

Генетическое разнообразие сортов картофеля русской селекции и стран ближнего зарубежья по типам цитоплазм

Т.А. Гавриленко^{1, 2}✉, Н.С. Клименко¹, Н.В. Алпатьева¹, Л.И. Костина¹, В.А. Лебедева³, З.З. Евдокимова³,
О.В. Апаликова¹, Л.Ю. Новикова¹, О.Ю. Антонова¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР),
Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Ленинградский научно-исследовательский институт сельского хозяйства «Белогорка», Ленинградская область, Россия
✉ e-mail: tatjana9972@yandex.ru

Мужская стерильность у картофеля малоизучена, поскольку традиционное картофелеводство основывается на вегетативном размножении высокогетерозиготных тетраплоидных сортов. Быстрое развитие диплоидной гибридной селекции картофеля обуславливает возрастание интереса к изучению мужской стерильности у этой важной культуры. В настоящей работе охарактеризовано генетическое разнообразие по типам цитоплазм 185 сортов картофеля селекции России и стран ближнего зарубежья с использованием набора из шести цитоплазматических маркеров. Сорта выборки были дифференцированы на три группы с Т (40.0 %), D (50.8 %) и W/γ (8.7 %) типами цитоплазм, которые, согласно литературным данным, ассоциированы с мужской стерильностью. За единичным исключением (0.5 %), типы цитоплазм, характерные для мужскофертильных форм (А, Р), в изученной выборке не найдены. Сопоставление полученных результатов с ранее опубликованными данными позволило расширить выборку до 277 отечественных сортов, однако дифференциация на три типа цитоплазм (Т, D, W/γ) сохранилась. На основании результатов фенотипизации среди сортов с Т-, D- и W/γ-типами цитоплазм были выявлены не только мужскостерильные, но и фертильные генотипы. У 15 отобранных генотипов, различающихся по типу цитоплазм и признаку мужской стерильности/фертильности, методом прямого секвенирования были проанализированы восемь локусов мт-генома. Фрагменты мт-генов *nad2*, *nad7*, *cox2*, *atp6*, *CcmFc* были идентичны независимо от типа цитоплазмы и мужской стерильности/фертильности сортов. Индели/замены нуклеотидов в локусах *tps3*, *atp9*, *CcmFc* не были ассоциированы с признаком мужской стерильности. На ограниченной выборке из семи образцов с W/γ-типом цитоплазмы были выявлены различия генотипов с тетрадной мужской стерильностью и с фертильной пылью по двум однонуклеотидным заменам в локусах *nad1/atp6* и *nad2*. Результаты NGS-анализа подтвердили ассоциацию этих SNP-вариантов с тетрадной мужской стерильностью на большей выборке из 28 образцов с W/γ-типом цитоплазмы различного происхождения. Показано, что гетероплазматическое состояние характерно как для генотипов с тетрадной мужской стерильностью, так и для генотипов с мужской фертильностью. Ключевые слова: картофель; *Solanum*; мужская стерильность; типы цитоплазм; молекулярные маркеры.

Для цитирования: Гавриленко Т.А., Клименко Н.С., Алпатьева Н.В., Костина Л.И., Лебедева В.А., Евдокимова З.З., Апаликова О.В., Новикова Л.Ю., Антонова О.Ю. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по типам цитоплазм. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(6):753-764. DOI 10.18699/VJ19.534

Cytoplasmic genetic diversity of potato varieties bred in Russia and FSU countries

T.A. Gavrilenko^{1, 2}✉, N.S. Klimenko¹, N.V. Alpatieva¹, L.I. Kostina¹, V.A. Lebedeva³, Z.Z. Evdokimova³, O.V. Apalikova¹,
L.Y. Novikova¹, O.Yu. Antonova¹

¹ Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

² St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ Leningrad Research Institute for Applied Agricultural Science (Belogorka), Leningrad region, Russia

✉ e-mail: tatjana9972@yandex.ru

Male sterility in potato is little studied since traditional breeding is based on the vegetative reproduction of highly heterozygous tetraploid varieties. The rapid development of hybrid diploid breeding contributes to growing interest in studying the male sterility of this important crop. In this work, a set of 6 cytoplasmic markers was employed to describe cytoplasmic genetic diversity of 185 potato cultivars bred in Russia and FSU countries. Three cytoplasm types were identified, T (40.0 %), D (50.8 %) and W/γ (8.7 %), which according to literature are associated with male sterility. With a single exception (0.5 %), cytoplasm types characteristic of male fertile forms (A, P) were not found in the subset of 185 cultivars. A comparison of these results with previously published data suggested expanding the

subset to up to 277 cultivars, all developed in Russia or FSU countries; however, the resulting differentiation into three cytoplasm types (T, D and W/γ) was nearly the same. Fertility phenotyping helped identify both male-sterile and male-fertile genotypes within the three groups of varieties with T-, D- and W/γ-type cytoplasm. Fifteen genotypes differing in cytoplasm type and male sterility/fertility traits were selected for direct sequencing of 8 mtDNA loci. Fragments of the *nad2*, *nad7*, *cox2*, *atp6* and *CcmFc* genes were identical in all 15 selected genotypes. The polymorphism, detected in the *rps3*, *atp9* and *CcmFc* loci, was not associated with male sterility. Two SNPs in the *nad1/atp6* and *nad2* loci differentiated 7 genotypes with W/γ-type cytoplasm into five genotypes with tetrad sterility, and two with fertile pollen. The results of an NGS analysis confirmed the association of these SNPs with tetrad sterility in a larger set of 28 genotypes of different origin, all with W/γ-type cytoplasm. A heteroplasmy state was observed both in male-sterile and in male-fertile genotypes.

Key words: potato; *Solanum*; male sterility; cytoplasmic types; DNA markers.

For citation: Gavrilenko T.A., Klimenko N.S., Alpatieva N.V., Kostina L.I., Lebedeva V.A., Evdokimova Z.Z., Apalikova O.V., Novikova L.Y., Antonova O.Yu. Cytoplasmic genetic diversity of potato varieties bred in Russia and FSU countries. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(6):753-764. DOI 10.18699/VJ19.534 (in Russian)

Введение

За более чем 300-летнюю историю селекции картофеля (*Solanum tuberosum*) вне Южной Америки, где он был введен в культуру, созданы тысячи селекционных сортов, которые в настоящее время возделываются примерно в 150 странах. Этот 300-летний период можно разделить на три этапа: селекционный процесс XVIII–XIX вв., ограниченный узким генетическим разнообразием немногочисленных аборигенных сортов, интродуцированных в Европу из Южной Америки; с начала XX столетия – целенаправленные скрещивания культурного картофеля с дикими видами с целью интрогрессии генов устойчивости, прежде всего к грибным и вирусным патогенам; третий этап, происходящий на наших глазах и связанный с появлением принципиально новых направлений в селекции картофеля – цисгенеза, геномного редактирования и гибридной диплоидной селекции. Последнее направление, основанное на скрещиваниях инбредных диплоидных линий с целью массового получения гибридных семян (TPS – true potato seeds) гетерозисных F₁ гибридов, представляет собой радикальную смену парадигмы в создании и воспроизводстве сортов картофеля (Lindhout et al., 2011; Jansky et al., 2016).

Быстрое развитие диплоидной гибридной селекции связано с перспективами кардинального сокращения сроков селекционного процесса и затрат на получение и размножение оздоровленных клонов, поскольку большинство патогенов картофеля не передается с пыльцой и с настоящими ботаническими семенами (Lindhout et al., 2011, 2018; De Vries et al., 2016; Jansky et al., 2016). Появление диплоидной гибридной селекции обусловило необходимость изучения генетического контроля самонесовместимости (Phumichai et al., 2005) и механизмов инбредной депрессии (Zhang et al., 2019) с целью получения инбредных диплоидных линий картофеля, а также актуальность исследований мужской стерильности и генетических систем ЦМС-*Rf*, направленных на разработку эффективных методов межлинейной гибридизации (Анисимова, Гавриленко, 2017). Ранее эти проблемы не были особенно актуальными, поскольку традиционное картофелеводство основывается на вегетативном размножении высокогетерозиготных тетраплоидных сортов.

Проблемам мужской стерильности картофеля посвящены немногие работы, хотя этот признак широко рас-

пространен среди селекционных сортов. У картофеля известно несколько типов мужской стерильности:

- 1) генно-цитоплазматическая мужская стерильность (genetic-cytoplasmic male sterility, согласно Grun с соавторами, 1962), которая проявляется в виде различных нарушений развития репродуктивных органов и неспособности растений завязывать ягоды, что обусловлено взаимодействием доминантных аллелей ядерных генов мужской стерильности (например, ген *Ms*) с генетическими факторами T (*tuberosum*)-типа цитоплазмы (Grun et al., 1977; Iwanaga et al., 1991);
 - 2) функциональная мужская стерильность, когда растения формируют морфологически нормальные, хорошо окрашиваемые, но нефункциональные пылевые зерна. Этот тип стерильности описан у гибридов и селекционных клонов с цитоплазмой мексиканского вида *S. demissum* (Dionne, 1961; Hosaka, Sanetomo, 2012);
 - 3) цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), проявляющаяся в определенных межвидовых комбинациях. Так, фактически все изученные сорта и селекционные клоны с цитоплазмой другого дикого мексиканского вида, *S. stoloniferum*, могут участвовать в скрещиваниях только в качестве материнских форм (Ross, 1986; Lössl et al., 2000; Song, Schwarzfischer, 2008), поскольку проявляют тетрадную мужскую стерильность (в конце микроспорогенеза тетрады не распадаются и на протяжении всего последующего микрогаметогенеза микроспоры остаются объединенными в «перманентные тетрады»). С использованием метода метаболитного профилирования пыльников показано, что тетрадная мужская стерильность у картофеля ассоциирована с резкими нарушениями углеводного обмена (снижением содержания полисахаридов), а также метаболизма amino- и жирных кислот (Shishova et al., 2019).
- Среди носителей перечисленных выше цитоплазм с разной частотой встречаются генотипы с мужской фертильностью. Так, согласно Ross (1986), только треть сортов с цитоплазмой наиболее распространенного T-типа не способна к ягодообразованию. По результатам изучения генетического контроля восстановления фертильности идентифицирован ядерный ген *Rt* (a male fertility-restoring gene), восстанавливающий фертильность у носителей T-типа цитоплазмы (Iwanaga et al., 1991; Ortiz et al., 1993). В упомянутых работах сообщается о широком распро-

странении функциональных аллелей гена *Rt* в селекционном генофонде. Между тем *Rt*, как и ядерный ген *Ms* (male sterility gene), на молекулярном уровне не изучен. Среди гибридов и селекционных клонов с цитоплазмой *S. demissum* японские исследователи отобрали генотипы, которые функционируют в скрещиваниях как опылители, что, по их мнению, может быть связано с ядерно-цитоплазматическими взаимодействиями (Sanetomo et al., 2011). В то же время, по данным R. Ortiz с коллегами (Ortiz et al., 1993, 2009), среди образцов с D-типом цитоплазмы гены *Rt* и *Ms* не выявлены. Недавно с помощью методов сравнительной геномики у картофеля были идентифицированы гомологи *RFL-PPR*-генов и изучен их структурный полиморфизм (Anisimova et al., 2019).

Единичны данные о структурных перестройках локусов мтДНК, связанных со стерилизующим типом цитоплазмы дикого мексиканского вида *S. stoloniferum* (Lössl et al., 1999) и с цитоплазмой *S. demissum* (Sanetomo, Hosaka, 2011, 2013). В настоящее время идентификацию типов цитоплазм картофеля проводят методами маркеропосредованной селекции с праймерами, специфичными к разным локусам оргanelльных ДНК.

Маркеры плазмидной ДНК (хлДНК). Первые данные о полиморфизме хлДНК у видов картофеля получены с помощью рестрикционного и RFLP-анализов. В результате были выделены Т-тип хлДНК, характеризующийся наличием специфической делеции 241 п. о. в локусе *ndhC/trnV*, и еще четыре типа, различающихся по сайтам рестрикции BamHI, HindIII, PvuII (Hosaka, 1986, 2003). Позднее первоначальная классификация была подвергнута ревизии, и сейчас у картофеля выделяют пять основных типов хлДНК: А, С, S, Т, W. Для их определения необходимо использовать всю совокупность SSR, STS и CAPS маркеров из набора Hosaka, Sanetomo (2012) (рис. 1).

Маркеры митохондриальной ДНК (мтДНК). Первые данные о полиморфизме мтДНК видов картофеля были получены на основе ПДРФ-анализа, что позволило идентифицировать три основных (α , β , γ) и два минорных (δ , ϵ) типа мт-ДНК (Lössl et al., 1999). Позднее были разработаны ПЦР-праймеры, специфичные к участкам мт-генов *atp6*, *cob*, *rps10*, которые детектируют α , β , γ типы мт-ДНК (Lössl et al., 2000). Со временем стало ясно, что для идентификации основных типов мтДНК из набора Lössl с коллегами (Lössl et al., 2000) достаточно одной пары праймеров ALM4/ALM5 (локус *rps10* мтДНК) (Song, Schwarzfischer, 2008; Hosaka, Sanetomo, 2012; Antonova et al., 2018); эти праймеры входят и в набор Hosaka, Sanetomo (2012). В дальнейшем были разработаны маркеры, амплифицирующие разные районы (Region 1–3) химерного фрагмента *Band1*, характерного для сортов, созданных на основе *S. demissum*, и включающего участок гена *rps19* мтДНК (Sanetomo, Hosaka, 2011, 2013) (см. рис. 1).

Маркеры типов цитоплазм. Первый набор ПЦР-маркеров для идентификации цитоплазм картофеля, разработанный Lössl с соавторами (2000), позволил выявить три основных сочетания маркеров хл- и мтДНК у селекционных сортов: Т/ β – для Т-типа цитоплазмы, W/ α – для цитоплазмы различных диких видов, в том числе *S. demissum*, W/ γ – для цитоплазмы, интрогрессированной

от *S. stoloniferum* (см. рис. 1). Показано, что сорта с цитоплазмой W/ γ -типа проявляют тетрадную стерильность пыльники (Lössl et al., 2000; Song, Schwarzfischer, 2008).

Другой набор, предложенный японскими исследователями (Hosaka, Sanetomo, 2012), содержит большее число маркеров для хлДНК, включает пару праймеров ALM_4/ALM_5 из набора Lössl с соавторами (Lössl et al., 2000) и дополнительно – маркер D (Region 1) для идентификации D-типа цитоплазмы *S. demissum*. С помощью данного набора разработана современная классификация цитоплазм картофеля, включающая восемь основных типов: А, М, Р, W (W/ α , W/ β , W/ γ), Т (Т/ β) и D (см. рис. 1).

Однако следует иметь в виду, что типы цитоплазм, определенные двумя наборами маркеров, не тождественны друг другу. В наборе японских исследователей комплекс маркеров диагностирует «настоящий W-тип» (wild), тогда как при использовании набора Lössl с соавторами (2000) W-тип, определяемый по отсутствию делеции 241 п. о. в локусе *ndhC/trnV*, объединяет А-, М-, Р-, W-типы цитоплазм как культурных, так и диких видов картофеля (см. рис. 1). Таким образом, W-тип цитоплазмы в литературе встречается в двояком понимании: как «настоящий W-тип» (Hosaka, Sanetomo, 2012; Sanetomo, Gebhardt, 2015; Гавриленко и др., 2018) и как «противопоставление Т-типу» (Lössl et al., 2000; Song, Schwarzfischer, 2008), что внесло большие разночтения в интерпретацию результатов молекулярного скрининга. Поэтому после 2012 г. из набора Lössl с соавторами (Lössl et al., 2000) для детекции типов мтДНК используют праймеры ALM_4/ALM_5, а идентификацию типов цитоплазм картофеля принято проводить по системе Hosaka, Sanetomo (2012) (см. рис. 1).

Ни один из восьми типов цитоплазм не является видоспецифичным, хотя Т-тип имеют до 90 % чилийских аборигенных сортов (Hosaka, 2003; Spooner et al., 2007; Gavrilenko et al., 2013) и большинство старых европейских сортов (Provan et al., 1999; Gavrilenko et al., 2007; Sanetomo, Gebhardt, 2015). В этой связи Т-тип часто называют «культурным» или чилийским. А- и Р-типы цитоплазм характерны для мужскофертильных ди- и тетраплоидных андийских аборигенных сортов, W/ α - и W/ β -типы – для многих диких видов картофеля (Hosaka, Sanetomo, 2012; Mihovilovich et al., 2015). D-тип цитоплазмы характерен для *S. demissum* и сортов, созданных с его участием (с материнской стороны), и обнаружен среди образцов диких аллогексаплоидных и аллотетраплоидных мексиканских видов картофеля (Hosaka, Sanetomo, 2012, 2014). W/ γ -тип цитоплазмы (и γ -тип мтДНК) детектирован у всех гибридных клонов и сортов с цитоплазмой *S. stoloniferum*, проявляющих тетрадную мужскую стерильность (Song, Schwarzfischer, 2008; Antonova et al., 2018). В то же время Hosaka, Sanetomo (2012) сообщают о детекции W/ γ -типа цитоплазмы среди образцов *S. chacoense*, *S. pampasense*, *S. pinnatisectum*, *S. vernei*.

На больших выборках зарубежных сортов, проанализированных с набором маркеров Hosaka, Sanetomo (2012), выявлен низкий уровень разнообразия: более 90 % имеют три типа цитоплазм – Т, D, W/ γ , ассоциированных с мужской стерильностью, и около 10 % обладают редкими типами цитоплазм – W/ β , А, М, W/ α (без маркера D) (Sanetomo, Gebhardt, 2015). Сорта с Р-типом цитоплазмы

Определение типов цитоплазм картофеля при помощи набора маркеров Hosaka, Sanetomo (2012)				Идентификация типов хлДНК согласно Hosaka, Sanetomo (2012):				
				Маркер SAC (локус <i>cemA</i> хлДНК)				
				Рестрикция сайта BamHI в ПЦР-продукте праймеров SAC			Отсутствие BamHI-рестрикции	
				Маркер H1 (локус <i>ndhC/trnV</i> хлДНК)				
				Делеция 241 п. о. в ПЦР-продукте праймеров H1		Отсутствие делеции 241 п. о.		
				Маркер S (локус <i>rps16/trnQ</i> хлДНК)				
				Отсутствие делеции 48 п. о.			Делеция 48 п. о. в ПЦР-продукте праймеров NTCР6	
				Маркер A (локус <i>rpl32/ccsA</i> хлДНК)				
				Отсутствие BamHI-рестрикции			Рестрикция сайта BamHI в ПЦР-продукте праймеров A	
Маркер D амплификация химерного фрагмента <i>Band1</i> – ПЦР-продукт с праймерами D (Region 1)		Идентификация типов мтДНК:		Типы хлДНК:				
		ПЦР с праймерами ALM_4/ALM_5 (Lössl et al., 2000), локус <i>rps10</i> мтДНК		ТИПЫ ЦИТОПЛАЗМ:				
D	527 п. о.	α	2400 п. о.		D			
Другие типы	Нет ПЦР-продукта			β	1600 п. о.	T	W/β	M
		γ	Нет ПЦР-продукта		W/γ			

Рис. 1. Определение типов цитоплазмы набором маркеров Hosaka, Sanetomo (2012).

в европейском генофонде не обнаружены, однако Р-тип встречается у ~6 % японских сортов (Hosaka, Sanetomo, 2012) (Прил. 1)¹.

Изучение агрономических признаков в группах с разными типами цитоплазм выявило существенно более высокое содержание крахмала у гибридов и селекционных клонов с цитоплазмами W/γ и W/α в сравнении с носителями других типов цитоплазм (Lössl et al., 2000). О более высоком содержании крахмала и продолжительных сроках созревания у образцов с цитоплазмой W/γ по сравнению с Т-типом сообщают Sanetomo, Gebhardt (2015), которые отметили также более высокий уровень полевой устойчивости к фитофторозу у образцов с D-цитоплазмой в сравнении с Т-типом.

Данные о распространении различных типов цитоплазм у отечественных сортов (селекции СССР, РФ, стран ближнего зарубежья) относительно малочисленны. С использованием набора ПЦР-маркеров, разработанных Lössl с соавторами (2000), были изучены 98 отечественных сортов (Gavrilenko et al., 2007). Из них современной классификации соответствуют только 40 сортов с Т-типом. С использованием набора маркеров Hosaka, Sanetomo (2012) определены типы цитоплазм у 25 отечественных сортов, сохраняемых в зарубежных генбанках (Sane-

tomo, Gebhardt, 2015), и 28 сортов российской селекции (Гавриленко и др., 2018) (см. прил. 1). Данная работа продолжает изучение генетического разнообразия по типам цитоплазм коллекции ВИР отечественных сортов картофеля.

Материалы и методы

Материал исследования включал 185 сортов картофеля селекции РФ и стран ближнего зарубежья из коллекции ВИР (см. таблицу), для которых впервые были получены данные о типах цитоплазм, определенных с маркерами A, D, S, SAC, H1 из набора Hosaka, Sanetomo (2012). Из них у 158 сортов ранее идентифицированы типы мтДНК с использованием пары праймеров ALM_4/ALM_5, специфичных к локусу *rps10* мтДНК (Gavrilenko et al., 2007; Antonova et al., 2018). Фенотипирование мужской стерильности и молекулярный скрининг с маркерами генов *R1* и *R3a* проводили на расширенной выборке ($N = 277$) с привлечением дополнительных сортов, для которых типы цитоплазм были определены ранее (см. Прил. 1).

ДНК выделяли из листьев растений с использованием модифицированного нами метода СТАВ-экстракции (Gavrilenko et al., 2013).

Молекулярный скрининг. При идентификации типов цитоплазм использованы шесть STS/CAPS/SSR-маркеров из набора Hosaka, Sanetomo (2012) (Прил. 2).

¹ Приложения 1–10 см. по адресу:
<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2019-23/appx16.pdf>

Типы цитоплазм сортов картофеля, идентифицированные в настоящей работе по классификации Hosaka, Sanetomo (2012)

Тип цитоплазмы	N (%)	Сорта картофеля российской селекции и селекции стран ближнего зарубежья, изученные в данной работе (N = 185)
T (T/β)	N = 74 (40.0 %)	Аврора, Алиса, Аметист, Антонина, Бежицкий, Белорусский ранний, Брат-2, Брянский деликатес, Брянский надежный, Брянский ранний, Брянский приусадебный, Варсна, Василек, Вираз, Волжанин, Волжский, Вятка, Гарт, Горноуральский, Гранат, Гулливер, Дружный, Загадка, Зауральский, Зольский, Искра, Калинка, Катюша (ПОС ВИР), Кемеровский, Киви, Колпашевский, Корневский, Красавчик, Красная заря, Красная горка, Красноуфимский, Кристалл, Кустаревский, Лаймдота, Лакомка, Лекарь, Лидер, Лина, Люкс, Мусинский, Надежда, Нарт 1, Нарымка, Наука, Памяти Рогачева, Огниво, Прибрежный, Пригожий 2, Приморский (=При-12), Россиянка, Рябинушка, Русалка, Сафо, Светлячок, Северянин, Сентябрь, Синева, Смена, Солнечный, Фаленский, Филатовский, Фиолетовый, Хибинский ранний, Чайка, Шаман, Шурминский 2, Юбилейный Осетии, Юпитер, Явар
D (W/α)	N = 94 (50.8 %)	Алена, Альпинист, Амур, Антошка, Архидея, Бабушка, Барин, Барон, Башкирский, Белоснежка, Белуха, Болвинский, Большевик, Бородинский розовый, Брянский юбилейный, Букет, Былина Сибири, Веселовский 2-4, Ветеран, Виза, Вымпел, Выток, Дельфин, Диво, Дина, Донцовский, Гарант, Горняк, Горянка, Губернатор, Жаворонок, Живица, Жигулевский, Звездочка, Златка, Зов, Ирбитский, Каменский, Кемеровчанин, Кормилец, Кортни, Красавица, Красная роза, Кузнечанка, Ладожский, Лазарь, Лазурит, Ласунак, Любава, Малиновка, Манифест, Марс, Матушка, Маугли, Нальчикский, Нестеровский, Никулинский, Парус, Пранса, Престиж, Призер, Пролисок, Рамзай, Рапсодия, Рассвет, Регги, Резерв, Ромашка, Росинка, Румянка, Русич, Самбо, Сапрыкинский, Саровский, Свенский, Синтез, Скарб, Скороплодный, Солнышко, Старт, Танай, Танго, Теща, Томич, Тулеевский, Удача, Украинский розовый, Успех, Утенок, Фермер, Чая, Эффект, Югана, Юна
W/γ	N = 16 (8.7 %)	Брянский красный, Вектар, Здабытак, Ильинский, Колобок, Корона, Метеор, Москворецкий, Накра, Олимп, Погарский, Ресурс, Сокольский, Фокинский, Бармалей, Юбилей Жукова
A	N = 1 (0.5 %)	Катюша (украинской селекции)

Примечание. N – число сортов, в скобках дано их процентное содержание от общей выборки.

Молекулярный скрининг на наличие маркеров генов *R1* и *R3a*, контролирующих распецифичную устойчивость к фитофторозу, выполняли при помощи праймеров, указанных в Прил. 3.

ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 10 нг тотальной ДНК сортов картофеля, 1× реакционный буфер («Диалат», Москва), 2.5 mM MgCl₂, 0.4 mM каждого из dNTPs, 0.2 мкМ прямого и обратного праймера и 1 ед. Taq-полимеразы («Диалат»).

Амплификация. Условия ПЦР соответствовали рекомендациям разработчиков праймеров (см. Прил. 2 и 3). В ряде случаев программы были оптимизированы нами путем введения функции TOUCHDOWN. Все реакции при работе со SCAR-маркерами осуществляли не менее чем в трех повторностях.

Рестрикция. При использовании CAPS-маркеров обработку ПЦР-продуктов рестриктазой BamHI проводили в 30 мкл реакционной смеси согласно протоколам фирмы-производителя фермента («СибЭнзим», <http://russia.sibenzyme.com/>).

Электрофоретическое разделение фрагментов. ПЦР-продукты разделяли электрофорезом в горизонтальных 2 % агарозных гелях в буфере TBE с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете.

Секвенирование. Праймеры для амплификации локусов мтДНК (Прил. 4) были разработаны нами на основе полной последовательности мт-генома культурного картофеля (номер последовательности в GenBank JF772172.1) при помощи программного обеспечения Primer3Plus. Амплифицированные фрагменты были секве-

нированы по методу Сэнгера на приборе ABI 3500x. Высокпроизводительное секвенирование (NGS) осуществляли по технологии компании Illumina на приборе Illumina MiSeq (США) с использованием набора реактивов MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle) с двусторонним чтением (2×300 н).

Оценка мужской фертильности растений. Фертильность пыльцы (ФП) оценивали с применением ацетокарминового метода; для каждого генотипа просматривали не менее 300 пыльцевых зерен в двух повторностях. Препараты окрашенных пыльцевых зерен анализировали под световым микроскопом Axio Scope.A1 (Zeiss, Германия) при увеличении ×200. Кроме того, были выполнены контролируемые скрещивания в 28 комбинациях, в которых опылителями служили 15 сортов с D-типом цитоплазмы, а материнскими растениями – сорта с разными типами цитоплазм; у них удаляли еще не созревшие пыльники, после чего на кастрированные цветки сразу надевали изоляторы.

Статистическая обработка. Достоверность различий между тремя группами сортов с T-, D-, W/γ-типами цитоплазм по хозяйственно ценным признакам и по частоте встречаемости маркеров генов *R1* и *R3a* устойчивости к возбудителю фитофтороза оценивали методами непараметрической статистики в программе StatSoft Statistica 13.3 (Халафян, 2010) с использованием критериев Краскала–Уоллиса (Kruskal–Wallis ANOVA by Ranks) и Манна–Уитни (Mann–Whitney U test) при уровне значимости 5 %. Данные оценки содержания крахмала и сроков созревания (скороспелости), а также полевой устойчиво-

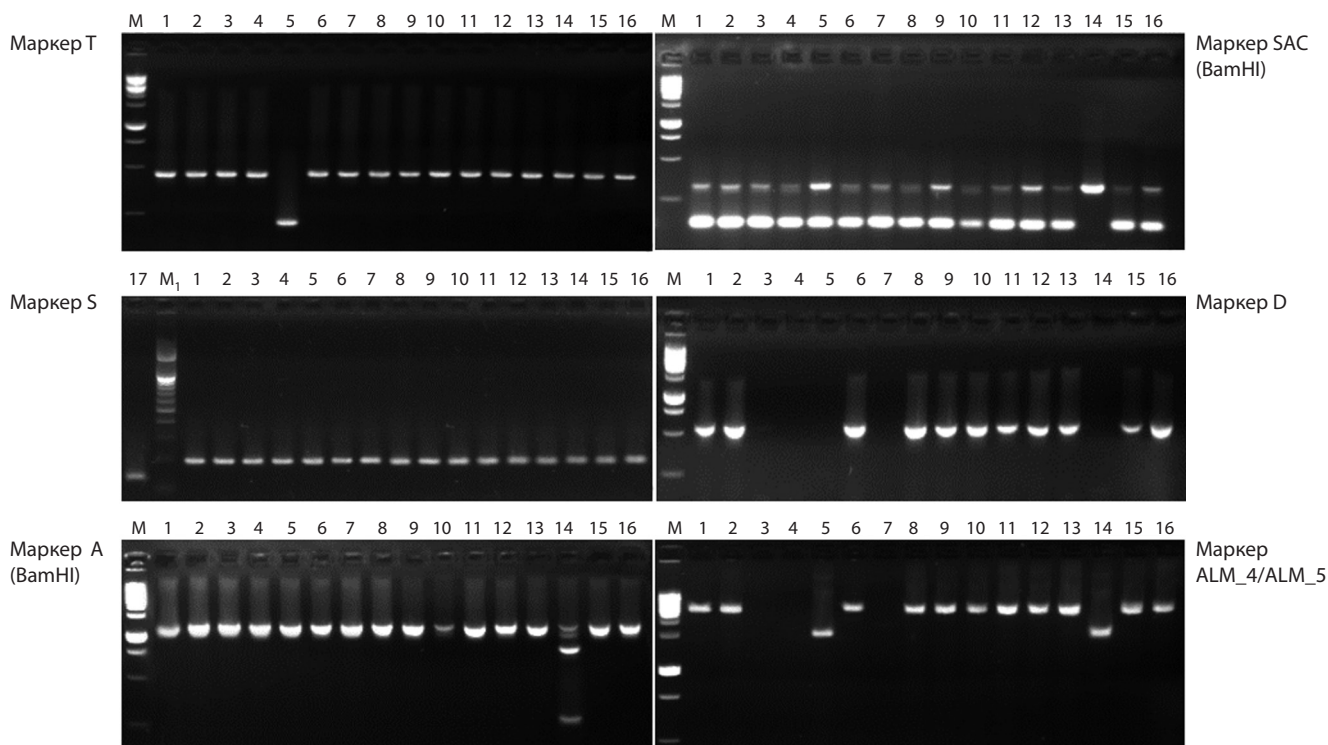


Рис. 2. Определение типов цитоплазмы у сортов картофеля при помощи маркеров из набора Hosaka, Sanetomo (2012).

Сорта (в скобках указан тип цитоплазмы): 1 – Манифест (D), 2 – Престиж (D), 3 – Колобок (W/γ), 4 – Накра (W/γ), 5 – Аврора (T), 6 – Синтез (D), 7 – Олимп (W/γ), 8 – Танай (D), 9 – Златка (D), 10 – Ромашка (D), 11 – Самбо (D), 12 – Томич (D), 13 – Успех (D), 14 – Катюша (A), 15 – Фермер (D), 16 – Альпинист (D); 17 – контрольная проба (*S. phureja* k-9386 с R-типом цитоплазмы с делецией 48 п. о.); M – маркер молекулярного веса «Сибэнзим 1 kb»; M₁ – маркер молекулярного веса «Сибэнзим 100 bp + 1500».

сти листьев к фитофторозу взяты из «Государственного реестра селекционных достижений...» (2010–2018) и каталогов сортов картофеля разных лет.

Результаты

Определение типов цитоплазм сортов картофеля

Результаты идентификации типов цитоплазм у 185 селекционных сортов картофеля представлены в таблице и на рис. 2. Из всей выборки только у сорта Катюша (украинской селекции) отсутствовал сайт BamHI в ПЦР-продукте праймеров SAC (локус *cemA* хлДНК); по результатам дальнейшего рестрикционного анализа у него был детектирован фертильный A-тип цитоплазмы (см. рис. 1 и 2, таблицу). Отметим, что среди российских сортов есть одноименный сорт Катюша селекции Полярной ОС ВИР с T-типом цитоплазмы. У остальных 184 сортов детектирован рестрикционный сайт BamHI в ПЦР-продукте праймеров SAC (см. рис. 1), следовательно, они относятся к комплексу сортов с T-, D- и W/γ-типами цитоплазм, которые, согласно классификации Hosaka, Sanetomo (2012), ассоциированы с проявлением мужской стерильности. По результатам их последующей дифференциации, 74 сорта имели специфическую делецию 241 п. о. в межгенном спейсере *ndhC/trnV* хлДНК, детектирующую T-тип хлДНК, а также β-тип мтДНК (см. таблицу и рис. 2).

При идентификации D-типа цитоплазмы в ПЦР-анализе использовали две пары праймеров, разработанные для амплификации двух разных районов (Region 1 и Region 2)

химерного фрагмента *Band1*. Результаты скрининга с обеими парами праймеров полностью совпали. Около половины изученной выборки – 94 из 185 сортов имели D-тип цитоплазмы (см. таблицу), что указывает на их происхождение от *S. demissum* по материнской линии. У всех сортов с D-типом цитоплазмы пара праймеров ALM_4/ALM_5 детектирует α-тип мтДНК. Одновременно все эти сорта обладали и «настоящим W-типом» хлДНК: в ПЦР-продукте праймеров SAC имели рестрикционный сайт BamHI, но при этом не имели рестрикционного сайта BamHI в ПЦР-продукте праймеров A и делеции 241 п. о. в межгенном спейсере *ndhC/trnV* хлДНК (см. рис. 1 и 2).

У оставшихся 16 сортов с «настоящим W-типом» хлДНК ПЦР-продукты для фрагмента *Band1* не были выявлены, следовательно, они не обладали D-типом цитоплазмы (см. рис. 1 и 2, таблицу). Поскольку у этих же сортов ранее нами был определен γ-тип мтДНК по отсутствию амплификации с праймерами ALM_4/ALM_5 (Antonova et al., 2018), можно заключить, что они имеют W/γ-тип цитоплазмы.

Таким образом, в изученной выборке не выявлены сорта с фертильными типами цитоплазм, за исключением единственного (0.5 %) сорта Катюша украинской селекции (A-тип), что подтвердило результат, полученный в работах (Hosaka, Sanetomo, 2012; Sanetomo, Gebhardt, 2015), где анализировался данный сорт. Остальные 99.5 % сортов выборки обладают тремя типами цитоплазм: T, D и W/γ (см. таблицу), которые, согласно Hosaka, Sanetomo (2012), ассоциированы с мужской стерильностью. В связи

с этим мы провели фенотипизацию по признаку мужской стерильности растений, участвовавших в молекулярном скрининге.

Изучение мужской стерильности растений

Фертильность пыльцы оценили у 121 сорта из расширенной выборки (см. Прил. 1): 45 сортов с Т-типом цитоплазмы, 60 – с D- и 16 сортов с W/γ-типом. 26.7 % сортов с цитоплазмой Т-типа формировали неокрашенные, морфологически аномальные пыльцевые зерна, среди них: Брянский ранний, Голубизна, Зольский, Лорх, Прибрежный, Русалка, Северянин. У 28.9 % сортов ФП была выше 60 %; у остальных – варьировала от 15 до 60 %, при этом отмечена существенная изменчивость ФП в разные годы.

Из 16 сортов со стерилизующим W/γ-типом цитоплазмы тетрадная мужская стерильность отмечена у 14 (87.5 %). Проявление данного признака варьировало. Например, у сортов Москворецкий, Накра, Олимп, Сокольский, Юбилей Жукова до 100 % зрелых пыльцевых зерен оставались объединенными в «перманентные тетрады» (рис. 3, а).

У сортов Брянский красный, Погарский, Корона на фоне стерильных монад наблюдалось около 50 % «перманентных тетрад», у сортов Колобок, Ресурс – до 20 % «перманентных тетрад». Исключением являются сорта Бармалей и Фокинский с неизвестной родословной, образующие только монады, из которых до 70 % окрашивались ацетокармином и имели нормальную морфологию (см. рис. 3, б).

У сортов с D-типом цитоплазмы *S. demissum* ФП варьировала от 20 до 80 %. Поскольку Hosaka, Sanetomo (2012) отмечали функциональную стерильность пыльцы у носителей этого типа цитоплазмы, мы провели 28 комбинаций контролируемых скрещиваний, в которых сорта с цитоплазмой D-типа использовались в качестве опылителей. Фактически все скрещивания (кроме комбинаций с сортом Сказка) оказались результативными, что свидетельствует о функциональной фертильности пыльцы у 14 из 15 опылителей с цитоплазмой D-типа *S. demissum* (Прил. 5).

Молекулярный скрининг с маркерами генов *R1* и *R3a*, интрогрессированных в селекционный генофонд от *S. demissum*, выполнен для проверки предположения о том, что при наличии функциональной мужской стерильности у носителей цитоплазмы D-типа, участвовавших в создании сортов, маркеры генов *R1* и *R3a* должны встречаться только у сортов с цитоплазмой *S. demissum*, а в случае мужской фертильности таких форм – у сортов с разными типами цитоплазм. По результатам молекулярного скрининга маркеры генов *R1* и/или *R3a* были выявлены у носителей разных типов цитоплазм примерно в равном соотношении (Прил. 6).

Таким образом, в трех группах сортов с цитоплазмами Т, D, W/γ обнаружены и генотипы с мужской стерильностью, и генотипы с мужской фертильностью, что может быть обусловлено спецификой ядерно-цитоплазматических взаимодействий, а также полиморфизмом локусов мт-ДНК, ассоциированных с признаком ЦМС.

Изучение полиморфизма локусов мтДНК. На основании результатов изучения признака мужской стерильности были отобраны 15 образцов, из которых сформировали три группы с цитоплазмами Т, D и W/γ, включив в

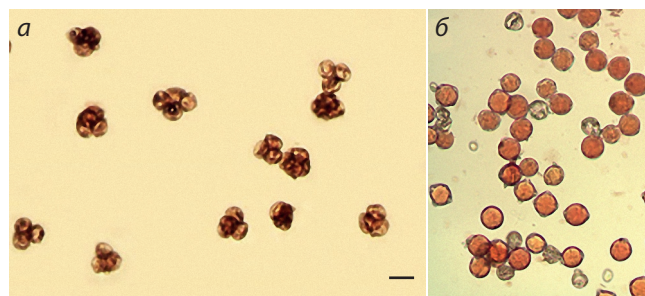


Рис. 3. Тетрадная стерильность пыльцы у сорта Москворецкий (а) и пыльцевые зерна у сорта Фокинский (б). Оба сорта имеют W/γ-тип цитоплазмы.

каждую из них как мужскостерильные, так и фертильные генотипы. Методом прямого секвенирования у них были проанализированы восемь локусов мт-генома (фрагменты генов *atp6*, *atp9*, *cox2*, *CcmFc*, *nad2*, *nad7*, *rps3* и межгенный спейсер *nad1/atp6*), полиморфизм в которых часто ассоциирован с ЦМС у разных видов растений (Ducos et al., 2001; Kim D.H., Kim B.-D., 2006; Das et al., 2010; Liu et al., 2011). Для амплификации этих восьми локусов нами разработаны восемь пар праймеров, их последовательности приведены в Прил. 4. У всех изученных 15 генотипов, независимо от типа цитоплазмы и проявления признака мужской стерильности/фертильности, последовательности локусов *nad2*, *nad7*, *cox2*, *atp6*, *CcmFc* были идентичны и совпадали с соответствующими участками полной последовательности мт-генома культурного картофеля JF772172.1. В локусах *rps3*, *atp9*, *CcmFc* были обнаружены индели/замены нуклеотидов, которые, однако, не ассоциированы с признаком мужской стерильности. В локусах *nad1/atp6* и *nad2* (второй интрон) выявлены однонуклеотидные замены, дифференцирующие семь образцов с цитоплазмой W/γ на две группы: пять генотипов с тетрадной мужской стерильностью и два – с фертильной пыльцой. Во втором интроне гена *nad2* (положение 216310 в комплементарной нити последовательности JF772172.1) обнаружена трансверсия А→С: у стерильных генотипов присутствует SNP-вариант «А», а у фертильных – «С» (рис. 4, а). В межгенном спейсере *nad1/atp6* в положении 48923 у стерильных генотипов обнаружен SNP-вариант «Т», а у фертильных – «G» (см. рис. 4, б). У образцов с цитоплазмами Т- и D-типов, независимо от проявления признака мужской стерильности/фертильности, последовательности этих двух локусов были одинаковы.

Указанные два SNP-варианта были определены при исследовании ограниченного числа (7) генотипов с W/γ-типом цитоплазмы. Чтобы подтвердить их ассоциацию с тетрадной стерильностью, мы провели NGS-анализ локусов *nad2* и *nad1/atp6* на большей выборке образцов различного происхождения. В анализ дополнительно были включены 12 сортов российской и европейской селекции с цитоплазмой W/γ-типа, созданных на основе *S. stoloniferum*, и 10 селекционных клонов с цитоплазмой W/γ-типа, полученных на основе мексиканского вида *S. guerreroense* (Зотеева и др., 2017). Из этих образцов были сформированы три bulk-пробы, каждая из которых

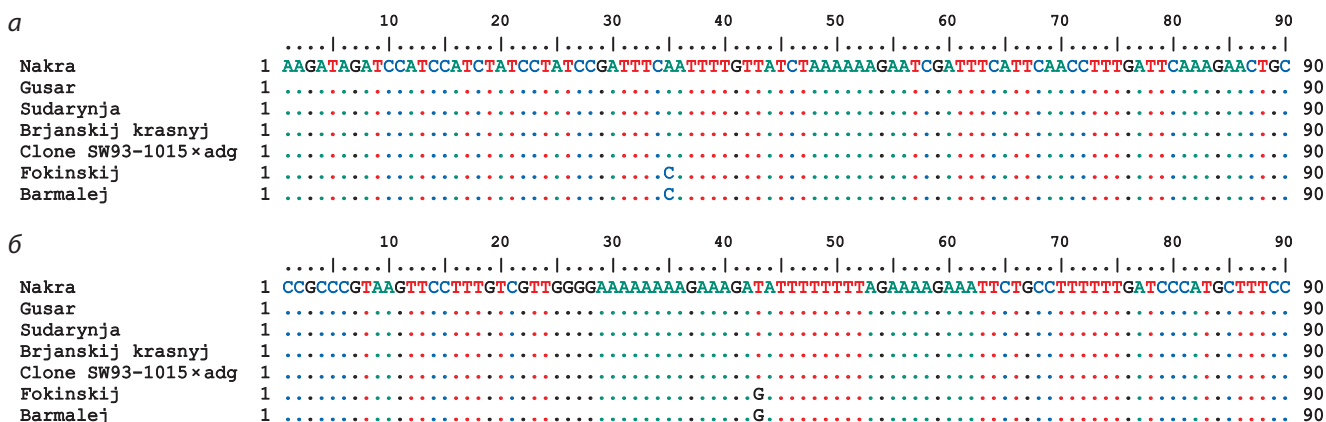


Рис. 4. Выравнивание фрагментов второго интрона гена *nad2* (а) и межгенного спейсера *nad1/atp6* (б) у семи образцов с цитоплазмой W/γ-типа. Генотипы с тетрадной стерильностью: сорта Накра, Гусар, Сударыня, Брянский красный и селекционный клон SW93-1015×adg (Зотеева и др., 2017); генотипы с фертильными пыльцевыми зёрнами, формирующие только монады: сорта Фокинский, Бармалей.

объединяла генотипы с W/γ-типом цитоплазмы сходного происхождения и с одинаковым проявлением признака мужской стерильности или мужской фертильности (Прил. 7). Результаты NGS-анализа подтвердили ассоциацию SNP-вариантов «А» в локусе *nad2* (в положении 216310) и «Т» в спейсере *nad1/atp6* (в положении 48923) с тетрадной мужской стерильностью у всех изученных генотипов. При этом для каждой bulk-пробы в полиморфном сайте обнаружены также минорные митотипы, что может объясняться или гетерогенностью bulk-пробы, или же гетероплазматическим состоянием анализируемых генотипов – наличием в клетках растений разных вариантов мтДНК в субстехиометрических количествах.

Для выяснения причин наблюдаемой гетерогенности мы разработали CAPS-маркер Int2NAD2/Sse9I (F: GGGCTTCTTGCTACGCTACA; R: TTAAGCCTGGGCGAAGATGG, с последующей рестрикцией Sse9I) полиморфного SNP-сайта A/C в интроне гена *nad2*. Этот маркер позволяет отличать сайт AATT (генотипы с тетрадной стерильностью) от сайта CATТ (генотипы с фертильной пыльцой и цитоплазмой W/γ). Каждый из 28 отобранных образцов был проанализирован с данным маркером индивидуально, при этом все bulk-пробы оказались однородными: входящие в них образцы имели рестрикционный сайт, соответствующий основной нуклеотиде для данной группы (см. Прил. 7). Таким образом, полиморфизм SNP-вариантов во втором интроне гена *nad2* объяснялся наличием разных митотипов в субстехиометрических количествах.

Различия сортов с разными типами цитоплазм по селекционно-ценным признакам. Попарное сравнение групп сортов с разными типами цитоплазм по U-критерию Манна–Уитни и критерию Краскала–Уоллиса показало отсутствие достоверных различий по содержанию крахмала, полевой устойчивости листьев к фитофторозу, встречаемости маркеров генов *R1* и *R3a* и наличие достоверных отличий по устойчивости клубней к фитофторозу между тремя группами сортов ($p = 0.044$), при более высокой устойчивости сортов с W/γ цитоплазмой. По критерию Манна–Уитни отличия по скороспелости между сортами с D- (средний балл 6.4) и W/γ-типом (средний балл 5.5)

цитоплазм достоверны ($p = 0.037$), но по критерию Краскала–Уоллиса различия несутельны.

Обсуждение

Согласно литературным данным, более 90 % зарубежных (западноевропейских, североамериканских и японских) селекционных сортов картофеля обладают тремя типами цитоплазм – T, D и W/γ (см. Прил. 1), ассоциированными с различными проявлениями мужской стерильности. Частота встречаемости сортов с цитоплазмами A, M, W/β, W/α (без маркера D) суммарно не превышает 10 % (Hosaka, Sanetomo, 2012; Sanetomo, Gebhardt, 2015). Сходные результаты получены и в настоящей работе для сортов картофеля селекции РФ и стран ближнего зарубежья: 99.5 % из 185 сортов обладают тремя типами цитоплазм – T (40.0 %), D (50.8 %), W/γ (8.7 %). Не выявлено сортов с фертильными типами цитоплазм, за исключением единственного сорта Катюша украинской селекции (A-тип, 0.5 %). Сопоставление полученных результатов с нашими предыдущими и с литературными данными (Gavrilenko et al., 2007; Sanetomo, Gebhardt, 2015; Гавриленко и др., 2018) позволило увеличить число отечественных сортов в выборке до 277, однако характер дифференциации по типам цитоплазм сохранился: T (48.4 %), D (44.4 %) и W/γ (6.8 %), A (0.4 %). В расширенной выборке мы не обнаружили сортов с A- и P-типами цитоплазм, типичными для тетра- и диплоидных андийских культурных видов, и сортов с M-, W/β, W/α (без маркера D) цитоплазмами, характерными для родственных диких южноамериканских видов картофеля, часто используемых в селекции: *S. acaule*, *S. spagazzinii* и *S. sparsipilum* (= *S. brevicaule*). В то же время у многих сортов расширенной выборки ранее были определены маркеры ядерных R-генов устойчивости к вредным организмам – *H1*, *Gpa2*, *Gro1-4*, *Rx1*, *Rx2*, *Ry_{adg}*, перенесенных в селекционный генофонд от перечисленных выше видов (Гавриленко и др., 2009, 2018; Бирюкова и др., 2015; Антонова и др., 2016; Клименко и др., 2017, 2019), что можно объяснить мужской фертильностью гибридов, которые, как и исходные культурные и дикие южноамериканские виды, участвовали в скрещиваниях в качестве опылителей (Ochoa, 2004).

Широкое распространение Т-типа цитоплазмы, особенно среди старых селекционных сортов, связано, с одной стороны, с его положительным влиянием на урожайность (Plaisted, 1972) и, с другой – с использованием в селекции носителей этого типа цитоплазмы в качестве материнских форм из-за проявления признака мужской стерильности (Grun et al., 1977). К концу XX в., когда межвидовая гибридизация стала основным методом расширения генетического разнообразия селекционного материала, частота встречаемости сортов с цитоплазмой Т-типа резко снизилась, тогда как частота сортов с цитоплазмой диких мексиканских видов (D и W/γ) возросла (Прил. 8). При этом отметим, что в отечественном генофонде сорта с цитоплазмой D-типа от *S. demissum* встречаются в два-три раза чаще по сравнению с изученными выборками западноевропейских и японских сортов (см. Прил. 1).

Распространение в селекционном генофонде цитоплазм диких мексиканских видов обусловлено односторонней межвидовой несовместимостью (как правило, *S. demissum* и *S. stoloniferum* участвуют в межвидовых скрещиваниях с культурным картофелем как материнские формы), а также мужской стерильностью полученных гибридных форм (Dionne, 1961; Irikura, 1968; Song, Schwarzfischer, 2008; Hosaka, Sanetomo, 2012; Гавриленко, Ермишин, 2017). Поэтому при интрогрессии ядерных генов расоспецифичной устойчивости к фитофторозу (*R1–R3*, *R4*, *R8*, *R10*) от *S. demissum* и генов *Ry_{sto}*/*Ryf_{sto}* устойчивости к вирусу Y от *S. stoloniferum* в селекционный генофонд одновременно непреднамеренно передавались и цитоплазматические детерминанты диких мексиканских видов.

Согласно литературным данным, W/γ-, D- и Т-типы цитоплазм специфическим образом влияют на признак мужской фертильности/стерильности, вызывая соответственно тетрадную стерильность, функциональную стерильность пыльцы, нарушения развития репродуктивных органов (Hosaka, Sanetomo, 2012). По результатам фенотипизации, выполненной в настоящей работе, в каждой из трех групп отечественных сортов с цитоплазмами Т, D и W/γ были выявлены не только мужскостерильные, но и высокофертильные генотипы. Мужская фертильность у носителей Т-типа цитоплазмы объясняется в литературе наличием доминантного аллеля гена *Rt* (male fertility restorer gene), а для ряда межвидовых комбинаций – гомозиготностью (*ms/ms*) по рецессивному аллелю гена *Ms* (male sterility gene) (Iwanaga et al., 1991; Ortiz et al., 1993; Mihovilovich et al., 2015). Среди сортов с цитоплазмой Т-типа встречаются эффективные опылители, послужившие отцовскими формами при создании многих отечественных сортов, например, Аврора, Дина, Зарево, Камераз, Приекульский ранний, Смена, Шурминский 2 (см. таблицу и Прил. 1).

Результаты проведенных нами контролируемых скрещиваний с сортами-опылителями, имеющими D-тип цитоплазмы, не согласуются с литературными источниками о функциональной стерильности пыльцы у носителей цитоплазмы *S. demissum*. Косвенным подтверждением мужской фертильности сортов с цитоплазмой D-типа являются и данные молекулярного скрининга с маркерами ядерных генов *R1* и *R3a* расоспецифичной устойчивости к фитофторозу, интрогрессированных в селекционный генофонд от *S. demissum*. Маркеры этих генов были де-

тектированы у сортов с цитоплазмами D-, Т- и W/γ-типов, что может быть связано с использованием в селекционном процессе доноров генов *R1* и *R3a* (носителей цитоплазмы D-типа) в качестве опылителей (Прил. 9).

Напротив, маркеры генов устойчивости к вирусу Y картофеля – *Ry_{sto}* и *Ryf_{sto}* – встречаются только у носителей цитоплазмы W/γ от *S. stoloniferum* (Flis et al., 2005; Song, Schwarzfischer, 2008; Гавриленко и др., 2018; Antonova et al., 2018) (Прил. 10), что свидетельствует о стерилизующем эффекте этого типа цитоплазмы. Анализ полученных результатов и литературных данных (Song, Schwarzfischer, 2008) позволяет заключить, что все генотипы с тетрадной стерильностью пыльцы имеют W/γ-тип цитоплазмы. С другой стороны, среди носителей этого типа цитоплазмы могут быть выявлены немногочисленные генотипы с фертильной пыльцой, несущие цитоплазму других диких видов, например *S. vernei*, как показано в работе (Hosaka, Sanetomo, 2012). В нашем исследовании два (12,5 %) из 16 сортов с W/γ цитоплазмой формировали фертильную пыльцу. Не исключено, что в их родословной с материнской стороны могли также участвовать образцы южноамериканских видов *S. vernei* или *S. chacoense*, у которых детектирован W/γ-тип цитоплазмы (Hosaka, Sanetomo, 2012).

Нам удалось дифференцировать стерильные и мужскостерильные образцы с W/γ-типом цитоплазмы по однонуклеотидным заменам в двух локусах мт-ДНК (*nad1/atp6* и *nad2*). Разработанный нами CAPS-маркер Int2NAD2/Sse9I может быть использован в дальнейшем для дополнительной дифференциации W/γ цитоплазмы и отбора мужскостерильных/фертильных генотипов. Для изучения гетероплазматического состояния мтДНК у генотипов картофеля со стерилизующим W/γ-типом цитоплазмы впервые был применен метод NGS-анализа. Показано, что гетероплазматическое состояние характерно как для генотипов с тетрадной мужской стерильностью (у которых найден минорный вариант мтДНК, свойственный генотипам с фертильной пыльцой), так и для фертильных сортов (у которых найден минорный митотип образцов с тетрадной стерильностью пыльцы). Значение субстехиометрических количеств различных митотипов в реализации ЦМС фенотипа показано для разных объектов: *Pennisetum glaucum* (Feng et al., 2009), *Beta vulgaris* (Брагин и др., 2011), *Brassica napus* (Chen et al., 2011), *Oryza sativa* (Bentolila, Stefanov, 2012) и др.

Заключение

Можно констатировать, что отечественные сорта картофеля и стран ближнего зарубежья, как и селекционный генофонд зарубежных стран, представлены в основном растениями с цитоплазмами Т, D, W/γ и фактически не включают генотипы с фертильными типами цитоплазм. Очевидно, что ранее селекционеры не уделяли внимания этому признаку, поскольку для возделываемого картофеля *S. tuberosum* характерен вегетативный тип размножения. Попарное сравнение групп сортов с разными типами цитоплазм не выявило статистически значимых различий ряда хозяйственно ценных признаков, за исключением более высокой устойчивости к фитофторозу клубней сортов с W/γ-типом цитоплазмы.

Анализ литературных данных и полученных в настоящем исследовании результатов позволяет заключить, что известные цитоплазматические маркеры картофеля недостаточно информативны для отбора генотипов с разными типами мужской стерильности/фертильности. Можно полагать, что после идентификации генов картофеля *Rt* и *Ms* эффективность исследований в этом направлении возрастет. Кроме того, необходима дальнейшая разработка маркеров для более подробного типирования локусов митохондриальной ДНК, вовлеченных в контроль мужской стерильности. Изучение генетических систем ЦМС-*Rf* и развитие методов молекулярного маркирования стерилизующих типов цитоплазм и генов восстановителей фертильности расширяют перспективы нового направления – гетерозисной гибридной селекции картофеля, а также представляют интерес для традиционных направлений селекции, повышая эффективность подбора пар для скрещиваний, в том числе для пирамидирования в одном генотипе генов, определяющих селекционно-ценные признаки.

Список литературы / References

- Анисимова И.Н., Гавриленко Т.А. Цитоплазматическая мужская стерильность и перспективы ее использования в селекционно-генетических исследованиях и семеноводстве картофеля. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):83-95. DOI 10.18699/VJ17.226.
- [Anisimova I.N., Gavrilenko T.A. Cytoplasmic male sterility and prospects for its utilization in potato breeding, genetic studies and hybrid seed production. Russ. J. Genet.: Appl. Res. 2017;7(7):721-735. DOI 10.1134/S2079059717070024.]
- 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.
- [Antonova O.Y., Shvachko N.A., Novikova L.Y., Shvalov O.Y., Kostina L.I., Klimenko N.S., Shvalova A.R., Gavrilenko T.A. Genetic diversity of potato varieties bred in Russia and its neighboring countries based on the polymorphism of SSR-loci and markers associated with resistance *R*-genes. Russ. J. Genet.: Appl. Res. 2017;7(5):489-500. DOI 10.1134/S2079059717050021.]
- Бекетова М.П., Хавкин Э.Е. Ген *R1* устойчивости к фитофторозу у восприимчивых и устойчивых сортов картофеля. С.-х. биология. 2006;3:109-114.
- [Beketova M.P., Khavkin E.E. The *R1* gene of late blight resistance in susceptible and resistant potato cultivars. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 2006;3:109-114. (in Russian)]
- Бирюкова В.А., Шмыгля И.В., Абросимова С.Б., Запекина Т.И., Мелешин А.А., Митюшкин А.В., Мананков В.В. Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКС с использованием молекулярных маркеров. Защита картофеля. 2015;1:3-7.
- [Biryukova V.A., Shmyglya I.V., Abrosimova S.B., Zapekina T.I., Meleshin A.A., Mityushkin A.V., Manankov V.V. Search for sources of genes for resistance to pathogens among samples of breeding and genetic collections of the Lorch Potato Research Institute using molecular markers. Zashchita Kartofelya = Potato Protection. 2015;1:3-7. (in Russian)]
- Брагин А.Г., Иванов М.К., Федосеева Л.А., Дымшиц Г.М. Анализ гетероплазматического состояния митохондриальной ДНК фертильных и мужскостерильных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris*). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011;15(3):524-530.
- [Bragin A.G., Ivanov M.K., Fedoseeva L.A., Dymshits G.M. Analysis of mitochondrial DNA heteroplasmy of fertile and male-sterile sugar beet plants (*Beta vulgaris*). Russ. J. Genet.: Appl. Res. 2012;2(1):53-57. DOI 10.1134/S2079059712010030.]
- Гавриленко Т.А., Афанасенко О.С., Антонова О.Ю., Рогозина Е.В., Хютти А.В., Шувалов О.Ю., Исламшина А.Р., Чалая Н.А. Разработка технологии оценки генетического разнообразия культурных и диких видов картофеля по устойчивости к вирусным заболеваниям и к раку на основе современных молекулярно-генетических и фитопатологических методов. В: Материалы конф. «Ориентированные фундаментальные исследования и их реализация в АПК России», 28–30 окт. 2009 г. 2009;94-100.
- [Gavrilenko T.A., Afanasenko O.S., Antonova O.Ju., Rogozina E.V., Hjutti A.V., Shvalov O.Ju., Islamshina A.R., Chalaya N.A. Development of a protocol for assessing the genetic diversity of cultivated and wild potato species for resistance to viral diseases and cancer based on modern molecular and phytopathological methods. In: Proceedings of the conference "Targeted Basic Studies and their Implementation in the Agricultural Sector of Russia". 2009;94-100. (in Russian)]
- Гавриленко Т.А., Ермишин А.П. Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):16-29. DOI 10.18699/VJ17.220.
- [Gavrilenko T.A., Yermishin A.P. Interspecific hybridization of potato: theoretical and applied aspects. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):16-29. DOI 10.18699/VJ17.220. (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.
- [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. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(1):35-45. DOI 10.18699/VJ18.329. (in Russian)]
- Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. 2010–2018. Available at: <http://reestr.gossort.com/> [State Register of Selection Achievements Authorized for Use for Production Purposes, 2010–2018. Available at: <http://reestr.gossort.com/> (in Russian)]
- Зотеева Н.М., Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Апаликова О.В., Карлсон-Нилссон У., Карабицина Ю.И., Ухатова Ю.В., Гавриленко Т.А. Использование молекулярных маркеров *R* генов и типов цитоплазмы при интрогрессивной гибридизации диких полиплоидных мексиканских видов картофеля. С.-х. биология. 2017;52(5):964-975. DOI 10.15389/agrobiology.2017.5.964rus.
- [Zoteyeva N.M., Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Apalikova O.V., Carlson-Nilsson U., Karabitsina Yu.I., Ukhatoeva Yu.V., Gavrilenko T.A. Facilitation of introgressive hybridization of wild polyploid mexican potato species using DNA markers of *R* genes and of different cytoplasmic types. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 2017;52(5):964-975. DOI 10.15389/agrobiology.2017.5.964rus. (in Russian)]
- Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Костина Л.И., Мамадбокирова Ф.Т., Гавриленко Т.А. Маркер-опосредованная селекция отечественных сортов картофеля с маркерами генов устойчивости к золотистой картофельной нематоде (патотип Ro1). Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции. 2017;178(4):66-75. DOI 10.30901/2227-8834-2017-4-66-75.

- [Klimenko N.S., Antonova O.Y., Kostina L.I., Mamadbokirova F.T., Gavrilenko T.A. Marker-associated selection of Russian potato varieties with using markers of resistance genes to the golden potato cyst nematode (pathotype Ro1). Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Selektzii = Proceedings on Applied Botany, Genetics, and Breeding. 2017;178(4):66-75. DOI 10.30901/2227-8834-2017-4-66-75. (in Russian)]
- Клименко Н.С., Гавриленко Т.А., Костина Л.И., Мамадобкирова Ф.Т., Антонова О.Ю. Поиск источников устойчивости к *Globodera pallida* и к вирусу X картофеля в коллекции отечественных сортов картофеля с использованием молекулярных маркеров. Биотехнология и селекция растений. 2019;2(1):42-48. DOI 10.30901/2658-6266-2019-1-42-48.
- [Klimenko N.S., Gavrilenko T.A., Kostina L.I., Mamadbokirova F.T., Antonova O.Yu. Search for resistance sources to *Globodera pallida* and Potato Virus X in the collection of potato varieties using molecular markers. Biotechnologiya i Selektsiya Rasteniy = Plant Biotechnology and Breeding. 2019;2(1):42-48. DOI 10.30901/2658-6266-2019-1-42-48. (in Russian)]
- Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. М.: Бинум, 2010.
- [Khalafyan A.A. Statistica 6. Statistical Data Analysis. Moscow: Binom Publ., 2010. (in Russian)]
- Anisimova I.N., Alpatieva N.V., Karabitsina Y.I., Gavrilenko T.A. Nucleotide sequence polymorphism in the *RFL-PPR* genes of potato. J. Genet. 2019;98:87. DOI 10.1007/s12041-019-1130-1.
- 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. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6): 693-702. DOI 10.18699/VJ18.412.
- Ballvora A., Ercolano M.R., Weiss J., Meksem K., Bormann C.A., Oberhagemann P., Salamini F., Gebhardt C. 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. 2002; 30(3):361-371. DOI 10.1046/j.1365-3113X.2001.01292.x.
- Bentolila S., Stefanov S. A reevaluation of rice mitochondrial evolution based on the complete sequence of male-fertile and male-sterile mitochondrial genomes. Plant Physiol. 2012;158(2):996-1017. DOI 10.1104/pp.111.190231.
- Bryan G.J., McNicoll J., Ramsay G., Meyer R.C., De Jong W.S. Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants. Theor. Appl. Genet. 1999;99(5):859-867. DOI 10.1007/s001220051306.
- Chen J., Guan R., Chang S., Du T., Zhang H., Xing H. Substoichiometrically different mtotypes coexist in mitochondrial genomes of *Brassica napus* L. PLoS One. 2011;6(3):e17662. DOI 10.1371/journal.pone.0017662.
- Das S., Sen S., Chakraborty A., Chakraborti P., Maiti M.K., Basu A., Basu D., Sen S.K. An unedited 1.1 kb mitochondrial *orfB* gene transcript in the Wild Abortive Cytoplasmic Male Sterility (WA-CMS) system of *Oryza sativa* L. subsp. *indica*. BMC Plant Biol. 2010; 10(1):39. DOI 10.1186/1471-2229-10-39.
- De Vries M., ter Maat M., Lindhout P. The potential of hybrid potato for East-Africa. Open Agriculture. 2016;1(1):151-156. DOI 10.1515/opag-2016-0020.
- Dionne L.A. Cytoplasmic sterility in derivatives of *Solanum demissum*. Am. Potato J. 1961;38(4):117-120. DOI 10.1007/BF02870217.
- Ducos E., Touzet P., Boutry M. The male sterile G cytoplasm of wild beet displays modified mitochondrial respiratory complexes. Plant J. 2001;26(2):171-180. DOI 10.1046/j.1365-3113x.2001.01017.x.
- Feng X., Kaur A.P., Mackenzie S.A., Dweikat I.M. Substoichiometric shifting in the fertility reversion of cytoplasmic male sterile pearl millet. Theor. Appl. Genet. 2009;118(7):1361-1370. DOI 10.1007/s00122-009-0986-5.
- Flis B., Hennig J., Strzelczyk-Żyta D., Gebhardt C., Marczewski W. The *Ry-f_{sto}* gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to *Potato virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122₇₁₈ in PVY resistant potato cultivars. Mol. Breed. 2005;15(1):95-101. DOI 10.1007/s11032-004-2736-3.
- Gavrilenko T.A., Antonova O.Yu., Kostina L.I. Study of genetic diversity in potato cultivars using PCR analysis of organelle DNA. Russ. J. Genet. 2007;43(11):1301-1305. DOI 10.1134/S1022795407110130.
- 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(7):1997-2015. DOI 10.1007/s10722-013-9968-1.
- Gebhardt C., Ballvora A., Walkemeier B., Oberhagemann P., Schüller K. Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. Mol. Breed. 2004;13(1):93-102. DOI 10.1023/B:MOLB.0000012878.89855.df.
- Grun P., Aubertin M., Radlow A. Multiple differentiation of plasmons of diploid species of *Solanum*. Genetics. 1962;47(10):1321-1333.
- Grun P., Ochoa C., Capage D. Evolution of cytoplasmic factors in tetraploid cultivated potatoes (*Solanaceae*). Am. J. Bot. 1977;64(4):412-420. DOI 10.2307/2441770.
- Hosaka K. Who is the mother of the potato? – restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA of cultivated potatoes. Theor. Appl. Genet. 1986;72(5):606-618. DOI 10.1007/BF00288998.
- Hosaka K. T-type chloroplast DNA in *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* was conferred from some populations of *S. tarijense* Hawkes. Am. J. Potato Res. 2003;80(1):21-32. DOI 10.1007/BF02854553.
- Hosaka K., Sanetomo R. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. Theor. Appl. Genet. 2012;125(6):1237-1251. DOI 10.1007/s00122-012-1909-4.
- Hosaka K., Sanetomo R. Application of a PCR-based cytoplasm genotyping method for phylogenetic analysis in potato. Am. J. Potato Res. 2014;91(3):246-253. Publ. online 2013; DOI 10.1007/s12230-013-9344-x.
- Huang S., van der Vossen E.A.G., Kuang H., Vleeshouwers V.G., Zhang N., Borm T.J.A., van Eck H.J., Baker B., Jacobsen E., Visser R.G.F. Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. Plant J. 2005;42(2):251-261. DOI 10.1111/j.1365-3113X.2005.02365.x.
- Irikura Y. Studies on interspecific crosses of tuber-bearing *Solanums*. I. Overcoming cross-incompatibility between *Solanum tuberosum* and other *Solanum* species by mean of induced polyploids and haploids. Hokkaido Agr. Exp. Sta. Shuho. 1968;92:21-37.
- Iwanaga M., Ortiz R., Cipar M.S., Peloquin S.J. A restorer gene for genetic-cytoplasmic male sterility in cultivated potatoes. Am. Potato J. 1991;68(1):19-28. DOI 10.1007/BF02893338.
- Jansky S.H., Charkowski A.O., Douches D.S., Gusmini G., Richael C., Bethke P.C., Spooner D.M., Novy R.G., De Jong H., De Jong W.S., Bamberg J.B., Thompson A.L., Bizimungu B., Holm D.G., Brown C.R., Haynes K.G., Sathuvalli V.R., Veilleux R.E., Miller J.C., Jr., Bradeen J.M., Jiang J. Reinventing potato as a diploid inbred line. Crop Sci. 2016;56(4):1412-1422. DOI 10.2135/cropsci2015.12.0740.
- Kim D.H., Kim B.-D. The organization of mitochondrial *atp6* gene region in male fertile and CMS lines of pepper (*Capsicum annuum* L.). Curr. Genet. 2006;49(1):59-67. DOI 10.1007/s00294-005-0032-3.
- Lindhout P., De Vries M., ter Maat M., Ying S., Viquez-Zamora M., van Heusden S. Hybrid potato breeding for improved varieties. In: Achieving Sustainable Cultivation of Potatoes. Vol. 1. 2018;99-122. DOI 10.19103/AS.2016.0016.04.
- Lindhout P., Meijer D., Schotte T., Hutten R.C.B., Visser R.G.F., Eck H.J. Towards F₁ hybrid seed potato breeding. Potato Res. 2011; 54(4):301-312. DOI 10.1007/s11540-011-9196-z.
- Liu H., Cui P., Zhan K., Lin Q., Zhuo G., Guo X., Ding F., Yang W., Liu D., Hu S., Yu J., Zhang A. Comparative analysis of mitochondrial genomes between a wheat K-type cytoplasmic male sterility (CMS)

- line and its maintainer line. BMC Genomics. 2011;12(1):163. DOI 10.1186/1471-2164-12-163.
- Lössl A., Adler N., Horn R., Frei U., Wenzel G. Chondriome-type characterization of potato: mt α , β , γ and novel plastid-mitochondrial configurations in somatic hybrids. Theor. Appl. Genet. 1999; 91(1-2):1-10. DOI 10.1007/s001220051202.
- Lössl A., Götz M., Braun A., Wenzel G. Molecular markers for cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production. Euphytica. 2000; 116(3):221-230. DOI 10.1023/A:1004039320227.
- Mihovilovich E., Sanetomo R., Hosaka K., Ordoñez B., Aponte M., Bonierbale M. Cytoplasmic diversity in potato breeding: case study from the International Potato Center. Mol. Breed. 2015;35(6):137-146. DOI 10.1007/s11032-015-0326-1.
- Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Naka T., Ishii T., Hosaka K. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. Euphytica. 2011;180(3):347-355. DOI 10.1007/s10681-011-0381-6.
- Ochoa C.M. The Potatoes of South America: Peru. Part I: The Wild Species. Lima, 2004.
- Ortiz R., Iwanaga M., Peloquin S.J. Male sterility and 2n pollen in 4x progenies derived from 4x $\times$ 2x and 4x $\times$ 4x crosses in potatoes. Potato Res. 1993;36(3):227-236. DOI 10.1007/BF02360531.
- Ortiz R., Simon P., Jansky S., Stelly D. Ploidy manipulation of the gametophyte, endosperm and sporophyte in nature and for crop improvement: a tribute to Professor Stanley J. Peloquin (1921–2008). Ann. Bot. 2009;104(5):795-807. DOI 10.1093/aob/mcp207.
- Phumichai C., Mori M., Kobayashi A., Kamijima O., Hosaka K. Toward the development of highly homozygous diploid potato lines using the self-compatibility controlling *Sli* gene. Genome. 2005; 48(6):977-984. DOI 10.1139/g05-066.
- Plaisted R.L. Utilization of germplasm in breeding programs – use of cultivated tetraploids. In: French E.R. (Ed.). Prospect for the Potato in the Developing World. Lima, 1972;90-99.
- Provan J., Powell W., Dewar H., Bryan G., Machray G.C., Waugh R. An extreme cytoplasmic bottleneck in the modern European cultivated potato (*Solanum tuberosum*) is not reflected in decreased levels of nuclear diversity. Proc. R. Soc. Lond. 1999;266(1419):633-639. DOI 10.1098/rspb.1999.0683.
- Ross H. Potato Breeding – Problems and Perspectives. Berlin, 1986.
- Sanetomo R., Gebhardt C. Cytoplasmic genome types of European potatoes and their effects on complex agronomic traits. BMC Plant Biol. 2015;15(1):162. DOI 10.1186/s12870-015-0545-y.
- Sanetomo R., Hosaka K. A maternally inherited DNA marker, descended from *Solanum demissum* ($2n = 6x = 72$) to *S. tuberosum* ($2n = 4x = 48$). Breed. Sci. 2011;61(4):426-434. DOI 10.1270/jsbbs.61.426.
- Sanetomo R., Hosaka K. A recombination-derived mitochondrial genome retained stoichiometrically only among *Solanum verrucosum* Schltdl. and Mexican polyploid wild potato species. Genet. Resour. Crop Evol. 2013;60(8):2391-2404. DOI 10.1007/s10722-013-0007-z.
- Sanetomo R., Ono S., Hosaka K. Characterization of crossability in the crosses between *Solanum demissum* and *S. tuberosum*, and the F1 and BC1 progenies. Am. J. Potato Res. 2011;88:500-510. DOI 10.1007/s12230-011-9217-0.
- Shishova M., Puzanskiy R., Gavrilova O., Kurbanniazov S., Demchenko K., Yemelyanov V., Pendinen G., Shavarda A., Gavrilenko T. Metabolic alterations in male-sterile potato as compared to male-fertile. Metabolites. 2019;9:24. DOI 10.3390/metabo9020024.
- Song Y.-S., Schwarzfischer A. Development of STS markers for selection of extreme resistance ($R_{y_{sto}}$) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. Am. J. Potato Res. 2008; 85(2):159-170. DOI 10.1007/s12230-008-9012-8.
- Spooner D.M., Núñez J., Trujillo G., Del Rosario Herrera M., Guzmán F., Ghislain M. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007; 104(49):19398-19403. DOI 10.1073/pnas.0709796104.
- Zhang C., Wang P., Tang D., Yang Z., Lu F., Qi J., Tawari N.R., Shang Y., Li C., Huang S. The genetic basis of inbreeding depression in potato. Nat. Genet. 2019;51(3):374-378. DOI 10.1038/s41588-018-0319-1.

ORCID ID

T.A. Gavrilenko orcid.org/0000-0002-2605-6569
N.S. Klimenko orcid.org/0000-0002-5432-6466
N.V. Alpatieva orcid.org/0000-0002-5531-2728
L.I. Kostina orcid.org/0000-0002-6413-9189
Z.Z. Evdokimova orcid.org/0000-0001-8413-1769
O.V. Apalikova orcid.org/0000-0002-1188-2446
L.Yu. Novikova orcid.org/0000-0003-4051-3671
O.Yu. Antonova orcid.org/0000-0001-8334-8069

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 16-16-04125). Авторы выражают благодарность Ю.И. Карабиной за помощь с подготовкой препаратов пыльцевых зерен и ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ (ARRIAM).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 22.04.2019. После доработки 07.06.2019. Принята к публикации 10.06.2019.