

УДК 575.222.73:635.21

А. П. ЕРМИШИН

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛОТЕТРАПЛОИДНЫХ ДИКИХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM*) КАК ОБЪЕКТА СЕЛЕКЦИИ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, e-mail:office@igc.bas-net.by

(Поступила в редакцию 05.06.2013)

Введение. Дикие аллотетраплоидные виды *Solanum* из серий *Acaulia* и *Longipedicillata* являются источниками ряда ценных для селекции генов устойчивости к болезням и вредителям картофеля, а также к неблагоприятным абиотическим факторам среды. В частности, южноамериканский вид *S. acaule* обладает устойчивостью к X-вирусу картофеля (крайняя устойчивость), вирусу скручивания листьев, Y-вирусу картофеля, крайней устойчивостью к вириодам. Этот же вид является важным источником генов устойчивости к нематодам *Globodera pallida*, *Globodera rostochinensis* и *Meloidogyne* spp., к патотипам рака, альтернариозу, возбудителю кольцевой гнили *Clavibacter michiganense* spp. *Sepedonicum* [1–4]. *S. acaule* – один из самых холодо- и морозоустойчивых видов: растения выдерживают понижение температуры до –4 °С, а при акклиматизации вплоть до –11 °С [5].

Ряд интересных для селекции видов, произрастающих в Мексике, относится к серии *Longipedicellata*. *S. stoloniferum* представляет собой ценный источник генов крайней устойчивости к вирусам Y, X и A картофеля, устойчивости к фитофторозу, бактериальным заболеваниям, вызываемым *Clavibacter michiganense* spp. *sepedonicum*, *Erwinia* spp., вредителям картофеля, в частности, нескольким видам тлей (*Myzodes persicae*, *Macrosiphum euphorbiae*) [1–4]. *S. fendleri* является источником устойчивости к нескольким видам нематод *Meloidogyne* spp. [6, 7] и к фитофторозу [1, 2]. *S. hjertingii* устойчив к фитофторозу [1, 2] и несет признак устойчивости к потемнению мякоти клубней [8]. *S. polytrichon* может быть использован как источник генов устойчивости к *Verticillium dahliae* и цикадкам *Empoasca fabae* [1]. Важно отметить, что гены устойчивости к фитофторозу аллотетраплоидных видов картофеля серии *Longipedicillata* имеют высокую степень гомологии с генами долговременной устойчивости широкого действия мексиканского диплоидного вида *S. bulbocastanum* [9].

Несмотря на то что аллотетраплоидные виды имеют ту же ploidy, что и культурный картофель, вовлечь их в селекцию очень сложно из-за жестких межвидовых репродуктивных барьеров. Лишь небольшое количество ценных генов ограниченного числа аллотетраплоидных видов удалось интрогрессировать в сорта картофеля [2, 10].

Целью настоящей работы является анализ генетических особенностей диких аллотетраплоидных видов картофеля (по данным литературы и результатам собственных исследований), что позволит разработать новые подходы для эффективного использования их генофонда в селекции картофеля.

1. Особенности геномов аллотетраплоидных диких видов картофеля

М. Matsubayashi [11] обобщил цитологические данные по конъюгации хромосом в мейозе у большого числа видов картофеля и межвидовых гибридов, на основании чего пришел к заключению о значительной степени родства видов. Как диплоидные, за исключением не клубненосных (*Etuberosa*), так и полиплоидные виды картофеля имеют один основной геном, обозначенный А. В результате эволюции произошли определенные структурные модификации генома А, харак-

терные для отдельных систематических групп, что привело к ухудшению конъюгации хромосом и рекомбинации между геномом А и модифицированным геномом А у межвидовых гибридов. Эти модифицированные варианты генома А диплоидных видов серий *Bulbocastana*, *Ingifolia*, *Conicibaccata*, *Morelliformia*, *Pinnatisecta*, *Piurana* и *Polyadenia* M. Matsubayashi обозначил геномной формулой А с индексом соответствующей таксономической серии (например, А^bА^b для *Bulbocastana*) [11]. Полиплоидные виды картофеля, помимо генома А, несут дополнительные, гомеологичные геномы (В, С, D, Р) или модифицированный геном А. Культурный картофель *S. tuberosum* является автотетраплоидом АААА, для которого характерно тетрасомное наследование признаков.

Виды, входящие в серии *Acaulia*, *Longipedicellata* (а также серий *Conicibaccata* и *Piurana*), являются аллотетраплоидами с дисомным наследованием признаков, с регулярным образованием бивалентов между хромосомами родственных геномов. По данным ряда авторов, *S. acaule* представляет собой сегментарный аллотетраплоид [12, 13]. О наличии гомологичных участков в обоих хромосомных наборах позволяет судить высокая частота образования тривалентов у триплоидных гибридов *S. acaule* с дикими диплоидными видами, образование в метафазе I у гаплоидных (гаплодиплоидных) *S. acaule* 6 бивалентов и 12 унивалентов [13]. Для геномов южноамериканских тетраплоидов серии *Acaulia* принято обозначение ААА^aА^a (или ААА'А').

Тетраплоидные представители серии *Longipedicellata*, в частности, *S. stoloniferum*, *S. fendleri*, *S. polytrichon*, являются аллотетраплоидами, содержащими структурно различающиеся геномы А и В. Их геномную формулу обозначают как ААВВ. У их гаплоидов возможна конъюгация в мейозе лишь отдельных хромосом этих геномов. По мнению J. Dvorak [12], гомеологичная конъюгация хромосом супрессируется особыми генами, которые есть у аллотетраплоидных видов и отсутствуют у диплоидных видов. Аналогичные гены обнаружены и хорошо изучены у пшеницы (ген Ph1 на хромосоме 5В) и других аллополиплоидных злаковых. Эта гипотеза допускает отсутствие значительной структурной дифференциации хромосом гомеологичных геномов.

На основании анализа спаривания хромосом у межвидовых гибридов с участием аллотетраплоидных видов было высказано предположение, что вероятным донором их генома А является мексиканский диплоидный дикий вид *S. verrucosum* (АА) (серия *Verrucosa*, близкая по происхождению к южноамериканским видам картофеля) [14]. Близкое родство *S. verrucosum* и аллополиплоидных видов из Мексики подтверждают морфологические и географические данные, сходство профилей их хлоропластной ДНК [15], а также результаты изучения полиморфизма длин амплифицированных фрагментов ДНК (AFLP) [16].

J. G. Hawkes [17] выдвинул гипотезу, согласно которой геном В являлся базовым геномом древних примитивных мексиканских видов, а Y. Irikura [18] рассматривал диплоидный вид *S. cardiophyllum* в качестве потенциального донора генома В для мексиканских тетраплоидных видов. G. Pendinen et al. [19] с помощью метода GISH (genomic in situ hybridization) получили экспериментальные данные в подтверждение этих гипотез. В частности, ими была установлена высокая степень гомологии между геномом А аллотетраплоидных видов *S. stoloniferum* и *S. hjertingii* (серия *Longipedicillata*) и геномом А диплоидного мексиканского вида *S. verrucosum*, с одной стороны, и генома В этих видов с геномами мексиканских диплоидных видов *S. cardiophyllum*, *S. ehrenbergii*, *S. jamesii*, с другой стороны. На основании полученных результатов ими предложено изменить обозначение геномов мексиканских диплоидных видов с существующей АА с индексом соответствующей таксономической серии на ВВ.

2. Проблемы гибридизации между аллотетраплоидными дикими видами и культурным картофелем

Как отмечалось выше, несмотря на одинаковую ploидность (4x) аллотетраплоидные дикие виды практически не скрещиваются с культурным картофелем, что существенно затрудняет их использование в селекции. Проблема интрогрессии генетических ресурсов аллотетраплоидных видов в селекционный материал связана с наличием презиготных и постзиготных межвидовых репродуктивных барьеров между этими видами и культурным картофелем.

Презиготные барьеры проявляются в виде односторонней несовместимости, при которой наблюдается ингибирование роста пыльцевых трубок аллотетраплоидных видов в пестиках куль-

турного картофеля и отсутствие ингибирования при обратных скрещиваниях. Очевидно, причиной односторонней несовместимости является наличие у аллотетраплоидных видов генома А, источником которого является *S. verrucosum*. В отличие от большинства диплоидных видов картофеля, для которых характерна гаметофитная самонесовместимость, *S. verrucosum* – самосовместимый вид, способный завязывать семена при самоопылении. Самосовместимость этого вида обусловлена отсутствием в пестиках S-РНКаз, ингибирующих рост пыльцевых трубок в несовместимых комбинациях и при самоопылении [20, 21]. Его особенностью, как и большинства самосовместимых видов, является односторонняя несовместимость в скрещиваниях с самонесовместимыми видами [20, 22].

Постзиготными считаются барьеры, возникающие после проникновения пыльцевых трубок в завязь и оплодотворения. При гибридизации картофеля они обусловлены, прежде всего, гибелью зародышей вследствие недоразвития эндосперма и связаны с понятием EBN (балансовое число эндосперма) вида. Каждому виду предписывается определенный специфический показатель (его EBN), значение которого определяет поведение этого вида (формирование эндосперма гибридных семян) при гибридизации с другими видами. Гипотеза балансового числа эндосперма (EBN), предложенная для картофеля, гласит, что соотношение EBN женского и мужского партнера по скрещиваниям должно находиться в эндосперме в соотношении 2:1 (т. е. для успешной гибридизации EBN родительских форм должны совпадать), чтобы эндосперм, а следовательно, и семя развивались нормально [23]. EBN вида может быть не равен его ploидности, оно является мериллом его «эффективной ploидности». Для каждого вида определена его эффективная ploидность, что позволило сгруппировать виды по группам скрещивания – 2х (1 EBN), 2х (2 EBN), 3х (2 EBN), 4х (2 EBN), 4х (4 EBN) и 6х (4 EBN). Так, культурному картофелю *S. tuberosum* приписан 4 EBN. Диплоидным видам – либо 1 EBN (например, принадлежащим сериям *Pinnatisecta* и *Bulbocastana*), либо 2 EBN (например, дигаплоидам *S. tuberosum*, всем культурным диплоидным видам и большинству диких диплоидных видов). Для аллотетраплоидных видов определен 2 EBN (виды серий *Acaule*, *Longipedicellata*).

В соответствии с этой теорией аллотетраплоидные (2 EBN) дикие виды картофеля не способны образовывать семена в скрещиваниях с сортами культурного картофеля *S. tuberosum* (4 EBN) из-за различий в их эффективной ploидности. Однако они относительно легко скрещиваются с дигаплоидами *S. tuberosum* (2 EBN) и многими диплоидными (2 EBN) видами картофеля с образованием триплоидных (2 EBN) гибридов [24–26]. Такие гибриды являются вполне жизнеспособными, однако в силу значительных нарушений мега- и микроспорогенеза они, как правило, полностью стерильны, что, по мнению J. G. Hawkes и M. T. Jackson [27], явилось причиной обособления аллотетраплоидов от диплоидных видов картофеля в ходе их эволюции.

3. Способы вовлечения в селекцию генофонда аллотетраплоидных диких видов картофеля

A. Sonnino et al. [28] предложили 3 метода вовлечения в селекцию триплоидных гибридов на основе аллотетраплоидов. Первый метод основан на скрещивании аллотетраплоидных видов с совместимыми диплоидными видами с эффективной ploидностью 2 для получения трипландроидных (триплоидных, но способных продуцировать 2n пыльцу) гибридов. Стоит отметить, что эффективность данного метода низкая, что связано с низкой частотой образования 2n пыльцы у аллотетраплоидных видов. Альтернативным способом использования этого метода является получение триплоидных гамет на основе 2n яйцеклеток, которые, по мнению K. N. Watanabe et al. [29, 30], образуются чаще, чем 2n пыльца.

Второй метод включает скрещивание аллотетраплоидных видов с совместимыми диплоидными видами с эффективной ploидностью 2 для получения триплоидных, не продуцирующих 2n пыльцу гибридов, с последующим митотическим удвоением хромосом с помощью колхицина. Третий метод аналогичен второму, но предлагается удвоение хромосом проводить путем спонтанной полиплоидизации в культуре *in vitro*.

Эффективность перечисленных методов, по данным [29, 30], в целом невысокая, использование полученных гексаплоидов не обеспечивает надежной рекомбинации и переноса в селекционный материал ценных генов аллотетраплоидных видов.

В связи с этим было предложено получать гибриды непосредственно между тетраплоидным культурным картофелем *S. tuberosum* и аллотетраплоидными дикими видами картофеля, например,

S. acaule, с помощью метода «менторного опыления» [31]. Через сутки после опыления цветков культурного картофеля пыльцой дикого аллотетраплоидного вида проводят дополнительное их опыление пыльцой диплоидного вида картофеля *S. phureja* в сочетании с методом культуры зародышей *in vitro* (методика, известная как «спасение эмбрионов»). Для дополнительного опыления используют специально отобранный генотип *S. phureja* IvP35, который имеет маркерный признак «эмбриональное пятно» и который обычно применяют для получения партеногенетических дигаплоидов картофеля [32]. Благодаря дополнительному опылению происходит завязывание ягод, содержащих семена, полученные: (1) в результате гибридизации между *S. tuberosum* и *S. phureja* (их можно отличить по наличию маркерного признака), (2) семена, полученные в результате развития неоплодотворенных яйцеклеток (дигаплоиды *S. tuberosum*) и (3) семена, полученные в результате гибридизации между *S. tuberosum* и *S. acaule*. Последние являются недоразвитыми из-за межвидовой несовместимости. Для того чтобы их сохранить, применяют метод культуры зародышей *in vitro*.

Некоторые исследователи считают эту методику наиболее эффективной для использования генетических ресурсов аллотетраплоидных видов [29]. Тем не менее данный метод имеет ряд недостатков. К ним относятся сложность и невысокая результативность культуры зародышей *in vitro*. Отбор по селекционно-ценным признакам (интрогрессия селекционно-ценных генов дикого вида), элиминация неблагоприятных генов дикого вида проводятся среди тетраплоидного селекционного материала, для которого характерно сложное расщепление. В литературе отсутствуют сведения о применении этого способа для получения межвидовых гибридов между культурным картофелем *S. tuberosum* и другими (помимо *S. acaule*) аллотетраплоидными дикими видами картофеля.

Известен способ получения гибридов между культурным тетраплоидным картофелем *S. tuberosum* и аллотетраплоидными дикими видами картофеля, в котором с целью преодоления нескрещиваемости между видами (уравнивания EBN партнеров по скрещиванию) применяют удвоение хромосом у аллотетраплоидного вида (2 EBN), полученные октоплоиды (4 EBN) скрещивают с тетраплоидным культурным картофелем (4 EBN), затем полученные гексаплоидные гибриды несколько раз беккроссируют культурным картофелем до достижения тетраплоидного уровня селекционного материала [33]. Присутствие у полиплоидных гибридов полного набора хромосом дикого вида затрудняет рекомбинацию генов дикого и культурного видов, в силу того что в мейозе будет иметь место конъюгация, прежде всего, между гомологичными хромосомами одного вида. Требуется достаточно длительное время для снижения уровня ploидности селекционного материала до тетраплоидного уровня. Кроме того, отбор по селекционно-ценным признакам и элиминация неблагоприятных генов дикого вида так же, как и в вышеперечисленных способах, проводятся среди полиплоидного и анеуплоидного селекционного материала, для которого характерно сложное расщепление.

Благодаря достижениям в области культуры клеток растений был предложен и реализован способ получения межвидовых гибридов, который включает получение соматических гибридов между культурным тетраплоидным картофелем *S. tuberosum* и дигаплоидами ($n = 2x = 24$) аллотетраплоидных диких видов, например, *S. acaule*, многократное беккроссирование полученных гексаплоидных гибридов до достижения тетраплоидного уровня селекционного материала, в ходе которого проводят отбор по признакам, которые предполагают перенести в селекционный материал от дикого вида [34]. Следует иметь в виду, что методы получения протопластов являются сложными, требуют дорогостоящего оборудования и высокой квалификации персонала. Кроме того, длительное время, необходимое для снижения уровня ploидности селекционного материала до тетраплоидного уровня и отбор среди полиплоидного и анеуплоидного селекционного материала, для которого характерно сложное расщепление, значительно снижают его эффективность. В целом этот метод из-за генетической нестабильности получаемых гибридов еще не принес значимых результатов.

К недостаткам всех вышеназванных подходов следует отнести, прежде всего, то, что отбор по селекционно-ценным признакам (интрогрессия селекционно-ценных генов дикого вида) проводится среди высокополиплоидного (в лучшем случае тетраплоидного) и анеуплоидного селекционного материала, для которого характерно сложное расщепление. Требуется достаточно

много времени для стабилизации пloidности селекционного материала на тетраплоидном уровне, элиминации нежелательных признаков дикого вида. Многие из методов преодоления межвидовых барьеров технически сложны и в большинстве случаев недостаточно результативны.

В лаборатории генетики картофеля Института генетики и цитологии НАН Беларуси была впервые показана возможность получения диплоидных гибридов в скрещиваниях между дикими аллотетраплоидными видами картофеля *S. acaule*, *S. stoloniferum*, *S. fendleri*, *S. polytrichon* и дигаплоидами *S. tuberosum* [35–37]. Было установлено, что среди межвидовых гибридов наряду с ожидаемыми триплоидами можно отобрать диплоидные генотипы, способные скрещиваться с дигаплоидами *S. tuberosum*. Полученные диплоидные гибриды являются жизнеспособными и могут легко использоваться в дальнейших скрещиваниях на диплоидном уровне. В связи с этим появляется возможность проводить отбор по признакам, которые предполагают перенести в селекционный материал от дикого вида, и элиминацию неблагоприятных генов дикого вида среди полученного диплоидного селекционного материала. Это позволяет рассматривать последний метод как наиболее эффективный способ передачи комплекса генов устойчивости к болезням и вредителям от диких видов к культурному картофелю.

На возможность образования подобных гибридов указывали в своих работах К. N. Watanabe et al. [29, 30], однако это явление не было никак объяснено или изучено. J. A. Smith и S. L. Desborough [38] отмечали образование диплоидных зародышей (по данным цитофотометрии) в скрещиваниях между аллотетраплоидным *S. acaule* и диплоидным видом картофеля *S. commersonii* (1 EBN). Они предположили, что зародыши являются спонтанными гаплоидами материнского вида.

Данные, полученные с использованием SSR- и RAPD-маркеров, подтвердили интрогрессию видоспецифических локусов дикого и культурного родительских видов как в триплоидные, так и в диплоидные межвидовые гибриды на основе аллотетраплоидных видов [36, 37, 39]. Результаты сравнения частоты RAPD-локусов, характерных для аллотетраплоидного родителя, у диплоидных и триплоидных гибридов, происходящих от одной комбинации скрещивания, свидетельствуют о потере значительной части генома дикого вида у диплоидных гибридов. Представленность видоспецифических локусов *S. tuberosum* у диплоидных и триплоидных гибридов во всех случаях соотносилась как 1:1 (уровень значимости $P \leq 0,05$), т. е. видоспецифические локусы культурного родителя у диплоидных межвидовых гибридов присутствовали в полном объеме.

Потеря части локусов дикого вида при неизменном уровне локусов культурного картофеля позволяет сделать вывод, что образование диплоидных гибридов при скрещивании аллотетраплоидных видов с дигаплоидами *S. tuberosum*, вероятно, происходит путем оплодотворения моноплоидной (n , 1 EBN, содержащей геном А или В(А')) яйцеклетки аллотетраплоидного вида нормальной пылью (n , 1 EBN, содержащей геном А) дигаплоида *S. tuberosum*. Механизм образования моноплоидных гамет у аллотетраплоидных видов картофеля не известен.

Поскольку для диплоидных межвидовых гибридов характерны высокая регулярность мейоза и, как следствие, высокая фертильность [35], можно заключить, что данные гибриды помимо генома А *S. tuberosum* несут геном дикого аллотетраплоидного вида, для которого характерна высокая степень гомологии с геномом А культурного картофеля (геном А дикого аллотетраплоидного вида). Диплоидные гибриды, которые могли быть получены в результате слияния гамет *S. tuberosum* (имеют геном А) и гамет дикого аллотетраплоидного вида с гомеологичным геномом А' или В, утрачиваются в процессе отбора диплоидных гибридов в популяции гибридов F1 (данные гибриды отбирают по их способности завязывать семена при гибридизации с дигаплоидами *S. tuberosum*). Высоко вероятна их элиминация из-за несовпадения EBN гамет родительских видов.

Полученные данные о представленности видоспецифических локусов диких видов у триплоидных и диплоидных межвидовых гибридов свидетельствуют о том, что видоспецифические локусы достаточно равномерно распределены между геномами диких аллотетраплоидных видов [37]. В связи с этим можно предположить, что по количеству генов, характерных для диких аллотетраплоидных видов и отсутствующих у культурного картофеля, в том числе генов устойчивости к болезням и вредителям, разные геномы аллотетраплоидных видов примерно равноценны. Следовательно, с геномом А дикого вида диплоидные межвидовые гибриды получают значительную

долю (около 50 %) генов дикого вида, которые могут представлять интерес для селекции. Этот вывод подтверждают результаты оценки селекционной ценности полученных диплоидных межвидовых гибридов картофеля.

Было установлено, что среди диплоидных межвидовых гибридов F1, BC1 и BC2, полученных на основе аллотетраплоидных видов картофеля *S. acaule* и *S. stoloniferum*, с высокой частотой встречаются гибриды, обладающие устойчивостью к вирусам картофеля, характерной для родительских диких видов. По результатам искусственного заражения растений вирусами было отобрано 36 гибридов на основе *S. acaule*, устойчивых к PVX (39 % оцененных клонов), и 32 гибрида на основе *S. stoloniferum*, устойчивых к PVY (27 % оцененных клонов). Из них 17 гибридов характеризовались устойчивостью как к PVX, так и к PVY [36, 37, 40].

Установлено, что высокая устойчивость к PVY ряда диплоидных гибридов, полученных с участием *S. stoloniferum*, не связана с наличием у них молекулярных маркеров известных генов Ry_{sto} и $Ry-f_{sto}$ устойчивости к PVY. Оценка по признаку «иммунность к PVY» в двух расщепляющихся популяциях гибридов при искусственном заражении штаммами вируса PVY^N и PVY⁰ подтвердила моногенный доминантный характер контроля признака. Это дает основание рассчитывать на идентификацию нового эффективного R гена устойчивости к этому патогену [41].

Среди диплоидных гибридов на основе *S. stoloniferum* также выделены генотипы с высокой устойчивостью к фитофторозу, которая проявлялась у этих гибридов и части их потомства в течение нескольких лет испытаний. Изучение расщепляющейся популяции гибридов показало моногенный доминантный характер контроля признака [41]. Принимая во внимание, что гены устойчивости к фитофторозу аллотетраплоидных видов картофеля серии *Longipedicillata* имеют высокую степень гомологии с генами долговременной устойчивости широкого действия мексиканских 1 EBN видов [9], можно предположить, что полученный диплоидный селекционный материал несет эффективный ген устойчивости, обладающий этими свойствами.

4. Происхождение аллотетраплоидных видов картофеля

В принципе возможны два основных механизма образования полиплоидов: митотическое удвоение хромосом соматических клеток и половая полиплоидизация за счет образования нередуцированных гамет (мейотическое удвоение хромосом). Считается, что в природных условиях полиплоиды в основном образуются вторым способом [42]. Для картофеля он является высоко вероятным, поскольку многие представители видов секции *Petota* способны образовывать с достаточной высокой частотой как 2n пыльцу, так и 2n яйцеклетки [43].

2n гаметы открывают возможность гибридизации между видами, имеющими разную ploидность и EBN, что играет важную роль в эволюции картофеля. Полиплоиды могут возникать в результате спонтанной интерплоидной гибридизации видов, имеющих одинаковые EBN, или скрещиваний между видами с разными EBN благодаря формированию жизнеспособных 2n гамет, или гибридизации между диплоидными видами с одинаковыми EBN с последующим митотическим удвоением хромосом или мейотическим удвоением хромосом путем оплодотворения 2n яйцеклеток нередуцированной пылью [44]. Имеется ряд полиплоидных видов картофеля, происхождение которых легко объяснить действием одного из названных механизмов. Так, триплоидный мексиканский вид *S. vallis-mexici* представляет собой естественный гибрид между 4x (2 EBN) *S. stoloniferum* и 2x (2 EBN) *S. verrucosum*. Пентаплоидный вид *Solanum curtlobum* образовался в результате оплодотворения нередуцированных (3x) яйцеклеток триплоидного вида *S. juzepczukii* нормальной (2x) пылью *Solanum andigenum* ssp. *Andigena* [44].

Возможные механизмы происхождения аллотетраплоидных видов не укладываются в существующие представления о генетической природе межвидовых репродуктивных барьеров. Принимая во внимание приведенные выше данные о возможных донорах гомеологичных геномов аллотетраплоидных видов, можно предположить, что эти виды произошли в результате полиплоидизации диплоидных межвидовых гибридов между 2x (2 EBN) *S. verrucosum* (донор генома А) и 2x (1 EBN) видами типа *S. cardiophyllum*, *S. ehrenbergii*, *S. jamesii* (доноры генома В). В научной литературе имеются сообщения о получении таких гибридов, несмотря на различия в EBN родительских видов [45–47]. Однако при этом отмечены значительные проблемы, связанные с их беккроссированием 2x (2 EBN) дигиплоидами *S. tuberosum*, так как их предполагаемая эффективная

плоидность равна 1,5 EBN. Митотическое или мейотическое удвоение числа хромосом у таких гибридов даст возможность получить тетраплоидные формы, эффективная плоидность которых равна 3 EBN. Как известно, существующие аллотетраплоидные виды имеют 2 EBN.

В лаборатории генетики картофеля Института генетики и цитологии НАН Беларуси предложена гипотеза, согласно которой в генетическом пуле пыльцы образцов 1 EBN диких диплоидных (2x) видов картофеля наряду с обычными 0,5 EBN пыльцевыми зернами могут присутствовать нетипичные 1 EBN пыльцевые зерна [48]. Использование в качестве материнской формы 2x, 2 EBN вида картофеля *S. verrucosum* в скрещиваниях с 1 EBN диплоидными видами картофеля дает возможность выявить нетипичные 1 EBN пыльцевые зерна благодаря отсутствию барьеров презиготной несовместимости и при определенных условиях получать достаточно большое количество выполненных гибридных семян. Растения, выращенные из таких семян, должны иметь 2 EBN и могут сравнительно просто скрещиваться с дигаметами *S. tuberosum* (2x, 2 EBN). Проверка этой гипотезы на практике показала возможность получения большого количества гибридных семян, которые обладали высокой выполненностью и жизнеспособностью, их всхожесть составила 47–88 %. Большинство из полученных гибридов удалось успешно скрестить с дигаметами *S. tuberosum*. В случае удвоения числа хромосом у межвидовых гибридов F1 они должны иметь эффективную плоидность 4 EBN [48, 49].

На мой взгляд, устранить приведенные противоречия можно следующим образом. По-видимому, неправильно считать, что эффективная плоидность интер-EBN гибридов, например, между 2x (2 EBN) и 2x (1 EBN) видами равна сумме EBN гамет родительских видов (1,5 EBN или 2 EBN). EBN какого-либо вида определяют путем гибридизации его с видами-тестерами с известной эффективной плоидностью. Названные гибриды, как показывает практика [50], способны скрещиваться как с 1 EBN, так и 2 EBN родительскими видами (тестерами), т. е. они в результате рекомбинации генов, связанных с EBN, способны образовывать гаметы, подходящие по эффективной плоидности как для 1 EBN, так 2 EBN тестера. Можно предположить, что удвоение плоидности гибридов между 2x (2 EBN) *S. verrucosum* и 2x (1 EBN) видами позволит получить тетраплоидные формы, способные образовывать гаметы, подходящие по EBN как для 2 EBN (например, *S. stoloniferum*), так и 4 EBN тестеров (например, сортов культурного картофеля *S. tuberosum*). Гибридизация между разными тетраплоидными гибридами или тетраплоидным гибридом и 4x (2 EBN) видами-тестерами позволит выделить в потомстве 4x (2 EBN) генотипы.

В пользу данного предположения свидетельствуют данные J. G. T. Hermesen [51], который с целью вовлечения в селекцию гибридов между 2x (2 EBN) *S. verrucosum* и 2x (1 EBN) *S. bulbocastanum* удвоил их плоидность, полученные тетраплоиды скрестил с аллотетраплоидным (2 EBN) видом *S. stoloniferum*, далее полученные 4x гибриды скрестил с дигаметами *S. tuberosum*, плоидность триплоидных гибридов увеличил до 6x. Полученные в результате гексаплоидные четырехвидовые гибриды можно было беккроссировать сортами (4x) культурного картофеля. Как видим, удвоенные гибриды между 2x (2 EBN) *S. verrucosum* и 2x (1 EBN) *S. bulbocastanum* были способны образовывать гаметы, подходящие по эффективной плоидности аллотетраплоидному (2 EBN) виду *S. stoloniferum*, т. е. имели 2 EBN.

В качестве другого объяснения, каким образом складывается эффективная плоидность 2 EBN аллотетраплоидных видов картофеля, можно предположить, что возможным донором их генома А является не 2 EBN *S. verrucosum*, а какой-то неизвестный мексиканский диплоидный вид картофеля с геномом AA и эффективной плоидностью 1 EBN типа южноамериканского диплоидного вида *S. commersonii*. В этом случае каждый из гомеологичных геномов аллотетраплоидного вида будет иметь дозу EBN, равную 1.

S. commersonii, хотя и произрастает в Южной Америке, относится, как большинство диплоидных видов из Мексики, к примитивным диплоидным видам картофеля со звездчатым венчиком (*Stellata*) [17]. Его используют в качестве 1 EBN вида-тестера, так как он не скрещивается с 2x (2 EBN) видами картофеля, однако автотетраплоидные *S. commersonii* легко скрещиваются с 2x (2 EBN) видами картофеля, а также аллотетраплоидными (2 EBN) видами из серий *Longipedicillata* и *Acaule*. При этом было отмечено, что диплоидные гибриды скрещивались только с 1 EBN тестерами, а тетраплоидные – с 2 EBN тестерами. На основании отсутствия рекомбинации и сепре-

гации по EBN у полученных гибридов и их потомства был сделан вывод, что наследование EBN у мексиканских диплоидных и тетраплоидных видов, а также 4x (2 EBN) *S. acaule* аналогично тому, как это имеет место у *S. commersonii* [26, 52].

Дополнительные трудности в решение проблемы происхождения аллотетраплоидных видов картофеля внесло открытие явления образования диплоидных межвидовых гибридов в скрещиваниях между аллотетраплоидными видами и дигаплоидами *S. tuberosum* [35]. Полученные диплоидные межвидовые гибриды, как видно из приведенных выше их характеристик, очевидно, имеют эффективную ploidy 2 EBN, которая сформирована в результате слияния $n = 1x$ (1 EBN) гамет дигаплоидов *S. tuberosum* с имеющими гомологичный геном $A n = 1x$ (1 EBN) гаметами дикого аллотетраплоидного вида. Это означает, что эффективная ploidy аллотетраплоидных видов (2 EBN) определяется только их геномом A (1 EBN+1 EBN). В связи с этим вклад в эффективную ploidy геномов A' или B этих видов неясен, поскольку им невозможно приписать какую-либо порцию EBN, чтобы получилась суммарная 2 EBN, характерная для 4x (2 EBN) видов картофеля. Эти результаты противоречат доминирующим в научной литературе представлениям о природе EBN аллотетраплоидных видов, согласно которым порции EBN распределены у них по разным геномам [53–55].

Тот факт, что эффективная ploidy существующих аллотетраплоидных 2 EBN видов картофеля, а также, вероятно, удвоенных гибридов между *S. verrucosum* и 2x (1 EBN) видами определяется EBN их генома A , можно объяснить, если допустить, что правило EBN не распространяется на так называемые 1 EBN диплоидные виды картофеля (предполагаемые доноры генома B аллотетраплоидных видов), в частности, те, что произрастают в Мексике. Эти виды отнесли к 1 EBN видам на том основании, что они практически не скрещиваются с 2x (2 EBN) видами картофеля и их (с трудом) можно скрестить с южноамериканским 1 EBN видом *S. commersonii*. Однако в отличие от *S. commersonii* удвоение их ploidy не позволяет улучшить их скрещиваемость с 2 EBN видами [46, 56, 57]. В связи с этим можно предположить, что с их гаметами, по-видимому, не связаны какие-либо факторы EBN, которые могут влиять на суммарную EBN их гибридов с 2x (2 EBN) видами.

Заключение. Остается достаточно много вопросов, связанных с происхождением и эволюцией аллотетраплоидных диких видов картофеля, которые требуют дальнейшего изучения. Однако имеющиеся знания относительно геномного состава, скрещиваемости с другими видами картофеля позволяют прогнозировать результативность программ гибридизации с участием аллотетраплоидных видов, разрабатывать новые эффективные подходы вовлечения в селекцию их ценного генофонда. Этому должны способствовать и сведения, представленные в настоящем обзоре.

Литература

1. Ortiz R. // Plant Breed. Rev. 1998. Vol. 16. P. 15–86.
2. Росс Х. Селекция картофеля. Проблемы и перспективы: Пер. с англ. М., 1989. С. 9–12.
3. Swiezynski K. M., Dziejowska M. A., Ostrowska K. // Plant Breed. 1989. Vol. 103, № 3. P. 221–227.
4. Simko I., Jansky S., Stephenson S., Spooner D. // Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives. Elsevier, 2007. P. 117–156.
5. Vayde M. E. // Potato Genetics. Cambridge. 1994. P. 239–263.
6. Brown C. R., Mojtahedi H., James S. et al. // Am. J. Potato Res. 2006. Vol. 83, № 1. P. 1–8.
7. Brown C. R., Mojtahedi H., Bamberg J. // Am. J. Potato Res. 2004. Vol. 81, № 6. P. 415–419.
8. Culley D. E., Dean B. B., Brown C. R. // Euphytica. 2002. Vol. 125, № 3. P. 293–303.
9. Wang M. Diversity and evolution of resistance genes in tuber-bearing *Solanum* species. PhD thesis. Wageningen, 2007.
10. Solomon-Blackburn R., Barker H. // Heredity. 2001. Vol. 86. P. 8–16.
11. Matsubayashi M. // Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution. Part B. N. Y., 1991. P. 93–118.
12. Dvorak J. // Canad. J. Genet. Cytol. 1983. Vol. 25, № 5. P. 531–539.
13. Camadro E. L., Masuelli R. W., Cortes M. C. // Genome. 1992. Vol. 35, № 3. P. 431–435.
14. Marks G. E. // New Phytol. 1965. Vol. 64. P. 293–306.
15. Spooner D. M., Sytsma K. J. // Syst. Bot. 1992. Vol. 17. P. 432–448.
16. Kardolus J. P. A Biosystematic Analysis of *Solanum acaule*. PhD thesis. Wageningen, 1998.
17. Hawkes J. G. // Potato genetics. Wallingford, 1994. P. 109–132.
18. Irikura Y. // Res. Bull. Hokkaido Natl. Agric. Exp. Stn. 1976. Vol. 115. P. 1–80.
19. Pendinen G., Gavrilenko T., Jiang J., Spooner D. M. // Genome. 2008. Vol. 51, № 9. P. 714–720.

20. *Eijlander R.* Mechanisms of self-incompatibility and unilateral incompatibility in diploid potato (*Solanum tuberosum* L.). PhD thesis. Wageningen, 1998.
21. *Маханько О. В.* Несовместимость при межвидовой и внутривидовой гибридизации картофеля и пути ее преодоления: Автореф. дис.... канд. биол. наук. Мн., 2011.
22. *Ермишин А. П.* // Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2001. № 3. С. 105–118.
23. *Johnston S. A., den Nijs T. P. M., Peloquin S. J., Hanneman R. E. Jr.* // *Theor. Appl. Genet.* 1980. Vol. 57, № 1. P. 5–9.
24. *Ramanna M. S., Abdalla M. M. F.* // *Euphytica.* 1970. Vol. 19. P. 317–326.
25. *Adiwilaga K. D., Brown C. R.* // *Theor. Appl. Genet.* 1991. Vol. 81. P. 645–652.
26. *Bamberg J. B.* // *Theor. Appl. Genet.* 1994. Vol. 89. P. 682–686.
27. *Hawkes J. G., Jackson M. T.* // *Theor. Appl. Genet.* 1992. Vol. 84, № 1–2. P. 180–185.
28. *Sonnino A., Henostroza A., Iwanaga M.* // *Potato Res.* 1988. Vol. 31, № 4. P. 627–632.
29. *Watanabe K. N., Arbizu C., Schmiediche P.* // *Genome.* 1992. Vol. 35. № 1. P. 53–57.
30. *Watanabe K. N., Orrillo M., Vega S. et al.* // *Theor. Appl. Genet.* 1994. Vol. 88, № 2. P. 135–140.
31. *Iwanaga M., Freyre R., Watanabe K.* // *Euphytica.* 1991. Vol. 52, № 3. P. 183–191.
32. *Hermesen J. G. T., Verdenius J.* // *Euphytica.* 1973. Vol. 22, № 2. P. 244–259.
33. *Lamm R.* // *Hereditas.* 1953. Vol. 39, № 2. P. 97–112.
34. *Yamada T., Misoo S., Ishii T. et al.* // *Breed. Sci.* 1997. Vol. 47, № 3. P. 229–236.
35. *Воронкова Е. В., Лисовская В. М., Ермишин А. П.* // *Генетика.* 2007. Т. 43, № 8. С. 1065–1073.
36. *Voronkova E., Lisovskaja V., Luksha V. et al.* // *Potato for a Changing World (Abstr. 17th Trien. EAPR Conf. 6-10 July 2008, Brasov, Romania).* Brasov, 2008. P. 378–381.
37. *Лисовская В. М.* Интрогрессия генетического материала диких аллотетраплоидных видов картофеля в диплоидные селекционные формы *Solanum tuberosum* L.: Автореф. дис.... канд. биол. наук. Мн., 2009.
38. *Smith J. A., Desborough S. L.* // *Theor. Appl. Genet.* 1986. Vol. 72. P. 346–352.
39. *Воронкова Е. В., Лисовская В. М., Голенченко С. Г. и др.* // *Картофелеводство: сб. науч. тр. Мн., 2007. Т. 12. С. 28–37.*
40. *Воронкова Е. В., Лисовская В. М., Павлючук Н. В. и др.* // *Картофелеводство: сб. науч. тр. Мн., 2008. Т. 14. С. 144–152.*
41. *Воронкова Е. В., Чащинский А. В., Павлючук Н. В. и др.* // *Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика: Материалы междунар. науч.-практ. конф. Большие Вяземы, 2012. С. 325–334.*
42. *Harlan J. R., De Wet J. M. J.* // *Bot. Rev.* 1975. Vol. 41. P. 361–390.
43. *Watanabe K., Peloquin S. J.* // *Theor. Appl. Genet.* 1991. Vol. 82. P. 621–626.
44. *Gavrilenko T.* // *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives.* Elsevier. 2007. P. 203–216.
45. *Hermesen J. G. T., Ramanna M. S.* // *Euphytica.* 1976. Vol. 25. P. 1–10.
46. *Dinu I. I., Hayes R. J., Kynast R. G. et al.* // *Theor. Appl. Genet.* 2005. Vol. 110. P. 403–415.
47. *Jansky S. H., Hamernik A. J.* // *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2009. Vol. 56. P. 1107–1115.
48. *Yermishin A. P., Polyukhovich Yu. V., Savchuk A. V., Voronkova E. V.* // *EAPR 2011: Abstr. 18th Trien. Conf. Europ. As. Potato Res. Helsinki, 2011. P. 71.*
49. *Полухович Ю. В., Савчук А. В., Воронкова Е. В., Ермишин А. П.* // *Докл. НАН Беларусі.* 2011. Т. 55, № 3. С. 88–92.
50. *Ehlenfeldt M. K., Hanneman R. E. Jr.* // *Theor. Appl. Genet.* 1988. Vol. 75. P. 825–832.
51. *Hermesen J. G. T.* // *Present and Future Strategies for Potato Breeding and Improvement.* Lima, 1983. P. 115–132.
52. *Bamberg J. B., Hanneman R. E. Jr.* // *Theor. Appl. Genet.* 1990. Vol. 80. P. 161–166.
53. *Ehlenfeldt M. K., Ortiz R.* // *Sex. Plant Reprod.* 1995. Vol. 8. P. 189–196.
54. *Camadro E. L., Masuelli R. W.* // *Sex. Plant Reprod.* 1995. Vol. 8. P. 283–288.
55. *Carputo D., Monti L., Werner J. E., Frusciant L.* // *Theor. Appl. Genet.* 1999. Vol. 98. P. 478–484.
56. *Hayes R. J., Dinu I. I., Thill C. A.* // *Sex. Plant Reprod.* 2005. Vol. 17. P. 303–311.
57. *Ермишин А. П., Маханько О. В., Воронкова Е. В.* // *Генетика.* 2006. Т. 42, № 12. С. 1674–1682.

A. P. YERMISHIN

GENETIC PECULIARITIES OF WILD ALLOTETRAPLOID POTATO (*SOLANUM*) SPECIES AS THE OBJECT OF BREEDING

Summary

The available information about the peculiarities of genomes of wild allotetraploid potato species, their origin and evolution have been analysed in the review. There were examined the problems of hybridization between wild allotetraploid species and cultivated potato and methods of introgression into breeding of their valuable germplasm. Special attention was attended to the phenomenon of production of diploid hybrids in crosses between allotetraploid species and *S. tuberosum* diploid clones, its significance for potato genetics and breeding. The questions on the origin of allotetraploid species that need further investigation have been discussed.