

УДК 635.21: 631.527.3:631.527.5: 632.938.1: 577.21

А. В. ЛЕВЫЙ, Е. В. ВОРОНКОВА, Ю. В. ПОЛЮХОВИЧ, А. П. ЕРМИШИН

**ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ФРАГМЕНТОВ ДНК У КОНТРАСТНЫХ
ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОФТОРОЗУ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ НА ОСНОВЕ
*SOLANUM STOLONIFERUM***

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

(Поступила в редакцию 29.05.2014)

Введение. Фитофтороз – одно из наиболее вредоносных заболеваний картофеля и других пасленовых культур. Для предотвращения потерь урожая от этой болезни производители сельхозпродукции вынуждены применять неоднократные обработки посадок фунгицидами. Однако использование химических средств контроля фитофтороза в отдельные неблагоприятные годы является малоэффективным. По оценкам специалистов, в перспективе проблема поражаемости посадок картофеля фитофторозом будет усугубляться в связи с распространением у возбудителя фитофтороза оомицета *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary штаммов с А2-типом спаривания.

Наиболее перспективным направлением борьбы с фитофторозом считается выведение устойчивых к патогену сортов картофеля путем интрогрессии генов устойчивости (R-генов) от дикорастущих видов *Solanum*, в частности от диких видов картофеля из Мексики. Одним из источников генов высокой долговременной устойчивости к фитофторозу является дикий аллотетраплоидный вид картофеля *S. stoloniferum* (sto) [1–3]. Его гены редко представлены у современных сортов из-за сложности интрогрессии генетического материала этого вида к культурному картофелю [1]. В лаборатории генетики картофеля Института генетики и цитологии НАН Беларуси получены уникальные диплоидные межвидовые гибриды в скрещиваниях *S. stoloniferum* с дигаллоидами *S. tuberosum*, среди которых выделены генотипы, обладающие высокой долговременной устойчивостью к фитофторозу, стабильно передающейся потомству при беккроссировании гибридов дигаллоидами *S. tuberosum* (tbr) [4]. В результате изучения генетического контроля признака был установлен моногенный характер его наследования, что позволяет надеяться на успешное молекулярно-генетическое маркирование соответствующего гена, интрогрессированного от *S. stoloniferum*, для использования в маркер-ассоциированной селекции.

В ряде работ, связанных с маркированием и картированием генов устойчивости картофеля, успешно использовали микросателлитные маркеры. В частности, с помощью этой системы маркеров был маркирован один из известных генов *S. stoloniferum* иммунности к Y вирусу картофеля [5]. Ряд микросателлитных маркеров использовали в работах по маркированию и картированию QTL, связанных с горизонтальной устойчивостью к фитофторозу, в популяциях межвидовых гибридов картофеля [6, 7]. Преимуществом микросателлитных, или иначе SSR (англ.: simple sequence repeat)-маркеров является их широкая представленность в геноме растений, гетерозиготность и большое аллельное разнообразие [8]. Немаловажное преимущество микросателлитных маркеров состоит также в том, что они достаточно сходны для близкородственных видов, что позволяет использовать систему маркеров, разработанных для конкретного вида, в частности для *S. tuberosum*, для идентификации локусов других близкородственных видов, например для видов обширного рода *Solanum* и межвидовых гибридов [9]. Хотя эти локусы расположены в основном в некодирующих регионах генома и, как правило, селективно нейтральны, они тем не менее могут быть сцепленными с адаптивно значимыми генами, что делает их пригодными для ПЦР-маркирования.

Целью данного исследования было изучение SSR-полиморфизма расщепляющейся по признаку высокой долговременной полевой устойчивости к фитофторозу популяции межвидовых гибридов картофеля на основе аллотетраплоидного вида *S. stoloniferum* для выявления ПЦР-маркеров, сцепленных с признаком высокой устойчивости к фитофторозу, определения группы сцепления, к которой относится локус, ассоциированный с высокой устойчивостью к фитофторозу у гибридов.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований являлись диплоидные межвидовые гибриды картофеля из популяции IGC 08/10.n, полученной при опылении высокоустойчивого к фитофторозу диплоидного межвидового гибрида IGC 02/183.6 (BC1 (sto×tbr)×tbr) неустойчивым гибридом IGC-03/170.13 (BC1 (sto×tbr)×tbr). Исходные межвидовые гибриды sto×tbr были получены в результате опыления образца *S. stoloniferum* PI16158 (семена получены из международного генетического банка по картофелю NRSP-6, США) восприимчивым (не более 3 баллов по общепринятой шкале) дигамплоидом *S. tuberosum* из коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси IGC 00/59.11. Эти гибриды беккроссировали смесью пыльцы нескольких клонов *S. tuberosum*, родственных IGC 00/59.11 [10]. Для SSR-анализа из гибридной популяции, в общей сложности включавшей 75 генотипов, были отобраны образцы, контрастные по проявлению признака устойчивости к фитофторозу по данным трех лет полевых испытаний: 16 высокоустойчивых (4–5 баллов AUDPC или 7–9 баллов по общепринятой шкале устойчивости) и 5 восприимчивых (1 балл AUDPC или менее 3 баллов по общепринятой шкале). Коллекционные номера гибридов приведены в таблице.

Полиморфизм микросателлитных локусов, ассоциированный с устойчивостью к фитофторозу у межвидовых гибридов картофеля

Характеристика ПЦР-маркера		Наличие специфических фрагментов																				
		Генотипы, восприимчивые к фитофторозу					Генотипы с высокой устойчивостью к фитофторозу															
SSR-последовательность и ее локализация	Размер фрагмента, п.н.	15	44	61	65	70	3	7	8	16	17	19	23	24	38	39	40	51	53	54	55	73
STM0030 XII	148	0*	0	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0
	163	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0
STM0031 VII	161	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+
	173	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
STM0037 XI	100	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
	172	0	0	+	0	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+
STM1031 V	269	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+
	275	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+
STM0019 VII	89	+	0	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+
	156	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+
STM1104 VIII	171	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+
	182	0	+	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
STM1052 IX	230	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+
	269	0	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0
STM1106 X	161	+	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+
	164	+	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+
STM2013 VII	159	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	179	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+
STM2022 VIII	181	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	192	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
STM3012 IX	167	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
STM3023 IV	200	0	0	0	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+

Примечание. 0 – фрагмент отсутствует; знак (+) – фрагмент присутствует.

Для выявления полиморфизма первичной структуры ДНК изучаемых гибридов был использован набор меченых флуоресцентными метками SSR-праймеров серии STM (0019, 0030, 0031, 0037, 1031, 1049, 1052, 1104, 1106, 2013, 2022, 3012, 3023) и STPоAC58 с известной локализацией специфических микросателлитных последовательностей на одной из 12 хромосом картофеля [11]. Праймеры синтезированы в ОДО «Праймтех» (г. Минск, Беларусь).

Реакционная смесь для ПЦР содержала 20–60 нг тотальной ДНК в конечном объеме; 4–5 мкМ каждого из пары праймеров; 2,5 мМ $MgCl_2$; 2,5 мМ каждого dNTP; 0,7 ед. BioTaqpolymerase (“DIALAT Ltd” (г. Москва, Россия)) и рекомендуемый производителем для данной полимеразы буфер $10\times$ для ПЦР без $MgCl_2$ “DIALAT Ltd” (г. Москва, Россия) – 0,1 мкл/1 мкл ПЦР смеси (10 % от объема смеси) с доведением объема смеси до конечного деионизированной водой. ПЦР проводили на автоматическом программируемом термоциклере GeneAmp PCR System 2700 фирмы “PE Applied Biosystems” (США) с использованием следующей программы: денатурация 3 мин при 94 °С; далее 29 циклов по 1 мин при 94 °С, 2 мин при температуре отжига и 1 мин 30 с при 72 °С; финальная элонгация в течение 5 мин при температуре 72 °С. Фрагментный анализ продуктов амплификации осуществляли на генетическом анализаторе «Applied Biosystems 3500» в ЦКП «Геном» при Институте генетики и цитологии НАН Беларуси. Визуализацию и систематизацию полученных данных выполняли при помощи компьютерной программы «GeneMapper 4.1».

Для ПЦР-реакции со специфическими парами праймеров Blb3F/Ra-757 и Blb2F/R-773 к гену устойчивости к фитофторозу *S. bulbocastanum Rpi-blb3* и *Rpi-blb2* [12] и R3aR/F-1380 к гену устойчивости к фитофторозу *R3a S. demissum* [13] использовали следующий протокол. Состав реакционной смеси для обеих пар праймеров был одинаковым: препарат тотальной ДНК в конечном объеме 150–200 нг; 2,5 мМ $MgCl_2$, 0,2 мМ каждого из dNTP; концентрация праймеров (прямого и обратного) 0,3 мкМ (300 нМ); BioTaqpolymerase (“DIALAT Ltd” (г. Москва)) в количестве 1–1,2 ед. с буфером $10\times$ для ПЦР без $MgCl_2$ – 0,1 мкл/1 мкл ПЦР смеси (10 % от объема смеси). Программа для ПЦР: начальная денатурация в течение 5 мин при 94 °С; далее 30 циклов по 25 с при 94 °С, 30 с при T° отжига праймера и 40 с при 72 °С; финальная элонгация в течение 5 мин при температуре 72 °С. T° отжига для пары праймеров Blb3F/Ra-757 – 50 °С, для Blb2F/R-773 – 58 °С, для R3aR/F-1380 – 64 °С. Идентификацию специфических фрагментов осуществляли при горизонтальном электрофорезе в 1,5%-ном агарозном геле в течение 1–1,5 ч при напряжении в 80 В и силе тока 6 мА.

Для оценки корреляционной связи между наличием отдельных SSR-маркеров у изучаемых гибридов и устойчивостью к фитофторозу использовали коэффициент ассоциации К. Пирсона (r_A) [14].

Результаты и их обсуждение. При амплификации ДНК изучаемых образцов с 14 SSR-праймерами нами были получены микросателлитные фрагменты в значимой области в 12 вариантах опыта. Праймеры STPоAC58 и STM1049 оказались неинформативными, поэтому были исключены из анализа. Количество полиморфных фрагментов ДНК у гибридов существенно колебалось при амплификации с разными праймерами. Так, при амплификации с STM1031 были выявлены только два полиморфных фрагмента, в то время как при амплификации с STM2022 количество полиморфных фрагментов доходило до 17. При оценке корреляции между наличием фрагмента и устойчивостью к фитофторозу рассматривали только те фрагменты, которые входили в область значимости для их локализации на определенных хромосомах [11]. Как правило, полиморфизм, ассоциированный с устойчивостью к фитофторозу, в значимой области был характерен для двух фрагментов (см. таблицу).

Как видно из таблицы, наиболее высокая степень совпадения наличия определенного фрагмента ДНК с признаком устойчивости к фитофторозу оказалась при амплификации с праймерами STM0031 (фрагмент 173 п.н.), STM2013 (фрагмент 159 п.н.) и STM2022 (фрагмент 181 п.н.), STM3012 (фрагмент 167 п.н.). Однако при амплификации с тремя последними праймерами наблюдали формирование соответствующих фрагментов ДНК также у многих из восприимчивых к патогену генотипов. Фрагмент ДНК 173 п.н. при амплификации с праймерами STM0031 выявлен лишь у одного неустойчивого генотипа и присутствовал у 14 из 16 устойчивых. Коэффициент ассоциации r_A между этими признаками составил 0,63 (значим при $P < 0,01$).

Фрагмент ДНК 200 п.н. при амплификации с праймерами STM3023 выявлен у 11 из 16 устойчивых к фитофторозу генотипов. При этом данный фрагмент отсутствовал у всех неустойчивых, что существенно повышает его значимость в качестве кандидата на роль ПЦР-маркера для идентификации генетического локуса, ассоциированного с высокой устойчивостью к фитофторозу. Коэффициент ассоциации r_A между наличием этого фрагмента и устойчивостью к фитофторозу составил 0,58 (значим при $P < 0,01$). Таким образом, в качестве кандидатов на роль ПЦР-маркеров генов устойчивости к фитофторозу, интродуцированных от дикого аллотетраплоидного вида *S. stoloniferum* могут рассматриваться фрагменты STM0031-173 и STM3023-200 (рис. 1).

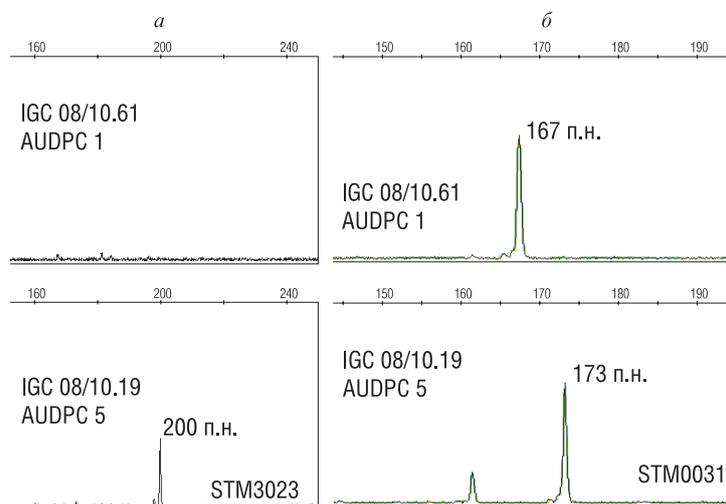


Рис. 1. Характерные пики (фрагменты), выявленные при микросателлитном анализе высокоустойчивых (AUDPC5) и неустойчивых (AUDPC1) генотипов из расщепляющейся популяции IGC 08/10.n, полученные при амплификации с SSR праймерами STM3023 (а) и STM0031 (б). При амплификации с STM3023 у устойчивых генотипов образуется фрагмент размером 200 п.н. (а), отсутствующий у неустойчивых образцов. При амплификации с STM0031 (б) у устойчивых генотипов образуется фрагмент 173 п.н., а у неустойчивых – 167 п.н.

У *S. stoloniferum* в настоящее время идентифицированы два гена устойчивости к фитофторозу – *Rpi-sto1* и *Rpi-sto2*. Первый из них картирован на хромосоме VIII и по происхождению и строению близок гену из семейства *Rpi-blb1*, первоначально картированному у мексиканского диплоидного 1 EBN вида *S. bulbocastanum*, по имени которого названо все семейство [15]. Второй ген (*Rpi-sto2*) картирован на хромосоме XI и предположительно является аналогом известного гена *R3a* распецифической устойчивости к фитофторозу дикого гексаплоидного мексиканского вида *S. demissum* [16].

По результатам настоящего исследования выявлены два независимых локуса, ассоциированных с высокой устойчивостью к фитофторозу и расположенных на двух разных хромосомах. Очевидно, устойчивость межвидовых гибридов может определяться одновременно несколькими независимыми генами. Можно предположить, что микросателлитный фрагмент STM3023-200 связан с геном, родственным картированному на IV хромосоме гену *R2* *S. demissum* [15], либо картированному там же гену *Rpi-blb3* *S. bulbocastanum* [17]. Гены вертикальной устойчивости к фитофторозу из семейства *R2* у *S. stoloniferum* в научной литературе не описаны. Однако в работах [13, 18] показано, что у многих генотипов *S. stoloniferum* присутствует другой *Rpi*-ген, характерный для *S. demissum*, а именно *R3a*. Это говорит о возможности присутствия у *S. stoloniferum* и гибридов на его основе генов, сходных по происхождению и строению с генами вертикальной распецифической устойчивости, картированными у *S. demissum*.

Проведенный нами анализ контрастных по проявлению признака устойчивости к фитофторозу гибридов из популяции IGC 08/10.n на наличие специфического ПЦР-маркера *R3a*-1380 [13, 18] показал отсутствие доминантного аллеля гена *R3a* у устойчивых гибридов, несущих генетический материал *S. stoloniferum*. В то же время при анализе гибридов со специфическими маркерами, предлагаемыми для идентификации генов *Rpi-blb2* и *Rpi-blb3* (соответственно Blb2F/R-773

и Blb3F/Ra-757) [12], были выявлены специфические фрагменты, характерные для доминантных аллелей этих генов (рис. 2). Однако в обоих случаях они присутствовали как у устойчивых, так и у некоторых из восприимчивых генотипов. Коэффициенты ассоциации наличия этих маркеров с устойчивостью к фитофторозу составили соответственно 0,39 для *Rpi-blb2* и 0,41 для *Rpi-blb3*. Это говорит об отсутствии реальной взаимосвязи между наличием рекомендуемых в литературе ПЦР-маркеров для идентификации этих генов и устойчивостью гибридов, несущих генетический материал *S. stoloniferum*. В то же время наличие у ряда генотипов ПЦР-маркера Blb3F/Ra-757 говорит в пользу того, что *Rpi*-ген *S. stoloniferum*, который обусловил высокую устойчивость к фитофторозу изученных нами гибридов, может относиться к семейству *R2*.

Таким образом, мы можем предполагать наличие у устойчивых гибридов из популяции IGC 08/10.n гена-ортолога *Rpi-blb3*. Однако предлагаемый ПЦР-маркер для его выявления, как видно из результатов настоящего исследования, не является надежным и не подходит для анализа потомства гибридов на основе *S. stoloniferum*. Это объясняется тем, что, несмотря на предполагаемое общее происхождение *Rpi*-генов, имеющих близкие по строению В-геномы *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum*, [3, 19], они не являются идентичными и могут представлять собой серию различающихся аллельных вариантов. В связи с этим возникает необходимость разработки ПЦР-маркеров, специфичных непосредственно для аллельных вариантов генов устойчивости к фитофторозу

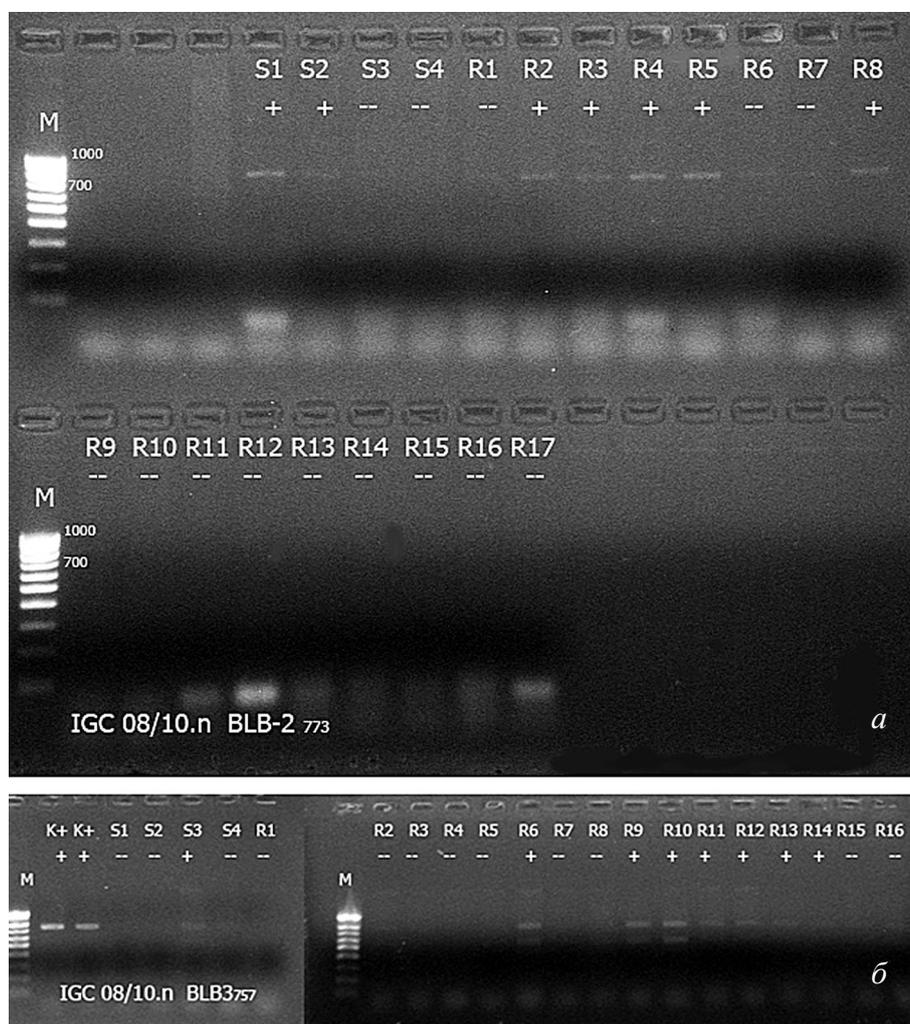


Рис. 2. Результаты ПЦР-анализа ДНК контрастных по устойчивости к фитофторозу гибридов из расщепляющейся популяции IGC08/10.n на наличие специфических маркеров генов *Rpi-blb2* (а) и *Rpi-blb3* (б). М – маркер молекулярного веса 100–1000 п.н.; S1–S4 – неустойчивые к фитофторозу генотипы (AUDPC 1-2); R1–R17 – высокоустойчивые (AUDPC 4-5), включая очень высокоустойчивые (R1–R6) (AUDPC5) генотипы. Наличие ПЦР-маркера отмечено знаком «+», отсутствие маркера – знаком «-»

S. stoloniferum, которые могут быть интрогрессированы к культурному картофелю посредством половой гибридизации и последующего беккроссирования дигаплоидами *S. tuberosum*. Для этой цели может быть предложен локализованный на хромосоме IV SSR-маркер STM3023-200, показавший относительно высокую ассоциацию с признаком устойчивости к фитофторозу.

Второй маркер STM0031-173, связанный, по результатам проведенного исследования, с устойчивостью к фитофторозу, локализован на хромосоме VII [11]. Среди картированных на настоящий момент *Rpi*-генов нет ни одного, принадлежащего к данной группе сцепления [15]. Ген *Rpi-sto1* *S. stoloniferum*, а также ген *Rpi-ptal* близкого ему аллотетраплоидного вида *S. papita* картированы на хромосоме VIII [20], а ген *Rpi-sto2* (как и *R3a S. demissum*) – на хромосоме XI [16]. Однако в ряде исследований [21, 22], проведенных на диплоидных расщепляющихся популяциях, созданных при участии диких видов картофеля, на хромосоме VII картирован QTL, достаточно тесно ассоциированный с высокой устойчивостью к нескольким расам *P. infestans*. Этот локус, косегрегирующий с RFLP-фрагментом *GP34*, получил название VII/P49 [21]. Это подтверждает возможность нахождения на данной хромосоме локусов, определяющих устойчивость к фитофторозу.

Согласно полученным нами результатам полевых испытаний гибридной популяции IGC 08/10.n, устойчивость гибридов к фитофторозу имеет моногенное наследование, характерное для *Rpi*-генов вертикальной устойчивости [4]. Поэтому можно предположить, что SSR-маркер STM0031-173 ассоциирован с генетическим локусом, участвующим в формировании горизонтальной (адаптивной) устойчивости и дополняющим у межвидовых гибридов картофеля устойчивость, обеспечиваемую влиянием *Rpi*-гена, расположенного на хромосоме IV. Принадлежность к QTL объясняется тот факт, что локус, идентифицируемый с помощью STM0031-173, выявлен нами у одного из неустойчивых генотипов.

В работах [21, 22] для идентификации QTL устойчивости к фитофторозу использовали достаточно сложный и дорогостоящий метод RFLP анализа. Применение выявленного нами маркера STM0031-173, позволяющего идентифицировать устойчивые к фитофторозу генотипы, открывает перспективы использования для этой цели более простого и дешевого метода SSR анализа.

Заключение. В результате изучения полиморфизма микросателлитных локусов ДНК диплоидных межвидовых гибридов на основе *S. stoloniferum*, различающихся по уровню полевой устойчивости к фитофторозу, были выделены два SSR-фрагмента, наличие которых достоверно коррелировало с высокой устойчивостью к фитофторозу. Наличие у устойчивых генотипов фрагмента размером 200 п.н. при амплификации с праймером STM3023 предполагает присутствие ассоциированного с высокой устойчивостью к фитофторозу генетического локуса на хромосоме IV, а наличие фрагмента 173 п.н. при амплификации с праймером STM0031 – на хромосоме VII. Сопоставление полученных при SSR-анализе данных с результатами ПЦР-анализа этих же гибридов с известными специфическими праймерами, позволяющими идентифицировать гены *R3a S. demissum*, *Rpi-blb2* и *Rpi-blb3 S. bulbocastanum*, а также сведениями научной литературы, позволяет сделать вывод, что SSR фрагмент STM3023-200 может рассматриваться в качестве ПЦР-маркера для идентификации ранее не картированного гена устойчивости к фитофторозу *S. stoloniferum*, родственного *Rpi*-генам семейства *R2*. Фрагмент STM0031-173 может служить в качестве ПЦР-маркера для идентификации генетического локуса, вероятно, являющегося аналогом QTL VII/P49, картированного в нескольких расщепляющихся диплоидных популяциях гибридов с генами устойчивости к фитофторозу, интрогрессированными от диких видов картофеля.

Литература

1. Ермишин А. П., Воронкова Е. В., Козлов В. А. // Генетические основы селекции растений. Т. 2. Частная генетика растений. Мн., 2010. С. 156–234.
2. Зотеева Н. М. Виды рода *Solanum* L. секции *Petota* Dumort. как источники обогащения генофонда культурного картофеля: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 2005.
3. Wang M., Allefs S., van den Berg R. et al. // Theor. Appl. Genet. 2008. Vol. 116. P. 933–943. DOI 10.1007/s00122-008-0725-3.
4. Воронкова Е. В., Чашинский 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.

5. Valkonen J.P.T., Weigmann K., Hamaianen J.H. et al. // Annals of Applied Biology. 2008. Vol. 152. P. 121–130.
6. Collins A., Milbourne D., Ramsay L. et al. // Molecular Breeding. 1999. Vol. 5. P. 387–398.
7. Ritter E., Ruiz J., de Galarreta I. et al. // Euphytica. 2009. Vol. 170. P. 77–86.
8. Provan J., Thomas W.T.B., Forster B.P., Powell W. // Genome. 1999. Vol. 42. P. 363–366.
9. Provan J., Powell W., Waugh R. // Theor. Appl. Genet. 1996. Vol. 92. P. 1078–1084.
10. Воронкова Е.В., Лисовская В.М., Ермишин А.П. // Генетика. 2007. Т. 43, № 8. С. 1065–1073.
11. Ghislain M., Nunez J., Herrera M. et al. // Theor. Appl. Genet. 2004. Vol. 108. P. 881–890.
12. Lokossou A.A., Rietman H., Wang M. et al. // Mol. Plant. Microbe Interact. 2010. Vol. 23, N9. P. 1206–1216.
13. Sokolova E., Pankin A., Beketova M. et al. // Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. 2011. Vol. 9, N2. P. 309–312.
14. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1980. С. 176–180.
15. Lokossou A., Park T., van Arkel G. et al. // Mol. Plant-Microbe Interact. 2009. Vol. 22. P. 630–641.
16. Champouret N. Functional genomics of *Phytophthora infestans* effectors and *Solanum* resistance genes. PhD thesis. Wageningen Univ., 2010.
17. Park T-H., Gros J., Sikkema A. et al. // MPMI. 2005. Vol. 18. P. 722–729.
18. Соколова Е.А., Рогозина Е.В., Хавкин Э.Е. // Использование мировых генетических ресурсов ВИР в создании сортов картофеля нового поколения Материалы всерос. науч-коорд. конф. СПб., 2009. С. 255–259.
19. Wang M. Diversity and evolution of resistance genes in tuber-bearing *Solanum* species. PhD-thesis – Wageningen Universiteit: Wageningen, Netherlands, 2007.
20. Vleeshouwers V., Rietman H., Krenek P. et al. // PLoS ONE. 2008. Vol. 3. e2875. P. 1–10.
21. Leonards-Schippers C., Gieffers W., Schiifer-Pregl R. et al. // Genetics. 1994. Vol. 137. P. 67–77.
22. Oberhagemann P., Chatot-Balandras C., Schäfer-Pregl R. et al. // Molecular Breeding. 1999. Vol. 5. P. 399–415.

A. V. LEVY, E. V. VORONKOVA, Y. V. POLYUKHOVICH, A. P. YERMISHIN

POLYMORPHISM OF THE MICROSATELLITE DNA LOCI IN CONTRAST ON LATE BLIGHT RESISTANCE INTERSPECIFIC HYBRIDS ORIGINATED FROM *SOLANUM STOLONIFERUM*

Summary

As the result of the study of microsatellite DNA loci polymorphism in the population of diploid interspecific hybrids originated from wild allotetraploid potato species *S. stoloniferum*, two SSR-loci were revealed presence of that was correlated with high level of late blight resistance. The analysis of obtained data made it possible to conclude that the SSR-locus STM3023-200 (mapped on chromosome IV) may be considered as PCR-marker of late blight resistance gene of *S. stoloniferum* (not mapped earlier) which is related to *Rpi*-genes of *R2* family. The locus STM0031-173 may be used as the PCR-marker for detection of genetic locus, probably being the analog of QTL VII/P49, mapped on chromosome VII in several segregating diploid populations of hybrids with late blight resistance genes introgressed from wild potato species.