

Научная статья

УДК 631.522/.524:633.49+632.3

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-03



Молекулярные маркеры как инструмент в селекции картофеля на устойчивость к фитофторозу

Е.А. Иванова, Н.В. Алпатьева, Е.В. Рогозина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Наталья Владимировна Алпатьева, alpatievanatalia@mail.ru

Устойчивость сортов картофеля к фитофторозу (возбудитель – оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) является одним из приоритетных направлений мировой и отечественной селекции картофеля. Для совершенствования технологии селекционного процесса особую актуальность представляет выявление ДНК-маркеров генов устойчивости, эффективных для отбора ценных сегрегантов в гибридном потомстве. **Цель работы** – определить диагностическую ценность маркеров генов *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb1* и *Rpi-blb2* для отбора ценных сегрегантов в потомстве клонов межвидовых гибридов из коллекции ВИР – источников признака устойчивости к фитофторозу. **Материалы и методы.** Клоны 171-3 (к-25615), 16/27-09 (к-25628), 8-1-2004 (к-25621) и аборигенный чилийский сорт ‘Magelanes’ (к-7586), 76 клонов гибридов F_1 (‘Magelanes’ $\times$ 171-3), 80 клонов гибридов F_1 (16/27-09 $\times$ 8-1-2004), сорта ‘Алуэт’ (к-25544), ‘Наяда’ (к-12157) и ‘Сударыня’ (к-12206) были проверены на наличие пяти генов *Rpi* и протестированы на устойчивость к фитофторе *P. infestans* в полевых опытах. В качестве маркеров SCAR для генов *Rpi* были использованы Rpi-R1-1205, Rpi-R3b-377, Rpi-R8-1276, Rpi-blb1-821, Rpi-stol-890 и Rpi-blb2-976. Секвенирование ПЦР-ампликонов использовалось для проверки наличия маркера Rpi-blb2-976. Экспериментальные данные были оценены с использованием стандартных статистических методов, таких как кластерный анализ, дисперсионный анализ (ANOVA), критерий хи-квадрат (критерий χ^2) и коэффициент ассоциации. **Результаты.** Сорта и клоны межвидовых гибридов картофеля – источники признака устойчивости к фитофторозу и гибриды F_1 от двух разных типов скрещивания, различающихся по реакции на *Phytophthora infestans* родительских форм (среднеустойчивый $\times$ устойчивый и устойчивый $\times$ восприимчивый), охарактеризованы по целевому признаку и наличию SCAR-маркеров генов. Установлено, что родительские формы гибридов F_1 являются симплексами по SCAR-маркерам *Rpi*-генов: сорт ‘Magelanes’ – по маркеру гена *Rpi-R1*, гибрид 171-3 – по маркерам генов *Rpi-R8* и *Rpi-R3b*, клон 16/27-09 – по маркерам генов – *Rpi-R1*, *Rpi-R8* и *Rpi-blb1*. В поколении гибридов F_1 16/27-09 $\times$ 8-1-2004 (тип скрещивания устойчивый $\times$ восприимчивый) выявлена достоверная связь между устойчивостью к фитофторе и наличием маркеров генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* (коэффициент ассоциации $r=0,24$). Диагностическая ценность маркеров двух генов (*Rpi-R8* и *Rpi-blb1*) составляет 85,4%. В поколении гибридов F_1 ‘Magelanes’ $\times$ 171-3 (тип скрещивания среднеустойчивый $\times$ устойчивый) связи между устойчивостью к фитофторозу и наличием маркеров *Rpi*-генов не обнаружено. **Заключение.** Маркеры генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* могут быть использованы в программах селекции картофеля на основе клона 16/27-09, используемого в качестве источника признака устойчивости к фитофторе.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., гибриды F_1 , *Phytophthora infestans*, гены *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb1*, *Rpi-blb2*, SCAR-маркеры, маркер-ориентированная селекция

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0481-2022-0004 “Совершенствование подходов и методов *ex situ* сохранения идентифицированного генофонда вегетативно размножаемых культур и их диких родичей, разработка технологий их эффективного использования в селекции”

Для цитирования: Иванова Е.А., Алпатьева Н.В., Рогозина Е.В. Молекулярные маркеры как инструмент в селекции картофеля на устойчивость к фитофторозу. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(1):5-22. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-03

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.

© Иванова Е.А., Алпатьева Н.В., Рогозина Е.В., 2025

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-o3

Molecular markers as a tool in potato breeding for late blight resistance

Ekaterina A. Ivanova, Natalia V. Alpatieva, Elena V. Rogozina

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Natalia V. Alpatieva, alpatievanatalia@mail.ru

Background. Resistance of potato cultivars to late blight caused by oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary is one of the priority areas of global and domestic potato breeding. To improve the breeding technology, the identification of DNA markers of resistance genes that are effective for the selection of valuable segregants in hybrid offspring is of particular relevance. **Objectives.** The aim of this study was to determine the diagnostic value of the *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb1*, and *Rpi-blb2* gene markers for the selection of valuable segregants in the progeny of interspecific hybrid clones from the VIR collection – sources of the late blight resistance trait. **Material and methods.** Two families of F_1 hybrids (156 individual plants), their parental clones 16/27-09, 171-3, 8-1-2004, Chilean potato cv. ‘Magelanes’, and potato cvs. ‘Alouette’, ‘Nayada’ and ‘Sudarynya’ were screened for the presence of five *Rpi* genes and tested in field trials for resistance to *P. infestans*. SCAR markers for *Rpi* genes were *Rpi-R1*-1205, *Rpi-R3b*-377, *Rpi-R8*-1276, *Rpi-blb1*-821, *Rpi-stol*-890, and *Rpi-blb2*-976. Sequencing of PCR amplicons was used to verify the presence of *Rpi-blb2*-976 marker. Experimental data were analyzed by standard statistical methods like cluster analysis, analysis of variance (ANOVA), chi-square test (χ^2 test) and coefficient of association. **Results.** Cultivars and clones of interspecific potato hybrids – sources of late blight resistance, and F_1 hybrids from two types of crosses, differing in the reaction of parental forms to late blight (moderately resistant $\times$ resistant, and resistant $\times$ susceptible), were characterized for the target trait and the presence of SCAR gene markers. It was established that SCAR markers for the *Rpi* genes in parental forms of F_1 hybrids are in simplex condition, namely the SCAR marker for the *Rpi-R1* gene in cv. ‘Magelanes’, that for *Rpi-R8* and *Rpi-R3b* in hybrid 171-3, and the marker for *Rpi-R1*, *Rpi-R8* and *Rpi-blb1* in clone 16/27-09. The F_1 progeny of 16/27-09 $\times$ 8-1-2004 hybrid (resistant $\times$ susceptible type cross) demonstrates a reliable relationship between late blight resistance and the presence of markers for *Rpi-R8* and *Rpi-blb1* genes (association coefficient $r=0.24$). The diagnostic value of markers for two genes (*Rpi-R8* and *Rpi-blb1*) is 85.4%.

The F_1 progeny of ‘Magelanes’ $\times$ 171-3 hybrid (moderately resistant $\times$ resistant type cross) showed no association between late blight resistance and the presence of *Rpi* gene markers. **Conclusions.** Markers for *Rpi-R8* and *Rpi-blb1* genes can be used in potato breeding programs which use clone 16/27-09 as a source of late blight resistance.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., F_1 hybrids, *Phytophthora infestans*, *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb1* genes, SCAR marker, marker-assisted selection

Acknowledgements: The research was carried out within the framework of the State Assignment according to the theme plan of VIR, Project No. 0481-2022-0004 “Improving the approaches and methods for *ex situ* conservation of the identified genetic diversity of vegetatively propagated crops and their wild relatives, development of technologies for their effective utilization in plant breeding”

For citation: Ivanova E.A., Alpatieva N.V., Rogozina E.V. Molecular markers as a tool in potato breeding for late blight resistance. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(1):5-22. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-1-o3

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.

© Ivanova E.A., Alpatieva N.V., Rogozina E.V., 2025

Введение

Картофель – культура восприимчивая к широкому кругу болезней и вредителей. Фитофтороз (возбудитель *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) – одно из самых распространенных и вредоносных заболеваний картофеля, представляющее глобальную угрозу продовольственной безопасности (Angmo et al., 2023; Berindean et al., 2024). Ежегодные потери от фитофтороза в разных частях света составляют 3,2-8,8% урожая (Savary et al., 2019), а в России могут достигать 50% (Ivanov et al., 2019). Использование химических средств защиты приводит к появлению новых агрессивных рас фитофторы *P. infestans*, опасно для окружающей среды и существенно повышает стоимость продукции картофелеводства. Поэтому выращивание устойчивых к фитофторе сортов сегодня повсеместно признано лучшим способом борьбы с заболеванием (Angmo et al., 2023; Berindean et al., 2024).

В большинстве регионов России фитофтороз является серьезной проблемой при выращивании картофеля, но использование устойчивых сортов позволяет существенно (на 30-45%) снизить возможные потери (Simakov et al., 2020). Ориентация на экологически чистое земледелие обуславливает необходимость создания сортов, способных давать урожай без применения средств химической защиты растений, и потому устойчивость их к фитофторе – актуальная задача для отечественной селекции. Технология традиционной селекции картофеля основана на скрещивании специально подобранных родительских пар, взаимно дополняющих друг друга по возможно большему числу признаков, и последующей оценке гибридного потомства, продолжительность которой составляет не менее 8 лет (Bradshaw, 2021). Сорт картофеля – это клон, получаемый в результате вегетативного размножения растения, обладающего уникальным генотипом, в котором достигнуто оптимальное сочетание 40-50 признаков.

Устойчивость сортов картофеля к фитофторе обеспечивает интрогрессия генетического материала диких родичей – видов *Solanum* L. секции *Petota* Dumort. Образцы, устойчивые к фитофторе, найдены среди 85 диких видов картофеля, но генетическая природа признака недостаточно исследована. У 27 видов картофеля идентифицирован 61 *R*-ген или *Rpi*-гены (resistance to *Phytophthora infestans*) и у 11 видов обнаружены 37 локусов количественных признаков (QTLs), связанных с этой устойчивостью (Blossei et al., 2022; Paluchowska et al., 2022). Большинство *Rpi*-генов из различных видов *Solanum* кодируют белки с сайтом связывания нуклеотидов и повторами, богатыми лейцином (NB-LRR или NBS-LRR). Такие белки могут действовать как цитоплазматические рецепторы и, в случае распознавания специ-

фических для патогена белков-эффекторов, запускают каскад передачи сигнала, что приводит к индуцированной гибели клеток из-за реакции гиперчувствительности (Rodewald, Trognitz, 2013; Khavkin, 2021). Известны *Rpi*-гены гомологи/ортологи с высокой степенью сходства нуклеотидных последовательностей, поэтому истинное число функциональных генов может быть меньше, чем приведено в обзорных статьях (Gopa, 2023; Gurina et al., 2024).

Rpi-гены различаются по эффективности защитного действия. Гены *Rpi-blb1(RB)*, *Rpi-blb2*, *Rpi-blb3*, идентифицированные у диплоидного мексиканского вида *S. bulbocastanum* Dun., проявляют широкий спектр действия и обеспечивают защиту против большинства известных рас возбудителя фитофтороза. Гены *Rpi-R1*, *Rpi-R2*, *Rpi-R3* гексаплоидного североамериканского вида *S. demissum* Lindl., являются расо-специфичными, обеспечивая устойчивость лишь к отдельным расам *P. infestans* (Paluchowska et al., 2022; Berindean et al., 2024). Современные программы селекции картофеля на устойчивость к возбудителю фитофтороза направлены на создание сортов с длительной устойчивостью на основе пирамидирования *Rpi*-генов и QTLs с использованием методов маркер-опосредованной селекции (Angmo et al., 2023; Berindean et al., 2024). Для идентификации и отбора ценных сегрегантов, а далее получение линий (популяций) картофеля, устойчивых к фитофторе, исследователи разрабатывают и апробируют ДНК-маркеры разных типов (Chen et al., 2017; Angmo et al., 2023; Berindean et al. 2024; Enciso-Maldonado et al., 2024; Islam et al., 2024).

В российских селекционных программах в качестве исходного материала используют сорта или клоны межвидовых гибридов, созданные на основе диких и культурных родичей картофеля (Rogozina, Khavkin, 2017; Simakov et al., 2017). По результатам молекулярного скрининга среди отечественных сортов и селекционного материала выявлены сорта и клоны с маркерными фрагментами генов *R1*, *R2*, *R3a*, *R3b*, *Rpi-blb1/Rpi-stol* (Gavrilenko et al., 2018; Gadjiyev et al., 2020; Shanina et al., 2018; Zoteyeva et al., 2022; Koroleva et al., 2024). В коллекции ВИР представлены клоны межвидовых гибридов, в родословных которых есть от двух до девяти видов *Solanum*, включая дикие североамериканские (*S. stoloniferum* Schlecht., *S. bulbocastanum*, *S. polytrichon* Rydb., *S. pinnatisectum* Dun., *S. vallis-mexici* Juz.), южноамериканские (*S. berthaultii* Hawkes, *S. microdontum* Bitt., *S. simplicifolium* Bitter, *S. acaule* Bitt., *S. spegazzinii* Bitt., *S. alandiae* Card., *S. chacoense* Bitt., *S. okadae* Hawkes et Hjerting) и окультуренные (*S. andigenum* Juz. et Buk., *S. phureja* Juz. et Buk., *S. rybinii* Juz. et Buk.) виды¹. По результатам молекулярного скрининга у клонов межвидо-

¹ Примечание редактора: приведённые здесь названия *S. andigenum* Juz. et Bukasov., *S. phureja* Juz. et Bukasov., *S. rybinii* Juz. et Bukasov., а также упоминающееся в разделе «Обсуждение» название *S. chilotanum* Hawkes являются синонимами названия *Solanum tuberosum* L. См. на сайте Королевских Ботанических Садов Кью. Editor's Note: the names *S. andigenum* Juz. et Bukasov., *S. phureja* Juz. et Bukasov., *S. rybinii* Juz. et Bukasov. given here, as well as the name *S. chilotanum* Hawkes mentioned in the Discussion section are synonyms of the name of *Solanum tuberosum* L. Visit the site of the Royal Botanic Gardens, Kew, <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names/>

вых гибридов из коллекции ВИР – источников устойчивости к фитофторе – выявлены маркеры генов *Rvi* – R1, R2, R3a, R3b, *Rpi-blb1*, *Rpi-blb2*, R8, *Rpi-vntl* (Rogozina et al., 2021).

Цель работы – изучить характер наследования признака устойчивости к возбудителю фитофтороза и маркеров *Rvi*-генов – R1, R3b, *Rpi-blb1*, *Rpi-blb2*, R8; оценить эффективность использования ДНК-маркеров при отборе форм, устойчивых к фитофторе; провести сопряженный молекулярно-генетический анализ и фенотипическую оценку двух популяций гибридов F_1 , полученных от скрещивания образцов из коллекции картофеля ВИР – источников признака устойчивости к возбудителю фитофтороза.

Материал и методы

Растительный материал: аборигенный чилийский сорт картофеля ‘Magelanes’ (к-7586), клоны 171-3 (к-25615), 16/27-09 (к-25628), 8-1-2004 (к-25621), 76 гибридов F_1 комбинации ‘Magelanes’ × 171-3 и 80 гибридов F_1 комбинации 16/27-09 × 8-1-2004, контроль – сорта ‘Алуэт’ (к-25544), ‘Наяда’ (к-12157), ‘Сударыня’ (к-12206) и ‘Early Rose’ (к-22144). Родительские формы и сорта картофеля ранее были охарактеризованы по устойчивости к возбудителю фитофтороза и наличию SCAR-маркеров *Rpi*-генов (Beketova et al., 2021, Rogozina et al., 2021).

Клоны межвидовых гибридов 171-3, 16/27-09 и 8-1-2004 созданы методом половой гибридизации с последующим отбором по хозяйственно-полезным признакам и по устойчивости к болезням и вредителям; по происхождению клоны представляют собой три разные группы селекционного материала, созданные на основе образцов видов *Solanum* L., сортов и селекционных линий картофеля из коллекции ВИР (Rogozina et al., 2018). По результатам многолетних полевых испытаний, клоны межвидовых гибридов 171-3, 16/27-09 охарактеризованы как устойчивые к возбудителю фитофтороза, клон 8-1-2004 – слабоустойчивый. Устойчивость клонов 171-3, 16/27-09 к фитофторе подтверждают результаты искусственного заражения с использованием агрессивного изолята *P. infestans* из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института фитопатологии (ВНИИФ). Клоны 171-3, 16/27-09 и 8-1-2004 обладают комплексом селекционно-ценных качеств: по морфологическим признакам наземной части растений и клубней соответствуют культурному типу картофеля, имеют среднюю или высокую продуктивность (450-800 г/куст), вкус хороший (4,0-4,5 балла), среднее или высокое содержание крахмала (14,9-21,7%), фертильны и вовлечены в скрещивания с сортами или селекционными линиями в Федеральном исследовательском центре картофеля имени А.Г. Лорха и в ВИР (Simakov et al., 2017; Rogozina et al., 2018).

Гибриды F_1 отобраны среди сеянцев двух комбинаций скрещивания: ‘Magelanes’ × 171-3 и 16/27-09 × 8-1-2004. Посев в 2018 году 100 семян комбинации ‘Magelanes’ ×

171-3 (2017 год репродукции) позволил получить 86 сеянцев, из которых 83 сформировали клубни. Посев в 2022 году 100 семян комбинации 16/27-09 × 8-1-2004 позволил получить 84 сеянца, из которых 80 сформировали клубни. Поддержание гибридов F_1 в коллекции ВИР осуществляется путем ежегодного получения клубневой репродукции на опытном поле Научно-практической базы (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Гибриды ‘Magelanes’ × 171-3 и 16/27-09 × 8-1-2004, родительские формы обеих комбинаций и сорта ‘Алуэт’, ‘Наяда’, ‘Early Rose’ оценены по устойчивости к фитофторе; все гибриды F_1 , их родительские формы и сорта ‘Алуэт’, ‘Наяда’ и ‘Сударыня’ оценены по наличию SCAR-маркеров *Rpi*-генов.

Оценка на устойчивость к возбудителю фитофтороза проведена в полевых условиях НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Родительские формы комбинации ‘Magelanes’ × 171-3 и 76 гибридов F_1 оценены на устойчивость к возбудителю фитофтороза в 2019-2024 годах. Родительские формы комбинации 16/27-09 × 8-1-2004 и 80 гибридов F_1 оценены на устойчивость к фитофторе в 2023-2024 годах. Сорта ‘Алуэт’, ‘Наяда’, ‘Early Rose’ использованы в качестве контролей. Растения оценивали в начальный период появления фитофтороза и в конце вегетации по 9-бальной шкале, от 1 балла (полное поражение растения) до 9 баллов (отсутствие симптомов болезни) (Kiru et al., 2010).

Молекулярно-генетический анализ. Геномную ДНК выделяли из молодых листьев растений с использованием жидкого азота модифицированным СТАБ-методом по известной методике (Gavrilenko et al., 2013). Гомогенизацию растительной ткани проводили на приборе TissueLyser LT (QIAGEN, Нидерланды) в течение 45 сек. Для проверки качества ДНК и исключения ложно-отрицательных результатов в качестве внутреннего контроля использовали ген «домашнего хозяйства» актин, данные приведены в GenBank: XM_015308091.1 (GenBank, 2024). ПЦР проводили с помощью праймеров: F (5'-GCTCCCCGATGGTCAAGTCA-3'), R (5'-GGATTCCAGCTGCTTCCATTC-3').

Маркерные фрагменты генов *Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-R8*, *Rpi-blb1* и *Rpi-blb2* амплифицировали с помощью праймеров, представленных в таблице 1, при температурах отжига, соответствующих данным литературы. ПЦР в двукратной повторности проводили с использованием реактивов «Диалат Лтд» (Россия), в 20 мкл реакционной смеси: 1,5 мкл ДНК, 12,6 мкл H_2O , 1,8 мкл dNTPs, 2,0 мкл 10× реакционный буфер, 1,2 мкл $MgCl_2$, 0,4 мкл прямого и обратного праймеров (10 пМ), 0,15 мкл Taq ДНК-полимеразы. Реакцию осуществляли на амплификаторах MiniAmp Plus Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, США). Электрофоретическое разделение амплифицированных фрагментов осуществляли в буфере 1xTBE в 1,5% агарозном геле с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете на приборе GelDoc Go Gel Imaging System (Bio Rad, США). Стандартом слу-

жили маркеры молекулярной массы Step 100 (1000 bp) и Step 100 Long (3000 bp) (ООО Биолабмикс, Россия).

Таблица 1. ДНК-маркеры *Rpi*-генов использованные в молекулярном скрининге
Table 1. DNA markers for *Rpi* genes used in molecular screening

Ген (Хромосома) / Gene (Chromosome)	Маркер (размер, пн)/ Marker (size, bp)	Нуклеотидная последовательность праймеров (5' → 3')/ Primer sequences (5' → 3')	T (°C)	Ссылка/ Reference
<i>Rpi-R1</i> (5)	Rpi-R1 (1205)	F-cactcgtgacatacctcacta	61	Sokolova et al., 2011
		R-gtagtacatctattttctgaagaat		
<i>Rpi-R3b</i> (11)	Rpi-R3b (377)	F-gtcgatgaatgctatgtttctcgaga	64	Rietman et al., 2012
		R-accagtttctgcaattccagattg'		
<i>Rpi-R8</i> (9)	Rpi-R8 (1276)	F-aacaagagatgaattaagtcggtagc	63	Vossen et al., 2016
		R-gctgtaggtgcaatgttgaagga		
<i>Rpi-blb1</i> (8)	Rpi-blb1 (821)	F-aacctgtatggcagtgccatg	62	Wang et al., 2008
		R-gtcagaaaaggcactcgtg		
	Rpi-sto1 (890)	F-accaggccacaagattctc	65	Haesaert et al., 2015
		R-cctgcggttcggtaataca		
<i>Rpi-blb2</i> (6)	Rpi-blb2 (976)	F-ggactgggtaacgacaatcc	58	van der Vossen et al., 2005, Wang et al., 2008

Нуклеотидные последовательности ампликонов, полученных с помощью праймеров Rpi-blb2-976, определяли по методу Сэнгера на приборе ABI 3500xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИ-ИСХМ). Секвенировали по одному фрагменту родительских образцов ‘Magelanes’ (к-7586), 171-3 (к-25615), 16/27-09 (к-25628), 8-1-2004 (к-25621) в двух направлениях. Выравнивание полученных последовательностей проводили с помощью программ MEGA Version 7.0 (Kumar et al., 2016) и BioEdit (Hall, 1999). Позиции нуклеотидов и аминокислот соответствуют их нумерации в последовательностях гена *Rpi-blb2* *S. bulbocastanum* (GenBank: DQ122125.1) и белка Mi-1 *Solanum lycopersicum* L. (GenBank: AAC97933.1) соответственно (GenBank, 2024).

У гибридов выявление SNP в последовательностях амплифицированных фрагментов, полученных с помощью праймеров Rpi-blb2-976 проводили с помощью рестриктаз *Hpa*II и *Hind*III в объеме 10 мкл посредством ферментов по протоколу фирмы производителя SibEnzyme (Россия). Электрофорез продуктов рестрикции проводили в 1,5-3% агарозном геле с последующим окрашиванием гелей раствором бромистого этидия.

Экспериментальные данные обрабатывали методами описательной статистики, корреляционного и кластерного анализа в программе Excel и Statistica Basic Academic 13 (StatSoft Russia, 2024). Соответствие фактического и теоретически ожидаемого расщеплений в гибридных популяциях по наличию ДНК-маркеров *Rpi*-генов оценивали с помощью критерия согласия Пирсона (χ^2 , хи-квадрат), взаимосвязь качественных признаков – устойчивости к возбудителю фитофтороза и наличия ДНК-маркеров *Rpi*-генов – с помощью коэффициента ассоциации (по формуле Юла). Для группировки гибридов F_1 по устойчивости к фитофторе проводили иерархическую классификацию, методом полной связи с использованием евклидова расстояния, и кластеризацию методом k-средних. Существенность различий между группами оценивали методом дисперсионного анализа. Нуль гипотезу отвергали при уровне значимости $\alpha \leq 0,05$.

Результаты

Оценка сортов и селекционных клонов картофеля по устойчивости к *Phytophthora infestans* и наличию SCAR-маркеров *Rpi*-генов. Растения гибридов F_1 , родительских форм и сортов картофеля в годы изучения поражались фитофторой в разной степени, в зависимо-

сти от метеоусловий в периоды вегетации, которые были неодинаково благоприятны для фитопатогена *P. infestans*. Метеоусловия вегетационных периодов, наблюдавшиеся в годы проведения полевых испытаний, характеризовались существенной неоднородностью: обеспеченность теплом и влагой варьировала в значительной степени (рис. 1, 2). В 2019 году прохладная погода в июле-августе способствовала развитию и распространению фитофторы, однако осадков в летние месяцы выпало почти в два раза меньше по сравнению со средними многолетними наблюдениями. Первые симптомы фитофтороза на сорте 'Early Rose' появились шестого августа. В конце августа у сортов 'Наяда' и 'Magelanes' около 50% листовой поверхности были поражены фитопатогеном, несколько меньше был поражен клон 16/27-09 (30% листовой поверхности), единичные инфекционные пятна были отмечены на растениях сорта 'Алуэт'. Клон 171-3 сохранял высокую устойчивость к фитопатогену (7 баллов) до конца вегетации – в первых числах сентября (табл 2).

Лето 2020 года также отличалось пониженной температурой во второй половине вегетации, а количество осадков в июле и в августе превышало средние много-

летние значения. У растений сорта 'Early Rose' к концу первой декады августа более 70% листовой поверхности было поражено фитофторой (3 балла). В конце августа у сорта 'Алуэт' и у клона 171-3 фитофтороз был выражен слабо (единичные пятна на листовой поверхности). К началу сентября у сорта 'Алуэт' и клона 16/27-09 поражение составило 3 балла, тогда как клон 171-3 сохранял высокую устойчивость к фитопатогену (7 баллов).

Вегетационный период 2021 года характеризовался очень высокими температурами в летний период и засухой в июне-июле, на смену которой пришли обильные осадки в августе. Сорт 'Early Rose' (ранний по срокам созревания) окончил вегетацию до появления симптомов фитофтороза. На растениях другого восприимчивого сорта – 'Bintje' – симптомы фитофтороза отмечены 25 августа. Развитие фитофтороза на растениях картофеля завершающих вегетацию в сентябре было замедленным. В середине сентября сорт 'Алуэт' оставался слабо пораженным заболеванием, несколько большим было поражение клона 16/27-09 (6 баллов); растения клона 171-3 в значительной степени были поражены фитофторозом (3 балла).

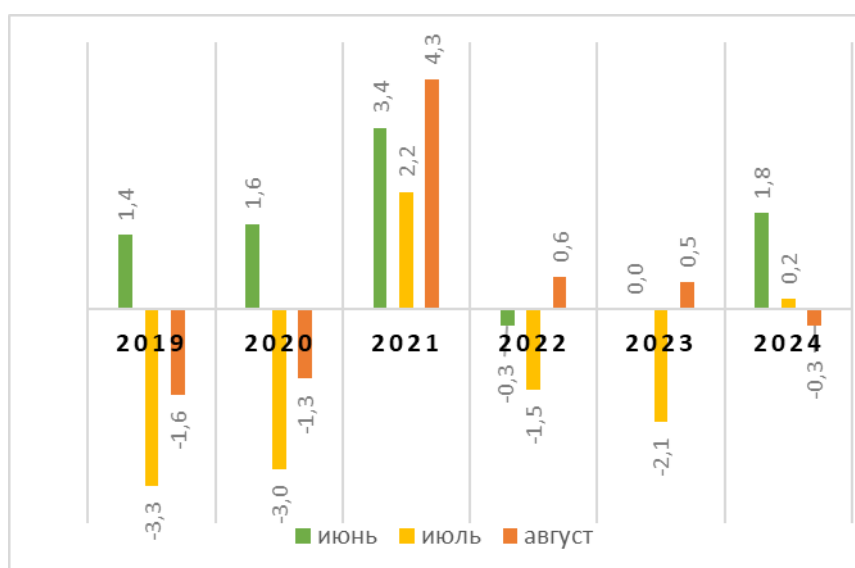


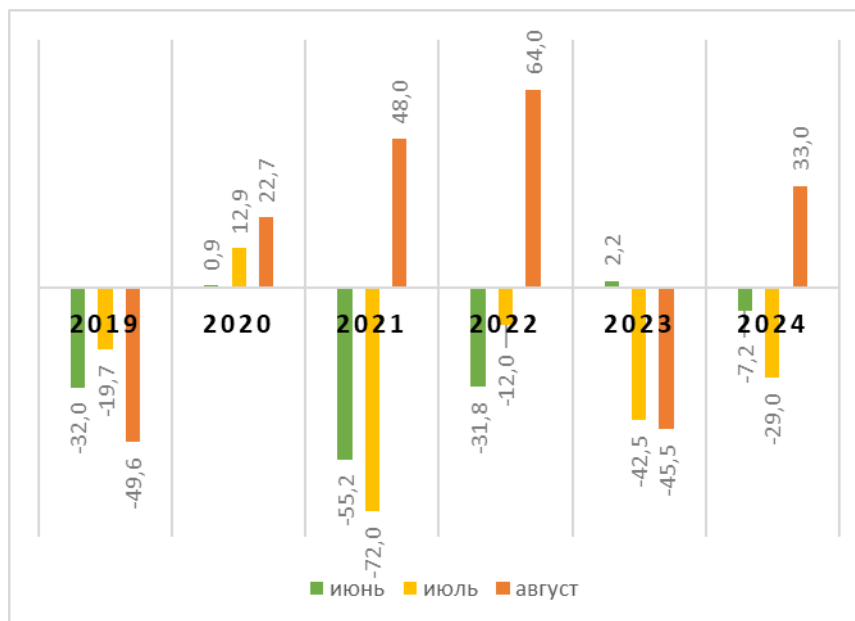
Рис. 1. Различия месячных температур воздуха (°C) относительно средних значений в летние месяцы 2019-2024 годов. Санкт-Петербург, Пушкин

Fig. 1. Differences in monthly air temperatures (°C) relative to the average values in summer months of 2019-2024. St. Petersburg, Pushkin

Green – June; Orange – July; Red – August

В июне и июле 2022 года погода была прохладнее, температура воздуха ниже, осадков выпало меньше, по сравнению со средними многолетними значениями, а более теплый август сопровождался обильными осадками. Сорт 'Early Rose' в начале августа был полностью поражен фитофторозом, растения клона 8-1-2004 к этому

времени уже закончили вегетацию. Наибольшая устойчивость к концу августа отмечена у сорта 'Алуэт' (7 баллов) и у клона 171-3 (6 баллов). Быстро развивалась инфекция на растениях сорта 'Наяда' и клона 16/27-09, у которых к концу второй декады месяца поражение фитофторозом составило 3 и 5 баллов соответственно (табл. 2).



**Рис. 2. Различия в месячном количестве осадков (мм) относительно средних значений в летние месяцы 2019-2024 годов
Санкт-Петербург, Пушкин**

Fig. 2. Differences in monthly precipitation (mm) relative to the average values in summer months of 2019-2024. St. Petersburg, Pushkin

В 2023 году июль был также прохладным, дефицит осадков отмечен в июле и в августе. В конце августа у сорта 'Алуэт' и у клонов 171-3 и 16/27-09 отмечено поражение фитофторозом не более 25-30% листовой поверхности (6-7 баллов). В 2024 году при повышенной температуре в июне осадков было меньше нормы, а сильные ливни и прохладные температуры в августе способствовали быстрому развитию фитофтороза. Почти полное поражение растений сортов 'Наяда', 'Алуэт' и клона 16/27-09 отмечено в середине августа, у клона 171-3 – на две недели позднее (см. табл. 2).

Данные ПЦР анализа сортов картофеля и родительских форм гибридов F_1 в основном согласуются с результатами ранее проведенного скрининга (Beketova et al., 2021; Rogozina et al., 2021). У сорта 'Magelanes' подтверждено наличие маркеров генов *Rpi-R1* и *Rpi-blb2*, у клона 171-3 – наличие маркеров генов *Rpi-R3b* и *Rpi-R8*, у клона 16/27-09 – наличие маркеров четырех генов: *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-blb1* и *Rpi-blb2*, у клона 8-1-2004 – наличие маркера гена *Rpi-blb2*. У сорта 'Алуэт' подтверждено наличие гена *Rpi-R3b*, у сорта 'Наяда' маркеров генов *Rpi-R1*, *Rpi-R8* и *Rpi-blb2*, у сорта 'Сударыня' – маркеров генов *Rpi-blb1* и *Rpi-blb2*.

Нами обнаружены маркеры гена *Rpi-blb2* не только у сортов 'Magelanes', 'Наяда' и у клона 16/27-09, но и у сорта 'Алуэт', и у клона 171-3 (см. табл. 2). Для верификации выявленных ампликонов были секвенированы ПЦР фрагменты, полученные у родительских форм – сорта 'Magelanes', клонов 16/27-09, 171-3, 8-1-2004 и гибридов F_1 .

Оценка устойчивости к *Phytophthora infestans* и наличие SCAR-маркеров *Rpi*-генов у гибридов F_1 картофеля. Полевые испытания гибридов F_1 выявили различия между генотипами обеих популяций по реакции на фитофтору. У гибридов 'Magelanes' × 171-3 показатель средней устойчивости популяции к фитопатогену составил 5-7 баллов. Доля гибридов, устойчивость которых соответствовала или была выше, чем устойчивость лучшей родительской формы – клона 171-3 – варьировала в значительной степени в зависимости от года испытания (табл. 3). Значительная часть (73% и 59%) гибридов 'Magelanes' × 171-3 охарактеризованы как высокоустойчивые в 2020 и 2021 годах, соответственно. Наименьшая доля гибридов (2%) этой популяции охарактеризованы как высокоустойчивые в 2023 году (см. табл. 3).

У гибридов 16/27-09 × 8-1-2004 средняя устойчивость популяции к фитофторе – 5 баллов – выявлена в оба года испытаний. Доля гибридов, устойчивость которых к фитофторе соответствует или выше устойчивости лучшей родительской формы – клона 16/27-09, составляет 15-24% (см. табл. 3). Сравнение результатов оценки гибридов обеих популяций в 2023 и 2024 годах показывает, что в 2023 году доля высокоустойчивых генотипов среди гибридов 16/27-09 × 8-1-2004 больше, чем среди гибридов 'Magelanes' × 171-3, в 2024 году различий не выявлено (см. табл. 3).

Таблица 2. Степень поражения растений фитофторозом и SCAR-маркеры *Rpi*-генов у сортов и селекционных клонов картофеля

Table 2. The degree of late blight plant damage and SCAR markers for *Rpi* genes in potato cultivars and breeding clones

Сорт, клон/ Cultivar, breeding clone	Степень поражения фитофторозом в конце вегетации в годы испытаний: дата (балл)/ The degree of late blight infection at the end of the growing season in the test years: date (score)						SCAR-маркеры <i>Rpi</i> -генов/ SCAR markers for <i>Rpi</i> genes
	2019	2020	2021	2022	2023	2024	
‘Magelanes’	27.08 (5)	18.08 (6)	2.09 (5)	19.08 (7)	21.08 (4)	16.08 (3)	Rpi-R1-1205 Rpi-blb2-976
171-3	4.09 (7)	4.09 (7)	16.09 (3)	24.08 (6)	31.08 (7)	26.08 (2)	Rpi-R3b-377 Rpi-R8-1276 Rpi-blb2-976
16/27-09	27.08 (6)	4.09 (3)	16.09 (6)	19.08 (5)	31.08 (6)	14.08 (2)	Rpi-R1-1205 Rpi-R8-1276 Rpi-blb1-821 Rpi-sto1-890 Rpi-blb2-976
8-1-2004	14.08 (7)	11.08 (7)	30.08 (5)	нет данных	15.08 (1)	2.08 (7)	Rpi-blb2-976
‘Алуэт’	27.08 (8)	4.09 (3)	16.09 (7)	29.08 (7)	31.08 (6)	14.08 (2)	Rpi-R3b-377 Rpi-R8-1276 Rpi-blb2-976
‘Наяда’	27.08 (5)	24.08(6)	31.08 (6)	19.08 (3)	21.08 (5)	14.08 (1)	Rpi-R1-1205 Rpi-R8-1276 Rpi-blb2-976
‘Early Rose’	5.08 (6)	11.08 (3)	нет данных	1.08 (1)	8.08 (1)	2.08 (1)	Rpi-blb2-976*

*по данным Rogozina et al., 2021

Таблица 3. Устойчивость гибридов F_1 к фитофторе

Table 3. Resistance of F_1 hybrids to late blight

Дата/Date	Число гибридов/ Number of hybrids	Распределение гибридов F ₁ на группы по устойчивости* (балл)/ F ₁ hybrid distribution into resistance groups (score)			Устойчивость к фитофторе (средний балл)/ Late blight resistance (average score)	
		R (7-9)	MR (4-6)	S (1-3)	Гибриды/ Hybrids	Родительские формы/ Parents
‘Magelanes’ × 171-3						
27.08.2019	79	32	30	18	5	7/5
26.08.2020	79	58	19	2	7	7/4
30.08.2021	79	47	26	6	6	5/5
26.08.2022	78	27	28	23	5	6/6
24.08.2023	76	2	71	3	5	8/4
05.08.2024	76	15	43	18	5	8/8
16/27-09 × 8-1-2004						
24.08.2023	80	19	47	14	5	7/1
05.08.2024	80	12	51	17	5	8/7

*R – устойчивый, MR – среднеустойчивый, S – восприимчивый

На основе результатов полевых испытаний по устойчивости к фитофторе в обеих популяциях проведен иерархический кластерный анализ и кластеризация методом k -средних гибридов F_1 и их родительских форм. Объекты – гибриды и родительские формы в каждой популяции – при использовании двух подходов были сгруппированы сходным образом в два класте-

ра (рис. 3а, б). В популяции ‘Magelanes’ × 171-3 в первом кластере сгруппированы сорт ‘Magelanes’ и 23 гибрида, неустойчивых к фитофторе (31% поколения F_1), средняя оценка этой группы составляет 2,1-6,1 балла в зависимости от года испытаний. Во второй кластер сгруппированы 52 гибрида и клон 171-3. Генотипы второго кластера более устойчивы к фитофторе, средняя оценка этой груп-

пы 5,3-7,3 балла (рис. 3.а).

В популяции гибридов 16/27-09 × 8-1-2004 также два кластера: в первом кластере клон 16/27-09 и 47 гибридов устойчивых к фитофторе (59% поколения F_1), средняя оценка этой группы составляет 5,7-6,0 баллов. Во второй кластер сгруппированы 33 гибрида и клон 8-1-2004, средняя оценка этой группы 3,5-3,6 баллов (рис. 3б).

Верификация группировки гибридов F_1 в каждой популяции по устойчивости к фитофторе на два кластера произведена методом дисперсионного анализа, по результатам которого нуль-гипотеза о равенстве в каждой популяции средних величин двух кластеров по устойчивости к фитофторе в полевых условиях отклонена ($p < 0,05$).

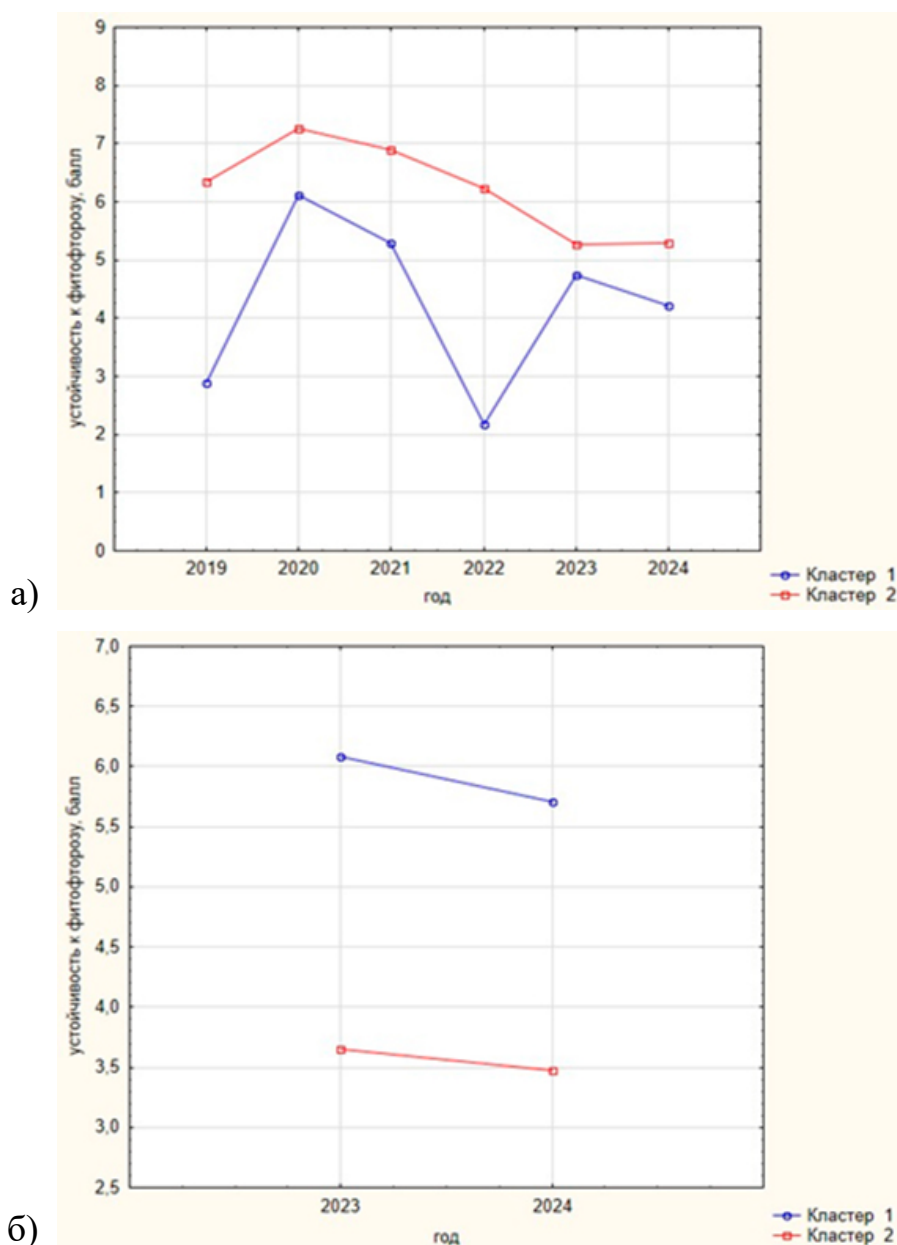


Рис. 3. Группировка гибридов F_1 по реакции на фитофтору методом к-средних. а) 'Magelanes' × 171-3, б) 16/27-09 × 8-1-2004

Fig. 3. K-means clustering of F_1 hybrids based on their reaction to late blight. а) 'Magelanes' × 171-3, б) 16/27-09 × 8-1-2004

Маркерный анализ выявил у гибридов F_1 расщепление по маркерам генов *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-blb1* и *Rpi-blb2* (табл. 4). Среди гибридов ‘Magelanes’ × 171-3 маркеры генов *Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-R8* идентифицированы у 34, 28 и 43 генотипов, соответственно. Маркер гена *Rpi-blb2*

идентифицирован у всех 76 генотипов. Среди гибридов 16/27-09 × 8-1-2004 маркеры генов *Rpi-R1*, *Rpi-blb1*, *Rpi-R8* идентифицированы у 44, 43 и 38 генотипов, соответственно; маркер гена *Rpi-blb2* идентифицирован у 69 генотипов (см. табл. 4).

Таблица 4. Расщепление у гибридов F_1 по SCAR-маркерам *Rpi*-генов

Table 4. Segregation in F_1 hybrids by SCAR markers of *Rpi* genes

Происхождение гибридов F_1 (число изученных)/ F_1 hybrids origin (number studied)	SCAR-маркер/ SCAR marker	Отношение генотипов (маркер обнаружен: не обнаружен)/ genotype ratio (marker presence: absence)		χ^2	P
		Наблюдаемое/ observed	Теоретически ожидаемое/expected		
‘Magelanes’ × 171-3 (76)	Rpi-R1-1205	34:42	1:1	0,84	0,3-0,5
“	Rpi-R3b-377	28:48	13:15	2,59	0,1-0,2
“	Rpi-R8-1276	43:33	1:1	1,32	0,2-0,3
“	Rpi-blb2-976	76:0	н.о.*	н.о.	н.о.
16/27-09 × 8-1-2004 (80)	Rpi-R1-1205	44:36	1:1	0,80	0,3-0,5
“	Rpi-blb1-821+ Rpi- sto1-890	43:37	1:1	0,45	0,50
“	Rpi-R8-1276	38:42	1:1	0,2	0,5-0,7
“	Rpi-blb2-976	69:11	11:1	2,50	0,1-0,2

*н.о. – не определено

Расщепление в обеих популяциях гибридов F_1 по маркеру гена *Rpi-R1* достоверно не отличается от соотношения 1:1 (критерий $\chi^2 < \chi^2 = 3,84$ при $p=0,05$). Расщепление в обеих популяциях гибридов F_1 по маркеру гена *Rpi-R8* также достоверно не отличается от соотношения 1:1. В популяции гибридов (16/27-09 × 8-1-2004) оба маркера гена *Rpi-blb1* наследуются сцепленно, расщепление достоверно не отличается от соотношения 1:1 (см. табл. 4). У тетраплоидного картофеля расщепление у гибридов F_1 в соотношении 1:1 соответствует теоретически ожидаемому для потомства от скрещивания симплекс × нуллиплекс ($Rrrr \times rrrr$).

Расщепление в популяции гибридов F_1 ‘Magelanes’ × 171-3 по маркеру гена *Rpi-R3b* отличается от соотношения 1:1 ($\chi^2=6,2$ $p=0,01-0,02$). Полученное в нашем опыте расщепление соответствует теоретически ожидаемому 13:15, которое у тетраплоидного картофеля наблюдается у гибридов F_1 от скрещивания симплекс × нуллиплекс, а также в случае хроматидного расщепления (Yashina, Sklyarova, 1973).

В популяции ‘Magelanes’ × 171-3 расщепления по маркеру гена *Rpi-blb2* не обнаружено (см. табл. 4). У тетраплоидного картофеля отсутствие расщепления в семьях F_1 по анализируемому признаку, в данном случае по маркерному фрагменту гена *Rpi-blb2*, может быть следствием наличия трех доминантных аллелей в локусе, а именно $RRRr$ у одной из родительских форм (Yashina, Sklyarova, 1973). Расщепление в популяции 16/27-09 × 8-1-2004 по маркеру гена *Rpi-blb2* достоверно не отличается от соот-

ношения 11:1, которое соответствует теоретически ожидаемому при скрещивании дуплекс × симплекс ($RRrr \times Rrrr$).

Анализ характера наследования ДНК-маркеров в каждой комбинации (см. табл. 4) позволил определить степень гетерозиготности по SCAR-маркерам *Rpi*-генов у трех родительских форм. Сорт ‘Magelanes’ является симплексом по маркеру гена *Rpi-R1*; гибрид 171-3 – симплекс по маркерным фрагментам генов *Rpi-R8* и *Rpi-R3b*; клон 16/27-09 – симплекс по маркерам каждого из генов: *Rpi-R1*, *Rpi-R8* и *Rpi-blb1*.

При скрининге гибридов F_1 и их родительских форм (сорта ‘Magelanes’ и клонов 171-3, 16/27-09, 8-1-2004) с использованием праймеров, рекомендованных для детекции гена *Rpi-blb2*, были получены фрагменты ожидаемой длины у всех родительских форм для всех 76 гибридов ‘Magelanes’ × 171-3 и у 69 из 80 гибридов 16/27-09 × 8-1-2004 (см. табл. 2, 4). Маркер Rpi-blb2 был разработан на С-концевой фрагмент гена, причем места отжига праймеров захватывали область, кодирующую богатые лейцином повторы (Leucine Rich Repeats) длиной в 21, 22, 24, 29, 33 аминокислот каждый (van der Vossen et al, 2005; Wang et al., 2008). С целью верифицировать ампликоны и определить возможность использования предложенных праймеров для идентификации гена *Rpi-blb2*, ПЦР фрагменты, полученные для родительских форм, были секвенированы.

Нуклеотидные последовательности всех проанализированных ампликонов были идентичны друг

другу, но отличались от последовательности гена *Rpi-blb2* (GenBank: DQ122125.1) множественными SNP и двумя девятинуклеотидными делециями в позициях 4290-4298 пн и 4467-4475 пн соответственно (рис. 4). Кроме того, предполагаемые аминокислотные последовательности фрагментов также существенно отличались

от референсных белков Mi-1 (*S. lycopersicum* GenBank: AAC97933.1) и Rpi-blb2 (*S. bulbocastanum* GenBank: AAZ95005), двумя делециями, аминокислотными заменами и двумя преждевременными стоп-кодонами, причем один – в области, фланкирующей LLR повторы, второй – в третьем LLR повторе (рис. 5).

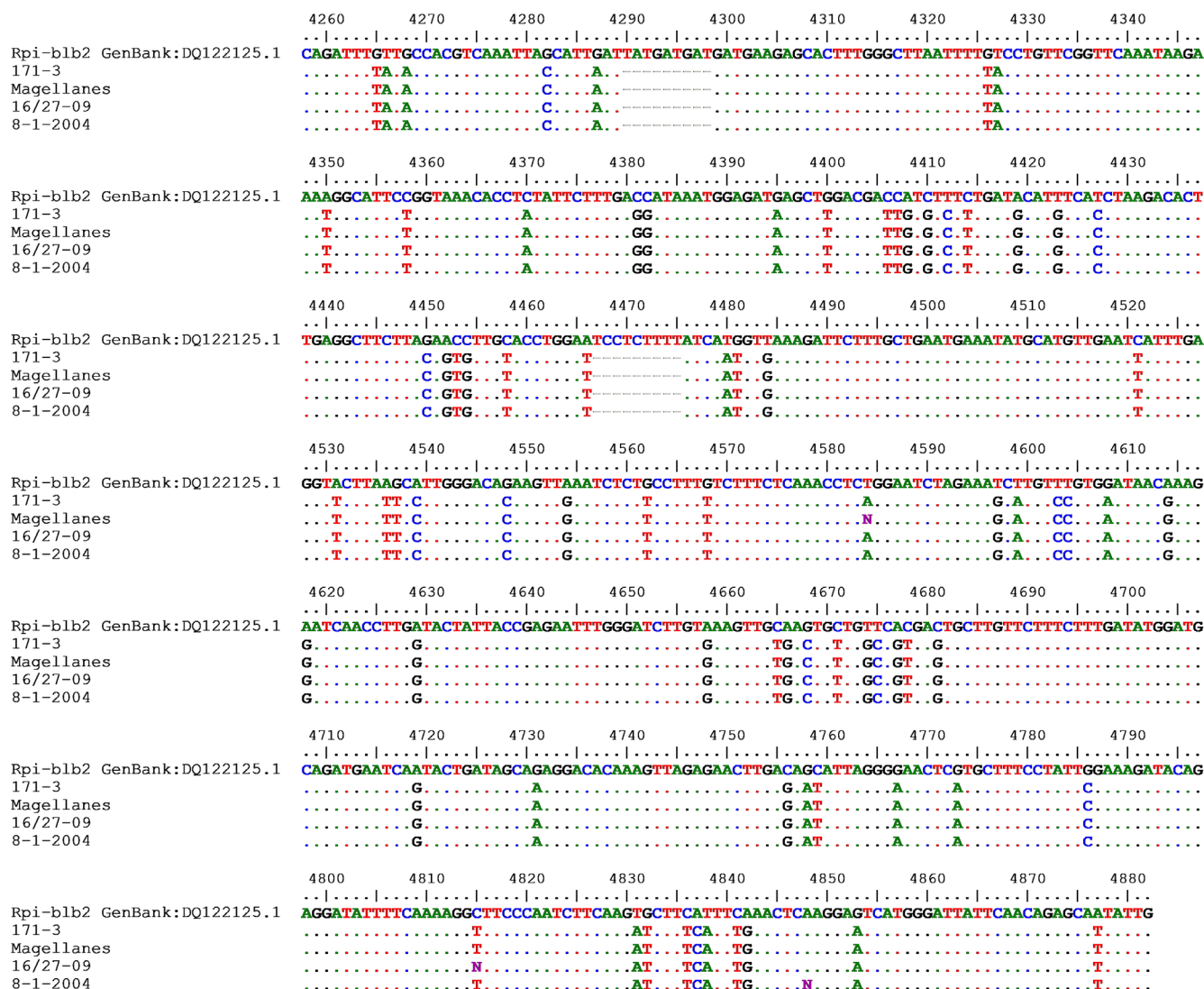


Рис. 4. SNPs и делеции в нуклеотидных последовательностях маркерных фрагментов Rpi-blb2-976 у родителей гибридов F₁ по сравнению с последовательностью гена *Rpi-blb2* *S. bulbocastanum* (GenBank: DQ122125)

Нумерация нуклеотидов приведена в соответствии с последовательностью GenBank: DQ122125.1 (GenBank, 2024)

Fig. 4. SNPs and deletions in Rpi-blb2-976 marker fragments from the parents of F₁ hybrids compared to the prototype gene *Rpi-blb2* from *S. bulbocastanum* (GenBank: DQ122125)

Nucleotides are numbered according to the GenBank accession no. DQ122125.1 (GenBank, 2024)

	870	880	890	900	910	920	930	940	950																																																																										
Mi-1 GenBank: AAC97933.1	LLP	Q	I	T	D	Y	D	E	E	E	H	F	G	L	N	F	V	M	F	D	S	N	K	R	R	H	S	G	K	H	L	Y	S	L	R	I	N	G	Q	L	D	S	V	S	D	A	F	H	L	R	H	L	R	L	R	V	L	D	L	E	P	S	L	I	M	V	N	D	S	L	L	N	E	I	C	M	L	N	H	L	R	Y	
Rpi-blb2 GenBank: AAZ95005	LLP	Q	I	S	I	D	Y	D	D	D	E	H	F	G	L	N	F	V	L	F	G	S	N	K	R	R	H	S	G	K	H	L	Y	S	L	T	I	N	G	D	E	L	D	H	S	D	T	F	H	L	R	H	L	R	L	R	I	T	H	L	E	S	S	F	I	M	V	N	D	S	L	L	N	E	I	C	M	L	N	H	L	R	Y
171-3	FIP	Q	I	T	I	T	I	N	---	D	E	E	H	F	G	L	N	F	Y	L	F	G	S	N	K	K	H	S	G	K	H	L	Y	S	L	R	I	N	G	D	L	D	C	V	F	D	A	C	H	L	R	H	L	R	L	T	V	L	Y	L	D	---	I	N	V	K	D	S	L	L	N	E	I	C	M	L	N	Y	L	R	F		
Magellanes	FIP	Q	I	T	I	T	I	N	---	D	E	E	H	F	G	L	N	F	Y	L	F	G	S	N	K	K	H	S	G	K	H	L	Y	S	L	R	I	N	G	D	L	D	C	V	F	D	A	C	H	L	R	H	L	R	L	T	V	L	Y	L	D	---	I	N	V	K	D	S	L	L	N	E	I	C	M	L	N	Y	L	R	F		
16/27-09	FIP	Q	I	T	I	T	I	N	---	D	E	E	H	F	G	L	N	F	Y	L	F	G	S	N	K	K	H	S	G	K	H	L	Y	S	L	R	I	N	G	D	L	D	C	V	F	D	A	C	H	L	R	H	L	R	L	T	V	L	Y	L	D	---	I	N	V	K	D	S	L	L	N	E	I	C	M	L	N	Y	L	R	F		
8-1-2004	FIP	Q	I	T	I	T	I	N	---	D	E	E	H	F	G	L	N	F	Y	L	F	G	S	N	K	K	H	S	G	K	H	L	Y	S	L	R	I	N	G	D	L	D	C	V	F	D	A	C	H	L	R	H	L	R	L	T	V	L	Y	L	D	---	I	N	V	K	D	S	L	L	N	E	I	C	M	L	N	Y	L	R	F		
	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030																																																																											
Mi-1 GenBank: AAC97933.1	L	R	I	R	T	Q	V	K	Y	L	P	F	S	F	S	N	L	N	L	E	S	L	F	V	S	N	K	G	S	I	L	V	L	P	R	I	L	D	L	V	K	L	R	V	L	S	V	G	A	C	S	F	F	D	M	D	A	D	E	S	I	L	I	A	K	O	T	K	L	E	N	L	R	I									
Rpi-blb2 GenBank: AAZ95005	L	S	I	G	T	E	V	K	S	L	P	L	S	F	S	N	L	N	L	E	I	L	F	V	D	N	K	E	S	T	L	I	L	L	P	R	I	W	D	L	V	K	L	Q	V	L	E	T	T	A	C	S	F	F	D	M	D	A	D	E	S	I	L	I	A	E	D	T	K	L	E	N	L	T	A								
171-3	L	F	L	G	T	Q	V	E	S	L	P	F	S	F	S	N	L	N	L	E	S	M	S	V	N	N	E	G	S	T	L	V	L	P	R	I	W	D	L	V	K	L	*	L	L	A	V	S	A	C	S	F	F	D	M	D	A	D	E	S	V	L	I	A	K	O	T	K	L	E	N	L	R	I									
Magellanes	L	F	L	G	T	Q	V	E	S	L	P	F	S	F	S	N	L	N	L	E	S	M	S	V	N	N	E	G	S	T	L	V	L	P	R	I	W	D	L	V	K	L	*	L	L	A	V	S	A	C	S	F	F	D	M	D	A	D	E	S	V	L	I	A	K	O	T	K	L	E	N	L	R	I									
16/27-09	L	F	L	G	T	Q	V	E	S	L	P	F	S	F	S	N	L	N	L	E	S	M	S	V	N	N	E	G	S	T	L	V	L	P	R	I	W	D	L	V	K	L	*	L	L	A	V	S	A	C	S	F	F	D	M	D	A	D	E	S	V	L	I	A	K	O	T	K	L	E	N	L	R	I									
8-1-2004	L	F	L	G	T	Q	V	E	S	L	P	F	S	F	S	N	L	N	L	E	S	M	S	V	N	N	E	G	S	T	L	V	L	P	R	I	W	D	L	V	K	L	*	L	L	A	V	S	A	C	S	F	F	D	M	D	A	D	E	S	V	L	I	A	K	O	T	K	L	E	N	L	R	I									

Рис. 5. Аминокислотные замены, делеции и стоп кодон в предполагаемых аминокислотных последовательностях у родительских форм гибридов F_1 по сравнению с белками Mi-1 (*S. lycopersicum*) GenBank: AAC97933.1 и *Rpi-blb2* (*S. bulbocastanum*) GenBank: AAZ95005 (фрагмент)

*а – стоп кодон в последовательности третьего повтора в области LLR домена

Нумерация аминокислот приведена в соответствии с последовательностью GenBank: AAC97933.1 (GenBank, 2024)

Fig. 5. Amino acid substitutions, deletions and stop codon in the putative amino acid sequences in parents of F_1 hybrids compared to the Mi-1 proteins (*S. lycopersicum*) (GenBank: AAZ95005) and *Rpi-blb2* (*S. bulbocastanum*) (fragment)

* – stop codon in the sequence of the third repeat in the LLR domain region

Amino acids are numbered according to the GenBank accession no. AAC97933.1 (GenBank, 2024)

Таким образом, ампликоны, полученные с помощью праймеров Rpi-blb2-976 и имеющие нуклеотидный состав более чем на 80% сходный с аналогичным фрагментом гена *Rpi-blb2* и, вероятно, общие с ним места отжига праймеров, могут быть идентифицированы как возможные гомологи гена *Rpi-blb2*, а предложенные праймеры – как дающие ложноположительные результаты в исследованных нами образцах. Такие ампликоны имели длину 958 пн у всех родительских образцов, то есть были короче на 18 нуклеотидов по сравнению с фрагментом гена *Rpi-blb2*. Однако такая разница, очевидно, является трудноразличимой при значительной длине фрагмента. Чтобы верифицировать ПЦР фрагменты, полученные с помощью праймеров Rpi-blb2-976 у гибридов F_1 , нами были подобраны две рестриктазы: *HpaII*, имеющая сайт узнавания только в референсной последовательности *Rpi-blb2* (CCGG), и *HindIII*, расщепляющая только предполагаемый гомолог гена, секвенированный в данном исследовании (сайт узнавания AAGCTT) (рис. 6). У гибридов F_1 ампликон оставался интактным после действия фермента *HpaII*, а при действии рестриктазы *HindIII* расщеплялся на два фрагмента длиной 575 пн и 383 пн, характерные для гомолога гена *Rpi-blb2* (см. рис. 6).

Связь устойчивости к возбудителю фитофтороза и наличия маркеров генов *Rpi* у гибридов F_1 картофеля. В популяциях гибридов F_1 выявлены генотипы с различным числом и сочетанием маркеров *Rpi*-генов

(рис. 7). У гибридов популяции ‘Magellanes’ $\times$ 171-3 обнаружены маркеры генов устойчивости к фитофторе: по одному, два в разных комбинациях, и три маркера генов *Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-R8*. У значительной части гибридов, 13-21% генотипов в зависимости от кластера, маркеры *Rpi*-генов не обнаружены (рис. 7а). Распределение гибридов ‘Magellanes’ $\times$ 171-3 из первого и второго кластеров по частоте маркеров *Rpi*-генов различно. У гибридов, устойчивых к фитофторе, встречаемость маркеров генов *Rpi-R3b* и комбинации маркеров генов *Rpi-R3b* + *Rpi-R8* больше, чем у неустойчивых гибридов (см. рис. 7а). Однако в целом различия между гибридами ‘Magellanes’ $\times$ 171-3 из первого и второго кластеров по частоте маркеров *Rpi*-генов не существенны: F-критерий=0,63 при $p=0,43$.

У гибридов 16/27-09 $\times$ 8-1-2004 также обнаружено от одного до двух, в разных комбинациях, и по три маркера генов *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-blb1*. Распределения гибридов из первого и второго кластеров по частоте маркеров *Rpi*-генов также различны (рис. 7б). У гибридов устойчивых к фитофторе встречаемость маркеров генов *Rpi-R8*, сочетаний *Rpi-R1* + *Rpi-blb1* и *Rpi-R1* + *Rpi-R8* + *Rpi-blb1* больше, чем у неустойчивых гибридов (см. рис. 7б). Существенность различий между гибридами 16/27-09 $\times$ 8-1-2004 из первого и второго кластеров по частоте маркеров *Rpi*-генов подтверждено с помощью F-критерия: F=4,18 при $p=0,04$.

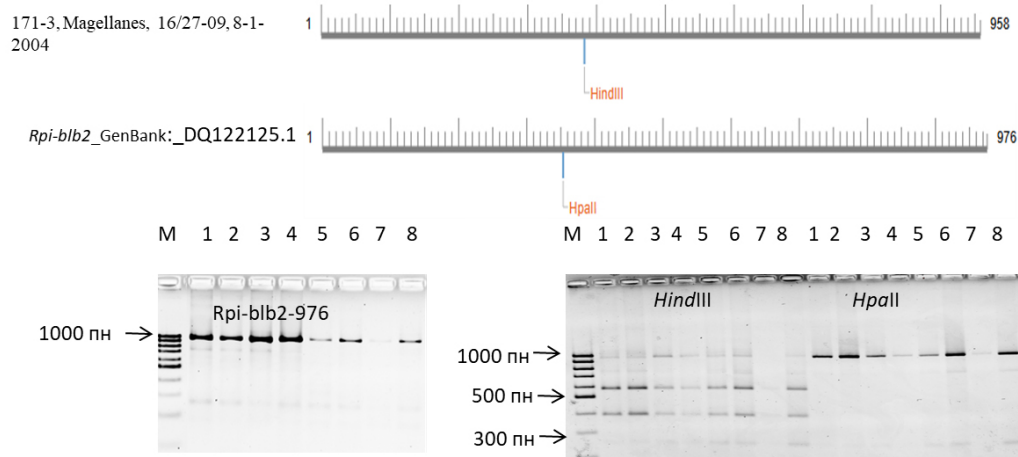


Рис. 6. Идентификация гомолога *Rpi-blb2* у гибридов F_1 с помощью рестриктаз *HindIII* и *HpaII*
1-8 – гибриды F_1 , М – маркер молекулярного веса

Fig. 6. Identification of the *Rpi-blb2* homolog in F_1 hybrids using *HindIII* and *HpaII* restriction enzymes
1-8 – F_1 hybrids, M – molecular weight marker

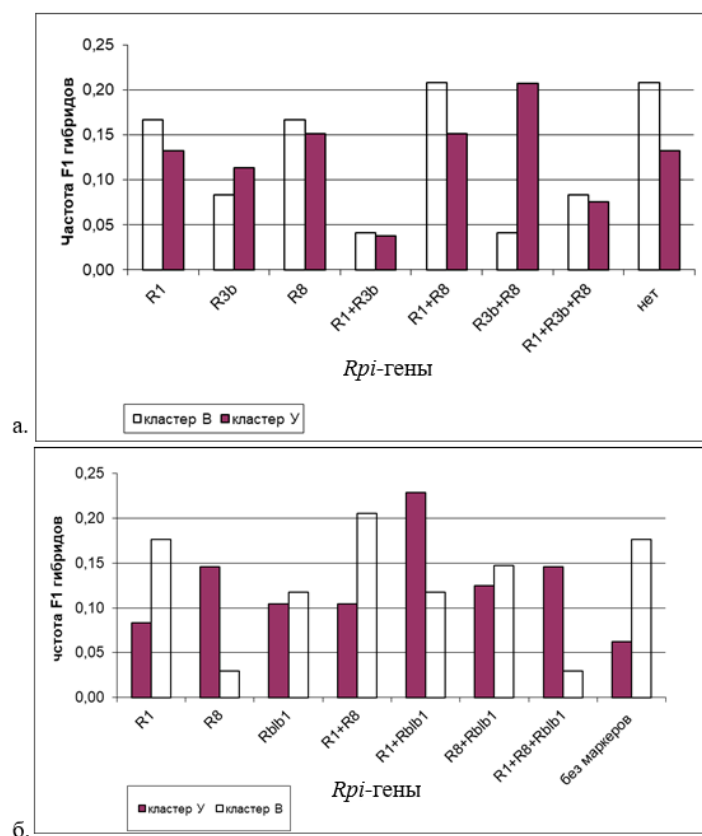


Рис. 7. Частота маркеров *Rpi*-генов у гибридов F_1 из разных кластеров по устойчивости к фитофторе:
а) 'Magellanes' × 171-3, б) 16/27-09 × 8-1-2004
Y – устойчивый, B – восприимчивый

Fig. 7. Frequencies of markers for *Rpi* genes in F_1 hybrids from the clusters differing in late blight resistance:
а) 'Magellanes' × 171-3, б) 16/27-09 × 8-1-2004
Y – resistant, B – susceptible

При сопоставлении данных фитопатологического и молекулярного анализов популяции 16/27-09 × 8-1-2004 выявлена связь между устойчивостью гибридов F_1 к фитофторе и наличием у них одновременно двух маркеров генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* (табл. 5, рис. 8). Связь между устойчивостью гибридов F_1 к фитофторе и наличием маркеров одного из генов (*Rpi-R8* или *Rpi-blb1*) слабая,

коэффициент ассоциации $r=0,10$ и $r=0,19$ соответственно. Связь между устойчивостью гибридов F_1 к фитофторе и наличием у них обоих маркеров генов *Rpi-R8*, *Rpi-blb1* и их комбинации средняя, статистически достоверная: коэффициент ассоциации $r=0,24$, критерий существенности $t_r=2,18 > t_{05}=1,96$.

Таблица 5. Соответствие результатов маркерного и фитопатологического анализов гибридов F_1 16/27-09 × 8-1-2004

Table 5. Correspondence between the results of marker and phytopathological analyses of F_1 hybrids 16/27-09 × 8-1-2004

Маркеры <i>Rpi</i> -генов/ Markers for <i>Rpi</i> genes	Фенотип/ Phenotype		r	Совпадение (%) / Coincidence (%)
	Устойчивый/ Resistant	Восприимчивый/ Susceptible		
Rpi-R1(+)	27	18	0,03	52,4
Rpi-R1(-)	21	16		
Rpi-R8(+)	25	14	0,10	54,8
Rpi-R8(-)	23	20		
Rpi-blb1(+)	29	14	0,19	59,7
Rpi-blb1(-)	19	20		
Rpi-R8 + 1 Rpi-blb1(+)	41	22	0,24	64,6
Rpi-R8 + Rpi-blb1(-)	7	12		

Примечание. (+) и (-) фенотипы, контрастные по молекулярно-генетическим показателям



а.



б.

Рис. 8. Контрастные по устойчивости к фитофторе гибриды F_1 16/27-09 × 8-1-2004 с разным числом маркеров *Rpi*-генов

а) генотип к-47 (R1 + Rblb1 + Rblb2 + R8), б) генотип к-61 (R1)

Дата учета: 7 Августа 2023

Fig. 8. F_1 hybrids 16/27-09 × 8-1-2004 contrasting by late blight resistance and by markers for *Rpi* genes

а) genotype k-47 (R1 + Rblb1 + Rblb2 + R8), б) genotype k-61 (R1)

Observation date: 7 August 2023

Диагностическая эффективность ДНК-маркеров, которая выражается процентным отношением истинных (и положительных, и отрицательных) результатов теста к общему числу полученных результатов (Totsky et al., 2021), для маркеров генов *Rpi-R1*, *Rpi-R8*, *Rpi-blb1* в популяции 16/27-09 × 8-1-2004 составляет 52,4%, 54,8% и 59,7% соответственно. При использовании маркеров двух генов (*Rpi-R8* и *Rpi-blb1*) диагностическая эффективность возрастает до 64,6% (см. табл. 5). Диагностическая ценность, которая выражается процентным отношением устойчивых образцов, выявленных в популяции 16/27-09 × 8-1-2004 с помощью двух маркеров генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1*, к общему числу устойчивых образцов, составляет 85,4%. Полученные данные доказывают целесообразность использования маркеров двух генов: *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* для отбора устойчивых к фитофторе форм среди гибридов 16/27-09 × 8-1-2004.

Обсуждение

Устойчивая к фитофторе материнская форма комбинации 16/27-09 × 8-1-2004 является сложным многовидовым гибридом, в родословной которого есть дикие виды картофеля *S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. polytrichon*, *S. berthaultii*, *S. simplicifolium*, *S. vernei* Bitter & Wittm. и окультуренные виды *S. andigenum*, *S. chilotanum*, *S. phureja* (Rogozina et al., 2021). Гены *Rpi-R1* и *Rpi-R8* в генотипе 16/27-09, очевидно, унаследованы от *S. demissum*. Ортологом гена *Rpi-blb1*, идентифицированного у диплоидного вида *S. bulbocastanum*, является ген *Rpi-stol* тетраплоидного вида *S. stoloniferum*, от которого ген привнесен в генотип 16/27-09. Устойчивая к фитофторозу отцовская форма комбинации ‘Magelanes’ × 171-3 является трехвидовым гибридом, в родословной которого присутствуют виды *S. demissum*, *S. stoloniferum* и *S. andigenum* (Rogozina et al., 2021). Гены *Rpi-R3b* и *Rpi-R8* могут быть унаследованы генотипом 171-3 от *S. demissum*. Интересно, что оба клона – 16/27-09 и 171-3 – были созданы в процессе предселекции на устойчивость к фитофторозу и выделены в потомстве генетически разнообразных родителей, использованных для накапливающих скрещиваний типа: среднеустойчивый × устойчивый. В родословных всех родительских форм был вид *S. demissum*, однако, несмотря на интенсивный отбор в потомстве на устойчивость к фитофторозу, оба отселектированных клона – 16/27-09 и 171-3 – являются симплексами по *Rpi*-генам.

Встречаемость фрагмента *Rpi-blb2*-976, напротив, чрезвычайно высока. Продукт амплификации обнаружен нами при ПЦР-анализе у всех сортов и клонов-родительских форм. Анализ расщепления в популяциях гибридов F_1 указывает на то, что в каждой комбинации скрещивания одна из родительских форм является дуплексом или триплексом по фрагменту *Rpi-blb2*-976. Ранее фрагмент *Rpi-blb2*-976 был обнаружен с высокой частотой у представителей диких видов картофеля из севе-

ро- и южноамериканских серий (Muratova et al., 2020; Rogozina et al., 2023; Enciso-Maldonado et al., 2024). Степень отличия продуктов амплификации от нуклеотидной последовательности гена-прототипа зависела от филогенетической близости видов: ампликоны у североамериканского картофеля *S. cardiophyllum* Lindl. отличались от гена прототипа *S. bulbocastanum* несколькими инсерциями (Rogozina et al., 2023), ампликоны у южноамериканского вида *S. alandiae* – несколькими делециями и SNP (Muratova et al., 2020). Ген *Rpi-blb2* имеет общее эволюционное происхождение с геном *Mi-1.2*, который обеспечивает устойчивость дикого томата *S. peruvianum* к корневым нематодам, тле и белокрылке (Andolfo et al., 2021). Наши результаты указывают на нецелесообразность использования при скрининге гибридных генотипов картофеля праймеров, предложенных для идентификации гена *Rpi-blb2* у диплоидного мексиканского вида картофеля *S. bulbocastanum*.

Устойчивость к возбудителю фитофтороза является одной из важнейших характеристик современного сорта картофеля. Этот признак представляет собой особую сложность для селекционеров, поскольку проявляется в результате взаимодействия генотипа растений с патогеном *P. infestans* в определённых условиях среды (Srivastava et al., 2012; Rogozina et al., 2018; Gopa, 2023). Высокая адаптивная способность возбудителя фитофтороза является причиной потери сортами картофеля устойчивости к заболеванию с течением времени. Так, оценка обширной выборки сортов картофеля (более 600 образцов) в коллекции ВИР на устойчивость к возбудителю фитофтороза в полевых опытах 2020-2023 годов выявила снижение уровня устойчивости многих сортов. Часть образцов с умеренной чувствительностью сместилась в группу чувствительных, в том числе сорт ‘Сударыня’, проявлявший ранее высокую устойчивость (7-8 баллов) к болезни. В 2021-2022 годах поражение ботвы сорта ‘Сударыня’ составляло 4-6 баллов, в 2023 году – 1-4 балла (Zoteyeva et al., 2024).

Появление совместимых изолятов возбудителя *P. infestans*, то есть изменения в структуре популяции возбудителя фитофтороза, является причиной утраты многими сортами признака устойчивости к болезни. Популяция возбудителя фитофтороза, поражающего картофель в опытном поле НПБ «Пушкинские лаборатории ВИР», отличается высоким полиморфизмом, что может быть связано с генетическим разнообразием образцов коллекции картофеля (сортов и видов *Solanum*) и сохранением инфекции в почве в виде ооспор (Chizhik et al., 2024). Изменения в структуре популяции возбудителя могут происходить под влиянием миграции новых клонов, сортосмены, применения фунгицидов и погодных условий (Elansky et al., 2015).

У сорта ‘Сударыня’ выявлено наличие маркеров гена *Rpi-blb1* (Antonova et al., 2018), а при транскриптомном анализе установлена функциональность гена *Rpi-blb1* (Kochetov et al., 2021). Быстрая потеря устойчивости

к фитофторозу у сорта ‘Сударыня’ подтверждает необходимость наличия пирамиды генов в одном генотипе картофеля для обеспечения долговременной защиты от заболевания. Созданные на основе коллекции ВИР клоны межвидовых гибридов, у которых идентифицировано в одном генотипе по несколько маркеров *Rpi*-генов, являются перспективным исходным материалом для селекции. Клон 16/27-09 представляет собой особую ценность, поскольку при его скрещивании с формой неустойчивой к фитофторе более половины потомства наследует признак фитофтороустойчивости. В генотипе 16/27-09 комбинация генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* является уникальной для отечественного селекционного материала. Скрининг сортов и селекционных клонов картофеля из разных учреждений обнаружил редкую встречаемость генотипов с маркерами гена *Rpi-blb1/Rpi-sto1* и не выявил генотипов с маркером гена *Rpi-R8* (Gavrilenko et al., 2018; Shanina et al., 2018; Gadjiyev et al., 2020; Zoteyeva et al., 2022; Koroleva et al., 2024). При скрещивании клона 171-3 со среднеустойчивым к фитофторе сортом чилийского картофеля ‘Magelanes’ также более половины потомства наследуют устойчивость к возбудителю фитофтороза. Однако нам не удалось найти связь между фитофтороустойчивостью гибридов F_1 и наличием маркерных фрагментов генов *Rpi-RI*, *Rpi-R3b* и *Rpi-R8*, что позволяет предположить участие других генов (или аллельных вариантов) в обеспечении устойчивости родительских форм и гибридов ‘Magelanes’ × 171-3 к фитофторе. Полученные нами экспериментальные данные могут служить основой для совершенствования технологии классической селекции картофеля и разработке более точных (эффективных для отбора) ДНК-маркеров.

Заключение

Для выяснения эффективности использования маркеров ДНК в селекции картофеля на устойчивость к фитофторе, сорта, клоны межвидовых гибридов-источники признака фитофтороустойчивости и гибриды F_1 от двух разных типов скрещивания генотипированы с помощью SCAR-маркеров *Rpi*-генов. Результаты генотипирования по маркерам генов *Rpi-RI*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb1*, *Rpi-R8* сопоставлены с устойчивостью сортов и селекционного материала к возбудителю фитофтороза. Впервые проведены сопряженный молекулярно-генетический анализ и фенотипическая оценка двух популяций гибридов F_1 , полученных от разных типов скрещивания, по реакции родительских форм на возбудителя фитофтороза (среднеустойчивый × устойчивый и устойчивый × восприимчивый). Установлена эффективность использования маркеров генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* для отбора устойчивых к фитофторе сегрегантов среди гибридов F_1 16/27-09 × 8-1-2004 (тип скрещивания: устойчивый × восприимчивый). Диагностическая ценность двух маркеров генов *Rpi-R8* и *Rpi-blb1* при отборе в популяции 16/27-09 × 8-1-2004 составляет 85,4%.

References/Литература

- Andolfo G., D’Agostino N., Frusciante L., Ercolano M.R. The tomato interspecific NB-LRR gene arsenal and its impact on breeding strategies. *Genes*. 2021;12(2):184. DOI: 10.3390/genes12020184
- Angmo D., Sharma S.P., Kalia A. Breeding strategies for late blight resistance in potato crop: recent developments. *Molecular Biology Reports*. 2023;50:7879-7891. DOI: 10.1007/s11033-023-08577-0
- Antonova O.Y., Klimenko N.S., Evdokimova Z.Z., Kostina L.I., Gavrilenko T.A. Finding RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1-like sequences in conventionally bred potato varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(6):693-702. DOI: 10.18699/VJ18.412
- Beketova M.P., Chalaya N.A., Zoteyeva N.M., Gurina A.A., Kuznetsova M.A., Armstrong M., Hein I., Drobyazina P.E., Khavkin E.E., Rogozina E.V. Combination breeding and marker-assisted selection to develop late blight resistant potato cultivars. *Agronomy*. 2021;11:2192. DOI: 10.20944/preprints202110.0209.v1
- Berindean I.V., Taoutaou A., Rida S., Ona A.D., Stefan M.F., Costin A., Racz I., Muntean L. Modern breeding strategies and tools for durable late blight resistance in potato. *Plants*. 2024;13:1711. DOI: 10.3390/plants13121711
- Blossei J., Gaebele R., Hammann T., Uptmoor R. Late blight resistance in wild potato species—Resources for future potato (*Solanum tuberosum*) breeding. *Plant Breeding*. 2022;141(3):314-331. DOI: 10.1111/pbr.13023
- Bradshaw J.E. Potato breeding: Theory and practice. Cham: Springer International Publishing; 2021.
- Chen S.H., Borza T., Byun B., Coffin R., Coffin J., Peters R., Wang-Pruski G. DNA Markers for Selection of Late Blight Resistant Potato Breeding Lines. *American Journal of Plant Sciences*. 2017;8:1197-1209. DOI: 10.4236/ajps.2017.86079
- Chizhik V., Kuznetsova M., Rogozina E., Martynov V. Polymorphism of *Avr* Genes in Russian Populations of *Phytophthora infestans*. *Journal of Phytopathology* 2024;172:e13400. DOI: 10.1111/jph.13400
- Elansky S.N., Pobedinskaya M.A., Kokaeva L.Y., Statsyuk N.V., Dyakov Yu.T. *Phytophthora infestans* populations from the European part of Russia: genotypic structure and metalaxyl resistance. *Journal of Plant Pathology*. 2015;97(8):439-447. DOI: 10.4454/JPP.V97I3.020
- Enciso-Maldonado G., Lozoya-Saldaña H., Talavera-Stefani L., Burgos-Cantoni C., Mongelos-Franco Y., Diaz-Garcia G. Detection of homologous resistance genes to the late blight in wild potatoes. *Bonplandia*. 2024;33(2):271-276. DOI: 10.30972/bon.3326434
- Gadjiyev N.M., Lebedeva V.A., Rybakov D.A., Ivanov A.V., Zheltova V.V., Fomina N.A., Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A. On using data from marker-assisted selection of source material and intervarietal hybrids in practical potato breeding. *Agricultural Biology*. 2020;55(5):981-994. DOI: 10.15389/agrobiology.2020.5.981eng
- Gavrilenko T.A., Antonova O.Yu., Shuvalova A.R., Krylova E.A., Alpatyeva N.V., Spooner D.M., Novikova L.Yu. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2013;60(7):1997-2015. DOI: 10.1007/s10722013-9968-1
- Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Antonova O.Yu., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Gadjiyev N.M., Apalikova O.V., Alpatyeva N.V., Kostina L.I., Zoteyeva N.M., Mamadbokirova F.T., Egorova K.V. Molecular screening of potato varieties bred in the northwestern zone of the Russian Federation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1):35-45. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Гаджиев Н.М., Апаликова 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;22(1):35-45). DOI: 10.18699/VJ18.329
- GenBank. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. Available from: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> [accessed Sep. 24, 2024]

- Gopa I J. Status and way-forward in breeding potato (*Solanum tuberosum*) for resistance to late blight. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 2023;93(1):3-10. DOI: 10.56093/ijas.v93i1.119721
- Gurina A.A., Gancheva M.S., Alpatieva N.V., Rogozina E.V. *In silico* search for and analysis of R gene variation in primitive cultivated potato species. *Vavilovskii Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(2):175-184. DOI: 10.18699/vjgb-24-21
- Haesaert G., Vossen J.H., Custers R., De Loose M., Haverkort A., Heremans B., Hutten R., Kessel G., Landschoot S., Van Droogenbroeck B., Visser R.G.F., Gheysen G. Transformation of the potato variety Desiree with single or multiple resistance genes increases resistance to late blight under field conditions. *Crop Protection*. 2015;77:163-175. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.07.018
- Hall T.A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999;41:95-98.
- Ivanov A.I., Ivanova Zh.A., Yakusheva O.I., Filippov P.A. Potato responsiveness to fertilizers and crop losses from late blight in the North-West of Russia. *Potato and vegetables*. 2019;8:23-26. [in Russian] (Иванов А.И., Иванова Ж.А., Якушева О.И., Филиппов П.А. Отзывчивость картофеля на удобрение и потери урожая от фитофтороза в условиях Северо-Запада России. *Картофель и овощи*. 2019;8:23-26). DOI: 10.25630/PAV.2019.49.66.001
- Islam S., Li J., Rahman M.A., Xie F., Song B., Nie B. Resistance to biotic and abiotic stress in potato: the origin of the genes and corresponding molecular markers. *Phytopathology Research*. 2024;6(4). DOI: 10.1186/s42483-023-00222-9
- Kiru S.D., Kostina L.I., Truskinov E.V., Zoteyeva N.M., Rogozina E.V., Koroleva L.V., Fomina V.E., Palekha S.V., Kosareva O.S., Kirilov D.A. (comp.). Guidelines for the maintenance and study of the world potato collection (Metodicheskiye ukazaniya po podderzhaniyu i izucheniyu mirovoy kollektsii kartofelya). S.D. Kiru (ed.). St. Petersburg: VIR; 2010. [in Russian] (Методические указания по поддержанию и изучению мировой коллекции картофеля / сост.: С.Д. Киру, Л.И. Костина, Э.В. Трускинов, Н.М. Зотеева, Е.В. Рогозина, Л.В. Королева, В.Е. Фомина, С.В. Палеха, О.С. Косарева, Д.А. Кирилов; под ред. С.Д. Киру. Санкт-Петербург: ВИР. 2010).
- Khavkin E.E. Plant-pathogen molecular dialogue: evolution, mechanisms and agricultural implementation. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2021;68:197-211. DOI: 10.1134/S1021443721020072
- Kochetov A.V., Afonnikov D.A., Shmakov N., Vasiliev G.V., Antonova O.Y., Shatskaya N.V., Glagoleva A.Y., Ibragimova S.M., Khiutti A., Afanasenko O.S., Gavrilenko T.A. NLR genes related transcript sets in potato cultivars bearing genetic material of wild Mexican *Solanum* species. *Agronomy*. 2021;11:2426. DOI: 10.3390/agronomy11122426
- Koroleva A.K., Derevyagina M.K., Biryukova V.A., Polivanova O.B., Kazakov O.G. Resistance assessment of promising colored potato hybrids to late blight. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024;24(03):319-337. [in Russian] (Королева А.К., Деревягина М.К., Бирюкова В.А., Поливанова О.Б., Казаков О.Г. Оценка устойчивости перспективных гибридов цветного картофеля к фитофторозу // *Аграрный вестник Урала*. 2024;24(03):319-337). DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-03-319-337
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 2016;33(7):1870-1874. DOI: 10.1093/molbev/msw054
- Muratova O.A., Beketova M.P., Kuznetsova M.A., Rogozina E.V., Khavkin E.E. South American species *Solanum alandiae* Card. and *S. okadae* Hawkes et Hjerting as potential sources of genes for potato late blight resistance. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(1):73-83. [in Russian] (Муратова О.А., Бекетова М.П., Кузнецова М.А., Рогозина Е.В., Хавкин Э.Е. Южноамериканские виды *Solanum alandiae* Card. и *S. okadae* Hawkes et Hjerting как потенциальные источники генов устойчивости к фитофторозу картофеля. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(1):73-83). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-73-83
- Paluchowska P., Sliwka J., Yin Z. Late blight resistance genes in potato breeding. *Planta*. 2022;255:127. DOI: 10.1007/s00425-022-03910-6
- 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;25:910-919. DOI: 10.1094/mpmi-01-12-0010-r
- Rogozina E.V., Khavkin E.E. Interspecific potato hybrids as donors of durable resistance to pathogens. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):30-41. [in Russian] (Рогозина Е.В., Хавкин Э.Е. Межвидовые гибриды картофеля как доноры долговременной устойчивости к патогенам. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):30-41). DOI: 10.18699/VJ17.221
- Rogozina E.V., Beketova M.P., Muratova O.A., Kuznetsova M.A., Khavkin E.E. Stacking resistance genes in multiparental interspecific potato hybrids to anticipate late blight outbreaks. *Agronomy*. 2021;11:1-31. DOI: 10.3390/agronomy11010115
- Rogozina E.V., Chalaya N.A., Kuznetsova M.A., Demidova V.N., Rogozin A.N., Smetanina T.I., Beketova M.P., Fadina O.A., Khavkin E.E. Late blight resistant potato hybrid clones in the VIR collection of plant genetic resources. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(3):278-292. [in Russian] (Рогозина Е.В., Чалая Н.А., Кузнецова М.А., Демидова В.Н., Рогожин А.Н., Сметанина Т.И., Бекетова М.П., Факина О.А., Хавкин Э.Е. Устойчивые к фитофторозу гибридные клоны картофеля в коллекции генетических ресурсов растений ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(3):278-292). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-3-278-292
- Rogozina E.V., Gurina A.A., Chalaya N.A., Zoteyeva N.M., Kuznetsova M.A., Beketova M.P., Muratova O.A., Sokolova E.A., Drobayazina P.E., Khavkin E.E. Diversity of late blight resistance genes in the VIR potato collection. *Plants*. 2023;12(2):273. DOI: 10.3390/plants12020273
- Rodewald J., Trognitz B. *Solanum* resistance genes against *Phytophthora infestans* and their corresponding avirulence genes. *Molecular Plant Pathology* 2013;14(7):740-757. DOI: 10.1111/mpp.12036
- Savary S., Willocquet L., Pethybridge S.J., Esker P., McRoberts N., Nelson A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology and Evolution*. 2019;3(3):430-439. DOI: 10.1038/s41559-018-0793-y
- Shanina E.P., Sergeeva L.B., Stafeyeva M.A. Klyukina E.M. Use of DNA markers to examine the source breeding material of potato. *Achievements of science and technology of AIC*. 2018;32(12):47-49. [in Russian] (Шанина Е.П., Сергеева Л.Б., Стафеева М.А., Клюкина Е.М. Применение ДНК-маркеров для оценки исходного селекционного материала картофеля. *Достижения науки и техники АПК*. 2018;32(12):47-49). DOI: 10.24411/0235-2451-2018-11213
- Simakov E.A., Anisimov B.V., Zhevora V., Mityushkin A.V., Zhuravlev A.A., Mityushkin A.V., Gajzatulin A.S. Current trends and the development of potato breeding and seed production in Russia. *Potato and vegetables*. 2020;12:22-26. [in Russian] (Симаков Е.А., Анисимов Б.В., Жевора В., Митюшкин А.В., Журавлев А.А., Митюшкин А.В., Гайзатулин А.С. Актуальные направления развития селекции и семеноводства картофеля в России. *Картофель и овощи*. 2020;12:22-26). DOI: 10.25630/PAV.2020.49.70.005
- Simakov E.A., Zharova V.A., Mityushkin A.V., Biryukova V.A., Rogozina E.V., Kiru S.D. The use of genetic resources to increase the efficiency of potato breeding. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2017;178(2):113-121. [in Russian] (Симаков Е.А., Жарова В.А., Бирюкова В.А., Рогозина Е.В., Киру С.Д. Использование генетических ресурсов картофеля для повышения эффективности селекции. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(2):113-121). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-2-113-121
- Sokolova E.A., Pankin A.A., Beketova M.P., Kuznetsova M.A., Spiglazova S.Yu., Rogozina E.V., Yashina I.M., Khavkin E.E.

- SCAR markers of the *R*-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant genetic resources*. 2011;9:309-312. [in Russian] (Соколова Е.А., Панкин А.А., Бекетова М.П. SCAR-маркеры *R*-генов и зародышевой плазмы дикорастущих видов *Solanum* для выведения устойчивых к фитофторозу сортов картофеля. *Генетические ресурсы растений*. 2011;9:309-312). DOI: 10.1017/s1479262111000347
- Srivastava A.K., Kumar V., Joseph T.A., Sharma S., Bag T.K., Singh B.P. Screening potato germplasm for stable resistance against late blight (*Phytophthora infestans*). *Potato Journal*. 2012;39(2):177-184.
- StatSoft Russia. Available from: <http://statsoft.ru> [accessed Sep. 24, 2024]
- Totsky I.V., Rozanova I.V., Safonova A.D., Batov A.S., Gureeva Yu.A., Khlestkina E.K., Kochetov A.V. Genotyping of potato samples from the GenAgro ICG SB RAS collection using DNA markers of genes conferring resistance to phytopathogens. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(6):677-686. DOI: 10.18699/VJ21.077
- van der Vossen E.A.G., Gros J., Sikkema A., Muskens M., Wouters D., Wolters P., Pereira A., Allefs S. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *Plant Journal*. 2005;44:208-222. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x
- Vossen J.H., van Arkel G., Bergervoet M., Jo K.-R., Jacobsen E., Visser R.G.F. The *Solanum demissum* *R8* late blight resistance gene is an Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. *Theoretical and Applied Genetics*. 2016;129:1785-1796. DOI: 10.1007/s00122-016-2740-0
- Wang M., Allefs S., van den Berg R.G., Vleeshouwers V., van der Vossen E.A.G., Vosman B., Allele mining in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2008;116:933-943. DOI: 10.1007/s00122-008-0725-3
- Zoteeva N.M., Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Gavrilenko T.A. Markers of genes for resistance to late blight, potato virus *Y* and potato cyst nematode identified in advanced interspecific potato hybrids. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(1):5-16. [in Russian] (Зотеева Н.М., Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Гавриленко Т.А. Маркеры генов устойчивости к фитофторозу, *Y* вирусу картофеля и золотистой картофельной нематоде у перспективных клонов межвидовых гибридов картофеля. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(1):5-16). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-01
- Zoteeva N.M., Kosareva O.S., Rogozina E.V., Chalaya N.A. Resistance of potato cultivars and hybrid clones from the VIR collection to the northwestern population of *Phytophthora infestans*. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2024;185(2):201-209. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-2-201-209
- Yashina I.M., Sklyarova I.P. Genetics of polyploid potato species (Genetika poliploidnykh vidov kartofelya). In: *Potato genetics (Genetika kartofelya)*. Moscow: Nauka; 1973. p.82-103. [in Russian] (Яшина И.М., Склярова И.П. Генетика полиплоидных видов картофеля. В кн.: *Генетика картофеля*. Москва: Наука; 1973. С.82-103).

Информация об авторах

Екатерина Алексеевна Иванова, ведущий специалист, отдел генетических ресурсов картофеля, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, zavarihinakat@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-0049-8781>

Наталья Владимировна Алпатьева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, отдел генетики, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, alpatievanatalia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Елена Вячеславовна Рогозина, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел генетических ресурсов картофеля, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, rogozinaelena@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2743-068x>

Information about the authors

Ekaterina A. Ivanova, Leading Researcher, Department of Potato Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, zavarihinakat@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-0049-8781>

Natalia V. Alpatieva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Genetics, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, alpatievanatalia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Elena V. Rogozina, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Potato Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, rogozinaelena@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2743-068x>

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 13.01.2025; одобрена после рецензирования 05.03.2025; принята к публикации 19.03.2025.

The article was submitted on 13.01.2025; approved after reviewing on 05.03.2025; accepted for publication on 19.03.2025.