.02.2024.

The article was submitted on 25.10.2023; approved after reviewing on 26.01.2024; accepted for publication on 28.02.2024.