

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-4-102-16-22>

Полнотекстовая статья

**ПИРАМИДИРОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАТОГЕНАМ В КОМБИНАЦИИ
СКРЕЩИВАНИЯ МЕКСИКАНСКОГО ВИДА КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM NEOANTIPROVICZII*
С СЕЯНЦЕМ СОРТА ‘АВРОРА’**

Н.М. Зотеева^{1*}, Н.С. Клименко¹, А.В. Хютти²

¹ *Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург,*

² *Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург*

** ответственный за переписку, e-mail: zoteyeva@rambler.ru*

Изучали растения из гибридной популяции, полученной от скрещивания образца мексиканского вида *Solanum neoantiproviczii*, сочетающего высокую устойчивость к фитофторозу (ген *R2-like*) и вирусу картофеля Y (YBK) (ген *Ry_{sto}*), с сеянцем сорта Аврора с идентифицированными маркерами генов устойчивости к нематоде патогена Ro1 (ген *HI*) и фитофторозу (ген *RI*). На примере данной комбинации скрещивания показана возможность пирамидирования

генов устойчивости к вредным организмам при подборе компонентов скрещиваний, дополняющих друг друга по детектированным маркерам генов устойчивости. В популяции полученного гибрида у половины растений детектированы 4 маркера генов: устойчивости к *Phytophthora infestans*, YBK и нематод; из них два диагностируют устойчивость к фитофторозу. В тестах искусственного заражения двумя изолятами *P. infestans* с использованием разных концентраций инокулюма оценена устойчивость растений из данной популяции. С использованием крайне высокой концентрации инокулюма растения с детектированными маркерами двух генов устойчивости к фитофторозу проявили высокую устойчивость, сопровождаемую реакцией сверхчувствительности. В данной работе на оригинальном гибридном материале продемонстрирована возможность создания генотипов растений картофеля с кассетами генов через интрогрессивную гибридизацию с использованием ДНК-маркеров.

Ключевые слова: *Solanum* spp., маркеры генов устойчивости, фитофтороз, вирус картофеля Y, нематода

Поступила в редакцию: 21.07.2019

Принята к печати: 02.12.2019

Введение

Несмотря на согласованность повсеместно проводимых исследований, фитофтороз картофеля, возбудителем которого является *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, по-прежнему остается одной из наиболее экономически значимых болезней этой культуры. При этом общая стоимость усилий по борьбе с патогеном и потери урожая во всем мире оцениваются более чем в 3 миллиарда долларов США в год (Fry, 2008). Большую роль в решении проблемы играет исходный растительный материал, используемый при создании фитофтороустойчивых сортов.

Известно, что дикие виды рода *Solanum* L. являются источниками высокой устойчивости к болезням и вредителям культуры. До середины XX века селекция сортов с устойчивостью к разным патогенам велась классическим способом – отбором родительских клонов в фитопатологических тестах. Начиная с 80-х гг. для отбора растений с желаемыми признаками начали применять маркер-опосредованную селекцию (MAS). В начале 90-х гг. в практической селекции она зарекомендовала себя как эффективный инструмент для выявления растений с желаемыми признаками. В исследованиях по картофелю, где используются классические стратегии клонирования на основе картирования, доминантные гены устойчивости (*R*-гены) были выделены из диких видов *Solanum*, которые имеют расо-специфические гены устойчивости, и прежде всего, из *Solanum demissum* Lindl. Первые гены *Rpi* устойчивости

к фитофторозу *R1* – *R4* были описаны еще в 1953 году (Black et al., 1953). Гены *R1*, *R2*, *R3*, *R4* и *R10* от *S. demissum* были интрогрессированы в культурный картофель (van der Lee et al., 2001; van der Vossen et al., 2005), но были быстро преодолены в полевых условиях (Тохорейс, 1956).

С 2000-х гг. открытие новых генов *Rpi*, явившееся результатом многих исследований, достигло большого прогресса. Идентифицирован целый ряд генов устойчивости к *P. infestans*, в том числе, их спектр из *S. bulbocastanum* Dun. - RB (Ballvora et al., 2002; Huang et al., 2005; Li et al., 2011; Lokossou et al., 2009; Song et al., 2003; van der Vossen et al., 2005, Wang et al., 2008).

Большой ущерб урожаю картофеля наносят также золотистая картофельная нематода (ЗКН), и Y вирус картофеля (YBK). Устойчивость к нематоде является одной из наиболее важных характеристик сортов картофеля. YBK также является очень серьезной проблемой в большинстве стран-производителей семенного картофеля. Инфицирование YBK является проблемой как для семеноводов, так и для коммерческих производителей. Устойчивые сорта часто снижают концентрацию вируса в растениях, ограничивают системное распространение вируса в полевых условиях, развивают некротический ответ (гибель клеток), который убивает инфицированные ткани растения. Штамм PVY^{NTN} вызывает крупные некротические кольца на клубнях картофеля (Le Romancer et al., 1994).

Материал и методы

Материалом для исследований служили сеянцы из гибридной популяции, полученной от скрещивания образца *S. neoantipoviczii* ВИР к-8505 (материнская форма) с сеянцем сорта 'Аврора' (опылитель).

Сеянцы оценивали в фитопатологическом тесте заражения отделенных долей листьев с использованием двух разных изолятов *P. infestans* с генами вирулентности 1.3.4.6.7.10.11. и 1.2.3.4.6.7.10.11., выделенных из местной популяции патогена (экспериментальное поле ВИР, г. Пушкин) в 2016. Применяли две разные концентрации инокулюма – 20000 и 75000 зооспор/мкл. Симптомы болезни учитывали по шкале от 9 до 1, где балл 9 означает отсутствие симптомов, а балл 1 – полностью пораженное растение (Zarzycka, 2001). Устойчивыми считали растения, оцениваемые баллами от 9 до 6. Балл 5 означает

умеренную чувствительность. В качестве устойчивого контроля использовали сорт Алуэт и клон 2018-nz14, неустойчивого – сорт Дезире.

Генотипирование осуществляли методом ПЦР-анализа с использованием маркеров генов устойчивости к фитофторозу (*R1*, *R3a* и *R2-like*), вирусу Y картофеля (*Ry_{sto}*) и к золотистой картофельной нематоды патотипа Ro1(*H1*) (табл. 1). ПЦР проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 10 нг тотальной ДНК, 1½ реакционный буфер («Диалат Лтд», Россия), 2.5 мМ MgCl₂, 0.4 мМ каждого из dNTPs, по 0.2 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Taq ДНК-полимеразы («Диалат Лтд», Россия). Реакцию осуществляли в амплификаторе Mastercycler® Nexus Gradient («Eppendorf», Германия) при температурах отжига, соответствующих указанным в литературе.

Таблица 1. Использованные в работе маркеры генов устойчивости

Ген	Хромосома	Маркер	T° m	Последовательности праймеров	Размер диагностического фрагмента (п.о.)	Литературный источник
Устойчивость к фитофторозу						
<i>R1</i>	V	R1-1205	65	F: CACTCGTGACATATCCTCACTA R: GTAGTACCTATCTTATTTCTGCAAGAAT	1205	Sokolova et al., 2011
<i>R3a</i>	XI	RT-R3a	56	F: ATCGTTGTCATGCTATGAGATTGTT R: CTTCAAGGTAGTGGGCAGTATGCTT	982	Huang et al., 2005
<i>R2-like</i>	IV	R2area 1F/2R	60	F: AAGATCAAGTGGTAAAGGCTGATG R: ATCTTTCTAGCTTCCAAAGATCACG	1137	Lenman et al., 2016
Устойчивость к Y-вирусу картофеля						
<i>Ry_{sto}</i>	XII	YES3-3A	55	F: TAACTCAAGCGGAATAACCC R: AATTCACCTGTTTACATGCTTCTTG TG	341	Song, Schwarzfischer, 2008
Устойчивость к <i>Globodera rostochiensis</i>						
<i>H1</i>	V	57 R	60	F: TGCCTGCCTCTCCGATTTCT R: GGTTCAAGCAAAAAGCAAGGACGTG	450	Finkers-Tomczak et al., 2011; Schultz et al., 2012

Результаты

Задачей данной работы было получение растений картофеля с несколькими маркерами генов (пирамид генов), отвечающих за устойчивость к наиболее вредоносным патогенам картофеля. С этой целью получен гибрид между образцом мексиканского вида *S. neoantipoviczii* и сеянцем сорта 'Аврора'. В проведенных ранее исследованиях у материнского образца найдена высокая устойчивость к фитофторозу и трем штаммам (PVY⁰, PVY^{NWI} и PVY^{NTN}) Y вируса картофеля (YBK) (Zoteyeva et al., 2012), а также обнаружен ген *Ry_{sto}* устойчивости к YBK (Zoteyeva et al., 2014). Популяция сорта 'Аврора' в ПЦР тесте расщеплялась по наличию маркерного компонента гена *R1* устойчивости к фитофторозу в соотношении 13 (с аллелем устойчивости) к 7-ми (без такового) (Зотеева, неопубликованные данные). По литературным данным сорт 'Аврора' обладает устойчивостью к нематоде патотипа Ro1, обусловленной наличием маркера гена *H1* (Бирюкова и др., 2015). При оценке в двух фитопатологических тестах с использованием агрессивного изолята фитофторы с генами вирулентности 1.3.4.6.7.10.11., выделенного из местной популяции *P. infestans* (экспериментальное поле ВИР, г. Пушкин), и концентрации инокулюма 20000 зооспор/μl, гибридная популяция расщеплялась в соотношении 20 устойчивых : 6 умеренно чувствительных растений. Поражение листьев неустойчивого сорта Дезире, использованного в качестве чувствительного контроля, оценивали средним баллом 2.6 (рис.1).

Генотипировали 26 сеянцев из популяции гибрида *S. neoantipoviczii* × сеянец сорта 'Аврора' по наличию маркеров генов *R1* и *R2-like* устойчивости к фитофторозу, гена *Ry_{sto}* – к Y вирусу картофеля и гена *H1* устойчивости к нематоде патотипа Ro1. Результаты ПЦР анализа показали, что у всех из них присутствовали маркерные компоненты генов *R2-like*, *Ry_{sto}* и *H1* и отсутствовали маркеры гена *R3a*. Маркер гена *R1* детектирован у 13-ти сеянцев. Таким образом, у 13-ти растений детектированы четыре маркера генов устойчивости к патогенам, из них два диагностируют устойчивость к фитофторозу (табл. 2).

В изучение устойчивости к фитофторозу гибридных клонов различного происхождения в 2018 г. были включены клоны гибрида *S. neoantipoviczii* × 'Аврора', проявившие высокую устойчивость в предыдущем опыте. Для

Таблица 2. Наличие маркерных компонентов генов устойчивости к патогенам у растений из популяции гибрида *Solanum neoantipoviczii* × сеянец сорта 'Аврора'

Код клона	<i>R1</i>	<i>R3a</i>	<i>R2-like</i>	<i>Ry_{sto}</i>	<i>H1</i>	Устойчивость к <i>P. infestans</i> , балл
NZ-nAU-1	1*	0	1	1	1	7
NZ-nAU-2	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-3	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-4	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-5	0	0	1	1	1	5
NZ-nAU-6	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-7	1	0	1	1	1	9
NZ-nAU-8	1	0	1	1	1	6
NZ-nAU-9	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-10	1	0	1	1	1	6
NZ-nAU-11	1	0	1	1	1	5
NZ-nAU-12	0	0	1	1	1	5
NZ-nAU-13	1	0	1	1	1	5
NZ-nAU-14	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-15	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-16	0	0	1	1	1	6
NZ-nAU-17	1	0	1	1	1	7
NZ-nAU-18	1	0	1	1	1	5
NZ-nAU-19	1	0	1	1	1	5
NZ-nAU-20	0	0	1	1	1	7
NZ-nAU-21	1	0	1	1	1	6
NZ-nAU-22	1	0	1	1	1	9
NZ-nAU-23	0	0	1	1	1	7
NZ-nAU-24	1	0	1	1	1	9
NZ-nAU-26	1	0	1	1	1	6
NZ-nAU-28	0	0	1	1	1	6
Сорт Алузэ	н.д.**	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	9
Клон 2018-nz14	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	8
Сорт Дезире	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	2.6

*) 1= наличие маркерных компонентов генов;

***) = нет данных.

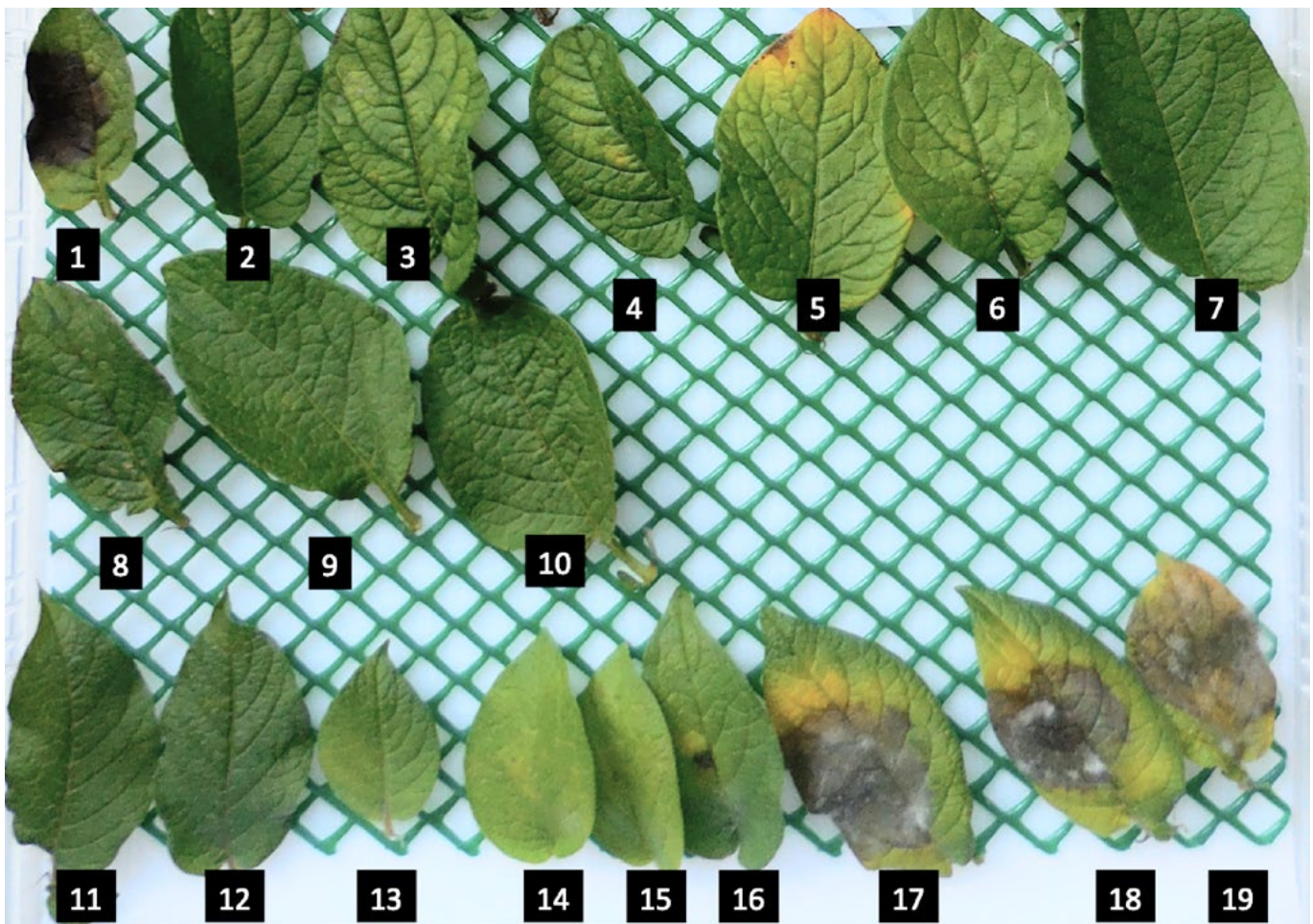


Рисунок 1. Два верхних ряда (слева направо) – одна отделенная доля листа с симптомами болезни сеянца NZ-nAU-5 и по три отделенных доли листьев трех высоко устойчивых сеянцев NZ-nAU-7, 22 и 24 без симптомов болезни. Нижний ряд: по три доли листьев контрольных образцов - сорт Алуэт и клон 2018-nz14 (устойчивые), сорт Дориза (чувствительный)

заражения использовали изолят с генами вирулентности 1.2.3.4.6.7.10.11. Концентрация инокулюма составила 75000 зооспор/μл. На 7-е сутки после заражения на листьях

этих клонов симптомы болезни отсутствовали (балл 9), отмечено наличие реакции сверхчувствительности.

Обсуждение

Виды рода *Solanum*, являющиеся незаменимыми в качестве источников высокой и длительной устойчивости к различным патогенам, уже входят в родословные многих сортов. Различные природные условия мест обитания диких видов картофеля и сопряженная эволюция на их родине – в районах распространения различных патогенов, привели к долговременной селекции высоко устойчивых форм. Многие центрально-американские виды картофеля, в том числе *S. neoantipovicii*, произрастают в Мексике, где популяции *P. infestans* характеризуются наиболее богатым генетическим разнообразием.

Изоляты *P. infestans*, собранные до миграции рас фитогоры из Мексики, генетически очень похожи (Drenth et al., 1993; Fry et al., 1992). В отличие от периода, когда в популяциях регистрировали только тип совместимости A1 и размножение *P. infestans* осуществлялось вегетативным путем, появление типа совместимости A2 привело к полному воспроизводству *P. infestans*. В связи с этим возникла и продолжает существовать сложная расовая структура большинства популяций патогена (Rauscher et al., 2006), что ограничивает эффективность от внедрения одиночных генов расоспецифической устойчивости. Тем не менее,

наличие в генотипах большего числа таких генов способствует более высокой устойчивости растений (Stewart et al., 2003; Montarry et al., 2010). В настоящее время основной стратегией является поиск и интегрирование набора генов, которые обеспечивают устойчивость к широкому спектру рас патогена (Park et al., 2009a, b; Zhu et al., 2012), в частности *Rpi*-генов с аллелями RB (Park et al., 2005; Song et al., 2003; van der Vossen et al., 2005).

Современные требования к сортам картофеля предусматривают комплексную и групповую устойчивость к патогенам. Устойчивость к нематоду в РФ не является обязательной для внесения сорта в Госреестр, однако конкурентоспособность сортов картофеля в современных условиях связана в первую очередь с устойчивостью к ЗКН (Хютти и др., 2017). Крайне желаемым признаком для вновь выводимых сортов является также устойчивость к УВК, особенно к его некротическому штамму, уже много лет представляющему угрозу урожаю картофеля в странах Европы. Гибриды различного происхождения, созданные с участием *S. neoantipovicii*, проявляют повышенную устойчивость к фитофторозу (Zoteyeva, 2012), и обладают фертильной пыльцой у них отмечено присутствие маркера

гена Ry_{sto} (Zoteyeva et al., 2014, 2017). Такие гибриды могут быть использованы при создании сортов картофеля с комплексной устойчивостью к фитофторозу и УВК.

При заражении подавляющего большинства клонов с двумя генами устойчивости к фитофторозу изолятом *P. infestans* с 8 генами вирулентности и с использованием крайне высокой концентрации инокулюма (75000 зооспор/мл) симптомы болезни отсутствовали.

Однако, несмотря на наличие нескольких генов устойчивости к фитофторозу у сеянцев, отдельные из них проявляли умеренную чувствительность. Механизмы, лежащие в основе защитных реакций растений против *P. infestans*, например, уровень экспрессии генов и др., еще

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме №0662-2019-0004_2019 «Скрининг генофонда основных сельскохозяйственных культур по устойчивости к болезням и вредителям с использованием современных лабораторных методов, изучение эффективности источников устойчивости к вредным организмам», номер государственной регистрации ЕГИСУ НИОКР АААА–А16–116040710361–8) и при поддержке гранта РФФИ № 16-16-04125.

Библиографический список (References)

- Бирюкова ВА, Шмыгля ИВ, Абросимова СБ, Запекина ТИ, Мелешин АА и др (2015) Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ с использованием молекулярных маркеров. *Защита картофеля* 1:3–7
- Зотеева НМ, Антонова ОЮ, Клименко НС, Апаликова ОВ, Carlson-Nilsson U и др (2017) Использование молекулярных маркеров *R* генов и типов цитоплазмы при интрогрессивной гибридизации диких полиплоидных мексиканских видов картофеля. *Сельскохозяйственная биология* 52:964–975. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.964rus>
- Хютти АВ, Антонова ОЮ, Мироненко НВ, Гавриленко ТА, Афанасенко ОС (2017) Устойчивость картофеля к карантинным болезням. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 21(1):51–61. [http://doi.org/doi 10.18699/VJ17.223rus](http://doi.org/doi%2010.18699/VJ17.223rus)
- Ballvora A, Ercolano MR, Weiß J, Meksem K, Bormann CA et al (2002) The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. *Plant J* 30:361–371
- Black W, Mastenbroek C, Mills WR, Peterson LC (1953) A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* 2:173–179
- Drenth A, Goodwin SB, Fry WE, Davidse LC (1993) Genotypic diversity of *Phytophthora infestans* in The Netherlands revealed by DNA polymorphisms. *Phytopathol* 83:1087–1092
- Finkers-Tomczak A, Bakker E, de Boer J, van der Vossen E, Achenbach U et al (2011) Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus *H1* reveals a major lack of co-linearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.). *Theor Appl Genet* 122(3):595–608. <http://doi.org/10.1007/s00122-010-1472-9>
- Fry W (2008) *Phytophthora infestans*: the plant (and *R* gene) destroyer. *Mol Plant Pathol* 9:385–402. doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x
- Fry WE, Goodwin SB, Matuszak JM, Spielman LJ, Milgroom MG et al (1992) Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Annu Rev Phytopathol* 30:107–129
- Huang S, van der Vossen EA, Kuang H, Vleeshouwers VG, Zhang N et al (2005) Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. *Plant J* 42:251–261. <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02365.x>
- Le Romancer M, Kerlan M, Nedellec M (1994) Biological characterization of various geographical isolates of potato virus Y including superficial necrosis on potato tubers. *Plant Pathol* 43:138–144
- Lenman M, Ali A, Muhlenbock P, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E et al (2016) Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015. *Theoretical and Applied Genetics* 129(1):105–115 <http://doi.org/10.1007/s00122-015-2613-y>
- Li G, Huang S, Guo X, Li Y, Yang Y et al (2011) Cloning and characterization of *R3b*; members of the *R3* superfamily of late blight resistance genes show sequence and functional divergence. *Mol Plant Microbe Interact* 24:1132–1142. <http://doi.org/10.1094/MPMI-11-10-0276>
- Lokossou AA, Park TH, van Arkel G, Arens M, Ruyter-Spira C et al (2009) Exploiting knowledge of *R/Avr* genes to rapidly clone a new LZ-NBS-LRR family of late blight resistance genes from potato linkage group IV. *Mol Plant Microbe Interact* 22:630–641. <http://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0630>
- Montarry J, Hamelin FM, Glais I, Corbière R, Andrivon D (2010) Fitness costs associated with unnecessary virulence factors and life history traits: evolutionary insights from the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *BMC Evol Biol* 10:283. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-283>
- Park TH, Gros J, Sikkema A, Vleeshouwers VGA, Muskens M et al (2005) The late blight resistance locus *Rpi-blb3* from *Solanum bulbocastanum* belongs to a major late blight *R* gene cluster on chromosome 4 of potato. *Mol Plant-Microbe Interact* 18:722–729. <http://doi.org/10.1094/MPMI-18-0722>

- Park TH, Foster S, Brigneti G, Jones JDG (2009a) Two distinct potato late blight resistance genes from *Solanum berthaultii* are located on chromosome 10. *Euphytica* 165:269–278. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9784-4>
- Park TH, Vleeshouwers VGA, Jacobsen E, van der Vossen E, Visser RGF (2009b) Molecular breeding for resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potato (*Solanum tuberosum* L.): a perspective of cisgenesis. *Plant Breed* 128:109–117. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01619.x>
- Rauscher GM, Smart CD, Simko I, Bonierbale M, Mayton H et al (2006) Characterization and mapping of *RPi-ber*, a novel potato late blight resistance gene from *Solanum berthaultii*. *Theor Appl Genet* 112:674–687. <http://doi.org/10.1007/s00122-005-0171-4>
- Schultz L, Cogan NOI, McLean K, Dale MFB, Bryan GJ et al (2012) Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for H1-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Breeding* 131:315–321. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01949.x>
- Sokolova E, Pankin A, Beketova M, Kuznetsova M, Spiglazova S et al (2011) SCAR markers of the R-genes and germplasm of wild Solanum species for breeding late blight-resistant potato cultivars. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 9(2):309–312. <http://doi.org/10.1017/S1479262111000347>
- Song YS, Schwarzfischer A (2008) Development of STS markers for selection of extreme resistance (Rysto) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. *American Journal of Potato Research* 85:159–170. <http://doi.org/10.1007/s12230-008-9012-8>
- Song J, Bradeen JM, Naess SK, Raasch JA, Wielgus SM et al (2003) Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:9128–9133. <https://doi.org/10.1073/pnas.1533501100>
- Stewart HE, Bradshaw JE, Pande B (2003) The effect of the presence of R-genes for resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) of potato (*Solanum tuberosum*) on the underlying level of field resistance. *Plant Pathol* 52:193–198 <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00811.x>
- Toxopeus H J (1956) Reflections on the origin of new physiologic races in *Phytophthora infestans* and the breeding for resistance in potatoes. *Euphytica* 5:221–237
- van der Lee T, Testa A, van't Klooster J, van den Berg-Velthuis G, Govers F (2001) Chromosomal deletion in isolates of *Phytophthora infestans* correlates with virulence on *R3*, *R10*, and *R11* potato lines. *Mol Plant–Microbe Interact* 14:1444–1452. <http://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.12.1444>
- van der Vossen EAG, Gros J, Sikkema A, Muskens M, Wouters D et al (2005) The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. *Plant J* 44:208–222. <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x>
- Wang M, Allefs S, van der Berg R, Vleeshouwers VGAA, van der Vossen EAG et al (2008) Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics* 116:933–943. <http://doi.org/10.1007/s00122-008-0725-3>
- Zhu S, Li Y, Vossen J, Visser RF, Jacobsen E (2012) Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Research* 21:89–99. <http://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
- Zarzycka H (2001) Evaluation of resistance to *Phytophthora infestans* in detached leaflet assay. *Monografie i Rozprawy Naukowe* 10b Radzików - IHAR: 75–77
- Zoteyeva N, Mezaka I, Vilcâne D, Carlson - Nilsson U, Skrabule I et al (2014) Assessment of genes *R1* and *R3* conferring resistance to late blight and of gene *Rysto* conferring resistance to potato virus Y in two wild species accessions and their hybrid progenies. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B* 68(3/4):133–141. <http://doi.org/10.2478/prolas-2014-0015>
- Zoteyeva NM (2012) Assessment of foliar and tuber resistance in *Solanum neoantipoviczii* Buk. × *S. phureja* Juz. et Buk. hybrid populations using different isolates of *Phytophthora infestans*. *PPO -Special Report* no15:173–178
- Zoteyeva NM, Chranowska M, Flis B, Zimnoch-Guzowska E (2012) Resistance to Pathogens of the Potato Accessions from the Collection of N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *Am J Pot Res* 89:277–293. <http://doi.org/10.1007/s12230-012-9252-5>

Translation of Russian References

- Khiutti AV, Antonova OYu, Mirinenko NV, Gavrilenko TA, Afanasenko OS (2017) Ustoychivost kartofelya k karantinnyim boleznyam [Resistance of potato to quarantine diseases]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* 21(1):51–61. <http://doi.org/10.18699/VJ17.223> (in Russian)
- Biryukova VA, Zhuravlev AA, Abrosimova SB, Kostina LI, Hromova LM et al. (2015) Poisk istochnikov genov ustoychivosti k patogenam sredi obraztsov selektsionno-geneticheskikh kollektiy VNIKH s ispolzovaniem molekulyarnykh markerov. [Searching for sources of genes of resistance to pathogens among samples of selection-genetic collections ARRIPF using molecular markers] *Zashchita kartofelya* 1:3–7 (in Russian)
- Zoteyeva HM, Antonova OYu, Klimenko NS, Apalikova OV, Carlson-Nilsson U et al (2017) Ispolzovanie molekulyarnykh markerov R-genov i tipov tsytoplasmy pri introgressivnoy gibridizatsii dikikh polyploidnykh meksikanskikh vidov kartofelya [Facilitation of introgressive hybridization of wild polyploid Mexican potato species using DNA markers of R genes and of different cytoplasmic types]. *Agricultural Biology* 52:964–975. <http://doi.org/10.15389/agrobiol.2017.5.964rus>

**PYRAMIDING OF PATHOGEN RESISTANCE GENES VIA CROSSING
OF MEXICAN POTATO SPECIES *SOLANUM NEOANTIPOVICZII*
WITH SELECTION FROM 'AURORA' VARIETY**

N.M. Zoteyeva^{1*}, N.S. Klimenko¹, A.V. Khyutti²

¹All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

²All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

*corresponding author, e-mail: zoteyeva@rambler.ru

In this paper we have studied the potato plants from a hybrid population obtained by crossing of the Mexican species *Solanum neoantipoviczii* sample, combining high resistance to late blight (gene *R2-like*) and *Potato Virus Y* (PVY) (gene *Rysto*), with the variety Aurora selection. The Aurora selection possesses the identified markers of genes responsible for resistance to nematode (*Globodera rostochiensis*) of Ro1 pathotype (gene *H1*) and to late blight (gene *RI*). Genotyping data of this crossing combination demonstrates the availability of the pathogen resistance gene pyramiding when crossing components complementing each other according to the detected markers. In the obtained hybrid population, 4 gene markers conferring resistance to *Phytophthora infestans*, PVY and nematode were detected in a half of the plants; two of them diagnose late blight resistance. Plant population has been artificially infected by treating them with two isolates of *P. infestans* and different inoculum concentrations. When applying extremely high inoculum concentration, the plants with detected markers of two genes with resistance to late blight have showed high resistance, accompanied by a hypersensitivity reaction. In this research, on original plant material, we have demonstrated the ability to develop the potato plant genotypes with gene cassettes via an introgressive hybridization using DNA-markers.

Keywords: *Solanum* spp., markers of gene for resistance, late blight, *Potato Virus Y*, gold nematode

Received: 21.07.2019

Accepted: 02.12.2019