

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 635.21:575.222.73:577.21:631.527.3:632.938.1

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-2-202-209>

Поступила в редакцию 14.11.2018

Received 14.11.2018

А. В. Левый, А. С. Агеева

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ПОЛУЧЕНИЕ МУЖСКИ ФЕРТИЛЬНЫХ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ С ЦЕННЫМ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ АЛЛОТЕТРАПЛОИДНЫМ ВИДОМ *SOLANUM STOLONIFERUM*

Аннотация. Дикий аллотетраплоидный вид картофеля *Solanum stoloniferum* редко используется в селекции из-за пре- и постзиготных репродуктивных барьеров. Одним из факторов, затрудняющих скрещивания между *S. stoloniferum* и *S. tuberosum*, является односторонняя несовместимость (англ. unilateral incompatibility, UI).

В статье представлены результаты использования оригинальных SvSv-линий для преодоления UI в скрещиваниях с *S. stoloniferum* и получения мужски фертильных гибридов с участием дикого вида. SvSv-линии представляют собой гибриды F2 между дигаплоидами *S. tuberosum* и *S. verrucosum*. Они мужски фертильны, а их цитоплазма относится к типу D/γ. Так как эти гибриды гомозиготны по Sv-гену от *S. verrucosum*, они не образуют пестичных S-RNКаз и благодаря этому их использование в скрещиваниях позволяет устранить презиготную несовместимость. В результате опыления семи SvSv-линий пылью 26 образцов *S. stoloniferum* получено большое количество семян, из которых, несмотря на низкий процент прорастания (1,9 %), сформировалось 40 сеянцев межвидовых гибридов. Эксперимент по гибридизации между SvSv-линиями и *S. stoloniferum* воспроизведен с использованием образца дикого вида PI205522, у которого ранее выявлены ДНК-маркеры генов устойчивости к PVY, фитофторозу, а также маркеры цитоплазмы «стерильного» типа W/γ: получено 950 гибридных семян и 12 жизнеспособных сеянцев. Геном сеянцев был удвоен при помощи колхицина, в результате чего образовались мужски фертильные гексаплоиды (F1), которые завязывали семена при самоопылении. Удвоенные гибриды удалось скрестить в качестве материнских растений с сортом Katahdin. Полученные из семян пентаплоидные гибриды (BC1) образовывали выполненные семена при опылении их пылью сорта Quarta. Отобранные по маркерам гибриды BC2 были вовлечены в гибридизацию с сортами картофеля как в качестве материнских форм, так и в качестве опылителей. Значительная доля гибридов F1, BC1 и BC2 была мужски фертильна (формировали функционально активную пыльцу).

Ключевые слова: картофель, SvSv-линии, *Solanum stoloniferum*, гибридизация, фертильность, ДНК-маркеры, гены устойчивости, PVY (вирус Y картофеля), фитофтороз

Для цитирования: Левый, А. В. Получение мужски фертильных межвидовых гибридов культурного картофеля с ценным для селекции аллотетраплоидным видом *Solanum stoloniferum* / А. В. Левый, А. С. Агеева // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 2. – С. 202–209. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-2-202-209>

A. V. Levy, A. S. Ageeva

Institute of Genetic and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

PRODUCTION OF MALE FERTILE INTERSPECIFIC HYBRIDES BETWEEN CULTIVATED POTATOES AND VALUABLE FOR BREEDING ALLOTTETRAPLOID SPECIES *SOLANUM STOLONIFERUM*

Abstract. The germplasm of valuable for breeding wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* is rarely used because of pre- and postzygotic reproductive barriers with cultivated potatoes. One of the factors that complicate crosses between *S. stoloniferum* and *S. tuberosum* is unilateral incompatibility (UI).

Here, we present the results of application of original SvSv-lines for overcoming UI in crosses with *S. stoloniferum* and of generating male fertile hybrids derived from this species. SvSv-lines are F2 *S. tuberosum* dihaploid × *S. verrucosum* and are male fertile and have D/γ-type cytoplasm. Since they are hybrids on homozygous for Sv gene from *S. verrucosum*, they do not form SvSv-lines and have the same ability for elimination of prezygotic incompatibility as this species. As a result of pollination seven SvSv-lines were pollinated by 26 accessions of *S. stoloniferum* and a lot of hybrid seeds have been produced. In spite of low percentage of germination (1.9 %), formed 40 seedlings of interspecific hybrids. The experiment on hybridization between SvSv-lines and *S. stoloniferum* has been reproduced with the accession PI205522 of the wild species, which had DNA markers of PVY and LB resistance genes and “sterile” type cytoplasm W/γ: 950 hybrid seeds and 12 viable seedlings were produced. The genome of the seedlings was doubled by colchicine treatment, which generated hexaploids (F1) that formed highly fertile pollen and set seeds from self-pollination. We were able to cross them as females with the variety Katahdin. Produced pentaploid hybrids (BC1) were readily backcrossed by potato variety Quarta. Seedlings of BC2 were then

backcrossed by potato varieties as female and, some of them, as male parents. The substantial part of F1, BC1 and BC2 plants of interspecific hybrids were male fertile (produced a lot functionally fertile pollen).

Keywords: potato, *SvSv*-lines, *Solanum stoloniferum*, hybridization, fertility, DNA markers, resistance genes, PVY (potato virus Y), late blight

For citation: Levy A. V., Ageeva A. S. Production of male fertile interspecific hybrids between cultivated potatoes and valuable for breeding allotetraploid species *Solanum stoloniferum*. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 2, pp. 202–209 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-2-202-209>

Введение. Дикий аллотетраплоидный вид картофеля *S. stoloniferum* является источником ряда ценных генов устойчивости к широкому кругу заболеваний и вредителей, а также к неблагоприятным абиотическим факторам среды [1–3]. Однако *S. stoloniferum* сравнительно редко используется в селекции, так как практически не скрещивается с культурным картофелем *S. tuberosum*. Одним из факторов, которые затрудняют гибридизацию с *S. stoloniferum*, является односторонняя несовместимость, при которой гибридные семена удается получить при использовании дикого вида в качестве материнской формы, а обратные скрещивания оказываются неудачными [4–6]. В результате в случае успешной интрогрессии ценных генов аллотетраплоидного вида в селекционный материал получают сорта картофеля, для которых характерна мужская стерильность, связанная с цитоплазмой дикого вида [2, 7, 8]. Это существенно ограничивает их использование в селекции. Следовательно, разработка методов преодоления односторонней несовместимости в скрещиваниях с *S. stoloniferum* имеет практическое значение, так как их использование позволит получать гибриды на цитоплазме культурного картофеля, обладающие мужской фертильностью.

В настоящей работе представлены результаты успешного использования созданных в лаборатории генетики картофеля Института генетики и цитологии НАН Беларуси *SvSv*-линий для преодоления односторонней несовместимости в скрещиваниях с диким аллотетраплоидным видом картофеля *S. stoloniferum* и получения мужски фертильных межвидовых гибридов на основе *S. stoloniferum*. *SvSv*-линии представляют собой гибриды F2 между дигаплоидами *S. tuberosum* и самосовместимым диплоидным диким видом картофеля из Мексики *S. verrucosum*, у которых *St*-аллели культурного картофеля замещены на *Sv* от *S. verrucosum* [9]. Известно, что при опылении *S. verrucosum* собственной пылью, а также пылью других видов картофеля не наблюдается ингибирования роста пыльцевых трубок и большинство из них может достигать семязачек [10]. Это свойство *S. verrucosum*, обусловленное отсутствием пестичных *S*-РНКаз, является основой его использования в качестве вида-посредника для вовлечения в селекцию ценного генофонда диких видов картофеля, которые не скрещиваются с *S. tuberosum* [10–12]. Благодаря наличию *S*-генов в гомозиготном состоянии, привнесенных от *S. verrucosum*, *SvSv*-линии имеют те же возможности для устранения презиготной несовместимости при межвидовой гибридизации, что и дикий вид, однако их использование позволяет устранить нежелательные эффекты, связанные с его применением (цитоплазматическая мужская стерильность и односторонняя несовместимость, характерные для гибридов; пониженное клубнеобразование).

Цель работы – изучить использование оригинальных *SvSv*-линий для преодоления UI в скрещиваниях с *S. stoloniferum* и получить мужски фертильные гибриды с участием дикого вида.

Для достижения цели настоящего исследования решались следующие задачи: применить *SvSv*-линии в качестве материнских форм при гибридизации с диким аллотетраплоидным видом картофеля *S. stoloniferum*; оценить фертильность полученных межвидовых гибридов.

Материалы и методы исследования. В качестве исходного материала использовали 26 образцов дикого аллотетраплоидного вида картофеля *S. stoloniferum*: PI 160224, PI 160225, PI 160226, PI 160372, PI 161152, PI 186544, PI 195164, PI 195167, PI 201849, PI 201855, PI 205510, PI 205522, PI 230477, PI 230490, PI 230557, PI 239411, PI 243458, PI 275252, PI 310964, PI 310980, PI 473534, PI 498287, PI 558462, PI 586948, PI 595472, PI 653763, семена которых получены из United States Potato Genebank NRSP 6. Растения этих образцов были опылителями в скрещиваниях 2013 г. с семью *SvSv*-линиями (*Sv*-1–*Sv*-7). Опыт по получению межвидовых гибридов между *SvSv*-линиями и *S. stoloniferum* был воспроизведен в 2015 г. с участием только одного образца дикого вида –

PI 205522, у которого нами выявлены ДНК-маркеры генов устойчивости к PVY (Ry_{sto} , $Ry-f_{sto}$, Ry_{adg}), а также гена *Rpi-sto1* долговременной устойчивости к фитофторозу [13]. Пыльцой образца PI 205522 опыляли диплоидные линии *Sv-2*, *Sv-3*, *Sv-4*, *Sv-6*, *Sv-8*.

Для проведения гибридизации растения родительских форм выращивали при естественном освещении на участке, расположенном между двумя теплицами и оборудованном устройством для мелкокапельного полива. Семена проращивали в плошках с торфогрунтом в конце апреля – начале мая, предварительно замочив на 12 ч в водном растворе гиббереллина (GA 3) (100 мг/л). Рассаду с 5–6 настоящими листьями высаживали на участке 15–20 мая. Сеянцы выращивали в гребнях, расстояние между гребнями – 70 см, между растениями – 50 см. Условия окружающей среды были типичными для летнего периода в Беларуси. Для предотвращения самоопыления перед гибридизацией проводили кастрацию цветков материнских образцов (нераскрывшиеся бутоны), все неопыленные бутоны и раскрывшиеся неопыленные цветки в соцветии удаляли. Перед проведением гибридизации оценивали функциональную фертильность пыльцы (ФФП) путем определения частоты прорастания пыльцевых зерен за 2 ч при 25 °С на питательной среде [14]. Учитывали по 300 пыльцевых зерен с образца в нескольких полях зрения микроскопа ($\times 600$).

У полученных семян межвидовых гибридов оценивали всхожесть, а у выращенных из семян сеянцев – жизнеспособность и ФФП. Для оценки их плоидности производили подсчет хромосом в материнских клетках пыльцы на стадиях метафаза I – ранняя, анафаза I и метафаза II – ранняя, анафаза II. Для подтверждения происхождения полученных гибридов *SvSv*-линии \times *S. stoloniferum* детектировали SCAR-маркер FLint2B469, который применяется в филогенетических исследованиях для детекции генома В аллотетраплоидных диких видов картофеля [15], а у гибридов *SvSv*-линии \times *S. stoloniferum* PI 205522 – маркер 517/1519 гена *Rpi-sto1* долговременной устойчивости к фитофторозу [16], характерный только для PI 205522. Олигонуклеотидные последовательности для идентификации маркеров синтезированы в ОДО «Праймтех» (г. Минск). ДНК выделяли из листьев сеянцев с использованием наборов DNA purification Kit производства фирмы Thermo Scientific в соответствии с рекомендациями производителя и некоторыми модификациями, позволяющими увеличить выход и качество тотальной ДНК картофеля [17]. Амплификацию ДНК осуществляли на автоматическом программируемом термоциклере фирмы PE Applied Biosystems.

У ряда триплоидных гибридов *SvSv*-линии \times *S. stoloniferum* PI 205522, несущих ДНК-маркеры дикого вида, осуществляли митотическое удвоение хромосом. Для этого замачивали выращиваемые *in vitro* растения в 0,025 %-ном водном растворе колхицина в течение 72 ч. По завершении обработки растения промывали дистиллированной стерилизованной водой и производили их черенкование. После 1–2 циклов размножения *in vitro* растения высаживали в грунт. Предполагаемые гексаплоиды отбирали путем подсчета количества хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. Удвоенными считали растения со средним числом хлоропластов в паре замыкающих клеток устьиц, равным 22–28 (исходные 3х гибриды, а также их родительские формы 2х *SvSv*-линии и 4х *S. stoloniferum* PI 205522 имели 12–15 хлоропластов). Гексаплоиды включали в гибридизацию с высокофертильным сортом картофеля Katahdin, диплоидной линией – донором фертильности IGC 10/1.21, а также опыляли их смесью пыльцы сорта Katahdin и диплоидных линий *S. phureja* IvP 35 и IvP 48.

Пентаплоиды (первое поколение беккрасса BC1), полученные в результате опыления гексаплоидов *Sv-2* \times PI 205522 смесью пыльцы Katahdin и диплоидных линий *S. phureja* IvP35 и IvP 48, опыляли пыльцой сорта Quarta и диплоидной линией *S. phureja* IvP 48. У полученных растений BC2 определяли наличие ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY и фитофторозу, отобранные генотипы включали в гибридизацию в качестве материнских форм с фертильными сортами Свитанок Киевский и Уладар, а мужски фертильные гибриды – в качестве опылителей с сортом Янка. Оценивали ФФП гибридов F1 (гексаплоиды), BC1 (пентаплоиды) и BC2 (уровень плоидности близок к 4х).

Тип цитоплазмы у *SvSv*-линий и *S. stoloniferum* PI 205522 определяли по методике Hosaka, Sanetomo [18]. Установлено, что у использованных в работе *SvSv*-линий, которые происходят от дигаметоидного мексиканского сорта картофеля Nortena, цитоплазма имеет тип D/ γ , а у образца *S. stoloniferum* PI 205522 – W/ γ .

Результаты и их обсуждение. Гибридизация между SvSv-линиями и *S. stoloniferum*. Скрещивания 2013 г. с участием SvSv-линий Sv-3, Sv-5 и Sv-7 были неудачными. Несмотря на то что было получено 36 ягод от опыления 107 цветков, семена в ягодах не сформировались. С участием линии Sv-6 получено 111 семян от опыления PI 653763, из которых возшло 4. Применение трех остальных SvSv-линий оказалось более результативным: в общей сложности получено 1893 семян от опыления 120 цветков (15,8 семени/опыление) (табл. 1).

Таблица 1. Результаты скрещиваний SvSv-линий и образцов *S. stoloniferum*

Table 1. Results of crosses between SvSv-lines and *S. stoloniferum* accessions

Образец <i>S. stoloniferum</i>	SvSv-линия 1 (Sv-1)				SvSv-линия 2 (Sv-2)				SvSv-линия 4 (Sv-4)			
	К-во опылений	К-во семян	К-во семян/опыление	К-во сеянцев	К-во опылений	К-во семян	К-во семян/опыление	К-во сеянцев	К-во опылений	К-во семян	К-во семян/опыление	К-во сеянцев
PI 160372	4	122	30	12	3	120	40	0	–	–	–	–
PI 161152	3	34	11	1	5	0	–	–	–	–	–	–
PI 186544	3	0	–	–	3	0	–	–	5	0	–	–
PI 195167	2	0	–	–	–	–	–	–	2	0	–	–
PI 201849	4	215	53,8	1	5	56	11	0	4	18	4,2	0
PI 201855	5	138	27,6	0	–	–	–	–	3	0	–	–
PI 205522	–	–	–	–	5	0	–	–	–	–	–	–
PI 230490	4	197	49,3	4	5	0	–	–	–	–	–	–
PI 243458	3	74	24,6	0	4	0	–	–	4	33	8	12
PI 310964	–	–	–	–	3	0	–	–	3	0	–	–
PI 473534	–	–	–	–	5	0	–	–	–	–	–	–
PI 498287	2	50	25	2	5	257	51	0	–	–	–	–
PI 558462	5	125	25	1	–	–	–	–	–	–	–	–
PI 595472	2	15	7,5	0	5	139	27,8	0	4	22	5,4	2
PI 653763	4	0	–	–	6	278	46,3	1	–	–	–	–
Всего	41	970	23,7	21	54	850	15,7	1	25	73	2,9	14

Семена в основной массе были довольно крупные (по размеру такие же, как при гибридизации между разными SvSv-линиями), однако невыполненные. Всхожесть семян была низкой (в среднем по опыту 1,9 %), особенно у семян гибридов с участием Sv-2 (0,1 %). В общей сложности удалось получить 40 растений межвидовых гибридов.

Оценка плоидности гибридов SvSv-линий с S. stoloniferum. У 15 гибридов при изучении мейоза в материнских клетках пыльцы насчитывалось около 36 хромосом. На стадии тетрад у таких растений наблюдали образование микроклеток. На стадии тетрад микроклетки обнаружены еще у 10 гибридов, однако число хромосом в них подсчитать не удалось. Оценка жизнеспособности (окраска 4 %-ным раствором ацетокармина) и ФФП у 32 гибридов показала, что все они стерильны. Опыление полученных гибридов пыльцой высокофертильных диплоидных линий *S. tuberosum*, а также диплоидных линий *S. phureja* IvP35 и IvP48 (всего 191 опыление) оказалось неудачным: не завязалось ни одной ягоды. При анализе ДНК у 38 гибридов детектировали маркер FLint2B469 генома В. Все это указывает на триплоидную природу полученных межвидовых гибридов и происхождение их от *S. stoloniferum*.

Гибридизация между SvSv-линиями и S. stoloniferum PI 205522. Благодаря относительно большому объему скрещиваний (120 опылений) в 2015 г., в отличие от 2013 г., получено достаточно много семян гибридов с участием SvSv-линий и *S. stoloniferum* PI 205522 (950 шт.; скрещивания с этим образцом в 2013 г. были неудачными). Большинство семян имели характерные для подобных скрещиваний (см. выше) крупные размеры, невыполненность и низкую всхожесть: удалось получить лишь 12 растений (табл. 2). Из них в культуру *in vitro* введено 11 растений, 1 погибло. В результате анализа ДНК у всех этих растений отмечено наличие маркера 517/1519₇₅₀ гена *Rpi-stol* устойчивости к фитофторозу, что является подтверждением их гибридного происхождения.

Т а б л и ц а 2. Результаты гибридизации SvSv-линий и образца *S. stoloniferum* PI 205522T a b l e 2. Results of crosses between SvSv-lines and *S. stoloniferum* accession PI 205522

SvSv-линия	К-во опылений	К-во ягод	К-во семян	К-во семян на одну ягоду	К-во семян на одно опыление	Всхожесть семян*
Sv-2	50	7 (14,0 %)	358	51	7,2	2,5 % (9/358)
Sv-3	11	9 (81,8 %)	365	41	33,2	0 % (0/100)
Sv-4	33	2 (6,1 %)	30	15	0,9	3,3 % (1/30)
Sv-6	13	5 (38,5 %)	17	3	1,3	0 % (0/17)
Sv-8	13	13 (100 %)	180	14	13,8	4,7 % (2/43)
Всего	120	36 (30 %)	950	26,3	7,9	2,2 % (12/548)

*В скобках указано число проросших семян и их общее количество.

Удвоение числа хромосом у триплоидных гибридов SvSv-линий с *S. stoloniferum* PI 205522, бек-кроссирование полиплоидов культурным картофелем. В результате митотического удвоения хромосом в 2016 г. получено три предположительно гексаплоидных растения гибридов Sv-2 × PI 205522 и 6 растений Sv-4 × PI 205522 (все они имели более 20 хлоропластов в замыкающих клетках устьиц). Гибриды на основе Sv-4 плохо цвели, причем цветки усыхали вскоре после раскрытия бутонов. Гибриды Sv-2 × PI 205522 отличались обильным продолжительным цветением, образовывали ФФП (16, 17 и 20 % соответственно), посредством самоопыления легко завязывали ягоды, содержащие многочисленные выполненные семена (всхожесть семян 93 %). Выделенные фертильные растения были вовлечены в гибридизацию с диплоидными и тетраплоидными опылителями (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Результаты гибридизации гексаплоидных гибридов Sv-2 × *S. stoloniferum* PI 205522 (материнские растения) и сорта KatahdinT a b l e 3. Results of crosses between hexaploid hybrids Sv-2 × *S. stoloniferum* PI 205522 (as a female parent) and Katahdin variety

Гексаплоидный гибрид Sv-2 × PI 205522	Katahdin			Katahdin (смесь пыльцы Katahdin, IvP35 и IvP48)		
	К-во опылений	К-во ягод	К-во семян**	К-во опылений	К-во ягод	К-во семян без эмбрионального пятна**
CDH.2	2	0	—	8	0	—
CDH.4	2	0	—	5	2	48
CDH.6	3	1	21	2	2	30
Всего	7	1	21 (19)	15	4	78 (62)

** В скобках указано количество проросших семян.

Несмотря на небольшой объем скрещиваний, удалось получить около 100 семян в результате опыления гибридов высокофертильным сортом картофеля Katahdin. Наиболее эффективным оказался вариант скрещиваний с использованием смеси пыльцы Katahdin и диплоидных линий *S. phureja* IvP35 и IvP 48 (в ягодах обнаружили только семена без маркерного признака, т. е. полученные от опыления сортом Katahdin). Кроме того, отмечалось образование ягод и небольшого количества семян от опыления удвоенных гибридов диплоидной линией – донором фертильности. Колхицинированные растения Sv-2 × PI 205522, у которых среднее число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц находилось в диапазоне 12–13 штук, были мужски стерильны (ФФП = 0) и не завязывали семян ни с диплоидными, ни с тетраплоидными тестерами.

В результате посева 99 семян, полученных ранее путем опыления гексаплоидных гибридов Sv-2 × PI 205522 смесью пыльцы сорта Katahdin и диплоидных линий *S. phureja* IvP35 и IvP 48, сформировался 81 сеянец (первое поколение беккрасса культурным картофелем BC1). Значения ФФП пентаплоидных гибридов находились в диапазоне 1–21 %.

При опылении растений BC1 пыльцой сорта Quarta завязывались ягоды, содержащие выполненные семена. Всего получено 3714 семян, в среднем эффективность гибридизации составила

24 семени на одно опыление. Из семян, образовавшихся на пентаплоидах IGC16/38.16 и IGC16/38.17 (выборки по 150 шт.), получено соответственно 89 (всхожесть 59,3 %) и 77 (всхожесть 51,3 %) сеянцев (гибридные популяции IGC17/170.n и IGC17/171.n второго поколения беккрасса BC2). Значения показателя функциональной фертильности пыльцы растений BC2, отобранных по наличию ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY и фитофторозу, варьировались в широком диапазоне (табл. 4). При этом наряду со стерильными (ФФП < 1 %) и низкофертильными (ФФП = 1–10 %) генотипами в обеих гибридных популяциях с достаточно высокой частотой были представлены фертильные и высокофертильные гибриды (5 из 14 у IGC17/170.n и 9 из 21 у IGC17/171.n). По опыту лаборатории генетики картофеля для достижения положительных результатов при гибридизации картофеля ФФП опылителя должна составлять более 10 %.

Таблица 4. Распределение растений межвидовых гибридов второго поколения беккрасса IGC17/170.n и IGC17/171.n по уровню функциональной фертильности пыльцы

Table 4. Distribution of BC2 plants of interspecific hybrids IGC17/170.n and IGC17/171.n on the level of pollen functional fertility

Гибрид BC2	Проанализировано сеянцев, шт.	ФФП, %				
		<1	1–10	11–20	21–30	>31
IGC17/170.n	14	1	8	2	2	1
IGC17/171.n	21	5	7	4	4	1

Отдельные генотипы BC2 были успешно использованы в качестве материнских растений при гибридизации с сортами картофеля Свитанок Киевский и Уладар, а в качестве опылителей – при гибридизации с сортом Янка.

Заключение. Таким образом, использование *SvSv*-линий в скрещиваниях с *S. stoloniferum* дает возможность получать межвидовые гибриды, используя дикий вид в качестве опылителя. Они эффективны по отношению к широкому кругу образцов *S. stoloniferum* и не требуют применения специальных приемов, повышающих эффективность межвидовой гибридизации. Тип цитоплазмы у полученных гибридов F1, BC1 и BC2 – D/γ. Благодаря этому они обладают мужской фертильностью, что расширяет перспективы их использования в селекции.

Благодарности. Настоящее исследование выполнено при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, гранты B16P-103 и B18M-091.

Acknowledgements. This study was supported by of the Belarusian Republican Foundation for Basic Research, grants B16R-103 and B18M-091.

Список использованных источников

1. Ortiz, R. Potato breeding via ploidy manipulation / R. Ortiz // Plant Breeding Reviews / ed. : G. R. Askew, F. A. Bliss, M. Gilbert. – New York, 1998. – Vol. 16. – P. 15–86.
2. Ross, H. Potato breeding – problems and perspectives / H. Ross / H. Ross. – Berlin ; Hamburg : V. P. Parey, 1986. – 132 p. – (Advances in Plant Breeding, Series N 13).
3. Conservation, evaluation and use in breeding of potato genetic diversity at the N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR) / S. D. Kiru [et al.] // Potato production and innovative technologies : Proceedings Potato Russia International Conference, Moscow, August 21–22, 2007 / eds. : A. S. Haverkort, B. V. Anisimov. – Wageningen, 2007. – P. 353–363.
4. Jackson, S. A. Crossability between cultivated and wild tuber- and non-tuber-bearing *Solanums* / S. A. Jackson, R. E. Hanneman (Jr.) // Euphytica. – Vol. 109, N 1. – P. 51–67. <https://doi.org/10.1023/A:1003710817938>
5. Hanneman, R. E. Jr. The reproductive biology of the potato and its implication for breeding / R. E. Hanneman (Jr.) // Potato Res. – 1999. – Vol. 42, N 2. – P. 283–312. <https://doi.org/10.1007/BF02357859>
6. Hayes, R. J. Unilateral and bilateral hybridization barriers in inter-series crosses of 4x 2EBN *Solanum stoloniferum*, *S. pinnatisectum*, *S. cardiophyllum* and 2x 2EBN *S. tuberosum* haploids and haploid-species hybrids / R. J. Hayes, I. I. Dinu, C. A. Thill // Sex. Plant Reprod. – Vol. 17, N 6. – P. 303–311. <https://doi.org/10.1007/s00497-005-0244-1>
7. Molecular markers for cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production / A. Lössl [et al.] // Euphytica. – Vol. 116, N 3. – P. 221–230. <https://doi.org/10.1023/A:1004039320227>
8. Song, Y-S. Development of STS markers for selection of extreme resistance ($R_{y_{stb}}$) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars / Y.-S. Song, A. Schwarzfischer // Amer. J. Potato Res. – 2008. – Vol. 85, N 5. – P. 392–393. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9044-0>

9. Создание линий-посредников для преодоления межвидовой несовместимости у картофеля / Ю. В. Полюхович [и др.] // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2010. – № 2. – С. 51–58.
10. Hermsen, J. G. Th. Barriers to hybridization of *Solanum bulbocastanum* Dun. and *Solanum verrucosum* Schlecht. and structural hybridity in their F1 plants / J. G. Th. Hermsen, M. S. Ramanna // *Euphytica*. – Vol. 25, N 1. – P. 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00041523>
11. Jansky, S. H. The introgression of 2x 1 EBN *Solanum* species into the cultivated potato using *Solanum verrucosum* as a bridge / S. H. Jansky, A. J. Hamernik // *Genet. Resour. Crop Evol.* – Vol. 56, N 8. – P. 1107–1115. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9433-3>
12. SvSv-линии – эффективный инструмент для вовлечения в селекцию ценного генофонда 1 EBN диплоидных диких видов картофеля / А. П. Ермишин [и др.] // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2017. – Т. 21, № 1. – С. 42–50.
13. ДНК-маркеры генов устойчивости к фитофторозу и к Y-вирусу у образцов дикого аллотетраплоидного вида картофеля *Solanum stoloniferum* / А. В. Левый [и др.] // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2017. – № 2. – С. 46–54.
14. Pallais, N. Research on the physiology of potato sexual seed production / N. Pallais, N. Fong, D. Berrios // *Proceedings of the Innovative Methods for Propagating Potatoes Report of the 28th CIP Planning Conference, December 10–14, Lima, 1984.* – Lima, 1984. – P. 149–168.
15. Соколова, Е. А. Молекулярные маркеры генов устойчивости и геномов-доноров устойчивости картофеля к фитофторозу : метод. указания / Е. А. Соколова, О. А. Фаина, Э. Е. Хавкин ; ВНИИ СХБ Россельхозакадемии. – М., 2013. – 25 с.
16. Wang, M. Diversity and evolution of resistance genes in tuber-bearing *Solanum* species : Ph. D. thesis / M. Wang. – Wageningen, 2007. – 108 p.
17. Воронкова, Е. В. Диплоидные гибриды между аллотетраплоидными дикими видами картофеля *Solanum acaule* Bitt., *Solanum stoloniferum* Schlttdl. и дигаметами *Solanum tuberosum* L. / Е. В. Воронкова, В. М. Лисовская, А. П. Ермишин // *Генетика*. – 2007. – Т. 43, № 8. – С. 1065–1073.
18. Hosaka, K. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections / K. Hosaka, R. Sanetomo // *Theor. Appl. Genet.* – 2012. – Vol. 125, N 6. – P. 1237–1251. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1909-4>

References

1. Ortiz R. Potato breeding via ploidy manipulation. *Plant Breeding Reviews*. Vol. 16. New York, 1998, pp. 15–86.
2. Ross H. *Potato breeding – problems and perspectives*. Berlin, Hamburg, V. P. Parey, 1986. 132 p.
3. Kiru S. D., Gavrilenko T. A., Kostina L. I., Rogozina E. V., Antonova O. Y., Truskinov E. V., Shvachko N. A., Krylova E. A., Smirnova A. B. Conservation, evaluation and use in breeding of potato genetic diversity at the N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *Potato production and innovative technologies: Proceedings Potato Russia International Conference, Moscow, August 21–22, 2007*. Wageningen, 2007, pp. 353–363.
4. Jackson S. A., Hanneman R. E. (Jr.) Crossability between cultivated and wild tuber- and non-tuber-bearing Solanums. *Euphytica*, 1999, vol. 109, no. 1, pp. 51–67. <https://doi.org/10.1023/A:1003710817938>
5. Hanneman R. E. Jr. The reproductive biology of the potato and its implication for breeding. *Potato Research*, 1999, vol. 42, no. 2, pp. 283–312. <https://doi.org/10.1007/BF02357859>
6. Hayes R. J., Dinu I. I., Thill C. A. Unilateral and bilateral hybridization barriers in inter-series crosses of 4x 2EBN *Solanum stoloniferum*, *S. pinnatisectum*, *S. cardiophyllum* and 2x 2EBN *S. tuberosum* haploids and haploid-species hybrids. *Sexual Plant Reproduction*, 2005, vol. 17, no. 6, pp. 303–311. <https://doi.org/10.1007/s00497-005-0244-1>
7. 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*, vol. 116, no. 3, pp. 221–230. <https://doi.org/10.1023/A:1004039320227>
8. 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. *American Journal of Potato Research*, 2008, vol. 85, no. 5, pp. 392–393. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9044-0>
9. Polyukhovich Yu. V., Makhan'ko O. V., Savchuk A. V., Voronkova E. V., Ermishin A. P. Development of bridge lines for overcoming interspecific incompatibility in potatoes. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyala-gichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2010, no. 2, pp. 51–58 (in Russian).
10. Hermsen J. G. Th., Ramanna M. S. Barriers to hybridization of *Solanum bulbocastanum* Dun. and *Solanum verrucosum* Schlecht. and structural hybridity in their F1 plants. *Euphytica*, 1976, vol. 25, no. 1, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00041523>
11. Jansky S. H., Hamernik A. J. The introgression of 2x 1 EBN *Solanum* species into the cultivated potato using *Solanum verrucosum* as a bridge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2009, vol. 56, no. 8, pp. 1107–1115. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9433-3>
12. Ermishin A. P., Polyukhovich Yu. V., Voronkova E. V., Gukasyan O. N. SvSv-lines is an effective tool for involvement of valuable genepool of 1EBN diploid potato species into breeding. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2017, vol. 21, no. 1, pp. 42–50 (in Russian).
13. Levyi A. V., Voronkova E. V., Polyukhovich Yu. V., Ermishin A. P. DNA-markers of late blight and PVY-resistance genes in accessions of wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum*. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk*

Belarusi. *Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 2, pp. 46–54 (in Russian).

14. Pallais N., Fong N., Berrios D. Research on the physiology of potato sexual seed production. *Proceedings of the Innovative Methods for Propagating Potatoes Report of the 28th CIP Planning Conference, December 10–14, Lima, 1984*. Lima, 1984, pp. 149–168.

15. Sokolova E. A., Fadina O. V., Khavkin E. E. *Molecular markers of resistance genes and donor resistance genomes of potato to late blight: guidelines*. Moscow, 2013. 25 p. (in Russian).

16. Wang M. *Diversity and evolution of resistance genes in tuber-bearing Solanum species*. Ph. D. thesis. Wageningen, 2007. 108 p.

17. Voronkova E. V., Lisovskaya V. M., Ermishin A. P. Diploid hybrids between allotetraploid wild potato species *Solanum acaule* Bitt., *S. stoloniferum* Schldl. and dihaploids of *S. tuberosum* L]. *Genetika* [Genetics], 2007, vol. 43, no. 8, pp. 1065–1073 (in Russian).

18. Hosaka K., Sanetomo R. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, vol. 125, no. 6, pp. 1237–1251. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1909-4>

Информация об авторах

Левый Александр Васильевич – мл. науч. сотрудник.
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).
E-mail: a30413@mail.ru

Агеева Анастасия Сергеевна – мл. науч. сотрудник.
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).
E-mail: nastya_ageeva95@mail.ru

Information about the authors

Alexander V. Levy – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a30413@mail.ru

Anastasiya S. Ageeva – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nastya_ageeva95@mail.ru