

Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по данным полиморфизма SSR-локусов и маркеров *R*-генов устойчивости

О.Ю. Антонова¹, Н.А. Швачко¹, Л.Ю. Новикова¹, О.Ю. Шувалов¹, Л.И. Костина¹, Н.С. Клименко¹, А.Р. Шувалова¹, Т.А. Гавриленко^{1, 2} 

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР)», Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Санкт-Петербург, Россия

Изучено генетическое разнообразие российских сортов картофеля и сортов селекции стран ближнего зарубежья из коллекции ВИР, которые создавались в 1931–2015 гг. На основании результатов анализа полиморфизма 14 монолокусных ядерных микросателлитов (SSR) проведено генотипирование 113 селекционных сортов. Дополнительно изучено распространение у сортов восьми маркеров трех *R*-генов, вовлеченных в контроль устойчивости растений к двум карантинным объектам – золотистой картофельной нематодой *Globodera rostochiensis* и возбудителю рака картофеля *Synchytrium endobioticum*, которые локально встречаются в отдельных регионах Российской Федерации. У всех изученных сортов, устойчивых к патотипу 1 *S. endobioticum*, выявлен диагностический компонент маркера NI-25 гена *Sen1*, у восприимчивых сортов фрагмент NI-25₁₄₀₀ не обнаружен. Полученные результаты продемонстрировали различную эффективность маркеров генов *H1* и *Gro1-4*, детерминирующих устойчивость к патотипу Ro1 *G. rostochiensis*; наиболее перспективно использовать несколько маркеров для детекции нематодоустойчивых сортов. Результаты молекулярного скрининга с шестью маркерами генов *H1* и *Gro1-4* позволили детектировать у сортов шесть гаплотипов. Пять гаплотипов включали сорта с различными сочетаниями изученных маркеров, большинство (87,9 %) из этих сортов были устойчивы или слабо поражаемы нематодой. Наиболее многочисленный гаплотип H1/0 включал 76 сортов, у которых не было выявлено ни одного маркера генов *H1* и *Gro1-4*; 96,1 % из них были восприимчивыми к *G. rostochiensis*. Обсуждается связь между родословными сортами, временем их создания, составом гаплотипов и устойчивостью селекционных сортов к золотистой картофельной нематодой и возбудителю рака картофеля.

Ключевые слова: *Solanum*; картофель; SSR-генотипирование; MAS; *Globodera rostochiensis*; *Synchytrium endobioticum*.

Genetic diversity of potato varieties bred in Russia and near-abroad countries based on polymorphism of SSR-loci and markers associated with resistance *R*-genes

O.Y. Antonova¹, N.A. Shvachko¹, L.Y. Novikova¹, O.Y. Shuvalov¹, L.I. Kostina¹, N.S. Klimenko¹, A.R. Shuvalova¹, T.A. Gavrilenko^{1, 2} 

¹ N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Saint-Petersburg, Russia

² Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

The genetic diversity of potato varieties from the VIR collection was analyzed based on microsatellite analysis. These varieties have been bred in Russia and near-abroad countries since the 1931. Application of 14 highly polymorphic nuclear microsatellites (SSR) enabled the complete discrimination of all 113 varieties. Additionally, we have studied these varieties for the distribution of 8 DNA markers associated with three *R*-genes involved in the control of resistance to two quarantine objects: the potato wart *Synchytrium endobioticum* and golden potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*, which occur locally in some regions of the Russian Federation. All the analyzed varieties with resistance to *S. endobioticum* pathotype 1 revealed the diagnostic marker NI-25₁₄₀₀ of the *Sen1* gene and a few susceptible cultivars lost this diagnostic fragment. The tested markers of the *H1* and *Gro1-4* genes, which confer resistance to *G. rostochiensis* pathotype Ro1 revealed different predictiveness. In the molecular screening of potato varieties, it is better to use several markers of these genes. Results of molecular screening using six markers of the *H1* and *Gro1-4* genes allowed us to detect 6 haplotypes in the tested subset. Five haplotypes include varieties with different combinations of the markers tested, the majority (87.9 %) of these varieties were highly resistant or moderately resistant to *G. rostochiensis*.

The most numerous haplotype H1/0 included 76 varieties, which did not possess any marker; 96.1 % of these varieties were susceptible to *G. rostochiensis*. Predictive associations between haplotype content, wart and nematode resistance, pedigree and 'variety age' are discussed.

Key words: *Solanum*; potato; SSR-genotyping; MAS; *Globodera rostochiensis*; *Synchytrium endobioticum*.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Новикова Л.Ю., Шувалов О.Ю., Костина Л.И., Клименко Н.С., Шувалова А.Р., Гавриленко Т.А. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по данным полиморфизма SSR-локусов и маркеров R-генов устойчивости. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):596-606. DOI 10.18699/VJ16.181

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Antonova O.Y., Shvachko N.A., Novikova L.Y., Shuvalov O.Y., Kostina L.I., Klimentko N.S., Shuvalova A.R., Gavrilenko T.A. Genetic diversity of potato varieties bred in Russia and near-abroad countries based on polymorphism of SSR-loci and markers associated with resistance R-genes. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(5):596-606. DOI 10.18699/VJ16.181

Среди ведущих мировых продовольственных культур возделываемый картофель (*Solanum tuberosum* L.) занимает четвертое место после пшеницы, риса, кукурузы, являясь наиболее важной незерновой культурой. В настоящее время в мире насчитывается более 7000 селекционных сортов картофеля, созданных в 18–21-м вв. усилиями селекционеров разных стран (Van Berloo et al., 2007). В коллекциях 24 центров генетических ресурсов растений 23 стран сохраняется около 11 000 селекционных сортов (GCDT, 2006), при этом многие из них представлены дублетными образцами. В нашей стране мировую коллекцию сортов картофеля начал создавать в 1919 г. С.М. Букасов в Отделе прикладной ботаники Сельскохозяйственного ученого комитета при Совете народных комиссаров (ныне ВИР); в середине 20-го века она была самой полной коллекцией селекционных сортов картофеля в мире (Букасов, Камераз, 1959). В настоящее время в ВИР сохраняется около 2300 селекционных сортов картофеля, из них около 320 представлены сортами селекции России и стран ближнего зарубежья.

Разработка методов изучения генетического разнообразия и идентификации сортов существенно расширяет возможности регистрации, систематизации и структурирования коллекций. Методы идентификации селекционных сортов картофеля традиционно базируются на оценке морфологических и агрономических признаков растений в полевых коллекциях (Salaman, 1926; Stuart, 1937; Зайцева, 1965), однако при работе с большими выборками и идентификации сортов, сохраняемых в *in vitro* и криоколлекциях, использование традиционных методов имеет определенные ограничения. В 1970-е годы для генотипирования сортов картофеля применялись биохимические маркеры (Loeschcke, Stegemann, 1966), в последние десятилетия для этих целей все шире используются различные ДНК-маркеры, например AFLP- (McGregor et al., 2000; Braun, Wenzel, 2004), ISSR- (Bornet et al., 2002; Gorji et al., 2011) и SSR-маркеры. Последние особенно часто включают в программы по генотипированию селекционных сортов (Kawchuk et al., 1996; Provan et al., 1996; Moisan-Thiery et al., 2005; Fu et al., 2009; Рыжова и др., 2010; Côté et al., 2013), а также в мониторинг генетического разнообразия коллекций культурных видов

картофеля (Spooner et al., 2007; Gavrilenko et al., 2010) в связи с хорошей воспроизводимостью результатов, кодоминантностью, высоким уровнем детектируемого полиморфизма и экономичностью. Применение стандартных наборов хромосом-специфичных SSR-маркеров, например PGI (potato genetic identification kit) (Ghislain et al., 2009), позволяет сопоставлять большие массивы данных, получаемых в разных лабораториях.

Совершенствование технологий полногеномного секвенирования привело к развитию метода SNP-генотипирования на высокоплотных биочипах, позволяющего проводить широкомасштабные исследования функционального полиморфизма. В целях изучения генетического разнообразия сортов картофеля этот подход только начинает использоваться (Uitdewilligen et al., 2013; Vos et al., 2015), оставаясь пока еще малодоступным для широкого применения в связи с высокой стоимостью. В то же время зарубежные селекционные центры давно и успешно используют методы маркер-опосредованной селекции (MAS) на основе использования различных типов ДНК-маркеров, ассоциированных с генами (QTL-локусами), вовлеченными в контроль хозяйственно ценных признаков (Gebhard et al., 2006; Gebhardt, 2013; Hirsch et al., 2014; Ramakrishnan et al., 2015). Изучение распространения в сортовом генофонде таких маркеров может предоставить дополнительную информацию для анализа родословных и оценки перспектив вовлечения сортов в дальнейший селекционный процесс.

Данная работа направлена на изучение полиморфизма микросателлитных локусов у отечественных сортов картофеля (селекции Российской Федерации и стран ближнего зарубежья) из коллекции ВИР. Дополнительно исследовано распространение в сортовом генофонде маркеров R-генов, детерминирующих устойчивость растений к двум карантинным объектам: золотистой картофельной нематодой (ЗКН) *Globodera rostochiensis* и возбудителю рака картофеля *Synchytrium endobioticum*.

В разных регионах Российской Федерации локально распространен только один патотип *G. rostochiensis* – Ro1 (Симаков и др., 2009; Limantseva et al., 2014) из пяти описанных в литературе (Kort et al., 1977; Ross, 1986). Устойчивость растений к патотипу Ro1 *G. rostochiensis*

Таблица 1. ДНК-маркеры, использованные в молекулярном скрининге сортов

Ген	Хромосома	Маркер	T m	Размер диагностического фрагмента, п. о.	Литературный источник
Устойчивость к золотистой картофельной нематоды <i>Globodera rostochiensis</i> (патотип Ro1)					
<i>H1</i>	V	57R	60	452	Schultz et al., 2012
<i>H1</i>	V	TG 689	55	141	Milczarek et al., 2011
<i>H1</i>	V	N146	55	506	Takeuchi et al., 2009
<i>H1</i>	V	N195	55	337	Takeuchi et al., 2009
<i>H1</i>	V	239E4left/AluI	51	120 + 230	Bakker et al., 2004
<i>Gro1-4</i>	VII	<i>Gro1-4</i>	58	602	Gebhardt et al., 2006
Устойчивость к возбудителю рака картофеля <i>Synchytrium endobioticum</i> (патотип 1)					
<i>Sen 1</i>	XI	NL25	60	1400	Gebhardt et al., 2006
<i>Sen 1</i>	XI	Sti 046	55	223 п. о. – у восприимчивых образцов; нет фрагмента – у устойчивых образцов	Ballvora et al., 2011

обуславливает наличие доминантных аллелей генов *H1* и *Gro1*. Ген *H1* картирован на хромосоме V (Bakker et al., 2004), ген *Gro1* – на хромосоме VII (Barone et al., 1990; Ballvora et al., 1995). По результатам секвенирования выявлена сложная структура локусов *H1* (Finkers-Tomczak et al., 2011) и *Gro1* (Paal et al., 2004), которые содержат большое число полноразмерных и дефектных *RGL* (resistance gene homologues) копий. В кластере *Gro1* идентифицирован ген *Gro1-4*, детерминирующий устойчивость к патотипу Ro1 ЗКН (Paal et al., 2004).

Из 38 известных в Европе патотипов возбудителя рака картофеля (Ваауен et al., 2006) в Российской Федерации распространен только один – патотип I (или обычный), который встречается очагами в отдельных районах страны (Khiutti et al., 2012). Устойчивость к этому патотипу *S. endobioticum* детерминирует доминантный аллель гена *Sen1*, который картирован на хромосоме XI (Nehl et al., 1999).

По результатам цитированных выше и других исследований разработан ряд маркеров генов *H1*, *Gro1-4* и *Sen1* для проведения MAS (табл. 1), которые были использованы в настоящей работе.

Материалы и методы

Использовали выборку из 113 селекционных сортов картофеля из коллекции ВИР. Выборка включала: 80 российских сортов (Алена, Алиса, Алмаз, Алый парус, Бежицкий, Брянская новинка, Брянский деликатес, Брянский красный, Брянский надежный, Брянский юбилейный, Букет, Вдохновение, Весна, Ветеран, Виза, Владикавказский, Волжский, Вятка, Голубизна, Горно-Уральский, Горянка, Даная, Детскосельский, Загадка, Загадка Питера, Ильинский, Искра, Кемеровский, Корневский, Крепыш, Кристалл, Ладожский, Лакомка, Лига, Лидер, Ломоносовский, Лорх, Любава, Накра, Нарымка, Наяда, Невский, Никулинский, Октябренок, Очарование, Памяти Осиповой, Петербургский, Победа, Погарский, Прибрежный, Рамзай, Резерв, Ресурс, Рождественский, Россиянка, Русская красавица, Сапрыкинский, Сентябрь, Синева, Сиреневый туман, Сказка, Скороплодный, Слава Брянщины, Снегирь, Сокольский, Столовый 19, Сударыня, Томич, Удача, Успех, Фаленский, Филатовский,

Хибинский ранний, Чайка, Чародей, Чароит, Шурминский-2, Эффект, Юбилей Жукова, Юбилейный Осетии) и 33 сорта ближнего зарубежья, в том числе: 20 белорусских (Альпинист, Архидея, Верас, Выток, Гарант, Гранат, Дина, Живица, Здабытак, Комсомолец-20, Ласунак, Лошицкий, Нарочь, Одиссей, Пригожий 2, Расинка (Расинка), Синтез, Сузорье, Темп, Явар), 10 украинских (Бородянский розовый, Гарт, Лыбидь, Незабудка, Пролисок, Ромашка, Румянка, Русалка, Украинский розовый, Эсорт) и 3 сорта из бывших республик СССР (Заравшан, Прикульский ранний, Светлячок). 63 сорта выборки (или 56,3 %) вошли в «Государственный реестр сортов и селекционных достижений РФ» 2015 года.

В молекулярном скрининге участвовали 109 сортов из перечисленных выше. Препараты ДНК четырех сортов (Брянский деликатес, Горно-Уральский, Слава Брянщины и Столовый 19) показали нестабильную амплификацию в SSR-анализе, поэтому эти сорта не вовлекались в молекулярный скрининг в связи с возможностью ложноотрицательных ответов при использовании SCAR-маркеров.

При проведении молекулярного скрининга сортов в выборку были включены дополнительные нематодоустойчивые образцы, которые служили положительным контролем амплификации диагностических фрагментов маркеров генов *H1* (сорт Sante) и *Gro1-4* (клон i-144844 образца k-12403 *S. gourlai*) (Limantseva et al., 2014). В качестве отрицательного контроля использовали поражаемые ЗКН сорта Невский и Bintje, а также восприимчивый к патотипу I *S. endobioticum* сорт Лорх (Khiutti et al., 2012). В ряде случаев у нас была возможность сопоставления спектров одноименных сортов из коллекции ВИР и из учреждений оригинаторов – Ленинградского НИИСХ «Белогорка» и фирмы ЛиГа. [Авторы выражают благодарность д.с.-х.н. В.А. Лебедевой, к.с.-х.н. Н.М. Гаджиеву и к.с.-х.н. З.З. Евдокимовой за предоставленный материал.]

Выделение ДНК осуществляли из листьев полевых растений с использованием модифицированного нами метода СТАВ-экстракции (Gavrilenko et al., 2013). В случае необходимости препараты дополнительно очищали от полифенольных соединений при помощи поливинилполипирролидона.

SSR-анализ. Анализ ядерных монолокусных микросателлитов проводили с использованием хромосом-специфичных праймеров, отобранных по литературным источникам. Большинство праймеров входило в набор PGI (Potato Genetic Identification) (Ghislain et al., 2009). Дополнительно был использован праймер Sti046 (Feingold et al., 2005), который, согласно A. Ballvora с коллегами (2011), ассоциирован с геном *Sen1*, контролирующим устойчивость к патотипу 1 *S. endobioticum*. Условия проведения ПЦР в целом соответствовали рекомендациям разработчиков праймеров, однако для большей специфичности в программы была добавлена функция Touchdown: в первом цикле температура отжига была на 5 °C выше требуемой и на протяжении пяти циклов понижалась на 1 °C на каждый цикл. Разделение ПЦР-продуктов выполняли в 6,5 % денатурирующих полиакриламидных гелях на приборе Li-Cor 4300S DNA Analyzer с лазерной детекцией фрагментов. В качестве стандартов молекулярного веса использовали маркеры фирмы Li-Cor “50-350 b.p.” (<https://www.licor.com>).

Расчет размеров фрагментов для каждого локуса проводили с использованием пакета программ Saga2. Наличие определенного амплифицированного фрагмента ДНК у данного генотипа обозначали цифрой «1», отсутствие – «0». Для оценки полиморфизма микросателлитных локусов использовали индекс PIC (polymorphic index content) = $1 - \sum(p_i^2)$, где p_i – частота i аллеля, выявленного в данной выборке (Nei, 1973). Степень гетерозиготности изученных SSR-локусов у сортов определяли, согласно Н.А. Гаевскому (2002), по формуле:

$$H1 = 1 - 1/n,$$

где n – число аллелей в локусе. Фактическую гетерозиготность ($H2$) оценивали по суммарной частоте встречаемости генотипов с различным уровнем гетерозиготности изученных локусов – в состоянии дуплексов, триплексов, квадриплексов (D+T+K). Кластерный анализ проводили с помощью метода Weighted Neighbor Joining (WNJ) в программе DARwin5 (версия 5.0.158, <http://darwin.cirad.fr/>), расстояния рассчитывали по L. Dice (1945).

MAS. В табл. 1 приведены использованные в данной работе CAPS-, SCAR- и SSR-маркеры, ассоциированные с *R*-генами, детерминирующими устойчивость к ЗКН (патотип Ro1) и возбудителю рака картофеля (патотип 1). ПЦР проводили по стандартным методикам, температуры отжига соответствовали указанным в литературе (см. табл. 1). Программы для молекулярного скрининга были оптимизированы путем введения функции Touchdown. Все реакции при работе со SCAR-маркерами проводили не менее чем в трех повторностях. Для CAPS-маркера 239E4left/AluI использовали фермент AluI фирмы СибЭнзим, рестриктию осуществляли в течение ночи, согласно протоколу фирмы-изготовителя. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2 % агарозных гелях в буфере TBE с последующей окраской бромистым тизидом и визуализацией в УФ-свете.

Данные молекулярного скрининга сопоставлялись с опубликованными результатами вегетационных и полевых опытов Государственного испытания сортов на устойчивость к *G. rostochiensis* (патотип Ro1) и к *S. endobioticum* (патотип 1) и с данными каталогов сортов раз-

ных лет. Отметим, что сорта, идентифицируемые по более жесткой российской шкале как слабопоражаемые (1–5 цист на корнях), по европейской шкале могут быть отнесены к устойчивым сортам (0–5 цист на корнях) (Симаков и др., 2009).

Результаты и обсуждение

Генетическое разнообразие селекционных сортов по данным SSR-анализа

Уровень полиморфизма изученных 14 SSR-локусов в выборке из 113 сортов оказался достаточно высоким: значения PIC варьировали от 0,544 (локус STG0025) до 0,837 (локус Sti046); число аллелей на локус варьировало от трех (STG0025) до 10 (локусы STM0037, Sti046), среднее значение составило 6,9 аллелей на локус (табл. 2). Показатели ожидаемой гетерозиготности (H_1) SSR-локусов сортов варьировали от 0,67 до 0,90; показатели фактической гетерозиготности (H_2) – от 0,36 до 1,00 (см. табл. 2).

Набор аллелей в изученных 14 SSR-локусах был индивидуален для каждого сорта, что позволило нам однозначно различить и генотипировать все сорта выборки. Однако следует учитывать, что при расширении объема генотипируемой выборки разрешающая способность в SSR-анализе только этих 14 маркеров может оказаться недостаточной.

По результатам кластерного анализа, выполненного на основании данных исследования полиморфизма 14 SSR-локусов, можно выделить до 12 групп (рис. 1), однако ни одна из них не имела статистической поддержки в силу низких значений бутстреп-коэффициентов. Сорта селекции разных стран объединялись в смешанные группы, что может указывать на интенсивный обмен селекционным материалом.

В отдельных случаях отмечена тенденция группирования сортов, созданных в одном учреждении-оригинаторе или одним коллективом селекционеров. Например, вместе группируются восемь сортов, созданных селекционерами Северо-Западного региона России из ЛенНИИСХ «Белогорка» и из фирмы «ЛиГа» (Невский, Чародей, Русская красавица, Сказка, Загадка Питера, Наяда, Вдохновение, Лига), или некоторые сорта, созданные в БелНИИКХ (Альпинист, Нарочь, Одиссей, Явар). На дендрограмме можно выделить пары сортов (см. рис. 1), совместная кластеризация которых объясняется общим происхождением (например, сорта Удача и Любава; Детскосельский и Юбилей Осетии; Ресурс и Брянский красный; Лорх и Корневский и др.). В то же время отдельные пары сортов (Слава Брянщины и Погарский; Удача и Украинский розовый; Никулинский и Горянка) группировались вместе с высокими значениями бутстреп-оценки, хотя данные их родословных эту кластеризацию не объясняют.

Суммарно из 96 аллелей 14 SSR-локусов 16 были редкими (их частота встречаемости не превышала 5 %) и 8 – уникальными (выявлены только у одного сорта данной выборки) (см. табл. 2). Редкие аллели обнаружены у 38 (33,6 %) сортов. Уникальные аллели встречались у 7,1 % сортов выборки (Алмаз, Брянский деликатес, Вдохновение, Живица, Нарочь, Победа). Максимальное число редких и/или уникальных аллелей на сорт не превышало

трех, таких сортов в выборке оказалось всего три: Алмаз (STM5127₂₄₅, STG0016₁₅₇, STM0037₇₀), Брянский деликатес (Sti032₁₁₄, Sti033₁₂₇, STM0037₉₀) и Юбилей Жукова (STM1104₁₆₆, STM5127₂₆₉, STM5121₂₈₉). Большинство сортов с редкими и уникальными аллелями являются межвидовыми гибридами.

Сопоставление полученных данных с родословными сортами и временем их создания показало, что начиная с 1950-х гг. частота сортов с редкими и уникальными аллелями SSR-локусов постоянно возрастает (рис. 2). Отметим, что именно со второй половины XX в. в селекции картофеля начала широко использоваться межвидовая гибридизация. Большинство сортов, имеющих одновременно несколько редких и уникальных аллелей, были созданы после 1980 г. на основе межвидовой гибридизации с участием нескольких диких видов.

Молекулярный скрининг

с использованием маркеров гена *H1*

Маркер 57R. Диагностический фрагмент 452 п. о. маркера 57R выявлен у 33 (30,3 %) из 109 селекционных сортов. Подавляющее большинство сортов с диагностированным фрагментом 57R₄₅₂ были устойчивыми или слабо поражаются нематодой (табл. 3). Соответствие между устойчивостью и присутствием диагностического фрагмента было высоким, но не абсолютным – 93,5 % (рис. 3). Исключение составили устойчивый сорт Сузорье и полупоражаемый сорт Здабытак, у которых данный маркер обнаружен не был, и три восприимчивых сорта (Гарант, Ломоносовский, Румянка), у которых был выявлен диагностический фрагмент.

Маркер TG689. В пределах анализируемой выборки результаты скрининга с маркерами TG689 и 57R полностью совпали (см. табл. 3). По сравнению с 57R маркер TG689 демонстрировал меньшую стабильность: результаты нескольких повторностей опыта в ряде случаев различались. Следует также отметить значительную зависимость амплификации от условий реакции. В частности, применение обычных программ ПЦР приводило к появлению фрагментов 141 п. о. у многих поражаемых сортов, в том числе у отрицательного контроля – сорта Невский. В более жестких условиях, при применении функции Touchdown, полученные результаты были более стабильны. Возможность ложных позитивных результатов для маркера TG689 отмечается в литературе (Schultz et al., 2012). В связи с этим мы изучили возможность применения в молекулярном скрининге и других известных маркеров гена *H1*.

Маркер N146. Диагностический фрагмент N146₅₀₆ был выявлен у 30 сортов выборки (см. табл. 3). В основном результаты скрининга с N146 и другими маркерами гена *H1* совпадали, однако у трех устойчивых сортов (Кристалл, Ладожский, Рождественский) фрагмент N146₅₀₆ отсутствовал при наличии 57R₄₅₂ и TG689₁₄₁. Эффективность маркера N146 – наличие диагностического фрагмента у устойчивых и слабопоражаемых сортов – составила 83,9 % (см. рис. 3).

Маркер N195. Диагностический фрагмент 337 п. о. маркера N195 выявлен у 27 сортов. Эффективность маркера N195 по сравнению с 57R и TG689 в пределах изу-



Рис. 2. Частота встречаемости сортов с редкими и уникальными аллелями 14 SSR-локусов в различные периоды селекции.

чаемой выборки была несколько ниже – 74,2 % (см. табл. 3, рис. 3).

Маркер 239E4left/AluI. Данный маркер относится к категории CAPS-маркеров – детекционные фрагменты 120 и 230 п. о. возникают после рестрикции ПЦР-продуктов рестриктазой AluI. Соответственно, образование амплификационных продуктов в каждой реакции дает возможность контроля успешности протекания ПЦР независимо от генотипа и делает получаемые результаты более надежными. Диагностические фрагменты маркера 239E4left/AluI детектированы у двух нематодоустойчивых сортов – Алмаз и контрольного сорта Sante (см. рис. 3). Наряду с 239E4left/AluI у этих двух сортов также обнаружены маркеры 57R, TG689, N146, N195 (см. табл. 3).

Молекулярный скрининг с помощью маркера *Gro1-4*

В анализируемой выборке выявлено только четыре генотипа с маркером *Gro1-4*: два нематодоустойчивых сорта – Сударыня и Живица, слабопоражаемый сорт Сапрыкинский и восприимчивый сорт Погарский. Все эти четыре сорта наряду с маркером *Gro1-4* обладали и маркерами гена *H1* – 57R, TG689, N146, N195 (см. табл. 3). Известно, что один из них – сорт Погарский – был выведен в результате клонового отбора из сорта Ресурс. Однако ни данные SSR-анализа, ни данные MAS не подтверждают их близкого родства, что указывает на необходимость повторного анализа сортов Погарский и Ресурс с использованием оригинального материала.

Гаплотипы сортов. Сопоставление результатов молекулярного скрининга со всеми пятью маркерами гена *H1* и маркером гена *Gro1-4* позволило выявить у сортов шесть гаплотипов (см. табл. 3). Все пять маркеров гена *H1* имели только два устойчивых сорта – Алмаз и контрольный сорт Sante (гаплотип H1/5). Наибольшее число устойчивых и слабопоражаемых сортов (24 из 31) имеют четыре маркера гена *H1*: 57R, TG689, N146, N195 (гаплотип H1/4). Те же четыре маркера гена *H1* в сочетании с маркером *Gro1-4* выявлены у сортов Живица, Сударыня, Сапрыкинский, Погарский (гаплотип H1/4_Gro1/1). Малочисленные гаплотипы H1/3 (с маркерами 57R, TG689, N146) и H1/2 (57R, TG689) включают по три сорта каждый. У сортов наиболее многочисленного гаплотипа H1/0 не выявлено

Таблица 3. Распространение у селекционных сортов маркеров, ассоциированных с генами *H1* (V) и *Gro1-4* (VII), детерминирующими устойчивость к патотипу Ro1 *G. rostochiensis*

Маркеры гена <i>H1</i> (V)					Маркеры гена <i>Gro1-4</i> (VII)	Гаплотипы селекционных сортов
57R ₄₅₀	TG689 ₁₄₁	N146 ₅₀₆	N195 ₃₃₇	239E4left/ AluI ₂₃₀	Gro1-4	
+	+	+	+	+	0	Гаплотип H1/5 <i>n</i> = 1 R (1): Алмаз (Контроль – Sante)
+	+	+	+	0	0	Гаплотип H1/4 <i>n</i> = 22 R (18): Альпинист; Архидея; Бежицкий; Верас; Владикавказский; Вдохновение; Гранат; Даная; Крепыш; Лига; Наяда; Очарование; Пригожий 2; Пролисок; Расинка; Россиянка; Русалка, Шурминский-2 R/S (2): Алы парус; Загадка S (2): Ломоносовский; Румянка
					+	Гаплотип H1/4_Gro1/1 <i>n</i> = 4 R (2): Живица; Сударыня R/S (1): Сапрыкинский S (1): Погарский (Контроль – клон <i>i</i> -144844 образца <i>S. gourlai</i> k-12403)
+	+	+	0	0	0	Гаплотип H1/3 <i>n</i> = 3 R (2): Дина; Нарочь S (1): Гарант
+	+	0	0	0	0	Гаплотип H1/2 <i>n</i> = 3 R (3): Кристалл; Ладожский; Рождественский
0	0	0	0	0	0	Гаплотип H1/0 <i>n</i> =76 R (1): Сузорье R/S (1): Здабытак S (73): Алена; Алиса; Бородянский розовый; Брянский надежный; Брянская новинка; Брянский красный; Брянский юбилейный; Букет; Весна; Ветеран; Виза; Волжский; Выток; Вятка; Гарт; Голубизна; Горянка; Детскосельский; Загадка Питера; Заравшан; Искра; Ильинский, Кемеровский; Комсомолец-20; Лакомка; Ласунак; Лидер; Лорх; Лошицкий; Лыбидь; Любава; Накра; Нарымка; Невский; Незабудка; Никулинский; Одиссей; Октябренок; Памяти Осиповой; Петербургский; Победа; Прибрежный; Приекульский ранний; Рамзай; Резерв; Ресурс; Ромашка, Русская красавица; Светлячок; Сентябрь; Синева; Синтез; Сиреневый туман; Сказка; Скороплодный; Снегирь; Сокольский; Темп; Томич; Удача; Украинский розовый; Успех; Фаленский; Филатовский; Хибинский ранний; Чайка; Чародей; Чароит; Эскорт; Эффект; Юбилей Жукова; Юбилейный Осетии; Явар Нет данных (1): Корневский

Примечание. Сорта: R – устойчивые; R/S – слабопоражаемые; S – поражаемые золотистой картофельной нематодой.

ни одного маркера генов устойчивости. Отметим, что из 76 сортов, имеющих гаплотип H1/0, восприимчивыми являются 96,1 % (см. табл. 3). Таким образом, отсутствие у тестируемого сорта всех четырех маркеров (57R, TG689, N146, N195) гена *H1* и маркера *Gro1-4* позволяет достаточно уверенно прогнозировать его восприимчивость к патотипу Ro1 *G. rostochiensis*.

Полученные нами результаты указывают на различную эффективность использованных маркеров генов *H1* и *Gro1-4* при проведении молекулярного скрининга

у селекционных сортов (см. рис. 3), что согласуется и с литературными данными (Milczarek et al., 2011; Schultz et al., 2012).

Различия в эффективности использования маркеров генов *Gro1-4* и *H1* могут быть связаны с генетическим разнообразием доноров нематодоустойчивости, участвовавших в родословных селекционных сортов. Действительно, при изучении перекрестноопыляемых диплоидных культурных и диких видов картофеля в сопряженном молекулярном и фитопатологическом скрининге (Limantseva et

al., 2014) мы не смогли выявить какую-либо ассоциацию между нематодоустойчивостью и наличием маркеров гена *H1* (239E4left/AluI и TG689). В этой работе были выделены устойчивые клоны, как имеющие молекулярные маркеры, так и без них. Очевидно, что среди родительских форм исследованных нами отечественных сортов генотипы с маркерами 239E4left/AluI и Gro1-4 гена *H1* встречались крайне редко (см. рис. 3). В то же время скрининг 72 зарубежных сортов (Milczarek et al., 2011) выявил гораздо большую частоту встречаемости этих маркеров (239E4left/AluI – 23,6 % и Gro1-4 – 19,4 %), а также другие варианты гаплотипов, которые не встречались в проанализированной нами выборке.

С учетом разнообразия гаплотипного состава селекционных сортов, а также источников устойчивости к ЗКН для повышения надежности молекулярного скрининга можно рекомендовать одновременное использование нескольких маркеров локуса *H1*.

Выявленное разнообразие гаплотипного состава селекционных сортов может быть связано с рекомбинационными событиями. Известно, что маркеры 239E4left и 57R на интегрированной карте локуса *H1* располагаются на существенном расстоянии друг от друга (Finkers-Tomczak et al., 2011). 239E4left расположен на расстоянии 2,1 см вверх по течению от ассоциированного с устойчивостью сегмента '341 Kb', в котором локализованы копии *RGL* последовательностей типа NB-LRR, а маркер 57R интегрирован в район '341 Kb'. Установить взаимное расположение других маркеров гена *H1* затруднительно, поскольку их картирование проводилось разными авторами на различном генетическом материале.

Не исключена также возможность, что у определенных сортов различные маркеры гена *H1* локализируются на разных гомологах хромосомы V, формируя определенный гаплотип, который фиксируется вегетативным типом размножения сортов картофеля. Например, такая ситуация вероятна для сорта Живица (57R/TG689/N146/N195) – его родительской формой является сорт Ponto, у которого маркер 57R отсутствует (Milczarek et al., 2011).

Согласно литературным данным, ген *H1* интрогрессирован в сорта от единичных нематодоустойчивых образцов *S. andigenum*, *S. vernei* (Ellenby, 1954; Roos, 1979) и *S. chacoense* (Каталог..., 2007), а ген *Gro1-4* – от образцов *S. spagazzinii* (Roos, 1979; Barone et al., 1990). Анализ родословных показывает, что *S. vernei* и *S. andigenum* участвовали в выведении сортов с гаплотипами H1/5, H1/4_Gro1-4, H1/4. Один и тот же гаплотип могут иметь разные по происхождению нематодоустойчивые сорта, например гаплотип H1/4 имеют сорта, производные от немецкого сорта Нудра (Бежицкий, Владикавказский, Загадка, Пролисок, Расинка), созданного с участием нематодоустойчивых образцов *S. andigenum* и *S. vernei*, и сорта (Очарование, Вдохновение и др.), выведенные на основе многовидовых гибридов с участием *S. demissum*, *S. phureja*, *S. polytrichon*, *S. stoloniferum*, *S. vernei* (Гаджиев, Лебедева, 2010).

Ген *H1* обеспечивает эффективную защиту сортов картофеля против патогена Ro1 *G. rostochiensis* уже более 50 лет, с тех пор когда в начале 1950-х гг. были созданы первые зарубежные нематодоустойчивые сорта (Brad-

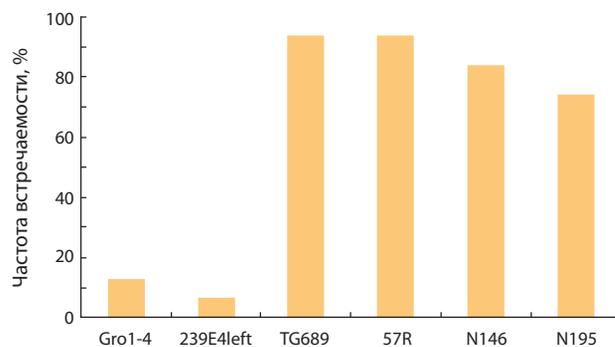


Рис. 3. Частота встречаемости маркеров гена *H1* и *Gro1-4* у устойчивых и слабопоражаемых патотипом Ro1 *G. rostochiensis* сортов выборки ($n = 31$).

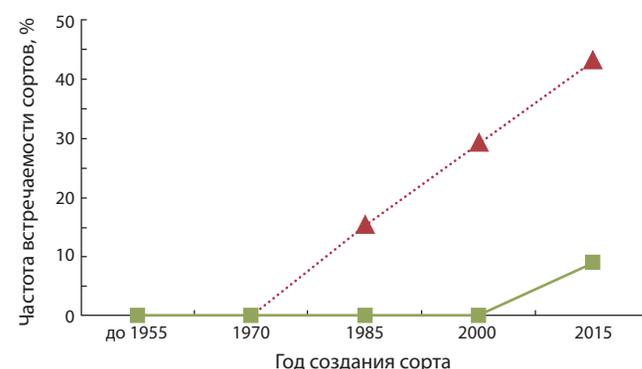


Рис. 4. Изменение частоты встречаемости сортов (%) с маркерами генов *H1* (пунктирная линия) и *Gro1-4* (сплошная линия) в зависимости от года их создания.

shaw et al., 2006). В России сорта с устойчивостью к патотипу Ro1 ЗКН появились позднее – в конце 1960-х гг. В связи с актуальностью создания отечественных нематодоустойчивых сортов данное направление селекции активно развивается в Российской Федерации и странах ближнего зарубежья. Отражением этого процесса может служить зависимость частоты встречаемости маркеров генов *H1* и *Gro1-4* у отечественных сортов от времени их создания (рис. 4).

Сорта анализируемой выборки, выведенные до начала 1970-х гг., не имели маркеров этих генов и относились к группе восприимчивых. К концу 1990-х гг. частота сортов с маркерами генов *H1* и *Gro1-4* резко возросла, достигнув максимальных значений среди современных сортов. Выявленная тенденция согласуется с динамикой накопления редких и уникальных аллелей SSR-локусов (см. рис. 1). Более того, многие сорта с уникальными и редкими аллелями SSR-локусов имели и маркеры генов *H1* и *Gro1-4* (например, Алмаз – гаплотип H1/5; Вдохновение – H1/4; Нарочь – H1/3; Живица – H1/4_Gro1/1). Очевидным объяснением выявленных тенденций служит межвидовая гибридизация – основная причина расширения генетического разнообразия современных селекционных сортов.

Молекулярный скрининг сортов с использованием маркеров NL25 и Sti 046, сцепленных с геном *Sen1*

Селекция отечественных сортов на устойчивость к *S. endobioticum* была начата в конце 1920-х гг., а в настоящее время практически все сорта устойчивы к возбудителю рака картофеля (патотип 1), поскольку признак ракоустойчивости обязателен для вновь создаваемых сортов в Российской Федерации.

Маркер NL25₁₄₀₀. Согласно литературным данным (Gebhardt et al., 2006), при использовании маркера NL25 у устойчивых форм детектированы два компонента – 1200 п. о. и 1400 п. о. – последний является диагностическим фрагментом доминантного аллеля гена *Sen1*. С использованием праймера NL25 проанализировано 98 сортов. Результаты молекулярного скрининга были сопоставлены с литературными данными по оценке ракоустойчивости. У 95 исследованных ракоустойчивых сортов выявлен диагностический компонент 1400 п. о. У трех изученных восприимчивых сортов – Лорх (1931), Корневский (1931), Волжский (1961) – обнаружен только один амплификационный продукт, имеющий размер около 1200 п. о. Эффективность использования маркера NL25 для скрининга на устойчивость к *S. endobioticum* (патотип 1) отмечена и в других работах (Кузьмина и др., 2015).

Маркер Sti046. Относительно недавно был предложен ряд других маркеров гена *Sen1*, в том числе микросателлитный маркер Sti046₂₂₃, который должен присутствовать у поражаемых форм и отсутствовать у устойчивых (Ballvora et al., 2011). Лocus Sti046 участвовал в SSR-анализе, мы изучили возможность его использования и в скрининге на устойчивость к *S. endobioticum*. В данном локусе у сортов выборки было выявлено 10 SSR-аллелей – фрагменты размерами от 179 до 206 п. о., т. е. аллель Sti046₂₂₃ обнаружен не был, не удалось также установить корреляции между восприимчивостью сортов к *S. endobioticum* и наличием любого другого аллеля данного локуса. Предлагаемый A. Ballvora с коллегами (2011) маркер, видимо, эффективен только для расщепляющихся популяций, изученных этими авторами.

Поскольку фенотипирование признаков рако- и нематоустойчивости очень трудоемко и дорого, маркеры генов *H1*, *Gro1-4* и *Sen1* широко применяются в зарубежных селекционно-генетических программах (Gebhardt et al., 2006; Milczarek et al., 2011; Schultz et al., 2012; Asano, Tamiya, 2016) и начинают активно использоваться российскими исследователями (Бирюкова и др., 2008, 2015; Шанина и др., 2011; Кузьмина и др., 2015). Маркеры N146 и N195 еще не участвовали в скрининге отечественных сортов, недавно появились первые данные о наличии маркера 57R у единичных русских сортов (Загадка, Крепыш, Россиянка) (Бирюкова и др., 2015), в то время как маркеры TG689 и Gro1-4 активно используются в отечественных селекционных программах, что предоставляет возможность для сопоставления результатов. Так, для 16 сортов (Архидея, Ветеран, Детскосельский, Дина, Живица, Ильинский, Лакомка, Накра, Нарочь, Наяда, Победа, Росинка, Снегирь, Сокольский, Удача и Шурминский-2) данные скрининга с TG689 в нашей работе совпали с результатами В.П. Бирюковой с коллегами (2008, 2015).

Разночтения касаются одного сорта, Бежицкий, у которого мы выявили фрагмент TG689₁₄₁, в то время как в других работах (Бирюкова и др., 2008; Шанина и др., 2011) у сорта Бежицкий он не обнаруживался, что может быть связано с плохой амплификацией, а также с проблемами идентичности сортообразцов в разных коллекциях.

В работе О.Ю. Кузьминовой с коллегами (2015) выявлено наличие маркеров Gro1-4 у сорта Живица и TG689₁₄₁ – у сортов Крепыш и Живица и отсутствие обоих маркеров у сортов Одиссей, Сказка, Сокольский и Чародей, что соответствует нашим данным. Для сортов Ломоносовский и Чароит результаты не совпали. В данном случае мы запросили материал у оригинаторов и после повторного анализа подтвердили полученные нами данные (см. табл. 3). Отметим, что совместное использование SSR- и MAS-маркеров предоставляет возможность для перепроверки результатов, выявления дублетов и ошибок в поддержании коллекционных образцов.

Результаты настоящего исследования позволили выделить сорта, наиболее перспективные для включения в дальнейший селекционный процесс, обладающие комплексом маркеров генов устойчивости *H1*, *Gro1-4* и *Sen1* (например, Сударыня, Живица). Кроме того, у этих же сортов выявлены маркеры генов, детерминирующих крайнюю устойчивость к вирусу Y картофеля – у сорта Живица – маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}*, а у сорта Сударыня – маркеры YES3-3A и GP122-406/ EcoRV гена *Ry_{sto}* (Готовится к публикации).

В Российской Федерации такие сорта создаются благодаря таланту селекционеров, использующих традиционные методы межсортовой и межвидовой гибридизации в сочетании с отбором перспективных форм по фенотипу, что требует много времени, сил и материальных затрат. Использование методов маркер-ориентированной и генной селекции позволит повысить эффективность отечественных программ по пирамидированию генов (QTL), ассоциированных с хозяйственно ценными признаками, и сократить время создания сортов нового поколения.

Благодарности

Статья подготовлена при поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы; часть исследований выполнена в рамках Комплексной целевой программы РФ «Научное обеспечение деятельности по созданию отечественного посевного фонда, средств защиты растений в целях производства российскими производителями конкурентоспособной сельскохозяйственной продукции, а также по созданию технологий производства (выращивания) и хранения такой продукции на 2016–2025 годы» (по приоритетному направлению «Картофелеводство»).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Бирюкова В.А., Журавлев А.А., Абросимова С.Б., Костина Л.И., Хромова Л.М., Шмыгля И.В., Морозова Н.Н., Кирсанова С.Н. Использование молекулярных маркеров генов *H1* и *Gro1* устойчивости *Globodera rostochiensis*. Докл. РАСХН. 2008;6:3-6.

- Бирюкова В.А., Шмыгля И.В., Абросимова С.Б., Запекина Т.И., Мелешин А.А., Митюшкин А.В., Мананков В.В. Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКС с использованием молекулярных маркеров. *Защита картофеля*. 2015;1:3-7.
- Букасов С.М., Камераз А.Я. Основы селекции картофеля. М.; Л.: Сельхозгиз, 1959.
- Гаджиев Н.М., Лебедева В.А. Происхождение некоторых белогорских сортов картофеля. *Картофель и овощи*. 2010;8:21-22.
- Гаевский Н.А. Знакомство с эволюционной генетикой. Красноярск, 2002.
- Зайцева Н.Д. Руководство по определению сортов картофеля. М., 1965.
- Каталог новых исходных форм доноров полевой (горизонтальной) устойчивости картофеля к фитофторозу. Яшина И.М., Кукушкина Л.Н., Деревягина М.К., Бабайцева О.В. и др. Каталог. Рос. акад. с.-х. наук ВНИИКС. М., 2007.
- Кузьминова О.А., Сташевски З., Вологин С.Г., Гимаева Е.А. Изучение селекционного материала картофеля при помощи молекулярно-генетического анализа на наличие генов устойчивости к *Globodera rostochiensis*. Современные технологии выращивания сельскохозяйственных культур. Матер. Всерос. заоч. науч.-практ. конф. молодых ученых, посвящ. памяти Р.Г. Гарева. Казань: Центр инновационных технологий, 2015;88-97.
- Рыжова Н.Н., Мартиросян Е.В., Кочиева Е.З. Анализ полиморфизма микросателлитных локусов сортов картофеля *Solanum tuberosum* отечественной селекции. *Генетика*. 2010;46(4):481-487.
- Симаков Е.А., Яковлева В.А., Абросимова С.Б., Дьяченко А.А., Бирюкова В.А. Как оценивать устойчивость картофеля к *Globodera rostochiensis*? Защита и карантин растений. 2009;1:28-29.
- Шанина Е.П., Клюкина Е.М., Кокшаров В.П., Шанин А.А. Создание нематодоустойчивых сортов – приоритетное направление в селекции картофеля на Среднем Урале. *Аграрный вестник Урала*. 2011;2(81):59-61.
- Asano K., Tamiya S. Breeding of pest and disease resistant potato cultivars in Japan by using classical and molecular approaches. *JARQ*. 2016;50(1):1-6.
- Baayen R.P., Cochius G., Hendriks H., Meffert J.P., Bakker J., Bekker M., van den Boogert P.H., Stachewicz H., van Leeuwen G.C.M. History of potato wart disease in Europe – a proposal for harmonization in defining pathotypes. *Eur. J. Plant Pathol.* 2006;116:21-31. DOI 10.1007/s10658-006-9039-y.
- Bakker E., Achenbach U., Bakker J., van Vliet J., Peleman J., Segers B., van der Heijden S., van der Linde P., Graveland R., Hutten R., van Eck H., Coppoolse E., van der Vossen E., Bakker J., Govers A. A high-resolution map of the *HI* locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109(1):146-152. DOI 10.1007/s00122-004-1606-z.
- Ballvora A., Flath K., Lubeck J., Strahwald J., Tacke E., Hoffert H.-R., Gebhardt C. Multiple alleles for resistance and susceptibility modulate the defense response in the interaction of tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) with *Synchytrium endobioticum* pathotypes 1, 2, 6 and 18. *Theor. Appl. Genet.* 2011;123:1281-1292.
- Ballvora A., Hesselbach J., Niewohner J., Leister D., Salamini F., Gebhardt C. Marker enrichment and high-resolution map of the segment of potato chromosome VII harboring the nematode resistance gene *Gro1*. *Mol. Gen. Genet.* 1995;249:82-90.
- Barone A., Ritter E., Schachtschabel U., Debener T., Salamini F., Gebhardt C. Localization by restriction fragment length polymorphism mapping in potato of a major dominant gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Mol. Gen. Genet.* 1990;224(2):177-182.
- Bornet B., Goraguer F., Joly G., Branchard M. Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Genome*. 2002;45(3):481-484.
- Bradshaw J.E., Bryan G.J., Ramsay G. Genetic recourses (including wild and cultivated *Solanum* species) and progress in their utilization in potato breeding. *Potato Res.* 2006;49:49-65. DOI 10.1007/s11540-006-9002-5.
- Braun A., Wenzel G. Molecular analysis of genetic variation in potato (*Solanum tuberosum* L.). I. German cultivars and advanced clones. *Potato Res.* 2004;47(5):81-92. DOI 10.1007/BF02731971.
- Côté M.-J., Leduc L., Reid A. Evaluation of simple sequence repeat (SSR) markers established in Europe as a method for the identification of potato varieties grown in Canada. *Am. J. Potato Res.* 2013;90:340-350. DOI 10.1007/s12230-013-9310-7.
- Dice L. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*. 1945;26:297-302.
- Ellenby C. Tuber forming species and varieties of the genus *Solanum* tested for resistance to the potato root eelworm *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Euphytica*. 1954;3:195-202. DOI 10.1007/BF00055593.
- Feingold S., Lloyd J., Norero N., Bonierbale M., Lorenzen J. Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2005;111:456-466. DOI 10.1007/s00122-005-2028-2.
- Finkers-Tomczak A., Bakker E., Boer J., Vossen E., Achenbach U., Golas T., Suryaningrat S., Smart G., Bakker J., Govers A. Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus *HI* reveals a major lack of co-linearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.). *Theor. Appl. Genet.* 2011;122:595-608. DOI 10.1007/s00122-010-1472-9.
- Fu Y., Peterson G., Richards K., Tam T., Percy J. Genetic diversity of Canadian and exotic potato germplasm revealed by simple sequence repeat markers. *Am. J. Potato Res.* 2009. 86(1):38-48. DOI 10.1007/s12230-008-9059-6.
- Gavrilenko T., Antonova O., Ovchinnikova A., Novikova L., Krylova E., Mironenko N., Pendinen G., Islamshina A., Shvachko N., Kiru S., Kostina L., Afanasenko O., Spooner D. A microsatellite and morphological assessment of the Russian National cultivated potato collection. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2010;57:1151-1164. DOI 10.1007/s10722-010-9554-8.
- Gavrilenko T., Antonova O., Shuvalova A., Krylova E., Alpatyeva N., Spooner D., Novikova L. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2013;60:1997-2015. DOI 10.1007/s10722-013-9968-1.
- Gebhardt C. Bridging the gap between genome analysis and precision breeding in potato. *Trends in Genetics*. 2013;29 (4):248-256. DOI 10.1016/j.tig.2012.11.006.
- Gebhardt C., Bellin A., Henselewski A., Lehmann W., Schwarzfischer A., Valkonen J. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. *Theor. Appl. Genet.* 2006;112:1458-1464. DOI 10.1007/s00122-006-0248-8.
- GCDT (The Global Crop Diversity Trust) Background on the development of “Global Strategy for the *Ex situ* Conservation of Potato”. 2006. Available at: <https://www.croptrust.org/wp-content/uploads/2014/2/Potato-Strategy-FINAL-30Jan07.pdf>
- Ghislain M., Nunez J., Herera M. del R., Rignataro J., Guzman F., Bonierbale M., Spooner D.M. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Mol. Breeding*. 2009;23:377-388. DOI 10.1007/s11032-008-9240-0.
- Gorji A.M., Poczar P., Polgar Z., Taller J. Efficiency of arbitrarily amplified dominant markers (SCOT, ISSR and RAPD) for diagnostic fingerprinting in tetraploid potato. *Am. J. Pot. Res.* 2011;88:226-237. DOI 10.1007/s12230-011-9187-2.
- Hehl R., Faurie E., Hesselbach J., Salamini F., Witham S. TMV resistance gene N homologues are linked to *Synchytrium endobioticum* resistance in potato. *Theor. Appl. Genet.* 1999;98:379-386. DOI 10.1007/s001220051083.
- Hirsch C.D., Hamilton J.P., Childs K.L., Cepela J., Crisovan E., Vailancourt B., Hirsch C.N. A resource for mining sequences, genotypes, and phenotypes to accelerate potato breeding. *Plant Genome*. 2014;7:1-12. DOI 10.3835/plantgenome2013.12.0042.
- Kawchuk I.M., Lynch D.R., Thomas J., Penner B., Silito D., Kulcsar F. Characterization of *Solanum tuberosum* simple sequence repeats

- and application to potato cultivar identification. *Amer. Potato J.* 1996;73:325-335. DOI 10.1007/BF02849164.
- Khiutti A., Afanasenko O., Antonova O., Shuvalov O., Novikova L., Krylova E., Chalaya N., Mironenko N., Spooner D.M., Gavrilenko T. Characterization of resistance to *Synchytrium endobioticum* in cultivated potato accessions from the collection of Vavilov Institute of Plant Industry (VIR) collection. *Plant Breeding*. 2012;131:744-750. DOI 10.1111/j.1439-0523.2012.02005.x.
- Kort J., Ross H., Rumpfenhorst H.J., Stone A.R. An international scheme for the identification of pathotypes of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica*. 1977;23:333-339.
- Limantseva L., Mironenko N., Shuvalov O., Antonova O., Khiutti A., Novikova L., Afanasenko O., Spooner D., Gavrilenko T. Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions. *Plant Breeding (Wiley)*. 2014;133(5):660-665. DOI 10.1111/pbr.12195.
- Loeschcke V., Stegemann H. The application of PAG electrophoresis for studying of the potato proteins. *Z. Naturforschung*. 1966;21:879-888.
- McGregor C., Lambert C., Greyling M., Louw H., Warnich L. A comparative assessment of fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. *Euphytica*. 2000;113:135-144.
- Milczarek D., Flis B., Przetakiewicz A. Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. *Am. J. Potato Res.* 2011;88:245-255. DOI 10.1007/s12230-011-9189-0.
- Moisan-Thiery M., Marhadour S., Kerlan M., Dessenne N., Perramant M., Gokelaere T., LeHingrat Y. Potato cultivar identification using simple sequence repeats markers (SSR). *Potato Res.* 2005;48:191-200. DOI 10.1007/BF02742376.
- Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *PNAS USA*. 1973;70:3321-3323.
- Paal J., Henselewski H., Muth J., Meksem K., Menendez C., Salami F., Ballvora A., Gebhardt C. Molecular cloning of the potato *Gro 1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant J.* 2004;38:285-297.
- Provan J., Powell W., Waugh R. Analysis of cultivated potato (*Solanum tuberosum*) using intermicrosatellite amplification. *Genome*. 1996;39:767-769.
- Ramakrishnan A.P., Ritland C.E., Blas Sevillano R.H., Riseman A. Review of potato molecular markers to enhance trait selection. *Am. J. Potato Res.* 2015;92(4):455-472. DOI 10.1007/s12230-015-9455-7.
- Ross H. Potato breeding – problems and perspectives. *J. Plant Breed.* 1986; Suppl. 13. Berlin; Hamburg: Parey, 1986.
- Salaman R.N. Potato varieties. Cambridge Univ. Press, 1926.
- Schultz L., Cogan N.O.I., Mclean K., Dale M.F.B., Bryan G.J., Forster J.N.W., Slater A.T. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *H1*-conferred potato cyst nematode resistance in potato. *Plant Breeding*. 2012;131:315-321. DOI 10.1111/j.1439-0523.2012.01949.x.
- Spooner D.M., Nunez J., Trujillo G., del Rosario Herrera M., Guzman F., Ghislain M. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *PNAS USA*. 2007;104:19398-19403. DOI 10.1073/pnas.0709796104.
- Stuart W. The potato: Its culture, uses, history and classification. Ed. W. Stuart. J.B. Lippincott, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 1937.
- Takeuchi T., Sasaki J., Suzuki T., Horita H., Hiura S., Iketani S., Fujita R., Senda K. DNA markers for efficient selection of disease and pests resistance genes in potato (in Japanese). Hokkaido Nogyo-Shiken-Kaigi-Shiryo 2008. 2009;1-26.
- Uitdewilligen J.G., Wolters A.-M.A., D'hoop B.B., Borm T.J.A., Visser R.G.F., Eck H.J. A Next-generation sequencing method for genotyping-by-sequencing of highly heterozygous autotetraploid potato. *PLoS ONE*. 2013. DOI 10.1371/journal.pone.0062355.
- Van Berloo R., Hutten R., van Eck H., Visser R.G.F. An online potato pedigree database resource. *Potato Res.* 2007;50:45-57. DOI 10.1007/s11540-007-9028-3.
- Vos P.G., Uitdewilligen J., Visser R.G.F., Eck H.J. Development and analysis of a 20K SNP array for potato: an insight into the breeding history. *Theor. Appl. Genet.* 2015;128:2387-2401. DOI 10.1007/s00122-015-2593-y.