

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ
ИМЕНИ Н. И. ВАВИЛОВА» (ВИР)

На правах рукописи

Гурина
Алёна Алексеевна

**Полиморфизм R-генов у примитивных культурных видов
секции *Petota Dumort.* рода *Solanum L.***

Специальность 1.5.7. - Генетика

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Рогозина Е. В.

Санкт-Петербург
2023

Оглавление

Оглавление.....	2
Список сокращений.....	4
Введение.....	6
Глава 1. Обзор литературы.....	16
1.1 Прimitивные культурные виды (ПКВ) картофеля.....	17
1.1.1 Состав и систематика группы.....	17
1.1.2 География и условия возделывания.....	19
1.1.3 Особенности ПКВ картофеля.....	20
1.2 Современное состояние исследований в области генетики картофеля.....	25
1.3 Механизмы устойчивости растений к заболеваниям.....	28
1.3.1 Система иммунитета у растений.....	28
1.3.2 Внеклеточная система распознавания образов (PRR).....	30
1.3.3 Внутриклеточная система иммунитета (NLR).....	32
1.4 Болезни картофеля и гены устойчивости к ним.....	38
1.4.1 Фитофтороз.....	38
1.4.2 Глободероз.....	39
1.4.3 Вирусные заболевания.....	41
1.4.4 Вертициллёзное увядание.....	43
1.4.5 Другие заболевания картофеля.....	43
1.4.6 Гены устойчивости картофеля.....	44
Глава 2. Материалы исследования.....	47
2.1 Материал для изучения разнообразия ПКВ картофеля по R-генам.....	47
2.2 Материал для <i>in silico</i> анализа R-генов в образцах ПКВ картофеля.....	49
Глава 3. Методы исследования.....	50
3.1 Оценка по морфологическим признакам и продуктивности.....	50
3.2 Оценка устойчивости ПКВ картофеля к фитофторозу полевым и лабораторным методом.....	51
3.3 Оценка устойчивости ПКВ картофеля к золотистой картофельной нематоде.....	52
3.4 Диагностика мозаичных вирусов.....	53
3.5 Молекулярно-генетический анализ.....	53
3.6 <i>In silico</i> поиск и анализ полиморфизма R-генов у образцов ПКВ картофеля из открытых баз данных.....	56
3.6.1 Поиск в сырых данных полногеномного секвенирования.....	56
3.6.2 Поиск в полногеномных сборках ПКВ картофеля.....	57
3.6.3 Анализ полиморфизма гомологов R-генов у ПКВ картофеля.....	57
Глава 4. Результаты и обсуждение.....	58
4.1 Морфологическое разнообразие ПКВ картофеля из коллекции ВИР.....	58
4.2 Иммунологическая характеристика и скрининг ПКВ картофеля в коллекции ВИР на наличие маркеров R-генов.....	62

4.2.1	Разнообразие по поражению фитофторозом.....	62
4.2.2	Разнообразие по поражению золотистой картофельной нематодой....	65
4.2.3	Разнообразие по поражению вирусными заболеваниями.....	67
4.2.4	Разнообразие по поражению альтернариозом.....	69
4.3	<i>In silico</i> анализ полиморфизма <i>R</i> -генов у ПКВ картофеля.....	69
4.3.1	Гомологи <i>R</i> -генов у ПКВ картофеля.....	69
4.3.2	Кластерная организация <i>R</i> -генов у ПКВ картофеля.....	71
4.3.3	Полиморфизм кодирующих последовательностей гомологов <i>R</i> -генов у ПКВ картофеля.....	75
4.3.4	Полиморфизм аминокислотных последовательностей, кодируемых гомологами <i>R</i> -генов у ПКВ картофеля.....	78
4.4	<i>R</i> -гены у образцов ПКВ картофеля в коллекции ВИР.....	83
4.4.1	Полиморфизм последовательности гена <i>RB/Rpi-blb1</i>	83
4.4.2	Полиморфизм последовательности гена <i>Rpi-vnt1</i>	87
4.4.3	Полиморфизм последовательности гена <i>Gro1-4</i>	92
4.5	Создание и анализ гибридных популяций от скрещивания родительских форм с контрастными фенотипами.....	94
4.5.1	Разнообразие популяций <i>S. stenotomum</i> и <i>S. × ajanhuiri</i> по морфологическим признакам.....	95
4.5.2	Устойчивость внутривидовых гибридов <i>S. stenotomum</i> и <i>S. × ajanhuiri</i> к фитофторозу.....	97
4.5.3	Разработка CAPS-маркеров для внутривидовых гибридов <i>S. stenotomum</i>	98
	Заключение.....	105
	Список литературы.....	109
	Приложение 1 – Образцы ПКВ картофеля из открытых баз данных, использованные в <i>in silico</i> анализе.....	138
	Приложение 2 – Перечень <i>R</i> -генов, <i>in silico</i> анализ которых проведён в исследовании.....	140
	Приложение 3 – Морфологические признаки, использованные для ботанического описания ПКВ картофеля.....	142
	Приложение 4 – Результаты фитопатологической оценки и скрининга ПКВ картофеля на наличие маркеров <i>R</i> -генов.....	145

Список сокращений

ЗКН – Золотистая Картофельная Нематода

ПКВ – Примитивные Культурные Виды

CAPS – полиморфизм рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences)

CC – белковый домен “суперспираль” (Coiled-Coil)

CNL = CC-NBS-LRR – семейство *NLR*-генов с CC доменом

DM1-3 – референсный геном картофеля DM1-3 516 R44 v4.3

ETI – Иммуниетет запускаемый эффектором (effector-triggered immunity)

LRR – богатый лейциновыми повторами домен (Leucine Rich Repeats)

NBS – сайт связывания нуклеотидов (Nucleotide Binding Site)

NLR = NBS-LRR рецептор с сайтом связывания нуклеотидов, содержащий лейцин-богатые повторы (Nucleotide binding site – Leucine rich repeats Receptor)

PAMP/DAMP/MAMP – патоген/повреждение/микроб ассоциированные молекулярные паттерны (Pathogen/Damage/Microbe Associated Molecular Pattern)

PGSC – Консорциум секвенирования генома картофеля (Potato Genome Sequence Consortium)

PTI – иммуниетет запускаемый элиситором (паттерном) (Pattern-triggered immunity)

PRR – внеклеточная система распознавания образов (cell-surface pattern recognition receptors)

PVX/PVY/PVS/PVM – вирус картофеля X/Y/S/M (Potato Virus X/Y/S/M)

RLP/RLK – Рецепторо-подобные белки/киназы (Receptor-like proteins/kinases)

R-ген – ген устойчивости (Resistance gene)

Rpi-ген – ген устойчивости к фитофторозу (*R*-gene against *Phytophthora infestans*)

SCAR – амплифицированная область с известной нуклеотидной последовательностью (Sequence Characterized Amplified Region)

SNP – однонуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism)

SRA – сырые данные полногеномного секвенирования хранящиеся в виде архива (sequence raw archive)

TIR – домен “рецептор Toll-интерлейкина-1” (Toll/interleukin-1 receptor)

TNL = TIR-NBS-LRR – семейство *NLR* генов с TIR доменом

QTL – Лocus количественных признаков (Quantitative Trait locus)

Введение

Актуальность исследований

Картофелеводство относится к числу ведущих отраслей мирового и российского агропроизводства. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO) мировое производство картофеля в 2020 году составило более 350 млн тонн, и Российская Федерация – одна из стран, занимающих ведущее место в мире по производству данной культуры (FAO, 2020). Согласно исследованиям С. Савари (S. Savary) картофель (*Solanum tuberosum* L.) занимает пятое место среди всех сельскохозяйственных культур по доле потерянного урожая, которая в среднем ежегодно составляет около 17%, а основной причиной потери урожая являются различные патогены (Savary et al., 2019). Вспышка некоторых заболеваний локально способна уничтожить вплоть до 100% урожая, что может нанести значительный урон экономике и продовольственной безопасности отдельных регионов. В частности, Ирландский голод 1845–1849 гг. был вызван вспышкой возбудителя фитофтороза (Ristaino, 2002). Такие заболевания, как фитофтороз (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary), глободероз (*Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens и *Globodera pallida* (Stone) Behrens), вертициллёзное увядание (*Verticillium* sp. Nees), рак картофеля (*Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival), вирусные заболевания картофеля способны причинить значительный ущерб, и борьба с ними представляет одну из главных проблем в картофелеводстве. Ключевым фактором, обеспечивающим устойчивое и стабильное функционирование производства картофеля, являются высокоурожайные, устойчивые к болезням и вредителям сорта, качество продукции которых соответствует требованиям потребителей (Tiwary et al., 2022). Для создания таких сортов часто требуется интрогрессия генов устойчивости (*Resistance genes* или *R-гены*), источником которых, как правило, являются дикие виды. Но между этой группой генофонда и культурным картофелем существует генетический барьер, препятствующий скрещиванию. Кроме генетического

барьера селекцию значительно осложняет наличие у диких родичей картофеля большого количества нежелательных для культурных растений признаков (например, содержание соланина в клубнях), от которых впоследствии приходится избавляться большим числом возвратных скрещиваний, в результате которых может произойти и исчезновение признака устойчивости. Под влиянием всех этих причин процесс интрогрессии генов из диких видов очень длителен и требует значительных ресурсов, например, перенос гена *Rpi-blb2* от *S. bulbocastanum* Dunal. в сорта Бионика и Толука занял более 45 лет (Haverkort et al., 2016).

Примитивные культурные виды (ПКВ) картофеля, в том числе *S. phureja* Juz. et Buk., *S. stenotomum* Juz. et Buk., *S. goniocalyx* Juz. et Buk. и *S. × ajanhuiri* Juz. et Buk., являющиеся объектом данного исследования, относятся к первичному генофонду, представители которого легко скрещиваются с *S. tuberosum* (Bradeen et al., 2011). Многие исследователи отмечали среди ПКВ картофеля генотипы устойчивые к различным заболеваниям (Горбатенко, 2006; Gabriel, 2013; Hawkes, Hjerting, 1989). Однако в отличие от некоторых диких видов, устойчивость не является преобладающей характеристикой всех образцов ПКВ картофеля. Тем не менее, облегчение процесса переноса гена культурных видов, а также отсутствие многих нежелательных признаков, характерных для диких видов картофеля, безусловно, делают отдельных представителей ПКВ картофеля перспективными для использования в селекции.

Некоторые виды ПКВ картофеля являются прекрасным объектом для генетических исследований, поскольку, во-первых, являются диплоидами ($2n=24$), в отличие от тетраплоидного *S. tuberosum*. Во-вторых, они устойчиво производят довольно большое количество клубней, позволяющее в течение времени изучения поддерживать нужные генотипы. Это отличает их от многих диких видов, поддержание конкретных генотипов которых затруднено, в связи с нестабильностью производства и хранения клубней. Существуют и сложности, препятствующие проведению многих исследований, особенно с использованием методов классической генетики. В частности, у большинства образцов ПКВ

картофеля есть механизмы, блокирующие самоопыление, в результате действия которых, создание чистых линий или получение F2 гибридных популяций становится практически невозможным.

Таким образом, с одной стороны изучение генов устойчивости у ПКВ картофеля может способствовать дальнейшему прикладному использованию этих генов. С другой стороны требует большего количества материала (по сравнению с дикими видами, поскольку сам признак устойчивости встречается реже) и комплексного подхода к исследованиям. Вместе с тем, кроме дальнейшего прикладного применения полученных знаний, изучение частной генетики культурных видов картофеля вносит вклад в исследование процессов эволюции и введения в культуру, поскольку именно представители примитивных культурных видов, в частности *S. stenotomum*, считаются наиболее близкими к ранним доместигированным формам картофеля.

Степень разработанности темы исследования

Геном удвоенного моноплоида *S. phureja* DM1-3 был секвенирован в 2011 году (PGSC, 2011) и долгое время являлся единственной полной сборкой генома картофеля, считаясь референсным. В нем был произведён поиск *NLR* (Nucleotide binding site - Leucine rich repeat Receptor) генов – семейства, к которому относятся многие из известных *R*-генов (Lozano et al., 2012; Jure et al., 2012). В нескольких работах проведено сравнение найденных в референсном геноме картофеля генов *NLR* с известными генами устойчивости и выявлены гомологи некоторых из них. Тем не менее, функционального анализа последовательностей не проводилось, а наличие лишь одного генома не позволило проанализировать полиморфизм *NLR*-генов у картофеля. З. Лиу (Z. Liu) в 2020 году произвел поиск гомологов генов устойчивости картофеля в синтезированном *de novo* геноме *S. goniocalyx* (Liu, 2020). В вышеперечисленных исследованиях использовались лишь единичные образцы двух культурных видов картофеля. В то время как ПКВ картофеля представляют обширную группу в составе секции *Petota* Dumort., относятся к ландрасам Южной Америки и отличаются большим разнообразием форм,

адаптированных к различным эколого-географическим условиям в местах естественно произрастания (*in situ*). Очевидно, что назрела потребность в исследовании этой группы культурных родичей картофеля по генам, участвующим в обеспечении их устойчивости к биотическим стрессам. К настоящему моменту секвенированы и частично собраны множество геномов, как диких, так и культурных видов картофеля, но пока их анализ находится на уровне поиска общих закономерностей, и поиск и анализ полиморфизма конкретных генов, по сведениям автора, пока не проведён (Bao et al., 2022; Hoopes et al., 2022; Kyriakidou et al., 2020a,b).

Я. Ли (Y. Li) (Li Y. et al., 2018a) и Д. Танг (D. Tang) (Tang et al., 2022) рассматривали вопросы эволюции и систематики картофеля, а также процессов, связанных с одомашниванием этой культуры, в том числе в обоих исследованиях есть разделы посвященные *R*-генам. Оба автора говорят о более высокой степени изменчивости *NLR*-генов, по сравнению с генами других семейств. При сравнении диких и культурных видов, в обеих работах говорится о снижении разнообразия *R*-генов у культурных видов по сравнению с дикими, что вероятно связано с более высоким систематическим разнообразием диких видов по сравнению с культурными. Тем не менее обе работы (Li Y. et al., 2018a; Tang et al., 2022; Kyriakidou et al., 2020a) посвящены поиску более глобальных закономерностей и вопросы гомологии и полиморфизма отдельных *R*-генов в них не рассмотрены.

Среди образцов ПКВ картофеля проводился поиск отдельных генов и локусов, связанных с устойчивостью. У *S. phureja* был выявлен ген устойчивости к фитофторозу *Rpi-phu1* (Sliwka et al., 2010), он не клонирован, но его расположение в геноме и связь со сцепленными маркерами позволили предположить С. Фостер (S. Foster) и М. Пел (M. Pel), что он гомологичен гену *Rpi-vnt1*, хотя в своих исследованиях они не нашли функционального варианта этого гена у ПКВ картофеля (Foster et al., 2009; Pel, 2009). Также у различных образцов ПКВ картофеля и межвидовых гибридов *S. stenotomum* × *S. phureja* известны многочисленные QTL (Costanzo et al., 2005), их анализ привёл к

распознаванию у группы Phureja (*S. tuberosum* Phureja Group) таких генов, ассоциированных с устойчивостью к фитофторозу, как *StTL15A* и *StGP28* (Alvarez et al., 2017). Найдены несколько генов устойчивости ПКВ к вирусным заболеваниям: Nx_{phu} , X_{1ps} и X_{2ps} к вирусу X и $Ry(o)phu$ к вирусу Y (Tomiska et al., 1998; Vallejo et al., 1995; Torrance et al., 2020). Но в целом группа ПКВ картофеля недостаточно охарактеризована по генам устойчивости к возбудителям болезней. Даже для известных олигогенов и QTL, не установлены их частоты в популяциях, не описаны нуклеотидные последовательности, аллельные вариации. За исключением работ по сравнению полных геномов разных видов и работ, полностью посвященных различным методам молекулярной систематики, данное исследование является одним из первых, изучающих генетический полиморфизм этой группы культурных родичей картофеля.

Цель и задачи работы

Целью данного исследования стал поиск и характеристика гомологов *R*-генов у примитивных культурных видов картофеля.

Задачи работы

1. Провести фенотипическую оценку образцов ПКВ картофеля и выявить устойчивые к фитофторозу и золотистой картофельной нематоде (ЗКН) – потенциальные источники *R*-генов.
2. *In silico* поиск и анализ гомологов *R*-генов в данных полногеномного секвенирования из открытых источников.
3. Оценка ПКВ картофеля из коллекции ВИР по наличию маркеров генов устойчивости к фитофторозу и ЗКН и характеристика полиморфизма выявленных последовательностей.
4. Создание и изучение гибридных популяций ПКВ картофеля от скрещивания родительских форм с контрастными фенотипами.

Научная новизна

Впервые проведена комплексная оценка образцов ПКВ картофеля (*S. × ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum*) из клоновой коллекции

ВИР по морфологическим, фитопатологическим, хозяйственно-ценным и молекулярно-генетическим признакам. Впервые проведено секвенирование и охарактеризован полиморфизм нуклеотидных последовательностей маркерных фрагментов генов устойчивости к фитофторозу (*Rpi-vnt1*, *RB/Rpi-blb1*) и ЗКН (*Gro1-4*). Выявлена связь одного из аллельных вариантов гена *Rpi-vnt1* с устойчивостью к фитофторозу у образца *S. stenotomum* к-11020–283. Проведен *in silico* поиск и анализ *R*-генов у ПКВ картофеля и впервые установлено наличие гомологов кодирующих последовательностей генов устойчивости к фитофторозу (*Rpi-R3b*, *Rpi-ber1*), вертициллезному увяданию (*Ve1*, *Ve2*), цистообразующим нематодам (*Gro1-4*, *Gpa2*) и вирусу X (*Rx1*) у ПКВ картофеля. Впервые показана неравномерность частот замен в нуклеотидных последовательностях различных *R*-генов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявлены образцы клоновой коллекции ПКВ картофеля ВИР устойчивые к фитофторозу (*S. × ajanhuiri* – к-9900-138, к-9911-140; *S. goniocalyx* – к-9922-251, *S. phureja* – к-8873-249; к-9345-219, к-11547-227, к-16898-238, к-17618-293, к-19321-242, к-23516-189; *S. stenotomum* – к-11020-283, к-9278-273, к-17486-293, к-8354-268), и ЗКН (*S. goniocalyx* – к-11080-134 и *S. phureja* – к-8210-214, к-8497-217, к-8940-250, к-9402-225, к-17462-240, к-19198-201, к-24326-198).

Выделены потенциально интересные для генетического анализа других признаков образцы: многоклубневость, окраска мякоти клубня, стабильность урожая.

Выявлена потенциальная перспективность использования ПКВ картофеля в качестве источников гена *Ve1* устойчивости к вертициллезному увяданию.

Для ПКВ картофеля показаны отличия в характере полиморфизма нуклеотидных последовательностей, гомологичных *R*-генам, референсные последовательности которых секвенированы у различных видов. Так, в генах из культурного картофеля количество общих для всех образцов ПКВ замен (SNP)

значимо меньше, по сравнению с генами из североамериканских диких видов.

Для ПКВ картофеля подтверждена неравномерная скорость аминокислотных замен в разных доменах генов *NLR*. В LRR-домене замены происходят существенно чаще, по сравнению с NBS-доменом. Но, вероятно, замены в NBS-домене произошли раньше в ходе эволюции, поскольку большинство из них являются общими для всех исследованных образцов ПКВ картофеля, то есть, скорее всего, произошли до дивергенции предковых форм культурного картофеля на отдельные виды.

Полученные нами данные о непропорционально большом числе замен в стартовой области гена, опубликованные сведения о гомологах этого гена у других видов картофеля, и схожесть другого участка с консенсусной последовательностью Козак для двудольных, являются основой для предположения об иной локализации старт-кодона гена *Rpi-vnt1* у ПКВ картофеля, по сравнению с референсной последовательностью.

У образцов ПКВ картофеля из коллекции ВИР выявлено несколько аллельных вариантов маркерных фрагментов гена *Rpi-vnt1* и показано, что устойчивость у *S. stenotomum* к-11020–283 коррелирует с конкретным аллельным вариантом этого гена.

Разработаны CAPS-маркеры для скрининга популяции от внутривидового скрещивания *S. stenotomum* к-11020–283 × *S. stenotomum* к-9301–276 на предмет наличия аллельного варианта *Rpi-vnt1*, ассоциированного с устойчивостью.

Методология и методы исследования

Методология исследования основана на использовании традиционных и современных подходов к биологическим исследованиям, анализе теории и новых разработок, используемых в современной науке. Используются следующие методы: сравнительно-морфологическое описание растений, фитопатологическое исследование, гибридологический анализ, молекулярно-генетические методы (маркерный анализ методом ПЦР, секвенирование по Сэнгеру), аналитический

(стандартные методы *in silico* анализа полногеномных данных и статистического анализа). Статистический анализ достоверности экспериментальных данных включал расчеты коэффициента корреляции Спирмена, непараметрического критерия Краскела-Уоллеса, критерия χ^2 и анализ главных компонент. Все тесты выполнены с использованием языка программирования R 4.3.0. В полном объеме методология и методы исследования отражены в главах «Материалы исследования» и «Методы исследования».

Положения выносимые на защиту

1. Клоновая коллекция ПКВ картофеля ВИР характеризуется фенотипическим разнообразием (по морфологическим признакам и устойчивости к различным заболеваниям картофеля), а также высоким уровнем скрытого разнообразия, проявляющегося в генеративном потомстве.

2. Среди ПКВ картофеля выделены образцы – источники устойчивости к фитофторозу и золотистой картофельной нематоде.

3. У ПКВ картофеля обнаружены гомологи белок-кодирующих последовательностей исследованных *Rpi*-генов, а также генов *Gpa2*, *Rx1*, *Ve1* и *Ve2*.

4. Характер полиморфизма *R*-генов у ПКВ картофеля зависит от филогенетической удалённости вида-источника референсного гена от культурного картофеля.

5. У ПКВ картофеля из коллекции ВИР выявлены различные аллельные варианты гена *Rpi-vnt1.3*, один из которых предположительно связан с устойчивостью у образца *S. stenotomum* к-11020–283 к фитофторозу.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обеспечена проведением исследований с использованием классических и современных методик и высокотехнологичного оборудования и подтверждается их воспроизводимостью в ходе эксперимента и статистической обработкой данных. Интерпретация данных, научные положения и

выводы подкреплены иллюстративным материалом, таблицами и рисунками. Результаты исследования опубликованы в международных и отечественных изданиях, рекомендованных высшей аттестационной комиссией (ВАК).

Результаты диссертационного исследования представлены на международных конференциях: V Вавиловская международная конференция; Международная конференция «125 лет прикладной ботаники в России»; VI и VII Международные Научные Конференции «Генетика, Геномика, Биоинформатика и Биотехнология Растений» PlantGen 2021, 2023; Международная научно-практическая конференция «Состояние, проблемы и перспективы развития отраслей картофелеводства, плодовоовощеводства и бахчеводства».

Публикации: Результаты исследования опубликованы в пяти статьях в журналах рекомендованных ВАК, и входящих в международные системы цитирования Scopus и Web of Science.

Работа выполнена при поддержке грантов:

- РФФИ №20–516–10001 КО_а. Изучение генов устойчивости картофеля к фитофторозу и их роли в формировании разнообразия эффекторов у патогена.
- РФФИ №22–26–00111 Гены устойчивости картофеля к фитофторозу в контексте эволюции культурных и диких клубненосных видов *Solanum* L.
- РФФИ № 21–76–10050 Роль изоформ фактора инициации трансляции eIF4E в восприимчивости картофеля к вирусу Y

Личный вклад автора

Основная часть исследовательской работы выполнена автором самостоятельно. Некоторые исследования выполнены в сотрудничестве с другими исследователями, что отражено в совместных публикациях. Лабораторная оценка на устойчивость к фитофторозу и ЗКН выполнена совместно с сотрудниками д.б.н. Н. В. Мироненко и к.б.н. А. В. Хютти лаборатории естественного иммунитета растений Всероссийского Института Защиты Растений (ВИЗР), руководитель д.б.н. академик РАН О. С. Афанасенко. Клонирование и разработка

САРS-маркеров выполнено совместно с сотрудником отдела генетики ВИР к.б.н. Н. В. Алпатьевой. Скрещивания произведены совместно с аспирантом отдела генетических ресурсов картофеля ВИР Е. А. Ивановой (Заварихина). Секвенирование нуклеотидных последовательностей маркерных фрагментов выполнено в ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ в соответствии с планом гранта РФФ №22–26–00111

Структура работы

Работа состоит из введения, основной части, содержащей 12 таблиц и 28 иллюстраций, заключения, списка литературы (включает 258 наименований из них 238 на иностранном языке) и четырёх приложений.

Глава 1. Обзор литературы

История возделывания картофеля насчитывает около 8 тысячелетий (National Research Council, 1989), а использование в пищу родственных диких видов (*Solanum maglia* Schltdl.) около 13000 лет (Лехнович, 1971). В Европу картофель был завезен в XVI веке, и сначала использовался как декоративное растение, только ближе к концу XVI века стал употребляться в пищу. Тем не менее, в Европе картофель получил широкое распространение лишь ближе к концу XVIII века, чему немало способствовали несколько неурожайных для злаковых (хлебных) культур лет. (Басиев и др., 2017). В настоящее время картофель – четвёртая культура в мире (после пшеницы, кукурузы и риса), возделывается в 149 странах (Bradshaw et al., 2008). Как один из ключевых объектов сельского хозяйства, картофель активно исследуется с начала его массового использования. Множество работ в области ботаники, физиологии, молекулярной биологии, генетики и многих других дисциплин связаны с этой культурой. По данным PubMed только за последние пять лет вышло более трёх тысяч публикаций, посвящённых этой культуре (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Картофель (*S. tuberosum*) – многолетнее травянистое (высотой от 0,5 до 1,5 м) растение, вегетативно-размножающееся и переживающее неблагоприятные периоды (засуха и заморозки) в форме клубней (видоизменённых укороченных побегов) (Лехнович, 1971). *S. tuberosum* и родственные ему виды относятся к семейству Solanaceae Juss. (Паслёновые), роду *Solanum* L., секции *Petota* Dumort. По сравнению с другими сельскохозяйственными растениями является уникальным по разнообразию родственных культурных и диких видов (Hawkes, 1990). В целом картофель, как объект исследования и сельскохозяйственная культура, представлен несколькими группами генофонда и включает диких родичей из Северной и Южной Америки, группы примитивных культурных видов, *S. andigenum* Juz. et Vuk., аборигенные сорта Чили, межвидовые гибриды и сорта российской и зарубежной селекции (Киру, Рогозина, 2017). До настоящего

времени нет единой системы классификации видов секции *Petota* рода *Solanum*, но общепризнанна значимость и недостаточная изученность разнообразия картофеля и родственных клубненосных видов (Bradshaw, 2009).

1.1 Примитивные культурные виды (ПКВ) картофеля

1.1.1 Состав и систематика группы

Примитивные культурные виды (ПКВ) картофеля (primitive forms of cultivated potato = primitive cultivars \approx potato landraces)– это группа аборигенных сортов картофеля, возделываемых местным населением в высокогорных регионах Анд (Букасов, 1978). По своим признакам эта группа наиболее близка к ранним доместцированным формам клубнеобразующих видов рода *Solanum* (Hawkes, 1990).

ПКВ картофеля были впервые описаны в 1929 году С. Букасовым и С. Юзепчуком (Юзепчук, Букасов, 1929). Тогда морфологические и цитологические отличия привезенного из экспедиций материала позволили разделить образцы культурного картофеля на 14 видов. Позже система многократно перерабатывалась, в том числе и российскими авторами; система, созданная Букасовым, содержит 17 видов, построена на основе сведений о морфологии, анатомии, цитологии, физиологии и ареалах обитания видов (Букасов, 1978).

В XXI веке многочисленные молекулярные исследования картофеля привели к созданию современной молекулярной систематики картофеля Д. Спунера (D. Spooner) (Spooner et al., 2014). В системе, предложенной Д. Спунером, большинство ПКВ картофеля отнесены к виду *S. tuberosum* в рамках группы *Andigenum* (таблица 1). Хотя некоторые исследователи разделяют её на группы: *Stenotomum*, *Phureja* и *Chaucha*, *Andigena* и *Tuberosa* (Calliope et al., 2018; Huaman, Spooner, 2002; Ovchinnikova et al., 2011)). Однако, ведущие систематики картофеля сходятся в выделении, так называемого «горького» картофеля, в качестве отдельных видов: *S. curtilobum*, *S. juzepczukii* и *S. × ajanhuiri* (таблица 1).

Таблица 1 - ПКВ картофеля в ботанических системах разных авторов и периодов создания

С. Букасов	Дж. Хокс	К. Очоа	З. Хуаман, Д. Спунер	С.Букасов- Л. Горбатенко	Д. Спунер	Число хромо- сом n=12
1972 г.	1990 г.	1999 г.	2002 г.	2006 г.	2007 г.	
<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. juzepczukii</i>	36
<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	60
<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	24
<i>S. stenotomum</i>	<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>stenotomum</i>	<i>S. stenotomum</i>	<i>S. tuberosum</i> Stenotomum Group	<i>S. stenotomum</i>	<i>S. tuberosum</i> Andigena Group diploids	24
<i>S. macmillanii</i>						24
<i>S. goniocalyx</i>	<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>goniocalyx</i>	<i>S. goniocalyx</i>	<i>S. goniocalyx</i>	24		
<i>S. yabari</i>				24		
<i>S. phureja</i>	<i>S. phureja</i>	<i>S. phureja</i>	<i>S. tuberosum</i> Phureja Group	<i>S. phureja</i>		24
<i>S. rybinii</i>				24		
<i>S. boyacense</i>				24		
<i>S. canarense</i>				24		
<i>S. kesselbrenneri</i>				24		
<i>S. riobambense</i>	<i>S. chaucha</i>	<i>S. chaucha</i>	<i>S. tuberosum</i> Chaucha Group	<i>S. rybinii</i>		<i>S. tuberosum</i> Andigena Group triploids
<i>S. cuencanum</i>					36	
<i>S. ciezae</i>					36	
<i>S. chocclo</i>				<i>S. phureja</i>	36	
<i>S. tenuifilamentum</i>				<i>S. tenuifilamentum</i>	36	
<i>S. mammilliferum</i>				<i>S. mammilliferum</i>	36	
<i>S. chaucha</i>				<i>S. chaucha</i>	36	

В целом, до сих пор не существует общепризнанной системы как культурных видов, так и секции клубнеобразующих видов рода *Solanum* (таблица 1). Разные исследователи выделяют от трех до 19 культурных видов картофеля (Букасов, 1978; Correll, 1962; Dodds, Paxman, 1962; Hawkes, 1956, 1990; Hardigan, 2015; Spooner et al., 2014). Одной из наиболее широко используемых систем

картофеля в мире является система Дж. Хокса (J. Hawkes) (Hawkes, 1990). Исследуя разнообразие секции *Petota*, он описал более 20000 гербарных листов. Основываясь на данных о морфологии образцов, а также биохимических и иммунологических исследованиях картофеля, скрещиваемости, экологии и многих других показателях (в том числе история выращивания, этнические особенности и многое другое), Дж. Хокс создал систему секции *Petota*, которая, по мнению многих авторов, является наиболее удобной для использования *ex situ* (Bradshaw, 2009). В ВИР используется система культурных видов картофеля, доработанная Л.Е. Горбатенко - ученицей С.М. Букасова (Горбатенко, 2006). В этой ботанической системе многие сходные между собой виды объединены в conspecies *S. rybinii*, *S. chocclo* рассматривается, как подвид *S. phureja*, но триплоидные виды *S. tenuifilamentum*, *S. mammilliferum* и *S. chaucha* рассматриваются в прежних (определённых С.М. Букасовым) границах.

1.1.2 География и условия возделывания

Территория, на которой возделывает картофель коренное население стран Южной Америки, - это горы и горные долины от 12° северной до 45° южной широты, то есть от Колумбии до Чили на высотах от 400 до 4300 м н. у. м. (Горбатенко, 2006; de Naan, Rodriguez, 2016).

Но в южной части ареала, а именно на побережье Чили, выращиваются исключительно местные аборигенные сорта *S. tuberosum* subsp. *chiloense* (A.DC.) Kostina, в то время как ПКВ картофеля в основном выращиваются в Эквадоре, Колумбии, Перу и Колумбии до естественной границы в виде пустыни Атакама и отсутствуют при дальнейшем продвижении на юг. Центром разнообразия культивируемых картофелей, а также предположительно территорией доместикации, являются приграничные районы юга Перу и северной части Боливии, в районе озера Титикака (Hawkes, 1990).

Для культурных видов ограничение территорий, на которых возделывается картофель, связано с множеством причин. Это климатические условия – например, не все виды переносят заморозки, засуху или высокую влажность,

1.1.3 Особенности ПКВ картофеля

ПКВ картофеля в их нативном местообитании можно подразделить на три группы (de Naan, Rodriguez, 2016):

- коммерческие, или космополитичные мучнистые сорта
- некоммерческие мучнистые сорта
- горькие сорта

К коммерческим сортам относятся, например, диплоидная 'Peruanita' в Перу и 'Criollo Amarilla' в Колумбии. Они занимают большие посевные площади, пользуются спросом на рынке и признанием потребителей. В Эквадоре 11 местных аборигенных сортов рекомендованы к промышленному выращиванию (Altamirano, 2011). Тысячи некоммерческих сортов выращивают мелкие фермеры в высокогорных районах Анд для домашнего потребления (Galvis-Tarazona et al., 2022). Разнообразие горьких сортов скромнее, чем мучнистых, однако их количество, выращиваемое в Боливии и центральной части юга Перу, составляет не менее 100. Горькие сорта представляют внутривидовое разнообразие *S. × curtilobum* Juz. et Buk., *S. × juzepczukii* Juz. et Buk., *S. × ajanhuiri* и некоторых форм *S. andigenum*; в связи с высоким содержанием гликоалкалоидов их используют для приготовления чуньо (chuño), морайя (moraya) или тунта (tunta), являющихся вариантами длительно хранящихся продуктов. Их изготовление включает в себя фазы заморозки и сушки, в результате которого получается полуготовый продукт, не требующий особых условий хранения. Также таким способом избавляются от горького вкуса, который был характерен для диких видов картофеля, и частично выражен в некоторых местных сортах (Burgos et al., 2009; Christiansen, 1977; de Naan, Rodriguez, 2016).

Какие-либо основополагающие характеристики всех ПКВ картофеля выделить сложно в связи с высоким уровнем разнообразия, разнородности этой группы по фенотипическим характеристикам, включая, например, столь важные, как биохимический состав клубня. В тоже время многочисленные молекулярные исследования ПКВ картофеля говорят, скорее о высокой генетической

однородности в пределах этой группы (не всегда справедливо для *S. × ajanhuiri*, который по многим параметрам отличается от остальных видов серии *Andigena* (по Букасову, 1959)) (Hardigan et al., 2017; Huaman et al., 2002; Spooner et al., 2014). В частности, в исследованиях Я. Ли, Д. Танг и М. Хардиган показано снижение разнообразия (как числа генов, так и полиморфизма) у культурных видов, по сравнению с дикими. В том числе значительное снижение разнообразия наблюдалось именно в агрономически ценных генах, в том числе генах устойчивости (Li et al., 2018; Tang et al., 2022; Hardigan et al., 2017).

В связи с последними тенденциями в улучшении качества продуктов питания, ПКВ картофеля могут быть источниками ценных биохимических признаков. Например, ландрасы Эквадора, в зависимости от места выращивания и генотипа, проявляют широкий спектр вариабельности по содержанию в клубнях редуцирующих сахаров (от 0,01–0,07% до 0,37–0,44%), фенолов (от 0,94 до 4,28 мг/г сухого вещества), каротиноидов (от 35 до 122,5 мкг/100 г сырого вещества). Высоким содержанием каротиноидов характеризуются картофели группы *Phureja* с желтой мякотью клубней (Subía, 2013). В клубнях некоторых образцов *S. phureja* содержание каротиноидов достигает 1258–1840 мкг/100 г сырого вещества (Burgos et al., 2009). Некоторые авторы отмечали повышенное (до 7,65%) содержание белка в клубнях *S. phureja* (Hawkes, Hjerting, 1989). В коллекции ВИР столь высокого значения не отмечалось: максимально зафиксированный показатель – 4,3% (Бавыко, 1989). В последних исследованиях, связанных с присутствием уже конкретных веществ, а не групп соединений (например, фенолов или всех антоцианов) в целом, для ПКВ картофеля показан широкий разброс содержания гидроксикоричных кислот вплоть до 7,98 мкг на 1 г сухого вещества (Rashead et al., 2022; Tajner-Czopek et al., 2023), а Б. Робинсон (B. Robinson) отмечал образцы с высоким содержанием фолата (Robinson et al., 2015).

Различия в естественных условиях произрастания видов и образцов одного вида обуславливают наличие у них разнообразия хозяйственно ценных признаков. Так, собранные в теплом влажном климате образцы *S. rybinii* Juz. et Buk.

устойчивы к некоторым бактериальным заболеваниям: бактериальному увяданию (возбудитель *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi), черной ножке (*Erwinia spp.*). Среди примитивных культурных видов картофеля *S. phureja* обладает наиболее высокой степенью устойчивости к фитофторозу (*P. infestans*), стабильной в течение многих лет (Горбатенко, 2006). В. Перез (W. Perez) с соавторами находили образцы ПКВ картофеля с полевой устойчивостью на уровне контроля при массовом скрининге образцов из коллекции СІР (Перу) на устойчивость к фитофторозу (Perez et al., 2014, 2022). Исследования образцов из Колумбии (Gabriel et al., 2007, 2013) и различных по происхождению образцов из коллекции ВИР (Бавыко, 1989), также выявили образцы с устойчивостью на уровне контроля.

S. phureja является ценным источником жаростойкости, а высокогорные виды *S. × ajanhuiri*, *S. × curtilobum*, *S. × juzepczukii* – морозоустойчивости (Hawkes, Hjerting, 1989). С точки зрения селекции, кроме устойчивых, интересны образцы со значительными физиологическими отличиями – по-разному реагирующие на изменения фотопериода, низкие температуры, не имеющие периода покоя. Многие образцы являются раннеспелыми, что дало возможность включить их в селекцию для выведения двухурожайных сортов.

Культурные виды картофеля относятся к первичному генофонду, представители которого легко скрещиваются и дают жизнеспособное гибридное потомство (Harlan, de Wet, 1971). *S. phureja* уже длительное время используется в селекции и входит в родословные многих европейских сортов картофеля. В результате межвидовой гибридизации диплоидного *S. phureja* и гексаплоидного североамериканского вида *S. demissum* Lindl. (источника генов устойчивости к фитофторозу) получены фертильные тетраплоидные гибриды, которые легко скрещивались с *S. tuberosum* (Ross, 1987; Zimnoch-Guzowska, Flis, 2021). А поскольку в этом случае использование ПКВ картофеля является необходимым условием для скрещивания, то подбор материала, содержащего полезные признаки, в том числе устойчивости может являться потенциально успешной

стратегией для пирамидирования генов в селекционном материале. *S. rybinii*, как источник устойчивости к Y-вирусу, использовали при выведении сортов картофеля в Научно-исследовательском институте растениеводства Шотландии (SCRI) (Bradshaw, 2009). Для расширения генетического разнообразия исходного материала, пригодного для селекции, в середине XX столетия в европейских селекционных программах использовали популяции адаптированных к длинному дню образцов *S. andigenum* (Neotuberosum) и *S. phureja* / *S. stenotomum*. В потомстве от скрещивания адаптированной диплоидной популяции с тетраплоидными сортами картофеля выделены гибриды, урожайность которых была выше, чем внутривидовых гибридов *S. tuberosum*. Однако эти гибриды не были использованы как родительские линии при создании сортов, так как унаследовали неправильную форму клубней и отсутствие периода покоя, свойственные *S. phureja* (Bradshaw, 2009).

Описания морфологических признаков растений и клубней образцов культурных видов *Petota* опубликованы в изданиях, подготовленных учеными ВИР на основе многолетних результатов собственных исследований и по литературным данным (Бавыко, 1987, 1989; Горбатенко, 2006; Киру и др., 2002; Лехнович, 1971; Ovchinnikova et al., 2011).

S. stenotomum – вид с самым большим ареалом и разнообразием форм среди диплоидных культурных видов картофеля. Растения *S. stenotomum* имеют сильно рассеченный лист с очень узкими заостренными долями. Число пар долей листа достигает восьми, число пар промежуточных долек может быть более 20. Ширина долей в три-четыре раза меньше их длины (Букасов, 1978). Чашечка цветка, резко отграниченная от вершины цветоножки, превышает длину половины радиуса венчика, а ее доли имеют хорошо выраженные остроконечия (Лехнович, 1971). Описаны формы *S. stenotomum*, отличающиеся от типового описания вида по ширине долей (Букасов, 1978; Hawkes, 1990).

S. goniocalyx произрастает в высокогорных районах центрального и южного Перу, отличается от *S. stenotomum* более крупным цветком, ребристым основанием

чашечки (что отражено в названии вида), более тупыми и широкими, удлинено-яйцевидной формы долями листа (Горбатенко, 2006). Клубни *S. goniocalyx* более крупные, чем у других диплоидных видов картофеля, с не темнеющей мякотью интенсивной желтой окраски (Букасов, 1978; Hawkes, 1990). У растений *S. stenotomum*, *S. × ajanhuiri* и *S. goniocalyx* клубни формируются через 5–6 месяцев вегетации и имеют длительный период покоя, что отличает эти виды от *S. phureja*, *S. rybinii* и *S. × chaucha* Juz. et Buk.

S. phureja – диплоидный вид наиболее низких (1000–2750 м н. у. м.) горных долин на юге Перу и в Боливии. Растения *S. phureja* часто имеют стебли, окрашенные антоцианом, лист широкий, короткий, с небольшими хорошо выраженными стерженьками долей, сочленение цветоножки около середины. Вид отличается исключительной скороспелостью, период вегетации 3–4 месяца. Клубни имеют очень короткий период покоя, в жаркую погоду молодые клубни прорастают под материнским кустом (Зыкин, 1973). В классификации Дж. Хокса (J. Hawkes) под этим названием также фигурируют образцы conspessies *S. rybinii*, поскольку этот автор, как и ряд других, не признавал *S. rybinii* в качестве отдельного вида (Hawkes, 1990).

S. × ajanhuiri – диплоидный морозостойкий вид, отличается от *S. stenotomum* меньшей величиной венчика и чашечки цветка и высоким сочленением цветоножки (Hawkes, 1990). В сравнении с ареалами возделывания других видов культурного картофеля ареал *S. × ajanhuiri* занимает небольшую площадь. Этот эндемичный вид выращивают на высоте 3800–4100 м н. у. м. в районе озера Титикака. Вид представлен двумя группами сортов, которые отчетливо различаются по морфологии листа, соцветия, цветоножки, чашечки и венчика цветка (Huaman et al., 1980).

1.2 Современное состояние исследований в области генетики картофеля

Первые исследования в области генетики картофеля относятся к началу XX века. При помощи наблюдения, морфологического описания и скрещиваний были попытки установить закономерности наследования отдельных признаков,

имеющих яркое фенотипическое проявление. Проведение генетического анализа признаков картофеля, осложняется множеством факторов, такими как:

- высокое видовое разнообразие картофеля (Букасов, 1970);
- высокий внутривидовой полиморфизм, характерный для некоторых видов (Hawkes, 1980; Machida-Hirano, 2015)
- высокая степень гетерозиготности образцов (Potato Genome Sequence Consortium (PGSC), 2011);
- наличие и распространенность процессов естественной гибридизации, авто- и аллополиплоидии (Ochoa et al., 2004);
- нескрещиваемость некоторых видов/образцов из-за наличия барьеров разной природы (Гавриленко, Ермишин, 2017);
- наличие у многих видов, особенно среди диплоидов, механизмов, блокирующих самоопыление, которое препятствует проведению гибридологического анализа (Cipar et al., 1964; Kardile et al., 2022).

Все эти причины значительно осложняют не только непосредственно генетические исследования, но и ведение селекции, так как интрогрессия генов из некоторых источников затрудняется и требует дополнительных посредников. Тем не менее, методами классической генетики были установлены закономерности наследования некоторых морфологических признаков.

Первые крупные успехи в молекулярно-генетическом исследовании картофеля были достигнуты еще в 1994 году, когда при помощи 197 RFLP и 11 классических генетических маркеров была получена первая генетическая карта генома *S. tuberosum* (Van Eck et al., 1994), а также идентифицированы локусы, ассоциированные с проявлением некоторых признаков. Ранее полученные карты были не столь подробны и содержали лишь RFLP-маркеры (Bonierbale et al., 1988; Gebhardt et al., 1989; Gebhardt et al., 1991). Впоследствии, все ранее созданные генетические карты были объединены и легли в основу множества других исследований, в том числе основополагающей работы, выполненной в лаборатории К. Гебхардт (C. Gebhardt) (Gebhardt et al., 2004, 2006). Объединение

всех известных ранее маркеров и локализация их на генетической карте позволили сделать определенные выводы о закономерностях расположения групп *R*-генов в виде кластеров.

Ключевым моментом в истории геномных исследований картофеля стала сборка референсного генома картофеля. Первая сборка генома культурного картофеля была сделана в 2011 году (PGSC, 2011). Изначально для сборки был выбран гетерозиготный диплоидный клон *S. tuberosum* RH89-039-16 (RH), но из-за высокой степени гетерозиготности оказалось, что произвести секвенирование и выполнить сборку при том уровне технологий затруднительно, и, в итоге, полученный референсный геном представляет собой гибридную сборку последовательностей RH и двойного моноплоидного клона *S. phureja* DM1-3. Развитие технологий и увеличение биоинформатических возможностей позволили со временем собирать геномы полиплоидных видов уже без подобных модификаций. К настоящему моменту уже завершены сборки геномов других видов картофеля, среди которых дикие виды: *S. commersonii* Poir. (Aversano et al, 2015), *S. pinnatisectum* Dunal, *S. verrucosum* Schldl., несколько вариантов клонов *S. tuberosum* (RH89-039-16, P8, A6-26, Solyntus и другие), а также примитивные культурные виды (*S. phureja*, *S. chaucha*, *S. stenotomum*, *S. ajanhuiri*, *S. × curtilobum*, *S. × juzepczukii*) (Achakkagari et al., 2022; Kyriakidou et al., 2020b).

С усовершенствованием технологий секвенирования количество данных о генетической информации картофеля значительно возросло. Основные исследования сосредоточены на систематике (Yan et al., 2021), изменениях, происходящих при одомашнивании (Li Y. et al., 2018a), а также поиске глобальных изменений, связанных с разделением ветвей томата и картофеля (Gaiero et al., 2019). В качестве значимого для генетики картофеля промежуточного итога современного этапа исследований можно считать создание пан-генома картофеля (Tang et al., 2022). В этом исследовании использовано большое количество образцов ПКВ картофеля, поскольку одной из современных тенденций является попытка перевести селекцию картофеля на диплоидный

уровень. Кроме того, создание пангенома картофеля позволило оценить некоторые ранее неизвестные аспекты эволюции картофеля, в частности значительное расширение репертуара генов устойчивости к болезням по сравнению с некоторыми близкородственными паслёновыми культурами, в частности томатом.

1.3 Механизмы устойчивости растений к заболеваниям

1.3.1 Система иммунитета у растений

Устойчивость растений к различным патогенам и вредителям – один из ключевых моментов адаптивного механизма эволюции растений. Н. Вавилов (Вавилов, 1918) разработал следующую классификацию иммунитета:

1. Родовой/Видовой – связанный с уровнем специализации паразита.
2. Сортовой.

2.1. Пассивный.

- а) Структурный (механический), обусловленный морфологическими или анатомическими особенностями сортов.
- б) Химический, связанный с наличием в ткани определённых веществ.

2.2. Активный (физиологический) – связанный с реакцией клеток хозяина, сопровождается химическими и физиологическими изменениями.

Отклик работ Н.И. Вавилова можно проследить и во многих современных исследованиях устойчивости. Так у картофеля многие заболевания, поражающие клубни, могут блокироваться высоким содержанием гликоалкалоидов (в основном соланина), хотя это значительно влияет на пищевые качества, что приводит к невозможности употребления таких клубней в пищу (Fewell et al. 1997).

Также Н.И. Вавилов отмечал огромную важность разнородности исходного генетического материала в выведении иммунных к различным заболеваниям сортов: *«Чем уже генетически исходный сортовой материал, чем однороднее физиологически и морфологически сорта, хотя бы их было очень много, тем меньше шансов на нахождение резких отличий и по отношению их к паразитам. Наиболее целесообразно для успешности селекции на иммунитет вести работу*

по возможности с разнородным генетически и географически, в смысле происхождения, сортовым материалом» (Н. Вавилов, 1918. с. 208). Эта идея находит отголоски и в других исследованиях – от концепции Г. Флор (H. Flor) «ген-на-ген» (gene-for-gene) (Flor, 1971) до современных знаний о молекулярных механизмах устойчивости (Tiwary et al., 2022, Xue J. et al., 2020), включая наиболее актуальную в последнее время концепцию «зигзаг» (zig-zag) системы иммунитета (Jones, Dangle, 2006), которая будет рассмотрена ниже.

В настоящее время известно, что иммунитет является комплексным явлением, затрагивающим многие системы растения и требующим их слаженной работы (Andersen et al., 2016). Фактически иммунный ответ состоит из трёх стадий: распознавание патогена, передача сигнала и непосредственно ответ, в каждой из этих стадий задействовано множество различных компонентов (Andersen et al., 2018). Но, как правило, в контексте генов устойчивости растений к патогенам под иммунитетом рассматривают лишь одну из стадий – распознавание патогена.

Согласно концепции иммунитета «зигзаг», у растений существует двухуровневая иммунная система выявления и реагирования на патогены (Johns, Dangle, 2006). На первом уровне находится внеклеточная система распознавания образов (PRR) (cell-surface pattern recognition receptors), а на втором внутриклеточные нуклеотид-связывающие богатые лейциновыми повторами рецепторы (NLR или NBS-LRR) (Lacaze, Joly, 2020). Показано, что вне- и внутриклеточные системы иммунитета взаимно усиливают и зависят друг от друга, что приводит к совместному эволюционному течению, когда увеличение количества PRR коррелирует также с увеличением количества NLR. Существуют и другие способы классификации, которые в большей или меньшей степени соответствуют этим категориям. Например, долгое время основным было деление иммунитета на PTI (pattern-triggered immunity) и ETI (effector-triggered immunity) по принципу специализированности распознаваемой молекулы. Такая классификация практически полностью совпадает с разделением белков

распознавания на PRR и NLR, отличаясь лишь частными случаями (Thomma et al., 2011; Kourelis, Adachi, 2022). В этом варианте классификации PТI – это иммунитет, запускаемый распознаванием консервативными молекулярными образцами, которые могут быть вызваны патогенами (pathogen-associated molecular pattern или PAMP) и другими воздействиями, требующими реакции растений, например, повреждения (DAMP) или микробы (MAMP). Такими сигналами становятся так называемые элиситоры (например, хитин или полисахариды), являющиеся родовыми сигналами присутствия возбудителя (Jones, Dangle, 2006). Запускаемый ими иммунитет (PТI) не распецифичен, и гены устойчивости этого иммунитета довольно консервативны. Одним из хорошо изученных примеров является реакция на присутствие бактериального флагеллина. Распознающий его рецептор *Flagellin-Sensitive2 (FLS2)* найден у растений разных семейств, хотя и проявляет различное сродство к консервативной части флагеллина, что возможно отражает коэволюцию со специфическими бактериальными паттернами (Trdá et al., 2014). Многие из рецепторов PТI иммунитета относятся к семейству RLP/RLK (Receptor-like proteins/kinases) и непосредственно взаимодействуют с PAMP, как правило, снаружи клеточной мембраны, то есть приблизительно соответствует PRR (Ngou et al., 2022a). ETI – это иммунитет, запускаемый эффекторами, являющимися распецифическими молекулами. Как правило, он вызывает запрограммированную клеточную смерть, то есть реакцию гиперчувствительности (Coll et al., 2011; Kourelis et al., 2020). В общем, эта категория соответствует NLR, поскольку большинство рецепторов, распознающих патогены, внутриклеточные и относятся к семейству NLR. Дж. Корелис (J. Kourelis) (Kourelis, van der Hoorn, 2018) также подразделял категории иммунитета на активный/пассивный и прямой/косвенный по принципу действия и типу взаимодействия с распознаваемой мишенью патогена. Это две основных классификации иммунитета, и обе широко применяются в настоящее время в зависимости от цели и особенностей исследования.

1.3.2 Внеклеточная система распознавания образов (PRR)

Рецепторы PRR системы – это RLP (receptor-like protein) или RLK (receptor-like kinase) рецепторы. Отличие между этими группами состоит в наличии цитоплазматического киназного домена, который отсутствует в белках RLP. Обязательным элементом является заякоривание рецептора в мембране либо при помощи α -спирали, либо через гликофосфатидилинозитол якорь (GPI) (Boutrot, Zipfel, 2017). Внеклеточная часть PRR, является собственно рецептором, воспринимающим лиганды, и может состоять из нескольких доменов, часто включающих LRR- (leucine-repeats-rich) мотивы (Boutrot, Zipfel, 2017). LRR-домены разнообразны по структуре и количеству и позволяют осуществлять целый ряд белок-белковых взаимодействий, связывание лигандов, гомо- и гетеродимеризацию рецепторов. LRR-RLK являются важными медиаторами межклеточной коммуникации, обеспечивающими передачу сигналов развития и стимулов окружающей среды при активации защиты/сопротивления против патогенов, в частности SYMRK участвует в микоризных ассоциациях у бобовых (Dufayard et al., 2017). У картофеля обнаружено 268 генов, кодирующих LRR-RLK (246 по версии Li X. et al., 2018b), что очень близко к среднему значению по всем семействам. Нет свидетельств, предполагающих экспансию или утрату генов этого семейства, хотя при разделении генов этого семейства на ортологические группы (по филогении, созданной на основе анализа *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Wu Y. et al., 2016)) гомологи генов из трёх групп у картофеля не обнаружены (Dufayard et al., 2017).

Независимо от типа PRR (LRR-RLK или LRR-RLP) его действие приблизительно одинаковое: при взаимодействии с лигандом происходит активация протеинкиназ. Она приводит к притоку ионов Ca^{2+} и выработке активных форм кислорода за счет участия NADPH-оксидаз. Общая реакция, вызванная действием PRR и ограничивающая развитие патогенов, может включать ограничение питательных веществ в данном участке ткани, укрепление

клеточной стенки, подавление секреций бактерий или индукцию антимикробных соединений (Voigt et al., 2014; Yamada et al., 2016; Anderson et al., 2014).

В настоящее время PRR считается основной системой иммунитета, в то время как NLR вспомогательной, активация которой пополняет компоненты передачи сигналов PRR, тем самым усиливая PRR-зависимую передачу сигналов (Ngou et al., 2021). Две системы иммунитета действуют в тесном взаимодействии друг с другом, активно дополняя и усиливая друг друга, так NLR усиливает PRR, индуцируя активацию сигнальных РТI и контролируя транскрипцию, трансляцию и фолдинг белков (Kamoun et al., 2018).

У картофеля известны два гена устойчивости, относящиеся к системе иммунитета PRR, – *Ve1* и *Ve2* (гены устойчивости к вертициллезному увяданию) (Song et al., 2017). Показаны изменения экспрессии некоторых генов в ответ на заражение фитофторозом или обработку элиситорами (Li X. et al., 2018b; Xiaoxu et al., 2018), что позволяет предположить вовлеченность генов семейства *PRR* в иммунный ответ на данные раздражители.

Тем не менее, большинство известных генов устойчивости картофеля и многих других культур (*R*-генов) являются *NLR*-генами. Для *PRR*-генов показана более высокая консервативность по сравнению с генами *NLR* (Ngou et al., 2022b). Это позволяет предположить, что, являясь активными участниками иммунного ответа, они формируют некоторый базовый уровень устойчивости, который можно сравнить с родовым/видовым иммунитетом, выделяемый Н. Вавиловым (Вавилов, 1919). И многие из этих генов, несмотря на общую значимость в формировании адекватного ответа на стресс у растений, представляют меньшую практическую ценность для селекции, поскольку аналогичны для всех представителей таксона.

1.3.3 Внутриклеточная система иммунитета (NLR)

NLR активирует иммунные ответы при распознавании эффекторных белков, секретируемых патогенами. Растительные NLR имеют модульную,

многодоменную архитектуру и для каждого домена описаны строение и роль, позволяющая выполнить общую функцию белка (Takken, Govers, 2012). В зависимости от N-концевого домена кодируемых белков выделяют группы *TNL* и *CNL*.

Домен *CC* (Coiled coil) характеризуется наличием α -спиралей, но долгое время какие-либо другие закономерности в структуре домена не были выявлены (Meyers et al., 2003). С. Коллиер (S. Collier) с соавторами (Collier et al., 2011) предложили разделять *CNL* на классы по: способности вызывать программируемую клеточную смерть; необходимости самоассоциации для сигнала о клеточной смерти и наличию специфического мотива EDVID. Но для паслёновых показаны *CC*-домены, которые не могут быть охарактеризованы в рамках этой классификации, а также есть *CNL*, которые могут быть отнесены к нескольким категориям одновременно. Таким образом, эта классификация в достаточной степени условна, но в ней отмечены важные для *CC*-домена характеристики (Bentham et al., 2018). К ним также можно добавить наличие других крупных доменов на N-конце, что характерно для томата (например, гены *NLR Sw-5b* и *Prf*) (de Oliveira et al., 2016) или особое строение *CC*-домена, например, у генов подкласса *I2*, которые, хотя и содержат мотив EDVID, имеют особенное консервативное строение и выделяются в монофилетическую кладу (Bentham et al., 2018). Таким образом, до сих пор довольно сложно отграничить *CC*-домен от остальной части гена и при попытке определить его функции получены противоречивые данные. В частности, для гена картофеля *Rx1* (устойчивость к вирусу X) показано участие *CC*-домена в распознавании патогена и сигналинге (Rairdan et al., 2008), но для других генов, в частности *Rpi-R3a* (устойчивость к фитофторозу), известно, что *CC*-домен участвует в программируемой гибели клеток (Collier et al., 2011). Для паслёновых отмечают значительное расширение количества генов, кодирующих *CNL* (Seo et al., 2016).

Домен *TIR* (Toll/interleukin-1 receptor) представляет собой консервативную флаводоксиподобную складку из пяти α -спиралей, окружающих β -лист (Ve et

al., 2015). Они способны к самоорганизации и при активации белка образуется тетрамерная структура из TNL, а TIR-домены формируют два димера, которые обладают NAD⁺гидролазной активностью (Yu et al., 2022). В эволюции растений происходили множественные потери генов с этим доменом, в частности он отсутствует у злаков (Wu J. et al., 2021)

Домен NBS (Nucleotide binding site) (часто у растений используется название NB-ARC) состоит из трёх субъединиц – NB, ARC1 и ARC2, которые в состоянии покоя образуют закрытый карман связывания нуклеотидов (Takker, Goverse, 2012). NBS-домен является молекулярным переключателем: в состоянии покоя он связан с АДФ, но при взаимодействии эффектора с белком происходит активация посредством замены АДФ на АТФ в нуклеотидсвязывающем кармане. Это наиболее консервативный домен в NLR, мутация какого-либо из мотивов связывания с АТФ может привести к заблокированности в одном из состояний, что приводит к нефункциональности белка с точки зрения способности вызвать иммунный ответ (Lolle et al., 2020).

Основная роль домена LRR (Leucine-Rich Repeats) заключается в обеспечении белок-белковых взаимодействий. Длина основного мотива LRR-домена – 20-30 аминокислот, а на каждый NLR-белок у *A. thaliana* приходится от 8 до 25 мотивов; у других видов из может быть намного больше (Kobe, Kajava, 2001). По сравнению с другими доменами NLR, LRR более полиморфен и находится под воздействием диверсифицирующего отбора (Parniske et al., 1997). Специфичность NLR-белка в распознавании эффектора патогена определяется LRR-доменом и связана с коэволюцией патогена и распознающего его рецептора. Кроме непосредственно рецепции эффектора LRR-домен также предотвращает аутоиммунную реакцию в отсутствие эффектора, взаимодействуя с N-концом и ARC-мотивом в NBS-домене, тем самым блокируя его активацию (Bendahmane et al., 2002).

У некоторых TNL показано наличие ещё одного концевых домена после LRR – раньше его называли домен PL (post-LRR), но сейчас более распространено

C-JIDs (C-terminal jelly-roll/Ig-like domains). Он характеризуется наличием четырёх консервативных мотивов (Saucet et al., 2021). В настоящее время более половины изученных у двудольных растений TNL характеризуются наличием этого домена. Показано, что взаимодействие C-JID с эффектором аналогично комплементарному связыванию антиген-антитело (Martin et al., 2020).

При активации NLR происходит олигомеризация с образованием комплекса, называемого резистосомой (рисунок 2) (Burdett et al., 2019). Предполагается, что основная функция олигомеризации, вне зависимости от типа NLR, состоит в сближении N-концов (Adachi et al., 2019b). Более того показано, что экспрессии только N-концевых доменов (как TIR, так и CC) достаточно для инициации гибели клеток (Wang et al., 2020). Но дальнейшие механизмы проявления иммунной реакции отличаются в семействах разных типов: так представители TNL требуют присутствия RNL (подсемейство CNL) для активации резистентности и гибели клеток. Эти RNL рассматриваются в качестве вспомогательных NLR. Но у паслёновых (Solanaceae), в том числе у картофеля, описано семейство хелперных NLR необходимых для активации клеточной смерти, их называют NRC (NLR-required for cell death) (Wu C. et al., 2017). Таким образом, функция CNL также может зависеть от помощников NRC, хотя показано существование CNL независимых от NRC, так называемых синглетонов (Adachi et al., 2019b). В любом варианте, или сами рецепторы CNL, воспринимающие белок патогена, или NRC, активируемые CNL, или белки обоих типов при взаимодействии формируют воронкообразную структуру, которая может взаимодействовать с плазматической мембраной и формирует канал, проницаемый для ионов Ca^{2+} , что приводит к активации механизма запрограммированной клеточной смерти (Wang et al., 2019; Vi et al., 2021).

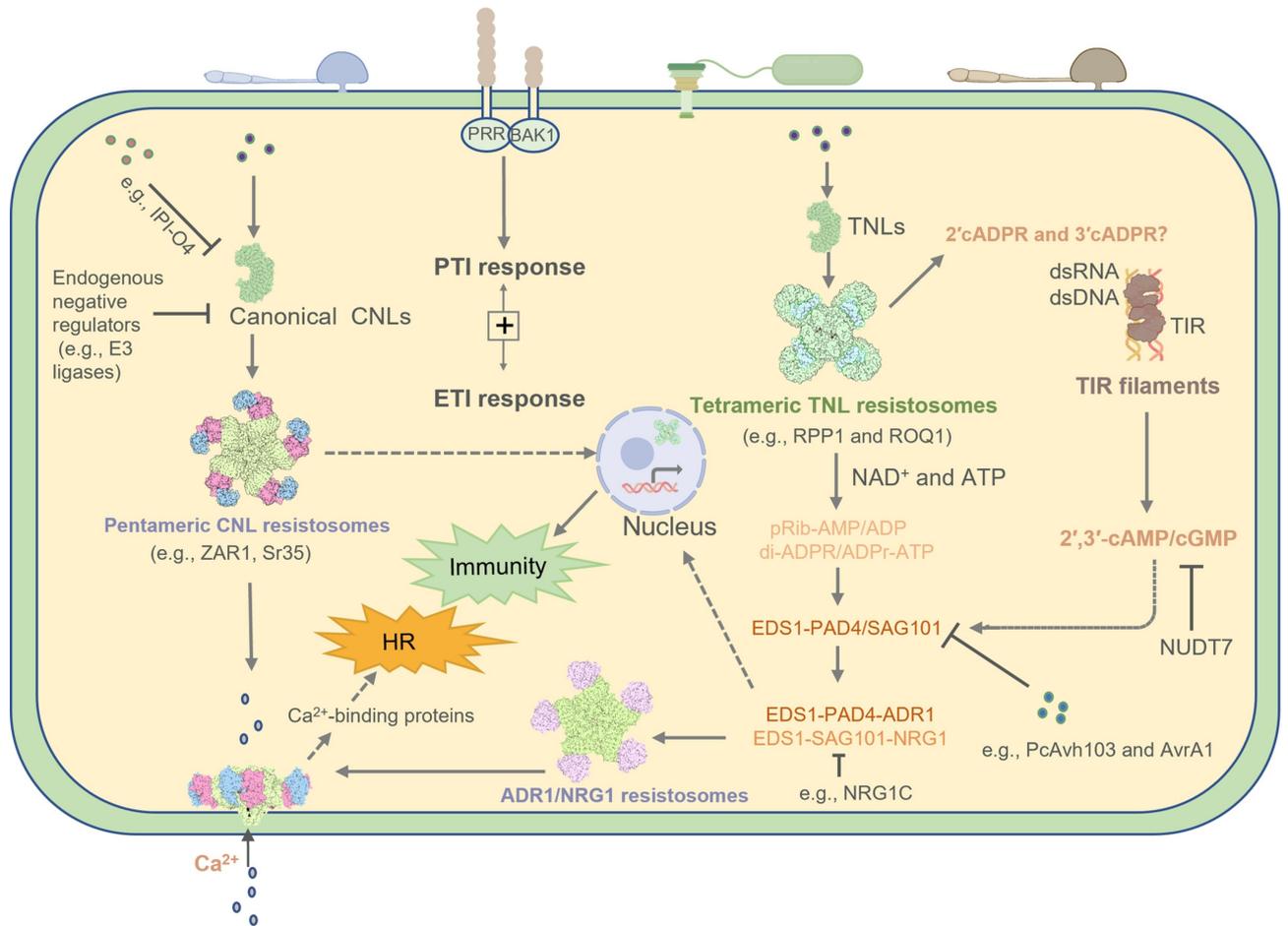


Рисунок 2 – Схема активации разных типов NLR в растениях (согласно публикации Huang et al., 2023)

Как было сказано выше, иммунные реакции, запускаемые *TNL*, требуют присутствия хелперных белков RNL, но также необходимо присутствие еще ряда компонентов, включая липазо-подобные белки и белки, кодируемые генами, ассоциированными со старением (Wu C. et al., 2017; Jubic et al., 2019; Kasmi, 2021). Распознавание эффекторов TNL приводит к само- или гетероассоциации необходимой для правильной передачи сигналов (Zhang et al., 2019). Таким образом, образуется тетрамер, в результате формирования такой структуры белков их TIR домены складываются в два димера и в таком варианте фолдинга проявляется NAD^+ гидролазная активность (NADase). TIR-домены растений гидролизуют NAD^+ до АДФ-рибозы, никотидамида, цикло-АДФ-рибозы (Wan et al., 2019; Horsefield et al., 2019). Но точный механизм того, как NAD^+ гидролазная активность и образующиеся в дальнейшем сигнальные молекулы

инициируют и активируют иммунный ответ, в значительной степени не известен (El Kasmi, 2021).

NLR играют ключевую роль в адаптации растений к неблагоприятным условиям. О регуляции экспрессии генов, кодирующих NLR, известно мало. Поскольку растениям необходимо быстро отвечать на атаку патогенов, многие *NLR*-гены конститутивно экспрессируются на низких уровнях, но есть свидетельства о тканеспецифичной экспрессии. Также показано, что экспрессия некоторых генов увеличивается в ответ на присутствие бактериального флагеллина (Navarro et al., 2004), это, вероятно, является результатом взаимодействия вне- и внутриклеточных систем иммунитета.

Гены *NLR*, часто группируются в геноме в результате тандемных или сегментных дупликаций (Leister, 2004). В результате частота неравного кроссинговера внутри образующихся кластеров выше, чем в других участках генома. Что приводит к распространенности внутривидовой вариативности в размерах кластеров *NLR*-генов (Kuang et al., 2004). Скорость эволюции генов *NLR* может варьировать даже в пределах одного кластера, что согласуется с основной моделью эволюции *R*-генов - «рождение-и-смерть» («birth-and-death»). Данная концепция подразумевает, что после неравного кроссинговера происходит зависимый от пloidности очищающий отбор, действующий на гаплотип. И в дальнейшем различные по числу *R*-генов группы развиваются полунезависимо (Michelmore, Meyers, 1998).

In silico анализ паслёновых показал высокое разнообразие последовательностей *NLR* у представителей различных культивируемых видов (перец, томат и картофель). В частности, у картофеля обнаружено почти вдвое больше генов *NLR* (443), чем у томата (267), но значительно меньше, чем у перца (755). Количество обнаруженных генов у картофеля варьирует, в зависимости от метода исследования, и точные значения, определённые разными авторами, отличаются (Lozano et al., 2012; Jure et al., 2012; Seo et al., 2016). При этом число

кластеров *TNL* совпадало в геномах всех трёх культур, таким образом, основные события редукции/дупликации происходили в *CNL*, а также в генах, утеревших один или несколько доменов. Среди генов, кодирующих *CNL*, выделяют 13 подгрупп и в каждой из исследованных культур найден хотя бы один ген в каждой из подгрупп. Филогенетический анализ, выполненный Ю. Сео (E. Seo) с соавторами (Seo et al., 2016), показал, что экспансия генов *CNL*-типа происходила в отдельных подгруппах, в частности *CNL-G13* количественно преобладает у картофеля.

1.4 Болезни картофеля и гены устойчивости к ним

1.4.1 Фитофтороз

Фитофтороз является одним из наиболее вредоносных заболеваний картофеля. Вспышка возбудителя этого заболевания (*P. infestans*) была причиной Ирландского голода в середине XIX века (Ristaino, 2002). *P. infestans* относится к оомицетам. Являясь важным патогенным организмом, он является модельным для этой группы, но всё ещё недостаточно изучен. В 2009 году, наряду с двумя другими представителями этого рода, геном оомицета *P. infestans* был секвенирован (Haas et al., 2009). Наиболее благоприятными условиями для развития *P. infestans* являются прохладные и влажные условия (Campbell, Madden, 1990; Jones, 1998), что связано с особенностями жизненного цикла этого патогена (Stein, Kirk, 2002).

Основным способом борьбы с фитофторозом является возделывание устойчивых сортов, но скорость мутаций и изменения патотипов *P. infestans* с новыми генами вирулентности требует вовлечения новых вариантов формирования устойчивости. В первую очередь речь идёт о генах устойчивости, но определенное сочетание аллелей QTL, содержание алкалоидов, формирование раннеспелых сортов и использование химических и биологических препаратов также являются перспективными способами борьбы с этим заболеванием.

Большинство генов устойчивости у сортов картофеля были получены от диких сородичей путем гибридизации и возвратных скрещиваний (Ross, 1987). В более поздних исследованиях для интрогрессии факторов устойчивости была также задействована соматическая гибридизация (Brown et al., 1996; Helgeson et al., 1998).

Первые работы по созданию устойчивых к фитофторозу сортов картофеля, связаны с интрогрессией генов из *S. demissum*, обеспечивающих широкий спектр устойчивости к разным расам фитофторы (Beketova et al., 2006). В настоящее время у картофеля и родственных ему видов обнаружено более 70 генов устойчивости к фитофторозу (Paluchowska et al., 2022), найденных у 32 различных видов рода *Solanum*, большинство из которых клубненосные.

Устойчивые к фитофторозу образцы обнаружены среди разнообразных таксономических групп картофеля (Duan et al., 2021; Blossei et al., 2022), в том числе среди примитивных культурных видов (Gabriel et al., 2013). Но большинство образцов проявляют так называемую расоспецифичную устойчивость, то есть способны распознавать только некоторые расы фитофторы. Хотя данные образцы также могут быть использованы для селекции, в частности, при использовании стратегии пирамидирования генов устойчивости, более перспективными являются гены, обеспечивающие устойчивость по отношению ко всем (или большинству) известным расам фитофторы с различными генами авирулентности. Например, гены из *S. bulbocastanum*: *Rpi-blb1* и *Rpi-blb2* долгое время были непреодолимым барьером для фитофторы, но к настоящему моменту сообщается о преодолении этих генов устойчивости (Palushowska et al., 2022). Таким образом, задача поиска новых генов устойчивости и создание новых устойчивых сортов становится наиболее актуальной.

У представителей ПКВ картофеля обнаружены гены *StTL15A* и *StGP28*, ассоциированные с устойчивостью к фитофторозу (Alvarez et al, 2017). Также у *S. phureja* найден ген *Rpi-phu1* устойчивости к фитофторозу. В настоящее время этот ген считается близким гомологом известного гена *Rpi-vnt1* из

южноамериканского дикого вида *S. venturii* Hawkes & Hjert., последовательность и аллельные варианты которого были секвенированы в ходе исследований М. Пела (M. Pel) и С. Фостера (S. Foster) (Pel, 2009; Foster et al., 2009).

1.4.2 Глободероз

Среди паразитов, поражающих картофель, выделяются нематоды. Они представляют довольно большую группу видов, но наиболее распространённым и опасными являются стеблевая (бледная) картофельная нематода (*Globodera pallida*) и золотистая (цистообразующая) картофельная нематода (*Globodera rostochiensis*) являющиеся узкоспециализированными паразитами, поражающими корни растений семейства пасленовых, в том числе и картофеля (Dellaert, Hoekstra, 1987; Sabeh et al., 2019). Центр их возникновения и распространения находится в горных долинах Перу и Боливии и совпадает с таковым у картофеля. Поражение ЗКН способно снизить урожай до 80%, а способность нематоды в виде цист сохраняться в почве в течение длительного времени делает непригодным для использования пораженные земли. Считается, что цистообразующие нематоды являются причиной потери 9% урожая картофеля во всём мире (Turner, Subbotin, 2013). ЗКН является карантинным объектом и особенно опасна для небольших ферм с сокращённым севооборотом.

Наиболее эффективным способом борьбы с ЗКН является возделывание устойчивых сортов. У большинства современных сортов устойчивость к паразиту обеспечивают один или два гена. Это гены *H1*, полученный от устойчивых форм *S. andigenum* (van der Voort, 1999) и *Gro1-4* (от южноамериканского дикого вида *S. spagazzinii* Bitter). Каждый из этих генов обеспечивают устойчивость ко всем известным патотипам ЗКН. У гена *Gro1-4* известно довольно большое количество гомологов, обеспечивающих устойчивость к различным патотипам ЗКН (Paal et al., 2004).

Известны также множество других генов устойчивости, действие которых распространяется лишь на отдельные патотипы ЗКН: ген *H2* из *S. multidissectum*

Hawkes (патотип Ro-1) (Dunnett, 1960; Strachan et al., 2019), а также *Gpa4* (Bradshaw et al., 1998; Bryan et al., 2004; Gartner et al., 2021) у *S. andigenum* и *Gpa5* (van der Voort et al., 2000; Bryan et al., 2002) у *S. vernei* Bitter & Wittm., определяющие частичную устойчивость к патотипам Ro2 и Ro3. Однако по данным автора этот материал не был привлечен для селекции устойчивых сортов.

В коллекции ВИР ранее были выявлены отдельные образцы устойчивые к ЗКН, как среди примитивных культурных, так и среди диких видов картофеля (Киру, Рогозина, 2017). Про другие исследования ПКВ картофеля автору не известно, но среди различных коллекций диких видов регулярно производится скрининг на наличие устойчивых к данному вредителю образцов (Chavez et al., 1988; Baker, 2023; Gavrilenko et al., 2021).

1.4.3 Вирусные заболевания

Вирусные заболевания различных культур наносят огромный вред сельскому хозяйству, так как вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами и не подвержены воздействию химическими методами. Картофель, как вегетативно размножаемая культура, особенно сильно подвержен воздействию вирусных заболеваний (Ross et al., 2021). Наиболее эффективным и экономически выгодным методом борьбы с вирусными заболеваниями является получение устойчивых сортов. Существует более 35 различных вирусов и виридов поражающих картофель (Salazar, 2006), но наиболее важными патогенами являются вирусы X и Y, способные снижать урожайность на 80% (Roossinck, 2012).

Вирус Y картофеля (Potato Virus Y = PVY), наряду с вирусами картофеля A и V (PVA, PVV), относится к группе потивирусов. Эта группа вирусов преимущественно переносится тлями, широко распространёнными в умеренной зоне. Отсутствие специфичности взаимодействия тлей и вирусов этой группы делает использование инсектицидов для предотвращения распространения Y вируса не эффективным (Gibbs et al., 2008). Отмечена возможность переноса

вирусов при непосредственном контакте растений, а также людьми и механизмами при обработке поля (Verchot-Lubicz et al., 2007). У диких видов картофеля *S. stoloniferum* Schltdl. & Bouché и *S. chacoense* Bitter известны гены устойчивости к PVY – Ry_{sto} (Grech-Baran, 2020) и Ry_{chc} (Li G. et al., 2022), соответственно. Наиболее распространена устойчивость к PVY среди растений *S. pinnatisectum*, но насколько известно автору природа устойчивости этого вида до сих пор не известна. А нескрещиваемость с культурным картофелем препятствует его вовлечению в селекцию. В то же время есть данные о наличии устойчивых форм среди образцов одного из ПКВ картофеля - *S. phureja* (Torrance et al., 2020). Предположительно, ген $Ry(o)_{phu}$ расположен на хромосоме 9, но ген не секвенирован и механизм формирования устойчивости к PVY не известен, аналогично для гена Ry_{adg} открытого у другого культурного вида картофеля *S. andigenum* (Ahmadvand et al., 2012).

Вирус X (PVX) относится к группе потексвирусов (Verchot, 2022). Этот вирус имеет широкий круг хозяев, включающий большинство представителей семейства Solanaceae. Поражение этим вирусом вызывает особенно тяжёлое заболевание при заражении смешанной инфекцией, особенно вместе с потивирусами (PVY) (Pacheco et al., 2012; Syller, 2012). Также показано, что заражение PVX усугубляет течение других невирусных заболеваний, в том числе вертициллёзного увядания, фузариоза и фитофтороза (Pietkiewicz, 1974; Goodell et al., 1982; Verchot, 2022). У картофеля известны два гена локализованной гиперчувствительности к PVX – Nb и Nx (Tommiska et al., 1998), а также гены устойчивости $Rx1$ из *S. andigenum* и $Rx2$ из *S. acaule* Bitter (Bendahmane et al., 1995). Среди примитивных культурных видов *S. phureja* и *S. stenotomum* ранее были обнаружены образцы устойчивые и к вирусу X (Vallejo et al, 1995).

Другими вирусами картофеля, причиняющими экономический ущерб, являются вирусы картофеля S, M, A, V, вирус скручивания листьев, вирус метельчатости верхушки, вирус погремковости табака, «раттл-вирус», широко распространённые во всех регионах, где возделывается картофель (Palukaitis,

2012). О механизмах устойчивости к этим вирусам известно крайне мало. У *S. andigenum* выделяют ген *Ns*, связанный с реакцией гиперчувствительности на заражение PVS, у диких видов известно также два гена устойчивости к PVM: *Nm* (у *S. megistacrolobum* Bitter) и *Gm* (у *S. gourlayi* Hawkes). Однако в целом данное направление проработано слабо.

1.4.4 Вертициллёзное увядание

Вертициллёзное увядание – заболевание картофеля, вызывающее потерю 10–15% урожая в некоторых регионах, но в отдельные годы потери достигают до 60 и даже 100% (Depotter et al., 2016). Его возбудителем являются грибы рода *Verticillium* sp., основные патогены картофеля *V. dahliae* Kleb, и *V. alboatrum* Reinke & Berthold. Виды *Verticillium* sp. не являются узкоспециализированными паразитами и заражают не только картофель, но и другие виды, в том числе хлопчатник, томаты, землянику и многие другие (Klosterman et al., 2009). Долгое время контроль за распространением этого заболевания осуществлялся при помощи обработки почвы фунгицидами. Однако применение наиболее результативного фунгицида (MeBr) стало невозможным после 2015 года в связи с требованиями к экологической безопасности обработки полей. Таким образом, выведение и использование устойчивых сортов является более перспективным направлением. При исследовании широко распространённых сортов в Китае около трети оказались устойчивы к данному заболеванию (Li H. et al., 2019). Среди диких диплоидных видов картофеля неоднократно отмечалась устойчивость образцов *S. chacoense* к разным видам вертициллёза (Лехнович, 1971; Concibido et al., 1994). Также отмечались образцы *S. phureja*, которые имели различную реакцию на заражение различными видами *Verticillium* sp., тем не менее и среди ПКВ картофеля можно было обнаружить устойчивые формы (Concibido et al., 1994; Fock et al., 2000, 2001). В 2017 году Й. Сонг (Y. Song) и соавторы обнаружили гомолог гена устойчивости томата *Ve1* у картофеля и подтвердили его функциональность (Song et al., 2017).

1.4.5 Другие заболевания картофеля

Среди других распространённых заболеваний и вредителей картофеля можно выделить рак картофеля (возбудитель *Synchytrium endobioticum*). Это карантинное заболевание способно уничтожить до 100% урожая. Известно несколько генов устойчивости к раку картофеля: *Sen1* – предположительно *TNL*-ген, обеспечивающий устойчивость к определённым патотипам, по-видимому широко распространённый среди предковых форм картофеля (Prodhomme et al., 2020; Khiutti et al., 2012). Последовательности генов *Sen2* и *Sen3*, распознающих более широкий круг патотипов, пока не известны, также как у недавно установленных *Sen4* и *Sen5* (Prodhomme et al., 2020)

Другое широко распространённое заболевание – альтернариоз или ранняя гниль, вызываемое грибом *Alternaria* spp., в особенности *A. solani* Sorauer. По данным С. Савари (S. Savary), оно распространено во всех регионах возделывания картофеля (Savary et al., 2019). Без применения фунгицидов доля потерянного урожая может достигать 40% (Teng, Bissonnette, 1985). Применение фунгицидных препаратов до сих пор считается наиболее эффективным методом контроля, но уже известны расы патогена не чувствительные к применяемым препаратам (Wharton et al., 2012). Тем не менее гены устойчивости к данному заболеванию до сих пор не найдены. Обнаружены несколько QTL, ассоциированных с устойчивостью (Wolters et al., 2019; Xue W. et al., 2022), но основных генов устойчивости не выявлено. Среди диких диплоидных видов картофеля *S. neorossii* Hawkes & Hjert., *S. commersonii* и *S. tarijense* Hawkes обнаружены устойчивые к альтернариозу образцы (Jansky, Rouse, 2003, Jansky et al., 2008, Wolters et al., 2021). В коллекции ПКВ картофеля ВИР отмечались клоны с полевой устойчивостью к альтернариозу среди образцов *S. phureja*, *S. rybinii* и *S. goniocalyx* (Бавыко, 1989; Лехнович, 1971).

Широко распространёнными являются также бурые гнили, обыкновенная и серебристая парша, ризоктониоз, ооспороз картофеля. Но в основном о природе

устойчивости картофеля к данным заболеваниям известно мало, хотя среди ПКВ картофеля в коллекции ВИР выделяли устойчивые ко многим из них формы (Бавыко, 1989).

1.4.6 Гены устойчивости картофеля

Селекция картофеля на создание устойчивых к различным заболеваниям сортов – одно из наиболее актуальных направлений исследований для обеспечения экологически чистого и устойчивого картофелеводства. В этой связи поиск новых генов устойчивости и новых источников устойчивости для различных заболеваний основная задача первого этапа исследований. Множество генов устойчивости к основным заболеваниям картофеля уже известны (таблица 2) и широко применяются при создании сортов. Количество известных генов постоянно расширяется, но их вовлечение в селекционный процесс - отдельная трудоемкая задача, а постоянная изменчивость патогенов требует вливания новых генов устойчивости и создания сортов с несколькими генами устойчивости к одному патогену.

Таблица 2 – Гены устойчивости картофеля с известной структурой

Тип гена	Ген	Гомологи	Заболевание	Ссылки
<i>RLP/RLK</i>	<i>Ve1</i>	<i>Ve2</i>	Вертициллёзное увядание	Song et al., 2017
<i>TNL</i>	<i>Sen1</i>	н.о.	Рак картофеля	Prodhomme et al., 2020
<i>TNL</i>	<i>Ry_{chc}</i>	н.о.	Вирус Y	Li G. et al., 2022
<i>TNL</i>	<i>Ry_{sto}</i>	н.о.	Вирус Y	Grech-Baran et al., 2020
<i>TNL</i>	<i>Gro1-4</i>	н.о.	ЗКН	Paal et al., 2004
<i>CNL</i>	<i>Rx1</i>	<i>Gpa2</i>	ВирусX Нематода	Bendahmane et al., 1999 Van Der Vossen et al., 2000
<i>CNL</i>	<i>Rpi-R1</i>	н.о.	Фитофтороз	Ballvora et al., 2002
<i>CNL</i>	<i>Rpi-R2</i>	<i>Rpi-R2-like</i> <i>Rpi-abpt</i> <i>Rpi-blb3</i>	Фитофтороз	Lokossou et al., 2009 Van Der Vossen et al., 2003
<i>CNL</i>	<i>Rpi-R3a</i>	н.о.	Фитофтороз	Huang et al., 2005

<i>CNL</i>	<i>Rpi-R3b</i>	н.о.	Фитофтороз	Li G. et al., 2011
<i>CNL</i>	<i>Rpi-R8</i> = <i>Rpi-Smira2</i>	н.о.	Фитофтороз	Van Der Vossen et al., 2016
<i>CNL</i>	<i>Rpi-blb1</i>	<i>Rpi-sto1</i> <i>Rpi-bt1</i> <i>Rpi-pta1</i>	Фитофтороз	Van Der Vossen et al., 2003 Vleeshouwers et al., 2008 Oosumi et al., 2009
<i>CNL</i>	<i>Rpi-blb2</i>	н.о.	Фитофтороз	Van Der Vossen et al., 2003
<i>CNL</i>	<i>Rpi-vnt1</i>	<i>Rpi-phu1</i>	Фитофтороз	Foster et al., 2009 Śliwka et al., 2006

Глава 2. Материалы исследования

2.1 Материал для изучения разнообразия ПКВ картофеля по R-генам

Материалами послужили образцы четырёх видов ПКВ картофеля (*S. × ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum*) из клоновой коллекции ВИР, сохраняемой в живом виде на опытных полях НПБ Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР. При поддержании коллекции в ВИР используется ботаническая система С. Букасова, доработанная Л. Горбатенко (Букасов, 1970; Горбатенко 2006). На основании ботанических описаний, состояния растений, устойчивого образования клубней среди более 250 клонов были отобраны образцы для дальнейших исследований (таблица 3). Все образцы, для которых была сделана лабораторная оценка устойчивости к фитофторозу и ЗКН, были также оценены на наличие молекулярно-генетических маркеров соответствующих генов устойчивости.

Таблица 3 – Число образцов ПКВ картофеля из коллекции ВИР, представленных на разных этапах исследования

Вид	Число образцов (генотипов)			
	Ботаническое описание и полевая оценка устойчивости к фитофторозу	Лабораторная оценка устойчивости к фитофторозу и ЗКН	Молекулярно-генетический анализ	Все этапы
<i>S. × ajanhuiri</i>	3 (4)	2 (3)	2 (3)	2 (3)
<i>S. goniocalyx</i>	10 (12)	7 (8)	8 (9)	7 (8)
<i>S. stenotomum</i>	25 (27)	21 (23)	25 (28)	21 (23)
<i>S. phureja</i>	40 (41)	30 (30)	35 (35)	30 (30)
Всего	78 (84)	60 (64)	70 (75)	60 (64)

Секвенирование маркерных последовательностей генов *Rpi-vnt1*, *RB/Rpi-blb1* и *Gro1-4* произведено выборочно у образцов, контрастных по признаку

устойчивости.

Для гибридологического анализа проведены внутри и межвидовые скрещивания ПКВ картофеля. Выполнено 13 комбинаций скрещивания, опылено 489 цветков, получено более 1500 семян в 9 комбинациях (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты скрещивания образцов ПКВ картофеля

Материнская форма ♀	Отцовская форма ♂	Количество опылённых цветков	Количество полученных семян	Признаки родительских форм
<i>S. goniocalyx</i> к-11080-134	<i>S. goniocalyx</i> к-8865	19	150	Устойчивый/восприимчивый к ЗКН
<i>S. goniocalyx</i> к-8509	<i>S. goniocalyx</i> к-11080-135	21	63	Гипервосприимчивый/восприимчивый к ЗКН
<i>S. phureja</i> к-16529	<i>S. phureja</i> к-17462	42	0	Восприимчивый/устойчивый к ЗКН
<i>S. phureja</i> к-6502	<i>S. phureja</i> к-19198	31	95	Устойчивый/восприимчивый к ЗКН
<i>S. × ajanhuiri</i> к-9900	<i>S. × ajanhuiri</i> к-9911-139	38	250	Устойчивый/восприимчивый к фитофторозу
<i>S. × ajanhuiri</i> к-9911-139	<i>S. × ajanhuiri</i> к-9911-140*	41	250	Восприимчивый/устойчивый к фитофторозу
<i>S. phureja</i> к-8873	<i>S. phureja</i> к-8940	34	0	Устойчивый/восприимчивый к фитофторозу
<i>S. phureja</i> к-8940	<i>S. phureja</i> к-8873	26	0	Восприимчивый/устойчивый к фитофторозу
<i>S. stenotomum</i> к-9278	<i>S. stenotomum</i> к-14790	45	3	Устойчивый/восприимчивый к фитофторозу
<i>S. stenotomum</i> к-9301	<i>S. stenotomum</i> к-11020*	42	600	Восприимчивый/устойчивый к фитофторозу
<i>S. stenotomum</i> к-6507	<i>S. stenotomum</i> к-17486	37	85	Восприимчивый/устойчивый к фитофторозу
<i>S. phureja</i> к-24326	<i>S. stenotomum</i> к-11020	37	0	Восприимчивый/устойчивый к фитофторозу
<i>S. stenotomum</i> к-17485	<i>S. phureja</i> к-19329	39	250	Восприимчивый/устойчивый к фитофторозу
Итого		489	1746	

Примечание: *Выделены комбинации, потомство которых исследовано.

Потомство внутривидовых гибридов *S. stenotomum* (к- 9301–276 × к-11020–283), *S. × ajanhuiri* (к- 9911-139 × к-9911-140) и от контролируемого

самоопыления *S. × ajanhuiri* к-9911-140 (репродукция 2019 и 2020 гг.) изучено по комплексу признаков. Посев семян выполнен в 2021 г., но растения оказались в стрессовых условиях из-за высоких температур и дефицита влаги. В итоге, из 120 сеянцев внутривидовых гибридов и 106 сеянцев от самоопыления, получена клубневая репродукция и продолжено изучение 36 генотипов популяции от скрещивания *S. stenotomum*, 31 генотипа популяции от скрещивания *S. × ajanhuiri* и 55 генотипов популяции от самоопыления *S. × ajanhuiri*.

2.2 Материал для *in silico* анализа R-генов в образцах ПКВ картофеля

Для поиска и *in silico* анализа гомологов R-генов у образцов ПКВ картофеля были использованы: последовательность референсного генома картофеля DM1-3 v4.3 (PGSC, 2011), данные коротких прочтений (SRA-данные (sequence raw archive) — архивированные сырые данные секвенирования), полученные в результате полногеномного секвенирования в проекте PRJNA394943 (Li et al., 2018), а также сборки геномов из проекта PRJCA006011 (Tang et al., 2022) для образцов ПКВ: *S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. goniocalyx* (таблица 5).

Таблица 5 – Полногеномные последовательности и SRA-данные, взятые в анализ

Вид	Обозначение	Количество образцов	
		SRA-данные	Сборки генома
<i>S. phureja</i>	phu	9	DM1-3; PG6169; PG6225
<i>S. stenotomum</i>	stn	8	PG6029; PG6055
<i>S. goniocalyx</i>	gon	4	PG6148

Примечание: Идентификационные номера сборок геномов даны согласно источнику (Tang et al., 2022). Полное описание материалов *in silico* анализа представлено в Приложении 1.

В качестве объектов для анализа были взяты 26 R-генов (Приложение 2), референсные последовательности которых представлены в базе данных NCBI. Эти последовательности были выделены из образцов диких и культурных видов картофеля, а также американского черного паслена *S. americanum* Mill.

Глава 3. Методы исследования

Фенотипическое изучение образцов ПКВ картофеля проведено по морфологическим признакам и урожайности. Проведено фитопатологическое изучение – диагностика поражаемости болезнями и оценка образцов ПКВ на устойчивость к фитофторозу и ЗКН на естественном инфекционном фоне и при искусственном заражении. Для поиска и характеристики *R*-генов у образцов ПКВ картофеля использован маркерный анализ с использованием ПЦР-маркеров, секвенирование по Сэнгеру, методы биоинформатического анализа данных. Статистическая обработка полученных результатов и визуализация производилась с использованием языков программирования Python 3.7 и R 4.3.0

3.1 Оценка по морфологическим признакам и продуктивности

В 2019-2020 гг. произведены ботанические описания образцов клоновой коллекции ПКВ картофеля по 65 признакам (Приложение 3), сформированным на основе литературных данных о морфологических признаках и их вариабельности у ПКВ картофеля (Горбатенко, 2006; Лехнович, 1971; Hawkes, 1980; Ochoa et al., 1990; Ovchinnikova, 2011). Признаки надземных (вегетативных и генеративных) органов растений описаны в фазе G1 (первый генеративный период развития), клубни – при сборе урожая. Учёт поражаемости различными заболеваниями на естественном инфекционном фоне проведен в 2020–2022 годах по методике ВИР (Киру и др., 2010). При уборке урожая у каждого клона произведён учет количества клубней и веса клубней в 2–4 повторностях.

В 2022 году проведены ботанические описания растений из гибридных популяций (первая клубневая репродукция). Оценка популяций на полевую устойчивость к фитофторозу проведена в 2021–2022 гг.

3.2 Оценка устойчивости ПКВ картофеля к фитофторозу полевым и лабораторным методом

Полевая оценка клоновой коллекции ПКВ картофеля на устойчивость к фитофторозу (возбудитель *P. infestans*) проводилась в течение трёх лет (2020–2022 гг.) в динамике по шкале 1–9, где 9 – отсутствие поражения. Учет поражения фитофторозом начинался от даты поражения восприимчивого стандарта (сорт Early Rose к-22144). Учет полевой устойчивости производился с периодичностью в 2-3 дня вплоть до поражения 50% листовой поверхности образца или естественного старения листьев (Киру и др. 2010), соответственно дата итоговой оценки отличается у образцов с различной полевой устойчивостью или скоростью старения.

Лабораторная оценка устойчивости к фитофторозу проведена в лаборатории естественного иммунитета растений ВИЗР (руководитель О. С. Афанасенко). Растения выращивали в теплице в пластиковых сосудах объемом 500 см³. Для оценки взято по 5 долей листьев срединной формации от растений в возрасте более 60 дней после посадки в двукратной биологической повторности. Оценка на устойчивость к фитофторозу проведена по стандартной методике (Brylinska, Sliwka, 2017). Для заражения использовался инокулюм на основе изолята MP1841, полученного из Института селекции и акклиматизации растений, Млохов, Польша (IHAR-Mlochow). Изолят содержит все 11 генов вирулентности (1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11). Инокулюм выдерживался в течение 30 мин при температуре 10–12°C для стимуляции выхода зооспор. Концентрация спорангиев в инокулюме соответствовала 50000 ед/мл. Листья выкладывались на увлажненную фильтровальную бумагу абаксиальной стороной вниз, между центральной и боковыми жилками наносилось по 30 мкл инокулюма. Через сутки после инокуляции листья переворачивали абаксиальной стороной вверх. В течение всего периода заражения поддерживали температуру 16°C (Хютти и др, 2020). Степень поражения оценивалась на шести сутки после заражения по 9-балльной шкале (Vleeshouwers et al., 1999): образцы с оценкой от 1 до 3 баллов

(поражение более 25% площади поверхности зараженного листа) считались восприимчивыми (S) к фитофторозу, от 4 до 6 (от 5 до 25%) – среднеустойчивыми (MR), а от 7 до 9 (менее 5%) – устойчивыми (R). Опыт проводили в двукратной повторности и устойчивость оценивали по усредненным значениям в обеих повторностях. В качестве контролей использованы сорта Невский к-10736 (восприимчивый) и Сударыня к-12206 (устойчивый).

3.3 Оценка устойчивости ПКВ картофеля к золотистой картофельной нематодe

Оценку на устойчивость образцов картофеля к *G. rostochiensis* проводили в лаборатории естественного иммунитета растений ВИЗР (руководитель О. С. Афанасенко) по общепринятой методике (Яковлева, Долягин, 1993) с небольшими модификациями. Растения выращивали в пластиковых сосудах объемом 500 см³, наполовину наполненных почвой (по одному клубню в каждый горшок). В каждый горшок вносили суспензию инокулюма ЗКН в концентрации 3500 яиц и личинок на 100 см³ почвы из размноженной популяции, собранной в Ленинградской области и типированной до патотипа Ro1 (Limantseva et al., 2014). После инокуляции клубней дополнительно досыпали почву до верха горшка. Горшки оставляли в контролируемых условиях при температуре 22°C. За восприимчивый стандарт был принят сорт Невский к-10736, за устойчивый – сорт Red Scarlett к-12096. Образцы и сорта картофеля высаживали в трехкратной биологической повторности. Учет результатов заражения проводили через три месяца, достаточный период для развития цист ЗКН. Оценку результатов заражения проводили по числу образовавшихся цист на видимых участках корней на коме почвы. Отсутствие цист свидетельствовало о высокой устойчивости (NR). На некоторых образцах мы наблюдали образование меньших по размеру и более удлиненных пустых цист (1–5 штук), в связи с чем эти генотипы были оценены нами как среднеустойчивые (MR). Наличие цист (1 и более), заполненных яйцами и личинками, соответствовало восприимчивости (S). Отмирание всех растений образца менее чем через два месяца после заражения – предположительно

гипервосприимчивость (HS), но требует дополнительной проверки.

3.4 Диагностика мозаичных вирусов

Для исследования отобраны образцы клоновой коллекции ВИР, у которых при выращивании в открытом грунте в течение пяти и более лет видимые симптомы поражения вирусными заболеваниями не отмечены. Диагностика вирусов проведена методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA –enzyme-linked immunosorbent assay) «сэндвич-вариант» с использованием отечественной тест-системы производства НПО «БиоТехнологии» при Федеральном исследовательском центре картофеля имени А.Г. Лорха (Москва, Коренево) и зарубежной производства Bioreba AG (Швейцария). Каждый образец был представлен тремя – пятью растениями, у которых анализировали объединенную пробу, собирая листья со среднего яруса в стадии «бутонизация – начало цветения» растений. ИФА выполняли в двукратной повторности, результаты оценивали визуально, согласно рекомендациям производителя.

3.5 Молекулярно-генетический анализ

ДНК выделяли из молодых листьев с использованием модифицированной методики с использованием буфера для экстракции ЦТАБ (цетилтриметиламмония бромид) (Gavrilenko et al., 2013) в двух независимых повторностях (листья собраны в 2019 и 2020 годах, заморожены и хранились до выделения при -80°C).

На основании литературных данных о наличии гомологов генов устойчивости были выбраны SCAR-маркеры генов устойчивости к фитофторозу: *RB/Rpi-blb1*, *Rpi-blb2*, *R2-like* и *Rpi-vnt1.3*, а также маркеры для двух известных генов устойчивости к ЗКН (*H1*, *Gro1-4*).

На основании *in silico* анализа последовательность праймеров *Rpi-sto1-820*, *Rpi-blb1-890* и *Rpi-vnt1.3-611* была переработана с учётом замен, преобладающих среди исследованных ПКВ картофеля. Также были подобраны праймеры на другие участки гена *Rpi-vnt1.3*: на начало гена –маркер *Vnt-head-459* и на начало последовательности, кодирующей LRR-домен – маркер *Vnt-tail-897*. ПЦР

проводили с использованием Таq-полимеразы («Диалат», Москва). Условия для проведения реакций были взяты из статей, для модифицированных автором маркеров использовались условия аналогичные описанным в оригинальных статьях (таблица 6). Визуализацию производили в 1,5% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, и документировали в системе BioDocII (Biometra GmbH, Германия).

Таблица 6 – Маркеры и условия ПЦР для скрининга коллекции ПКВ картофеля

Ген	Маркер	Длина фр-та, н.	Домен белка	Последовательность праймеров	t°C отжига	Источник
<i>H1</i>	57R	452	H.o.	F: tgcctgcctctccgatttct R: gggtcagcaaaagcaaggacgtg	62	Schultz et al., 2012
	TG689	141	H.o.	F-taaaactcttggtatagcctat R-caatagaatgtgttgtttcaccaa	55	Milczarek et al., 2011
<i>Gro1-4</i>	Gro1-4	602	LRR-C-JID	F-tctttggagatactgattctca R-cgacctaaaatgaaaagcatct	58	Gebhardt et al., 2006
<i>Rpi-blb2</i>	Rpi-blb2	976	LRR	F-ggactgggtaacgacaatcc R-atattatggctgcagaggacc	55	Wang et al., 2008
<i>R2-like</i>	R2-area 1/2	1137	NBS-LRR	F-aagatcaagtggtaaaggctgatg R-atctttctagcttccaaagatcacg	60	Lenman et al., 2016
<i>RB-Rpi-blb1</i>	Rpi-sto1	890	CC	F-accaaggccacaagattctc R-cctgcgggttcggtaataca	65	Haesaert et al., 2015
	Rpi-sto1-m	890	CC	F: ac T aaggccaca C gattctc R: c T g T gggtc A gttaataca	62	Модифицирован автором*
	Rpi-blb1	820	LRR	F-aacctgtatggcagtgatg R-gtcagaaaagggcactcgtg	62	Wang et al., 2008
	Rpi-blb1-m	820	LRR	F: aacctgt C tggca A tggcatg R: gtc G gaa T agggcactcgtg	60	Модифицирован автором*
<i>Rpi-vnt1.3</i>	Rpi-vnt1.3	612	CC-NBS	F-ccttctctatcctcacatttag R-gcatgccaaactattgaaacaac	58	Pel, 2009
	Rpi-vnt1.3-m	612	CC-NBS	F: cctt G ct C atcctcacatttag R: gcatgccaaactattgaaacaac	60	Модифицирован автором*

Vnt-head	459	CC	F: tgtttacaagacttgggcccgtt R: tccatagcaaactcatcggca	60	Разработан автором
Vnt-tail	897	NBS-LRR	F: aggctgaaagtttggcggag/t R: gcattgctgagaaaccaacca	60	Разработан автором

Примечание: н.о. не определен, последовательность и структура гена *H1* не известна, и маркеры разработанные на него сцепленные, а не внутригенные, *модифицированные маркеры – это маркеры, праймеры для которых взяты из литературных источников, но последовательность переработана исходя из *in silico* анализа в соответствии с частотными заменами у ПКВ картофеля (изменённые нуклеотиды выделены).

Для секвенирования ампликоны очищали с использованием набора CleanUp Standart, производили лигирование в pAL-TA вектор (по протоколу, предлагаемому фирмой-распространителем Eurogen), а после трансформировали штамм DH5α *E. coli* (Алпатьева и др., 2019). Секвенирование проведено с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ на приборе ABI 3500xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).

Рестриктазы определены на основании секвенированных последовательностей маркерных фрагментов Rpi-vnt1.3-611 и Vnt-tail-897 (таблица 7). Сайты рестрикции отличались у контрастных по устойчивости к фитофторозу растений *S. stenotomum* к-9301, клон 276 и к-11020, клон 283.

Таблица 7 – Используемые для разработки CAPS-маркеров ферменты рестрикции

Маркерный фрагмент	Рестриктаза	Сайт рестрикции	t °C
Rpi-vnt1.3-612	AscI	GG [^] CGCG [^] CC	50
Rpi-vnt1.3-612	HaeIII	GG [^] CC	37
Vnt-tail-897	RsaI	GT [^] AC	37
Vnt-tail-897	Tru9 I	T [^] TA [^] A	65

После проведения ПЦР составляли реакционную смесь из воды, буфера для рестрикции, рестриктазы и продуктов амплификации в соотношении, рекомендованном производителем (SibEnzyme), смесь в течение 16 часов

выдерживалась при температуре, рекомендованной производителем. Результаты визуализировали в 3-процентном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, и документировали в системе BioDocII (Biometra GmbH, Германия).

3.6 In silico поиск и анализ полиморфизма R-генов у образцов ПКВ картофеля из открытых баз данных

In silico анализ проведён с использованием стандартных программ и подходов для исследования полиморфизма в полногеномных данных коротких прочтений с учётом наличия референсных последовательностей. А именно выравнивание, фильтрация, поиск и анализ вариантов. Для поиска гомологов в сборках геномов также применён общепринятый метод, а для анализа полиморфизма выполнено локальное выравнивание при помощи одного из классических алгоритмов.

3.6.1 Поиск в сырых данных полногеномного секвенирования

Для сырых данных полногеномного секвенирования (SRA) проведена оценка качества выравнивания (FASTQC v0.11.9) (Wingett, Andrews, 2018). С использованием Trimmomatic 0.39 проведена фильтрация низкокачественных прочтений (Bolger et al., 2014), включающая удаление ПЦР-дубликатов и прочтений, у которых или качество прочтения (Phred Score) более 20% нуклеотидов было ниже 5, или более 10% нуклеотидов не установлено (данные параметры взяты из оригинальной статьи Li et al., 2018).

Выравнивание прочтений каждого образца на референсные последовательности R-генов проведено с использованием алгоритма локального множественного выравнивания программы bowtie2 v2.3.5.1 (Langmead, Salzberg, 2012). Результаты выравнивания подвергнуты обработке при помощи программ samtools 1.10 и bedtools 2.30.0, эти же программы использовались для оценки достаточности и однородности покрытия генов (Quinlan, Hall, 2010). Для поиска вариантов использован VarScan 2.4.4. с параметром минимального покрытия равным 5 (Koboldt et al., 2009).

3.6.2 Поиск в полногеномных сборках ПКВ картофеля

Проведена проверка наличия последовательностей *R*-генов в нескольких сборках геномов ПКВ картофеля из проекта PRJCA006011 (Tang et al., 2022) и референсном геноме картофеля DM1-3 516 R44 v4.3 (далее DM1-3) (PGSC, 2011) при помощи локального алгоритма BLAST 2.5.0+ (Ladunga et al., 2017). Отобраны последовательности, с покрытием и сходством не менее 80% референса (референсом выступали полные последовательности *R*-генов или отдельные участки последовательности гена – UTR, экзоны, интроны). В дальнейшем из референса по координатам, полученным с помощью локального BLAST 2.5.0+ алгоритма, отобраны последовательности, соответствующие по длине полным последовательностям референсных генов. Далее при помощи локального выравнивания ClustalW выделены последовательности с полностью представленной кодирующей областью гена.

Для всех генов, кроме *Gro1-4*, получено выравнивание полной последовательности. В последовательности *Gro1-4* представлен крупный (более 5 тысяч п.н.) интрон, сильные отличия в котором препятствуют проведению локального выравнивания, и исследование производилось по двум участкам: экзон 1 и экзоны 2–5. (см раздел 4.4.3).

3.6.3 Анализ полиморфизма гомологов *R*-генов у ПКВ картофеля

Локальное выравнивание для каждого гена выполнено с использованием алгоритма ClustalW в программе MegaX (Kumar et al., 2018). Исследованы замены, инсерции и делеции, а также их возможное влияние на аминокислотную последовательность. Для вычисления доменной организации и ключевых позиций в аминокислотных последовательностях *R*-генов использован алгоритм InterPro (Paysan-Lafosse et al., 2023). В сборках для многих генов были обнаружены многочисленные копии и исследована каждая копия, но в дальнейшем анализе использованы только наиболее схожие из тех, что производили полноценную аминокислотную последовательность.

Глава 4. Результаты и обсуждение

4.1 Морфологическое разнообразие ПКВ картофеля из коллекции ВИР

Коллекция примитивных культурных видов картофеля ВИР содержит более 500 образцов, из них от 200 до 300 ежегодно поддерживаются как клоновые растения в НПБ Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР. В 2019–2020 гг. проведен учет морфологических признаков надземных органов и клубней у растений клоновой коллекции (65 признаков). Составлены ботанические описания для 84 клонов. Образцы *S. stenotomum* и *S. × ajanhuiri*, послужившие родительскими формами для гибридных популяций (см раздел 4.5), также обследованы повторно в 2022 году.

Для фенотипирования и молекулярно-генетического анализа выбраны образцы четырёх диплоидных видов (*S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. goniocalyx* и *S. × ajanhuiri*), соответствующие видовым описаниям, без ярко выраженных признаков вирусных инфекций и устойчиво образующих клубни в течение нескольких лет.

По большинству признаков, кроме видовых характеристик, наблюдается значительное варьирование, связанное с высоким уровнем полиморфизма среди ПКВ картофеля (рисунок 3), который отмечали многие авторы (Букасов 1970; Горбатенко, 2006; Hawkes, 1994; Machida-Hirano, 2015). Наибольший вклад в варьирование вносят такие показатели как размеры листовой пластинки, расположение наиболее широкой части листа, размер лепестков, число долей и число и расположение долек. Многие из этих признаков напрямую связаны с видовыми отличиями, но их варьирование в пределах вида также высоко.

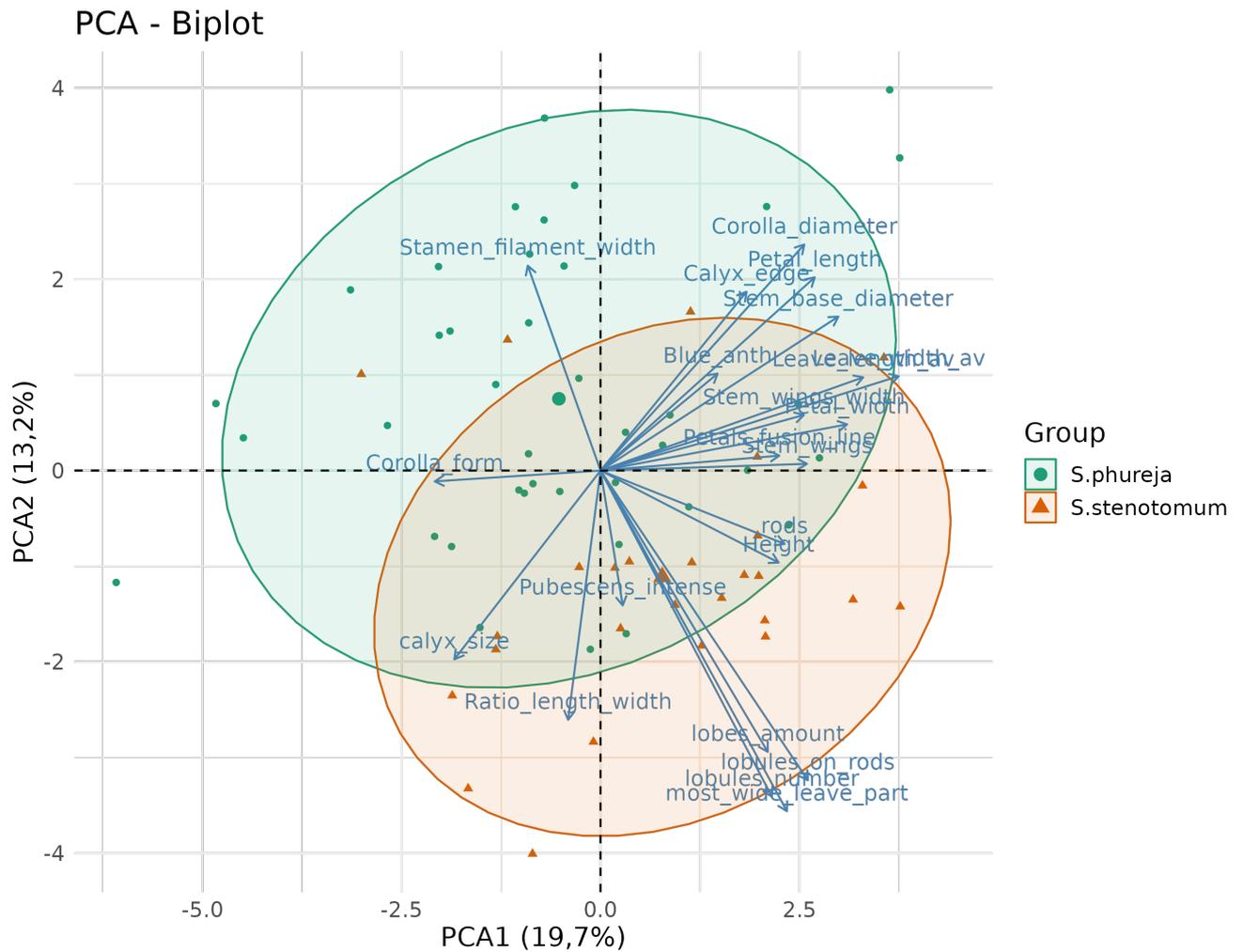


Рисунок 3 – Анализ главных компонент по морфологическим данным двух видов *S. phureja* и *S. stenotomum*. Использованы 22 признака: Height — Высота растения; Stem_base_diameter — диаметр основания стебля; Stem_wings — крылатость стебля; Pubescens intense — интенсивность опушения стебля; Leaf_length_av — средняя длина листа; Leaf_width_av — средняя ширина листа; lobes_amount — количество пар долей; Ratio_length_width — отношение длины доли к её ширине (форма доли листа); rods — наличие стерженьков; lobules_on_rods — набегание долек на стерженьки; lobules_number — количество долек в серии; most_wide_leave_part — наиболее широкая часть листа (характеристика формы листа); calyx_size — размер чашечки; Calyx_edge — гранённость чашечки; Corolla_diameter — диаметр венчика; Blue_anth — наличие синего антоциана в окраске венчика (характеристика окраски венчика); Corolla_form — форма венчика (пентагональная/колесовидная/промежуточная); Petals_fusion_line —

длина линии спайки относительно длины лепестков; *Petal_length* — длина лепестков; *Petal_width* — ширина лепестков; *Stamen_filament_width* — ширина тычиночных нитей.

На основании изучения характеристик клубней выделены образцы с потенциально интересными для селекции признаками, которые требуют дальнейшего изучения. Интерес представляет изучение генетического контроля цвета мякоти клубня, признака, который может быть связан с ценными биохимическими показателями: повышенным содержанием витамина С, фолиевой кислоты и белка (Robinson et al., 2015; de Haan et al., 2019; Calliope et al., 2018), возможно повышенное содержание антоцианов в клубнях с окрашенной мякотью, что представляет актуальное направление в современной селекции картофеля (Khoo et al., 2017; Strygina et al., 2019, Rasheed et al., 2022) (рисунок 4).



Рисунок 4 – Разнообразие окраски мякоти образцов ПКВ картофеля в коллекции ВИР. Оригинальное изображение, 2023 год

Образцы различаются между собой и по другим характеристикам: урожайности, числу клубней, полевой и лабораторной устойчивости к фитофторозу и другим заболеваниям. Выделены образцы, которые в течение трёх лет исследований демонстрировали такой показатель, как многоклубнёвость (рисунок 5). Выделено 9 потенциально ценных по данному показателю генотипов – шесть *S. phureja* (к-2892, к-8210, к-8362, к-8497, к-19946, к-22245), два *S. stenotomum* (к-7086, к-19189) и один *S. goniocalyx* (к-8509).

По сравнению с количеством клубней, вес клубней одного растения в большей степени варьировал от условий (рисунок 5). Стандартное отклонение в среднем составляло более половины веса клубней с лунки при сравнении одного и того же генотипа в течение трёх лет. Выделены образцы со стабильной урожайностью, менее чувствительные к действию абиотических факторов. Два образца *S. stenotomum* (к-11020 вес $353,78 \pm 77,12$ г и к-14828 вес $687,22 \pm 194,11$ г) характеризуются стабильно высоким для ПКВ картофеля весом клубней. Другие образцы, хотя варьирование урожайности было меньше и составляло менее 30%, обладают низкой урожайностью, характерной для большинства ПКВ картофеля. Тем не менее, ещё два образца *S. stenotomum* (к-12778 и к-16596) продемонстрировали меньшую зависимость урожайности от абиотических факторов и могут быть интересны для исследований в этом направлении.

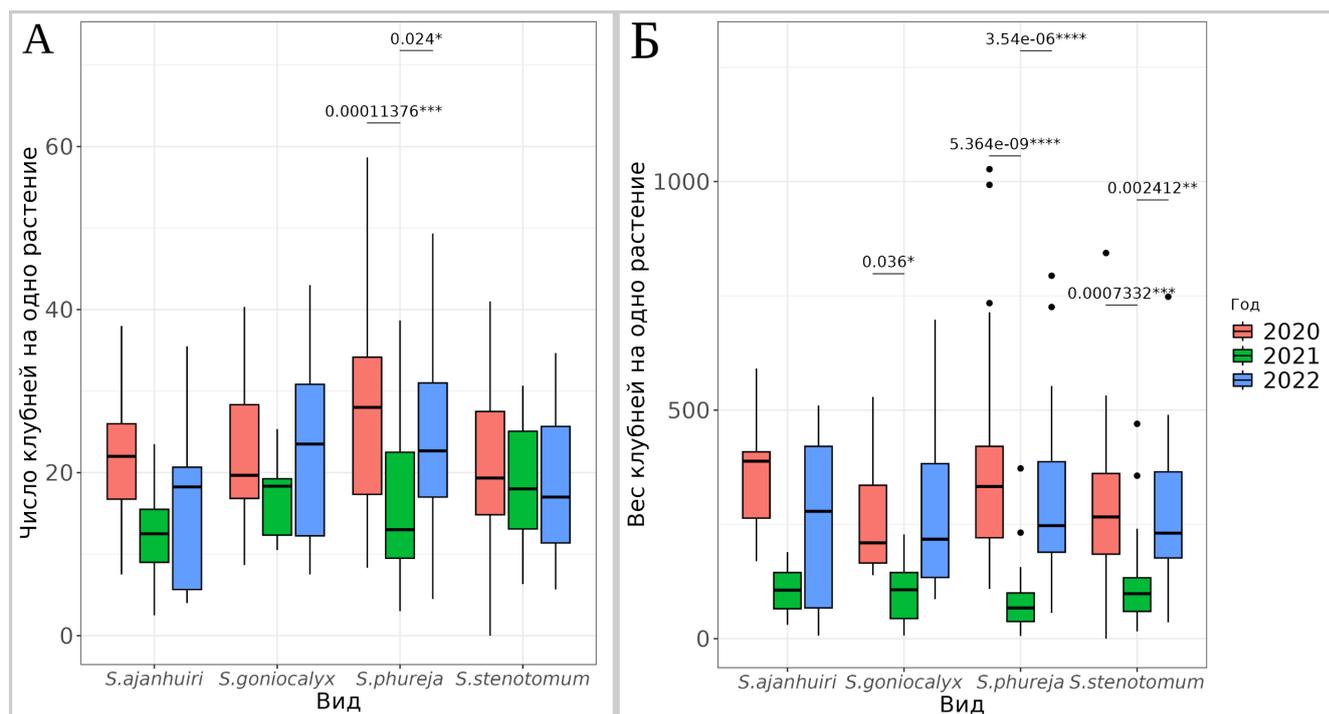


Рисунок 5 – Показатели урожайности (А - число и Б — вес клубней) у образцов ПКВ картофеля (n=84) из коллекции ВИР. Обозначены значения p-level для групп, которые согласно t-критерию с поправкой Бонферрони на множественные сравнения имеют достоверные отличия (p_level <0.05)

Их дальнейшее изучение в разных условиях может быть перспективным для изучения генетики толерантности к абиотическим стрессам, и для селекции на адаптивность.

Исследование морфологических признаков образцов ПКВ из клоновой коллекции ВИР стало основой для формирования выборки для генетического изучения. В выборку включены только образцы, соответствующие видовым описаниям, без явных признаков вирусных заболеваний и устойчиво образующие клубни, что позволило предполагать их сохранность в виде клонов на время исследований.

4.2 Иммунологическая характеристика и скрининг ПКВ картофеля в коллекции ВИР на наличие маркеров R-генов

Фитопатологическая оценка выборки образцов является важнейшим этапом исследований, посвященных изучению генетического контроля устойчивости. Полевая и лабораторная оценки устойчивости позволили выделить контрастные по устойчивости к фитофторозу образцы для анализа связи полиморфизма последовательностей с устойчивостью и создания гибридных популяций. Анализ распространённости вирусных заболеваний позволяет выделить основные закономерности и предположить наличие и высокую встречаемость генов устойчивости к вирусу X среди ПКВ картофеля.

4.2.1 Разнообразие по поражению фитофторозом

Полевая оценка клоновой коллекции картофеля на устойчивость к фитофторозу в условиях естественного инфекционного фона проводилась в 2020–2022 годах. В связи с различиями погодных условий в разные годы оценки, показатели варьировали. В частности, в 2021 году были благоприятные условия для развития альтернариоза, и многие образцы, которые в другие годы были отмечены как устойчивые, оказались сильно поражены в результате совместного течения инфекций. К тому же на поздних стадиях симптомы поражения этими заболеваниями чрезвычайно похожи и невозможно отследить какая именно

инфекция привела к отмиранию ботвы, что приводит к искажению результатов.

В 2022 году медленное развитие инфекции позволило проследить динамику поражения ПКВ картофеля *P. infestans* (рисунок 6). Наблюдения проводились с 9 по 22 августа. Среди образцов *S. phureja* и *S. stenotomum* были обнаружены образцы с поражаемостью на конец исследований на уровне устойчивого контроля. Образцы *S. phureja* (к-16529, к-8873) и *S. stenotomum* (к-9301, к-10478) и в другие годы наблюдения демонстрировали довольно высокий уровень устойчивости.

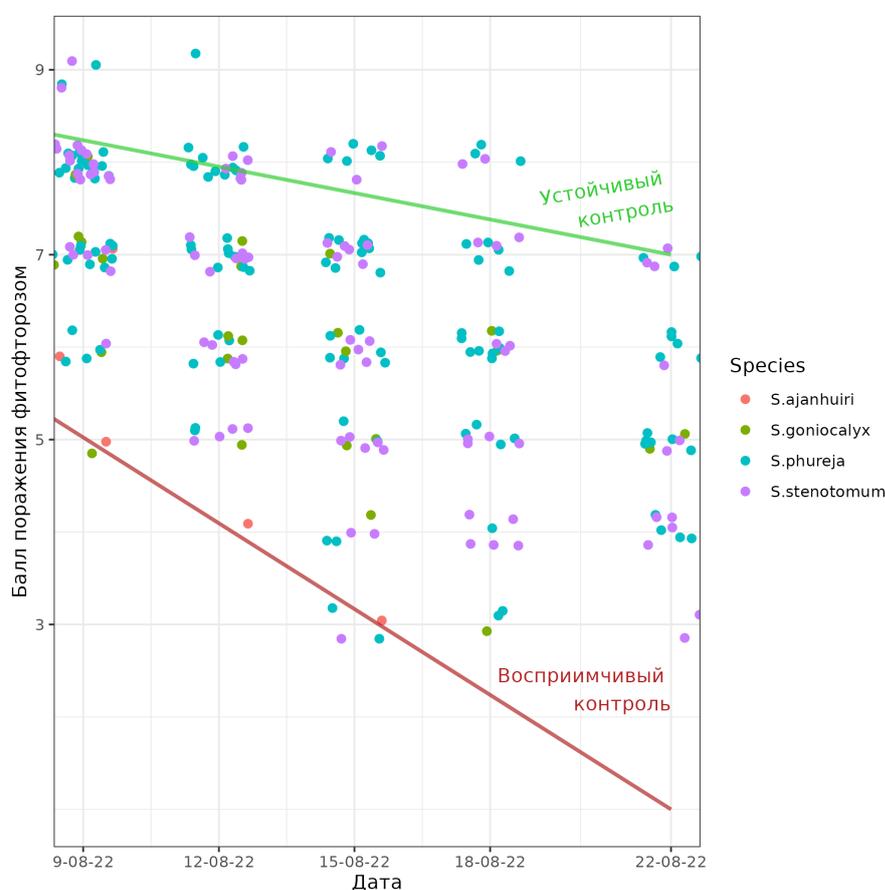


Рисунок 6 – Динамика поражения ПКВ картофеля фитофторозом в 2022 году. Устойчивый контроль – сорт Наяда к-12157. Восприимчивый – Удача к-11900

Для более точного определения уровня устойчивости к фитофторозу была проведена лабораторная оценка 60 образцов (64 генотипов). Среди всех исследованных видов выделены устойчивые/среднеустойчивые генотипы. Образец к-9922 *S. goniocalyx* среднеустойчив, остальные образцы этого вида

восприимчивы к фитофторозу. В образцах остальных трёх исследованных видов были выявлены все варианты фенотипов по устойчивости к фитофторозу. Два генотипа одного образца *S. × ajanhuiri* к-9911 оказались контрастными по устойчивости, а еще один исследованный образец *S. × ajanhuiri* к-9900 – среднеустойчив. Среди образцов *S. stenotomum* выявлен один устойчивый (к-11020) и три среднеустойчивых (к-8354, к-9278, к-17486). Семь образцов *S. phureja* продемонстрировали различную степень устойчивости: два устойчивых (к-8873 и к-17618) и пять среднеустойчивых (к-9345, к-11547, к-16896, к-19321, к-23516). Таким образом, среди 64 исследованных генотипов выявлено 14 с разной степенью устойчивости, что соответствует данным других авторов о встречаемости устойчивых генотипов среди ПКВ картофеля (Gabriel et al., 2013).

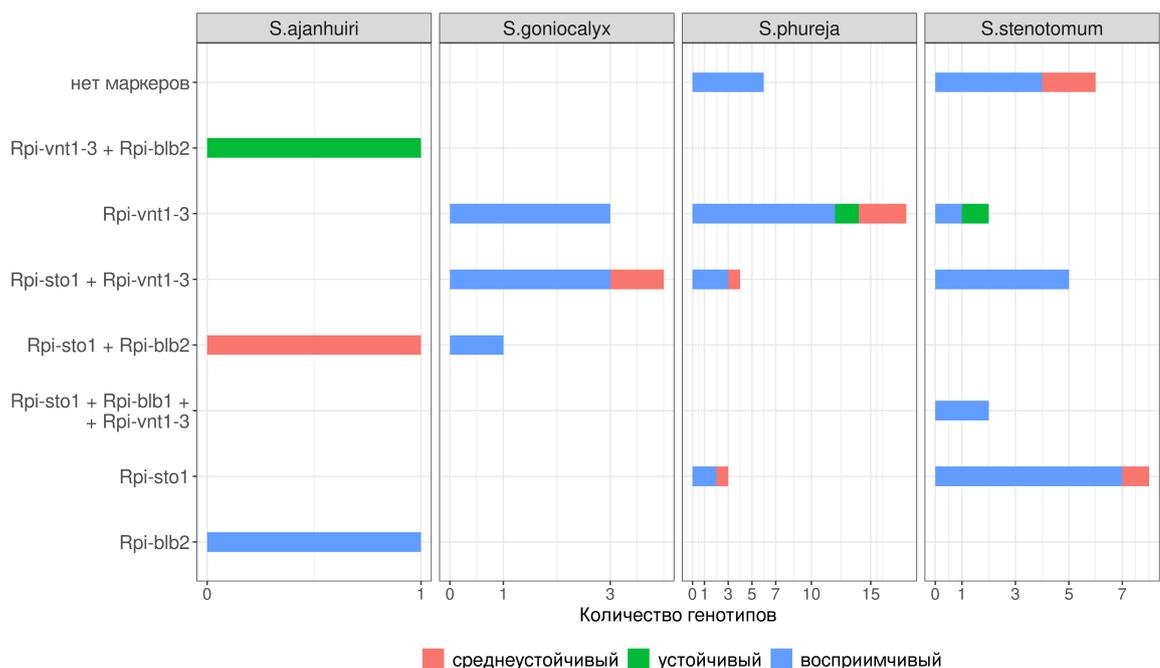


Рисунок 7 – Распределение SCAR-маркеров *Rpi*-генов среди образцов ПКВ картофеля, различающихся по устойчивости к фитофторозу.

Согласно литературным данным у ПКВ картофеля (в референсном геноме картофеля) ранее были обнаружены последовательности, гомологичные генам *R2* (*R2-like*), *RB-Rpi-blb1*, *Rpi-blb2*, *Rpi-vnt1*. Более того *Rpi-vnt1* считается близким гомологом гена *Rpi-phu1*, гена устойчивости, найденного у *S. phureja* (Sliwka et al., 2006; Foster et al., 2009). Соответственно для скрининга коллекции были выбраны

SCAR-маркеры, разработанные для этих генов: R2-area ½, Rpi-vnt1.3-618, Rpi-blb2, Rpi-sto1-890, Rpi-blb1-821. При первичном скрининге мы не обнаружили никакой связи между наличием маркеров и устойчивостью к фитофторозу (рисунок 7).

Ни в одном образце не найдено маркерного фрагмента гена *R2-like*, а маркер гена *Rpi-blb2* обнаружен во всех образцах *S. × ajanhuiri* и в одном восприимчивом образце *S. goniocalyx* (к-8509). Два маркера гена *RB-Rpi-blb1* оказались распределены неравномерно: Rpi-sto1-890 встречался намного чаще, по сравнению со вторым маркерным фрагментом на этот ген. Маркерный фрагмент Rpi-vnt1.3-618 был найден в большинстве образцов, в том числе практически во всех устойчивых (кроме двух среднеустойчивых образцов *S. stenotomum*). В связи с отсутствием корреляции между наличием какого-либо маркера и устойчивостью у контрастных по устойчивости образцов из коллекции ВИР были секвенированы маркерные фрагменты генов *RB-Rpi-blb1* и *Rpi-vnt1.3* (см разделы 4.4.1 и 4.4.2).

4.2.2 Разнообразие по поражению золотистой картофельной нематодой

При лабораторном заражении золотистой картофельной нематодой (ЗКН) из 64 генотипов, представляющих 60 образцов ПКВ картофеля, 46 генотипов оказались восприимчивыми, и число цист, сформированных после заражения, было сравнимо или немного меньше по сравнению с восприимчивым контролем (сорт Невский к-10736). Растения десяти генотипов (трёх видов) во всех повторностях погибли менее чем через месяц после заражения, что свидетельствует об их гипервосприимчивости. Также восемь генотипов имели различную степень устойчивости (устойчивые и среднеустойчивые в равном количестве). Все изученные образцы *S. × ajanhuiri* оказались поражаемыми ЗКН, среди образцов *S. stenotomum* были выделены четыре гипервосприимчивых образца, реакция которых требует дальнейшего анализа (к-7048, к-9306, к-12779, к-14790–287), устойчивых генотипов этого вида обнаружено не было. Среди образцов *S. goniocalyx* и *S. phureja* были представлены все варианты реакций на

поражение ЗКН – от гипервосприимчивости до устойчивости. Два генотипа *S. gonio calyx* (образец к-11080) оказались контрастными по устойчивости к ЗКН: один генотип гипервосприимчивый, другой устойчивый. Этот образец чрезвычайно перспективен для дальнейших исследований, поскольку гипервосприимчивость может являться чрезмерной реакцией на присутствие патогена, и соответственно в двух генетически близких генотипах происходит распознавание патогена. Но для понимания механизма распознавания и поиска гена, отвечающего за иммунный ответ, требуются дальнейшие исследования. Среди образцов *S. phureja* у трёх выявлен гипервосприимчивый ответ на присутствие ЗКН (к-21569, к-22210, к-23541). В общей сложности семь образцов обладали устойчивостью, из них четыре – среднеустойчивые (к-8210, к-8497, к-8940, к-24326) и три устойчивые (к-9402, к-17462, к-19198). Таким образом, среди ПКВ картофеля из коллекции ВИР выделены образцы, демонстрирующие все возможные варианты реакции на заражение золотистой картофельной нематодой.

У картофеля известно несколько генов устойчивости к ЗКН, в первую очередь это ген *H1*, интрогрессированный из другого вида культурного картофеля *S. andigenum* (Bakker et al., 2004), и ген *Gro1-4*, полученный от южноамериканского дикого вида *S. spagazzinii* (Paal et al., 2004). Последовательность гена *H1* до сих пор не известна, и есть несколько возможных кандидатов, но разработана серия позиционных маркеров для дистального конца длинного плеча хромосомы V (Gebhardt et al., 1993), позволяющих определить наличие фрагмента, содержащего этот ген у сортов картофеля. В данном исследовании мы использовали два маркера этого гена: 57R и TG689 (Shultz et al., 2012). Последовательность гена *Gro1-4* изучена и известно целое семейство паралогов гена *Gro1* (от *Gro1-1* до *Gro1-14*) (Paal et al., 2004). Это один из немногих генов устойчивости картофеля, принадлежащий к группе *TNL*-генов. Маркер *Gro1-4-602* локализован в доменах LRR и C-JID этого гена. Маркер 57R был найден во всех образцах ПКВ картофеля. Маркеры TG689 и *Gro1-4-602* найдены в 50,67% и 57,33% выборки, соответственно. Связи между присутствием

какого-либо из маркеров и устойчивостью не обнаружено. В одном гипервосприимчивом (*S. phureja* к-21569) и одном среднеустойчивом (*S. phureja* к-8497) образцах не найдено маркерных фрагментов TG689 и Gro1-4. Таким образом, определить наличие связи между маркером одного из генов и устойчивостью у ПКВ картофеля не удалось. Поскольку последовательность гена *H1* не известна, в дальнейшем нами более детально исследована у ПКВ картофеля только последовательность маркерного фрагмента гена *Gro1-4* (см раздел 4.4.3).

4.2.3 Разнообразие по поражению вирусными заболеваниями

В 2022 году был проведён скрининг всех групп генофонда коллекции ВИР, включая 110 образцов (114 генотипов) ПКВ картофеля на наличие вирусов Y, X, S и M с использованием ИФА (рисунок 8). В полевом генбанке ВИР высокий естественный инфекционный фон, связанный с многолетним возделыванием на территории Пушкинских лабораторий различных по устойчивости представителей генофонда картофеля. Скрининг на наличие вирусов образцов клоновой коллекции в течение нескольких лет, поддерживаемых в этих условиях, является первым шагом в определении устойчивых образцов. Среди ПКВ картофеля обнаружен только один безвирусный образец *S. goniocalyx* (к-9922).

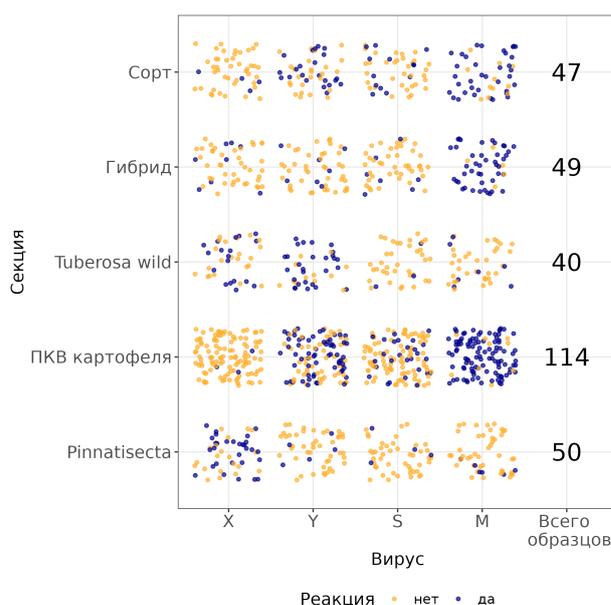


Рисунок 8 – Поражение мозаичными вирусами представителей разных групп генофонда картофеля: новые сорта российской селекции, межвидовые гибриды из

коллекции ВИР, *Tuberosa* (wild) - южноамериканские дикие виды (Hawkes, 1990), ПКВ, *Pinnatisecta* (Rydb.) Hawkes - североамериканские дикие виды.

Можно отметить, что при сравнении культурных и диких видов, есть определённые отличия в частотах образцов с X, Y и M вирусами. Среди диких видов картофеля вирус X более распространён (59 образцов из 105), но во всех группах культурного генофонда (ПКВ картофеля, сорта, гибриды) он практически не встречается. Среди ПКВ картофеля вирус X обнаружен в шести образцах в составе смешанной инфекции (рисунок 9). Наиболее распространённый среди ПКВ картофеля вирус M – он обнаружен в 104 генотипах из 114 (91,23%), часто встречается совместно с вирусом Y (45 случаев). Что интересно, в серии *Tuberosa* Hawkes (наиболее близкие к культурному картофелю дикие виды) вирус M имеет намного меньшее распространение, он не встречается без других вирусов, но несколько раз зарегистрирован в составе совместной инфекции (Рогозина, Гурина, 2023).

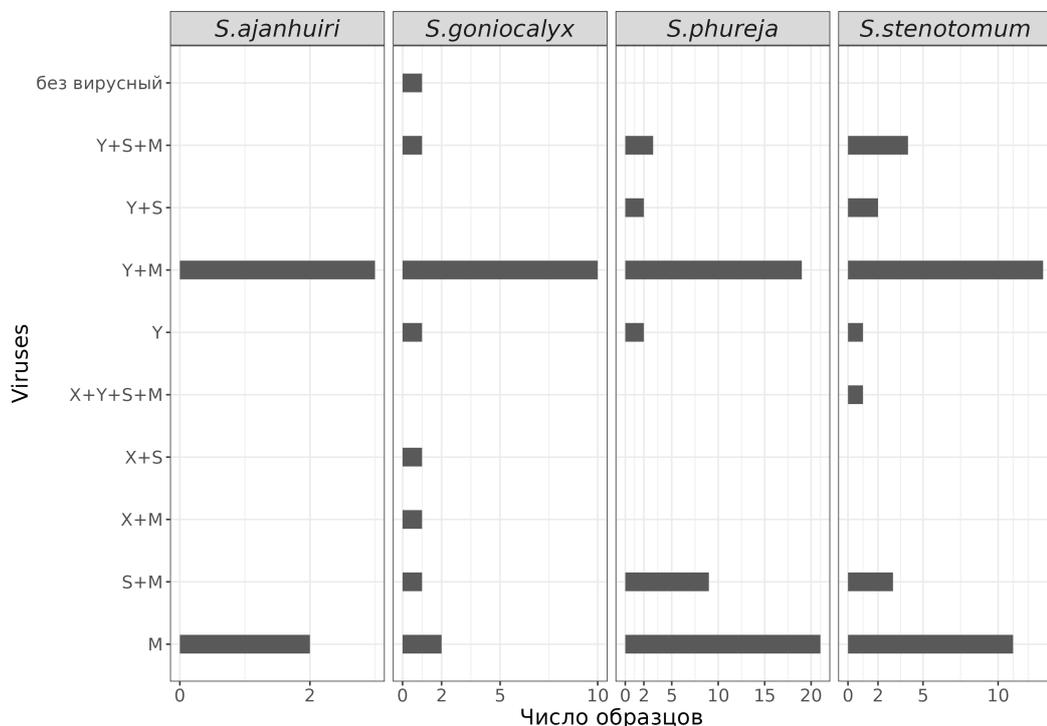


Рисунок 9 – Моно- и смешанная инфекция мозаичными вирусами среди образцов ПКВ картофеля

4.2.4 Разнообразие по поражению альтернариозом

Жаркие и засушливые условия первой половины лета 2021 года привели к развитию эпифитотии альтернариоза. Это позволило оценить степень полевой устойчивости образцов клоновой коллекции ПКВ картофеля при повышенном естественном инфекционном фоне. Около 30% образцов выборки имели поражение менее 7 баллов (по девятибалльной шкале, где 9 – не поражено, а 1 – поражено полностью). На 20,29% выборки были обнаружены единичные поражения и некрозы, но дальнейшего развития заболевания не зарегистрировано. Это может свидетельствовать о потенциальной устойчивости образцов к данному заболеванию, но поскольку дополнительных исследований не проводилось, выделить определённые источники не представляется возможным. Отмечены сильно восприимчивые к альтернариозу образцы, в том числе *S. × ajanhuiri* к-9911, два генотипа которого послужили родительскими формами для создания популяций.

4.3 In silico анализ полиморфизма R-генов у ПКВ картофеля

4.3.1 Гомологи R-генов у ПКВ картофеля

В данных полногеномного секвенирования и сборках геномов ПКВ картофеля (*S. goniocalyx*, *S. stenotomum*, *S. phureja*) идентифицированы гомологи всех 26 исследованных R-генов (Приложение 2) и выявлено их значительное сходство (более 80%) в кодирующих областях. Среди анализируемых генов большинство контролируют устойчивость к фитофторозу (19 из 26), также исследованы два гена устойчивости к вертициллёзному увяданию (*Ve1*, *Ve2*), по одному гену устойчивости к золотистой (*Gro1-4*) и бледной (*Gpa2*) картофельным нематодам, ген устойчивости к вирусу X (*Rx1*) и два гена, природа устойчивости которых пока не известна (*PSH-RGH6* и *Tm2-ToMV*). Изученные гены секвенированы у представителей разных видов рода *Solanum*: культурного

картофеля, южноамериканских и североамериканских диких видов и паслёна *S. americanum*.

Некодирующие последовательности (UTR, интроны), в большинстве гомологов у ПКВ картофеля сильнее отличаются от референсных и сходство, как правило, не превышает 60%. Многие из референсных последовательностей получены из далёких от ПКВ картофеля видов. Так последовательность гена *Rpi-amr3* изолирована из паслёна *S. americanum*, а *Rpi-blb2* – из *S. bulbocastanum* (представителя североамериканских диких видов картофеля). Ни один из них напрямую не скрещивается с культурными видами картофеля и обнаружение гомологов *R*-генов с довольно высоким уровнем сходства у ПКВ представляет интерес с точки зрения особенностей эволюции этих генов. В более ранних работах, посвященных биоинформатическому поиску *R*-генов в референсном геноме картофеля (Lozano et al., 2012; Jure et al., 2012) и в геноме одного из секвенированных образцов *S. goniocalyx* (Liu, 2020), были получены первые представления о наличии гомологов известных *R*-генов в геномах ПКВ картофеля. Во всех этих исследованиях были обнаружены гомологи таких генов, как *R2*, *Rpi-blb1*, *Rpi-vnt1*, что и обусловило выбор SCAR-маркеров для скрининга коллекции ВИР на наличие маркерных фрагментов этих генов (см раздел 4.4). Гомологи генов *Rpi-ber1*, *Ve1*, *Ve2* и *Gro1-4* не были найдены (обладали недостаточной степенью сходства или не входили в анализ). А в сведениях о наличии у ПКВ картофеля гомологов генов *Gpa2*, *Rx1* и *R3b* были значительные противоречия, что могло быть связано, как с использованными методами, так и с изученным материалом. Так Ф. Жупе (F. Jure) (Jure et al., 2012) и Р. Лозано (R. Lozano) (Lozano et al., 2012) в референсном геноме картофеля DM1-3 находили гомологи гена *Rx1*, в то время как З. Лиу (Z. Liu) в своём исследовании на *S. goniocalyx* нашёл лишь небольшую часть этого гена (Liu, 2020). Вероятно, это обусловлено размером некодирующих последовательностей (UTR): лишь 2% длины гена, являются кодирующими и этот участок представлен у ПКВ картофеля в полной мере. Таким образом показано, что гомологи кодирующих последовательностей

всех 26 *R*-генов присутствуют и распространены среди представителей ПКВ картофеля.

Для более детального изучения выбраны 15 *R*-генов. С учетом опубликованных сведений о высокой степени сходства генов устойчивости картофеля в кластерах на IV, VIII и IX хромосомах, из каждого кластера выбран один референсный ген для анализа группы гомологов: *Rpi-R2-like* для группы гомологов *Rpi-R2*, *Rpi-R2-like*, *Rpi-abpt* и *Rpi-blb3*; *Rpi-sto1* для группы гомологов *Rpi-sto1*, *Rpi-blb1* и *Rpi-bt1*; и *Rpi-vnt1.3* среди разных аллельных вариантов гена *Rpi-vnt1*. Также из дальнейшего анализа исключены гены, при поиске которых были значительные расхождения при изучении сборок геномов и данных SRA (*Rpi-mos1*), а также гены, белок-кодирующие последовательности которых еще требуют уточнения (*Rpi-mch1*, *LCYB*).

Таким образом, анализ полиморфизма *R*-генов у ПКВ картофеля выполнен для генов двух семейств: два гена устойчивости к вертициллёзному увяданию *Ve1* и *Ve2* относятся к семейству *RLP/RLK* и 13 генов относятся к семейству *CNL*, обеспечивают устойчивость к фитофторозу: гены *Rpi-R1* (Ballvora et al., 2002), *Rpi-R2-like* (Lokossou et al., 2009), *Rpi-R3a* (Huang et al., 2005), *Rpi-R3b* (Li et al., 2011), *Rpi-sto1* (Vleeshouwers et al., 2008), *Rpi-blb2* (Vossen et al., 2005), *Rpi-vnt1.3* (Foster et al., 2009), *Rpi-ber1* (Monino-Lopez et al., 2021), *Rpi-R8* (Vossen et al., 2016) и *Rpi-amr3* (Witek et al., 2021); вирусу картофеля X – *Rx1* (Bendahmane et al., 1999); патотипу Pa2 бледной цистообразующей нематоды – *Gpa2* (Vossen et al., 2000) и вирусам мозаики томата и табака – *Tm2-ToMV*. Также частично анализ выполнен для гена устойчивости к ЗКН *Gro1-4*, относящегося к *TNL*, но он не был использован при сравнении особенностей полиморфизма разных генов в связи с особенностями его структуры (раздел 4.4.3).

4.3.2. Кластерная организация *R*-генов у ПКВ картофеля

Из литературных данных известно, что гены устойчивости часто организуются в геноме в виде кластеров, и в сборках ПКВ картофеля мы обнаружили разное количество копий, гомологичных *R*-генам (Таблица 8).

Для единственного гена *Rpi-R3a* в большинстве геномов обнаружена только одна гомологичная последовательность, то есть он в меньшей степени представлен в геномах ПКВ картофеля. Восемь генов из 15 исследованных – *Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb2*, *Rpi-ber1*, *Ve1*, *Ve2*, *Rx1*, *Gpa2* представлены в геномах ПКВ в количестве от одного до 10 паралогов. Количество гомологов генов из далёких от ПКВ картофеля источников *Rpi-amr3* и *Tm2-ToMV* превышает 10 паралогов в отдельных геномах.

Таблица 8 – Количество копий генов в сборках ПКВ картофеля с указанием числа копий, не содержащих преждевременных стоп-кодонов (в скобках)

Ген	Вид	DM1-3	PG6029	PG6225	PG6169	PG6148	PG6055
Вид		phu	stn	phu	phu	gon	stn
<i>Rpi-amr3</i>	<i>amr</i>	6 (1)	11 (3)	7 (6)	6 (2)	9 (6)	8 (4)
<i>Rpi-R1</i>	<i>dem</i>	3 (0)	8 (6)	7 (3)	4 (3)	7 (5)	9 (5)
<i>Rpi-R2-like</i>	<i>dem</i>	26 (7)	34 (22)	35 (21)	24 (17)	45 (26)	40 (23)
<i>Rpi-R3a</i>	<i>dem</i>	7 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
<i>Rpi-R3b</i>	<i>dem</i>	2 (0)	5 (1)	3 (2)	5 (2)	7 (6)	4 (2)
<i>Rpi-sto1</i>	<i>sto</i>	5 (3)	16 (12)	13 (8)	7 (5)	20 (13)	8 (6)
<i>Rpi-blb2</i>	<i>blb</i>	1 (0)	3 (1)	4 (4)	2 (2)	4 (3)	2 (1)
<i>Rpi-ber1</i>	<i>ber</i>	3 (1)	6 (1)	9 (2)	4 (1)	5 (1)	3 (1)
<i>Rpi-vnt1.3</i>	<i>vnt</i>	6 (5)	6 (6)	11 (6)	10 (9)	17 (12)	13 (7)
<i>Ve1</i>	<i>tbr</i>	3 (2)	4 (2)	6 (4)	7 (6)	5 (3)	5 (3)
<i>Ve2</i>	<i>tbr</i>	3 (1)	3 (2)	3 (1)	4 (1)	4 (1)	4 (1)
<i>Rpi-R8</i>	<i>hyb</i>	10 (1)	18 (12)	20 (9)	21 (15)	12 (7)	15 (9)
<i>Rx1</i>	<i>and</i>	2 (1)	4 (3)	6 (4)	3 (1)	4 (4)	2 (2)
<i>Gpa2</i>	<i>and</i>	2 (2)	3 (2)	7 (4)	2 (2)	6 (5)	2 (2)
<i>Tm2-ToMV</i>	<i>n.o.</i>	4 (3)	6 (5)	11 (8)	7 (7)	10 (7)	9 (6)

У четырёх генов – *Rpi-sto1*, *Rpi-vnt1.3*, *Rpi-R8*, *Rpi-R2-like* более чем в половине геномов обнаружено более десятка копий. А число копий гена *Rpi-R2-like* в разных сборках может достигать 45, что вдвое превышает максимальный показатель других генов. Заметных различий в числе копий каждого гена между сборками геномов не наблюдается, коэффициент попарной корреляции между

числом копий в разных сборках превышает 80%. По исследованиям на других объектах известно, что присутствие/отсутствие одной или нескольких копий гена является распространённым типом полиморфизма для *NLR*-генов и характерно даже для близкородственных форм (Borrelli et al., 2018). Это связано с особенностями эволюции генов этого семейства, кластерная организация которых способствует протеканию неравной рекомбинации, что ведёт к появлению потомства с различной копийностью. Обнаруженные нами различия в вариации числа копий *R*-генов у культурных форм картофеля могут быть вызваны как полиморфизмом среди образцов, так и особенностями поиска или незавершенностью сборок геномов ПКВ картофеля.

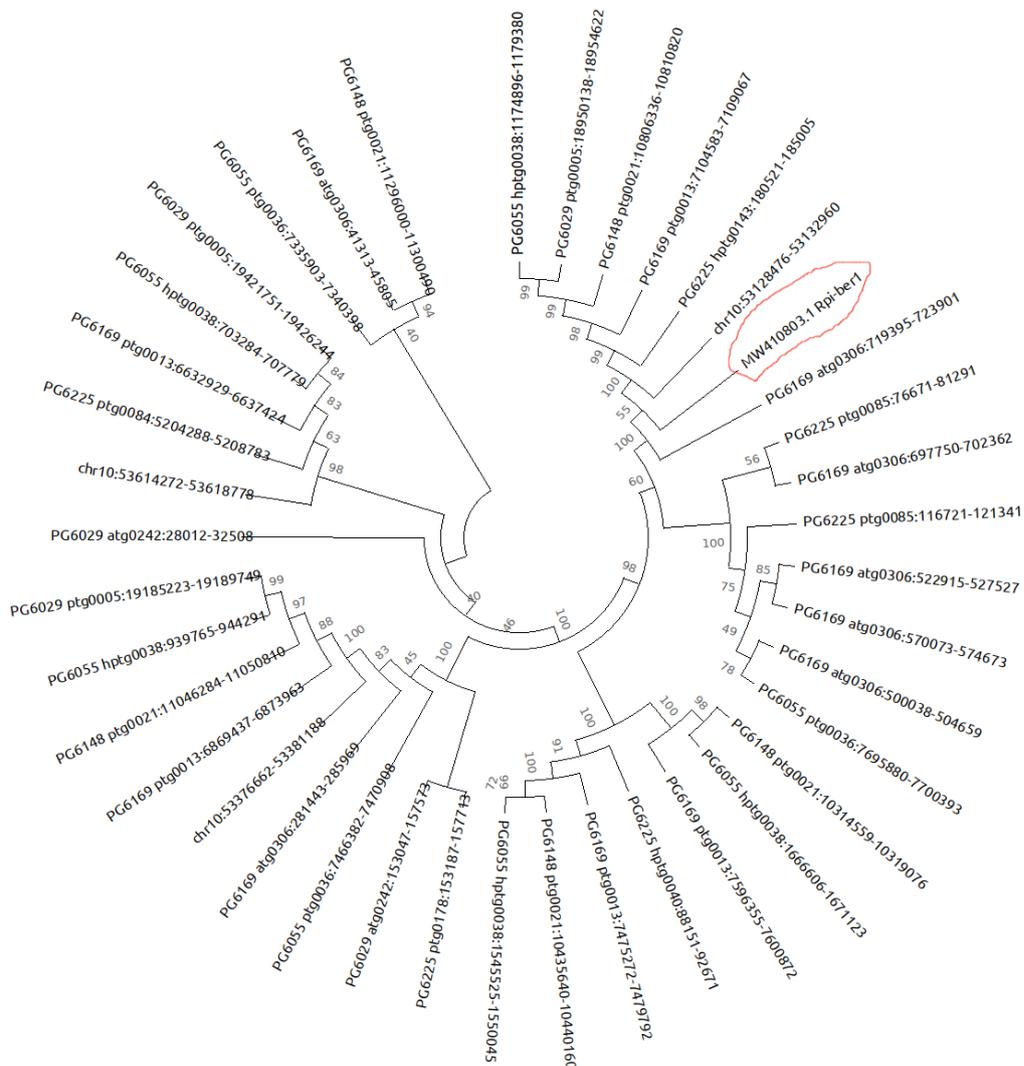


Рисунок 10 – Пример филогенетического дерева гомологов и паралогов *R*-генов на примере *Rpi-ber1* (Референсный ген выделен красным), построение выполнено в соответствии с критерием минимальной эволюции

В референсном геноме DM1-3, в отличие от остальных сборок, несколько генов (*Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb2*) не имеют гомологов, кодирующих схожие белки (все гомологичные последовательности содержат преждевременные стоп-кодоны) (таблица 8). Мы связываем это с синтетическим происхождением удвоенного моноплоида *S. phureja* DM1-3 или созданием референсного генома на основе двух генотипов (PGSC, 2011; Veilleux, 2017).

Для дальнейшего анализа мы использовали наиболее близкую к референсной последовательности копию, но в отдельных случаях интересно рассмотреть и особенности полиморфизма других копий (рисунок 10). В частности, для генов *Rpi-ber1*, *Rpi-R8*, *Rpi-blb2*, *Ve2* отмечено, что одна или несколько копий обладают низким уровнем полиморфизма, в то время как другие копии значительно различаются между собой. Это согласуется с современными представлениями об эволюции *R*-генов, для которых копияность может снизить влияние отбора (Borrelli et al., 2018; Ellis et al., 2000). Но в то же время сходство отдельных копий у разных образцов достигает 98–100%, и можно предположить, что постоянство этих вариантов последовательности обеспечивается стабилизирующим отбором.

Дальнейшие исследования полиморфизма были сосредоточены на изучении именно этих, наиболее сходных с референсными последовательностями *R*-генов, копий. При анализе полиморфизма 15 *R*-генов среди ПКВ картофеля выявлено более двух тысяч сайтов полиморфизма, большинство из которых – однонуклеотидные полиморфизмы (SNP – Single Nucleotide Polimorphism). Во всех генах, хотя бы в одной из копий, были обнаружены делеции или инсерции, которые приводят к изменению аминокислотной (а.к.) последовательности. Тем не менее, для всех генов в геномах отдельных видов были найдены такие варианты, которые потенциально способны производить белок, схожий с референсным.

4.3.3. Полиморфизм кодирующих последовательностей гомологов *R*-генов у ПКВ картофеля

Распределение встречаемости SNP соответствует представлениям о ПКВ

картофеля, как о группе близкородственных видов. Наиболее распространены общие для всех образцов SNP, что хорошо согласуется с другими исследованиями. В частности, оценивая уровень полиморфизма культурных и диких видов картофеля Я. Ли (Y. Li) (Li et al., 2018), Д. Танг (D. Tang) (Tang et al., 2022) и М. Хардиган (M. Hardigan) (Hardigan et al., 2017) отмечали снижение разнообразия культурных видов по сравнению с дикими, а Д. Спунер (D. Spooner) (Spooner et al., 2014) в своём исследовании по молекулярной систематике картофеля и вовсе объединял большинство ПКВ картофеля в качестве подгрупп в составе *S. tuberosum*, выделяя только *S. ×ajanhui*, *S. juzepczukii* и *S. curtilobum*.

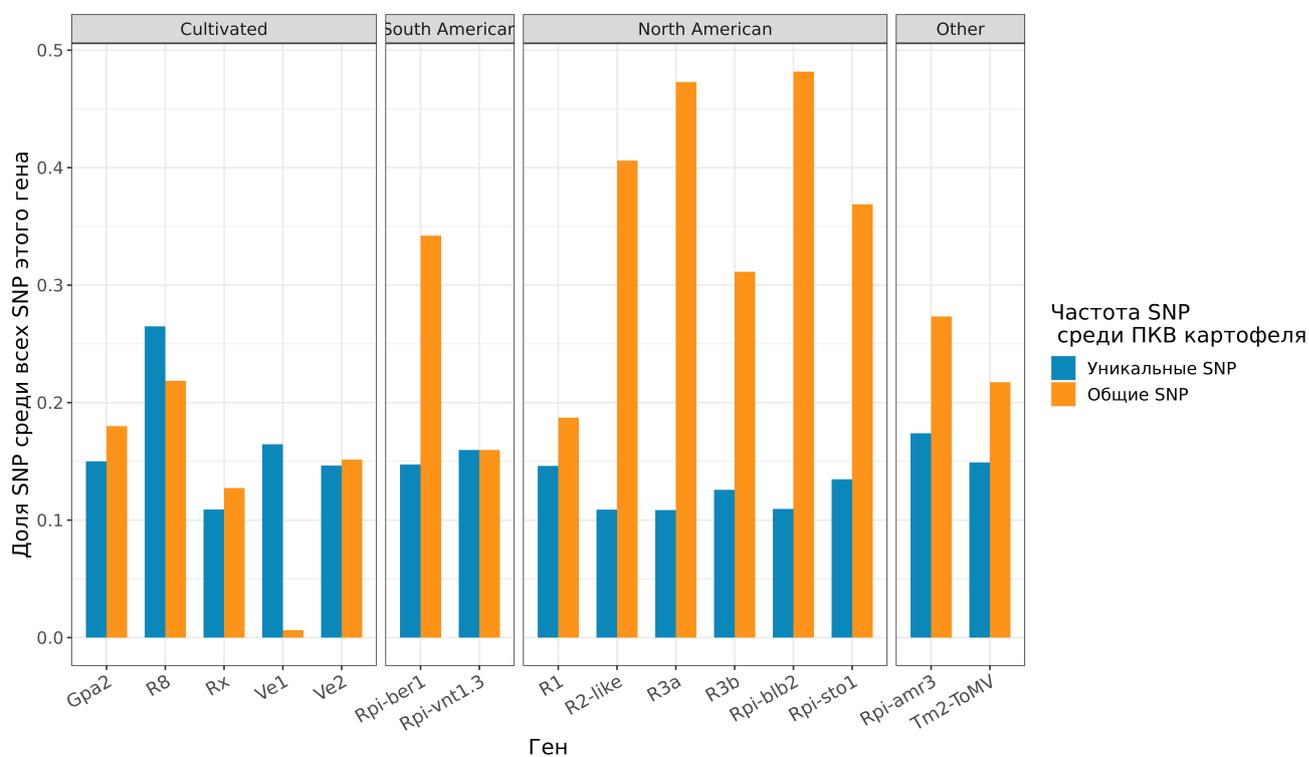


Рисунок 11 – Встречаемость SNP в гомологах *R*-генов среди образцов ПКВ картофеля (по данным SRA). Доля общих SNP значительно отличается в группах *R*-генов из североамериканских диких видов и из культурных видов картофеля ($p\text{-val} = 0.02467$, критерий Краскела-Уоллеса)

Найденные нами видоспецифичные отличия последовательностей гомологов *R*-генов единичны и не выделяют образцы в отдельные группы. Множество SNP (572, что составляет более 25% от всех обнаруженных) отличали последовательности всех исследованных образцов ПКВ картофеля от

референсных последовательностей *R*-генов (рисунок 11). Уникальные сайты составляют около 15% от всех найденных SNP.

Показаны отличия в распределении встречаемости SNP в зависимости от вида, послужившего источником референсного *R*-гена. Для генов из североамериканских диких видов доля общих для ПКВ картофеля SNP значимо выше ($p\text{-val} = 0.02467$) по сравнению с генами из культурных видов картофеля. Так в генах *Rpi-R3a*, *Rpi-blb2*, *Rpi-R2-like*, источниками которых являются филогенетически отдаленные от ПКВ картофеля образцы североамериканских диких видов картофеля, более 40% обнаруженных SNP были одинаковы для всех образцов ПКВ картофеля (рисунок 11), в то время как количество общих для ПКВ картофеля SNP в генах *Rpi-R8*, *Rx1*, *Ve1*, *Ve2* минимально.

Характер распределения полиморфизма последовательностей сохраняется и при анализе гомологов из сборок геномов ПКВ картофеля. Более того отмечаются SNP, общие не только для гомологичных последовательностей из разных образцов, но и для паралогов (копий), найденных в пределах одного генома, что говорит о том, что дубликации происходили после появления SNP. Участков с одинаковыми изменениями в разных паралогах в генах из североамериканских диких видов больше, по сравнению с другими генами.

Достоверных отличий в распределении уникальных SNP не обнаружено, но наиболее высокий уровень данного показателя характерен для генов *Rpi-R8* и *Ve1*, и *Gra2*, источниками которых являются культурные виды картофеля.

Другой особенностью полиморфизма генов, имеющих отдалённое происхождение (референсные гены которых получены от филогенетически удалённых от ПКВ картофеля видов) является наличие инделов в большинстве копий. Так в гене *Rpi-amr3*, полученном из паслёна черного (*S. americanum*), как и в гене *Rpi-R1* (от *S. demissum*), в каждом из паралогов найдены инделы длиной до 15 нуклеотидов. Часто они кратны трем и не приводят к сдвигу рамки считывания, и не ведут к кардинальному изменению аминокислотной последовательности, но снижают общий уровень схожести (рисунок 12) и потенциально могут изменить

структуру белка (хотя использование алгоритма InterPro не показало изменений в доменной организации).

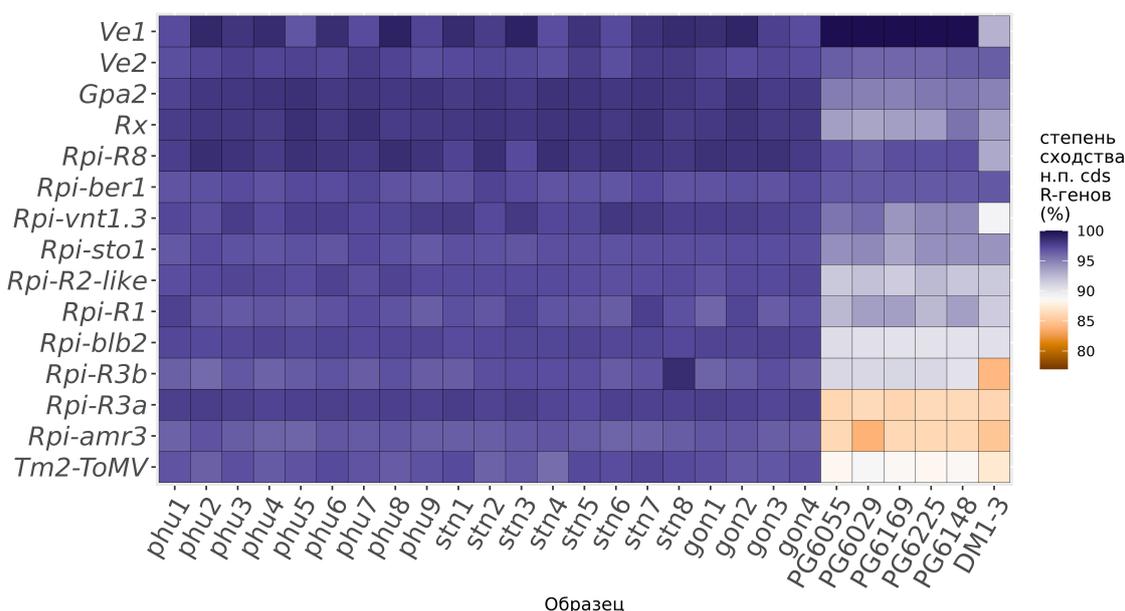


Рисунок 12 – Тепловая карта сходства кодирующих последовательностей *R*-генов с их гомологами у ПКВ картофеля. Уровень сходства отображен на цветовой шкале

По сравнению с другими сборками показатели схожести DM1-3 несколько отличаются, что, вероятно, связано не с естественной изменчивостью, а с гибридным происхождением сборки (рисунок 12). Но в целом изменчивость среди образцов ПКВ картофеля сравнительно низкая. Медианный уровень различий составляет 0,5%, но в отдельных генах, в частности для гена *Rpi-ber1*, уровень изменчивости среди ПКВ картофеля значительно ниже, и составляет 0,1%, что соответствует наличию единичных SNP, отличающих последовательности этого гена в разных сборках ПКВ. Самый высокий уровень изменчивости отмечается у *Rpi-amr3*: среди ПКВ картофеля переменными оказались 2,3% кодирующей последовательности. Близкий к этому уровню зарегистрирован для генов *Rx1*, *R1*, *Rpi-vnt1.3*, *Rpi-sto1*. Следует отметить, что для более точного понимания особенностей молекулярной эволюции *R*-генов требуется изучение не только наиболее схожих с референсными генами последовательностей, но и всей группы

паралогов. Стабильность или изменчивость отдельных копий могут свидетельствовать о том, какие именно последовательности были подвержены стабилизирующему отбору, а какие менялись быстрее остальных.

Особенный интерес представляет анализ встречаемости отдельных копий гена *Rx1* у образцов из коллекции ВИР, поскольку отсутствие вируса X, устойчивость к которому детерминирует этот ген, подтверждено для большинства образцов, и соответственно, можно предполагать, что функциональный ген устойчивости (*Rx1* или какой-то другой ранее не известный) встречается в большинстве образцов. Тем не менее вопрос о том, является ли наиболее схожий с референсом вариант функциональным, несмотря на относительно высокий полиморфизм среди ПКВ картофеля, или на самом деле «рабочим» является один из паралогов, с меньшей степенью гомологии с референсом, но сходство которого между образцами ПКВ картофеля выше, остаётся открытым.

4.3.4 Полиморфизм аминокислотных последовательностей, кодируемых гомологами R-генов у ПКВ картофеля

В сборках ПКВ картофеля (без учета DM1-3) у гомологов всех R-генов, обнаружены копии, потенциально способные производить а.к. последовательности (в них не обнаружены сдвиги рамки считывания и преждевременные стоп-кодоны). Степень сходства с референсной аминокислотной последовательностью составляет 72–100% (рисунок 13).

Сходство а.к. последовательностей, кодируемых R-генами, также различается в зависимости от происхождения гена (вида – источника референсного гена). Самый высокий уровень сходства с референсными последовательностями у ПКВ картофеля выявлен для а.к. последовательностей *Ve1* и *Ve2* (устойчивость к вертициллезному увяданию), относящихся к семейству RLP/RLK: 100 и 92-94%, соответственно (рисунок 13). При анализе белков семейства CNL самый высокий уровень сходства (около 92%) выявлен у а.к. последовательностей, кодируемых генами из южноамериканских видов картофеля *Rpi-vnt1.3* и *Rpi-ber1*. Хотя мы ожидали, что для последовательностей,

кодируемых генами из культурного картофеля, уровень сходства будет выше, чем у этой группы. Однако степень совпадения а.к. последовательностей этой группы (Gra2, Rx1 и Rpi-R8) с референсными составляет 85-90%. Учитывая данные о низкой распространенности среди ПКВ картофеля вируса X, можно предполагать наличие у большинства представителей ПКВ функционального гена устойчивости к этому вирусу. Возможно, им является ген *Rx1*, найденный у близкого к ПКВ картофеля вида *S. andigenum*, но для подтверждения данной гипотезы требуются дополнительные исследования.

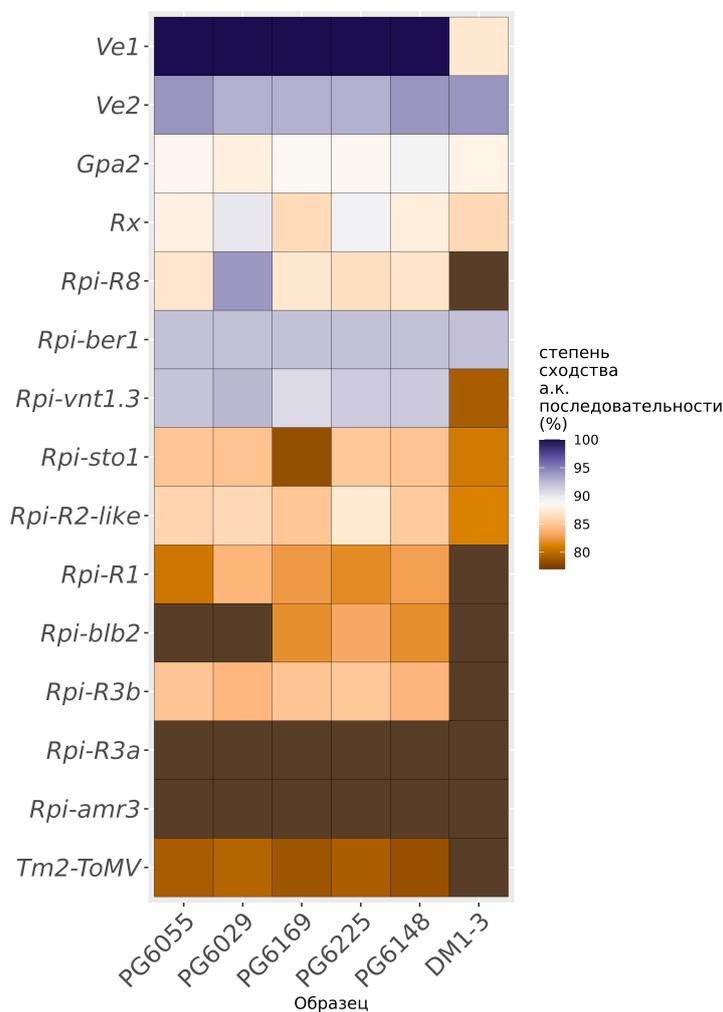


Рисунок 13 – Тепловая карта сходства а.к. последовательностей, кодируемых гомологами *R*-генов в сборках ПКВ картофеля, с референсными а.к. последовательностями. Цветовая шкала отображает уровень сходства с референсными последовательностями

Уровень сходства а.к. последовательностей, кодируемых генами из североамериканских диких видов картофеля (*Rpi-R2-like*, *Rpi-sto1*, *Rpi-R1* и *Rpi-R3b*), варьирует от 80 до 85%. Для всех генов их этой группы, кроме *R1*, ранее показана распространённость маркерных фрагментов среди представителей различных серий дикого и культурного картофеля (Rogozina et al., 2023). Степень сходства предполагаемых белковых продуктов гена *Tm2-ToMV*, происхождение которого не установлено, оценена в 80%. Более низкая степень сходства с референсной последовательностью характеризует а.к. последовательности *Rpi-R3a* и *Rpi-amr3*, показатели которой варьируют около значения 75% (рисунок 13).

Определить, насколько изменения аминокислотной последовательности могли привести к изменению функции генов, без дополнительных исследований невозможно. Известно, что у картофеля единичные изменения в аминокислотной последовательности могут привести к смене распознаваемого патогена от вируса *X* до нематоды (Slootweg et al., 2017). В то же время обнаружено целое семейство генов, отвечающих за распознавание возбудителя фитофтороза, сходство паралога в пределах которого варьирует от 85 до 90% (Park et al., 2005). Нами проанализирована изменчивость в разных доменах и сохранение доменной структуры белков семейства CNL, кодируемых гомологами *R*-генов у ПКВ картофеля.

Функциональный анализ аминокислотных последовательностей, выполненный при помощи InterPro, показал, что в белках семейства CNL, кодируемых гомологами *R*-генов, у ПКВ картофеля нет изменений в доменной организации даже в тех последовательностях, которые менее чем на 80% сходны с референсной. На рисунке 14 показано распределение аминокислотных замен по доменам CNL. Показано, что процент замещённых аминокислот значительно варьирует в зависимости от домена (рисунок 14). Проанализированы частоты аминокислотных замен в последовательностях гомологов из образцов ПКВ картофеля, и этот показатель также неравномерно распределён по доменам.

Минимальная доля замещённых аминокислот соответствует NBS-домену –

около 5%. Однако результаты анализа встречаемости этих замен среди ПКВ картофеля свидетельствуют о том, что большинство их характерно для всех исследованных образцов. Домен NBS является молекулярным переключателем, именно он отвечает за переход белка в активное состояние, даже не большие изменения его а.к. последовательности могут привести к дисфункции белка, таким образом консерватизм его последовательности в пределах близкородственной группы видов, которой является ПКВ картофеля закономерен.

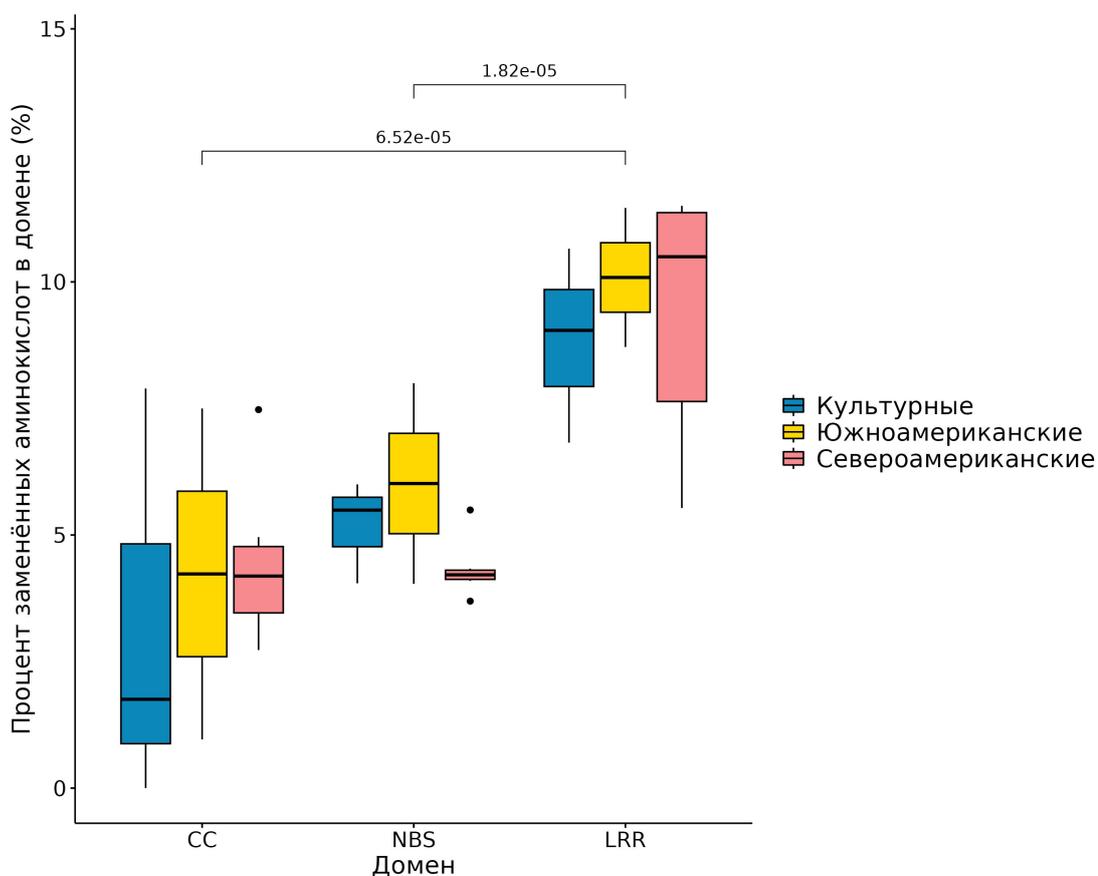


Рисунок 14 – Соотношение доли аминокислотных замен в разных доменах R-генов. Значимость различий между LRR и другими доменами оценивали согласно критерию Краскела-Уоллеса 17.343, p-val = 0.0001714

Наибольшее число (в среднем более 9%) аминокислотных замен по сравнению с референсом характерно для LRR-домена. В белках, кодируемых генами *Rpi-vnt1.3*, *Rpi-sto1*, *Rpi-R1* и *Rpi-R3b*, доля замещенных в этом домене аминокислот превышает 10%. Равномерное распределение общих и характерных для небольших групп замен в LRR-домене, скорее всего, является результатом

действия адаптивного механизма предковых форм ПКВ картофеля. Именно домен LRR связан с распознаванием эффектора и позволяет растению реагировать на присутствие конкретных рас патогенного организма. Однако непосредственное взаимодействие белков NLR при распознавании патогена у растений ещё недостаточно изучено.

Доля замен в СС-домене значительно варьировала между аминокислотными последовательностями разных генов. В этом домене не обнаружено аминокислотных замен у предполагаемых белковых продуктов гомологов генов *R8*, *Rpi-vnt1.3* и *Rx1*, в то время как доля аминокислотных замен в белковых продуктах генов *Rpi-blb2*, *Gpa2* составила 7%, для гена *Tm2-ToMV* показатель равнялся 11%. Большинство замен в СС-домене встречаются лишь в отдельных образцах или небольших группах. Общие для всех образцов ПКВ замещённые аминокислоты отсутствуют или единичны. Исключением является *Gpa2*, в котором 5 замен в СС-домене являются общими. Три из этих замен расположены в функциональном центре (по данным NCBI). О конкретной функции СС-домена до сих пор известно мало, есть свидетельства о выполнении различных функций. Например, для одних генов (в том числе ген устойчивости картофеля *Rpi-R3a*) показано его участие в инициации запуска механизма клеточной смерти (Huang et al., 2021), а для других (например, ген *Rx1* устойчивости картофеля к вирусу X) показано участие в распознавании патогена (Rairdan et al., 2008). Соответственно предположить причины такого паттерна полиморфизма довольно затруднительно. При исследовании различных копий генов ПКВ картофеля нами было обнаружено, что большинство инделов, ведущих к сдвигу рамки считывания, находятся именно в СС-домене.

Таким образом, в рамках *in silico* анализа полиморфизма ПКВ картофеля показано следующее: гомологи кодирующих последовательностей всех исследованных генов присутствуют в геномах ПКВ картофеля, многие из них представлены несколькими копиями (паралогами) и, как правило, хотя бы одна из них потенциально может кодировать аминокислотную последовательность

сходную с референсной. Для гомологов генов из североамериканских диких видов, по сравнению с генами из культурных видов картофеля, более выражено представлены изменения, характеризующие группу ПКВ картофеля в целом. Впервые показано, что одна из копий гена *Ve1* у ПКВ картофеля не содержит аминокислотных замен относительно референсного гена, что говорит о потенциальной устойчивости ПКВ картофеля к вертициллёзному увяданию (*Verticillium dahliae*). Подтверждена неравномерность распределения замен в разных доменах *CNL*-генов, для *LRR*-домена показано достоверно большая доля замещённых аминокислот. Частоты аминокислотных замен по доменам также распределены не равномерно: в *NBS*-домене самая высокая доля замен общих для всех ПКВ картофеля.

4.4 R-гены у образцов ПКВ картофеля в коллекции ВИР

4.4.1 Полиморфизм последовательности гена *RB/Rpi-blb1*

Ген *RB/Rpi-blb1* первоначально был найден у *S. bulbocastanum*, его гомологи *Rpi-sto1* и *Rpi-pta1* обнаружены у *S. stoloniferum* и *S. papita* и имеют более 99% сходства. Эти виды являются представителями разных секций диких видов картофеля (*Bulbocastana* (Rydb.) Hawkes и *Longipedicellata* Bukasov) и филогенетически далеки друг от друга, и ещё более далеки от культурного картофеля.

Поиск в сборках геномов ПКВ картофеля последовательностей, схожих с геном *Rpi-sto1* (Gene Bank: EU884421.1), выявил наличие двух экзонов (рисунок 15) с высокой степенью сходства: 93-94 % с экзоном 1 и 89-90% с экзоном 2. Уровень сходства интрона во всех копиях всех сборок составляет менее 80%. В некодирующей области этого гена имеются многочисленные, довольно протяженные делеции и инсерции, поэтому общая длина интрона может значительно меняться. Это вполне могло отразиться на длине маркерного фрагмента *Rpi-sto1-820*, при амплификации которого мы наблюдали

многочисленные фрагменты другой длины, которые ранее считали следствием неспецифической посадки праймеров.



Рисунок 15. Схема гена *RB/Rpi-blb1* с расположенными на ней маркерами

При анализе сборок был найден значительный полиморфизм по гомологам гена *RB/Rpi-blb1* между образцами ПКВ картофеля. Он проявлялся как в различном числе копий этого гена, представленном в разных геномах (от 7 в PG6169 до 20 в PG6148), так и в различиях нуклеотидных и, как следствие, аминокислотных последовательностей.

Первоначальный скрининг коллекции ВИР на наличие SCAR-маркеров выявил высокую частоту маркера *Rpi-sto1-890* (до 0,71 у *S. stenotomum*) и значительно более низкую *Rpi-blb1-820* (был обнаружен только в двух образцах). При *in silico* анализе образцов, представленных в базе данных NCBI, оказалось, что в области посадки праймеров есть несколько замен, характерных для всех ПКВ картофеля. Среди всех вариантов гена, найденных у ПКВ, учитывались замены в потенциально белок-кодирующих последовательностях (не содержащих стоп-кодона) и выбраны несколько позиций, по которым в большинстве вариантов были выявлены одинаковые изменения (см раздел 3.5, Таблица 6).

Последовательности, амплифицированные как с оригинальными, так и с модифицированными праймерами, были клонированы и секвенированы, чтобы проанализировать полиморфизм маркерных фрагментов последовательностей гомологов *RB/Rpi-blb1* у образцов ПКВ картофеля в коллекции ВИР (рисунки 16, 17).

Степень сходства полных маркерных фрагментов у генотипов их коллекции ВИР с референсным геном *Rpi-sto1* варьирует от 81 до 85%. Однако если учитывать только участки маркера, лежащие в пределах кодирующей последовательности и не принимать во внимание интрон (рисунок 15), то уровень сходства повысится до 93-94%. Этот уровень полностью соответствует значениям,

полученным при сравнении с последовательностью экзона 1 в проанализированных сборках (только 24 нуклеотида из экзона 2 лежат в области этого маркера и большая их часть находятся в областях отжига праймеров).

	286	288	290	292	294	296	298	300	302	304	306	308	310	312
EU884421.1	C	S	A	A	A	G	G	T	T	A	T	-	-	C
<i>gon k-9922 MR</i>	C	S	A	A	A	G	G	T	T	A	T	A	T	C
<i>ajn k-9911-140 R 1</i>	C	S	A	A	A	G	G	C	A	A	T	-	-	C
<i>ajn k-9911-140 R 2</i>	C	S	T	A	A	G	G	C	A	A	T	-	-	C
<i>stn k-11020 R 1</i>	C	S	A	A	A	G	G	C	A	A	T	-	-	C
<i>stn k-11020 R 2</i>	C	S	A	A	A	G	G	C	A	A	T	-	-	C
<i>phu k-8873 S</i>	C	S	A	A	A	G	G	T	T	A	T	-	-	C
<i>gon k-3558 S 1</i>	C	S	A	A	A	G	G	T	T	A	T	-	-	C
<i>gon k-3558 S 2</i>	C	S	A	A	A	G	G	C	A	A	T	-	-	C
<i>stn k-10478 S</i>	C	S	A	A	A	G	G	T	T	A	T	-	-	C
<i>ajn k-9911-139 S 1</i>	C	S	A	A	A	G	G	T	T	A	T	A	T	C
<i>ajn k-9911-139 S 2</i>	C	S	A	A	A	G	G	C	A	A	T	-	-	C

Рисунок 16 – Выравнивание нуклеотидной последовательности маркерного фрагмента (Rpi-sto1-890) образцов ПКВ картофеля из коллекции ВИР на последовательность гена *Rpi-sto1* (Gene Bank: EU884421.1)

На данном участке в двух последовательностях обнаружены двух-нуклеотидные инсерции (рисунок 16), ведущие к образованию стоп-кодонов: у среднеустойчивого *S. gonioocalyx* к-9922 и восприимчивого *S. × ajanhuiri* к-9911–139. При сравнении остальных последовательностей с референсом обнаружено 15 позиций с аминокислотными заменами. Две из них обнаружены у всех образцов, по остальным наблюдался значительный полиморфизм. Таким образом, в последовательности маркерного фрагмента Rpi-sto1-890 мы не обнаружили замен, ассоциированных с проявлением признака устойчивости, все замены были или единичны или присутствовали, как у устойчивых, так и у восприимчивых образцов.

Секвенирование последовательности маркера Rpi-blb1-820 выполнено для двух контрастных по признаку устойчивости генотипов образца *S. × ajanhuiri* к-9911 (рисунок 17). Фрагменты из шести других генотипов (использовались по два генотипа каждого вида (устойчивый и восприимчивый) были клонированы, но

при выполнении их секвенирования получались укороченные низкокачественные прочтения с большим количеством неопределённых нуклеотидов. Таким образом, проанализировать последовательность этого фрагмента у других видов не удалось. В результате установить, являются ли выявленные закономерности специфичными для *S. × ajanhuiri* (который, по мнению большинства систематиков картофеля, филогенетически удален от остальных культурных видов), или же отличают всю группу ПКВ картофеля, с текущим набором данных невозможно.

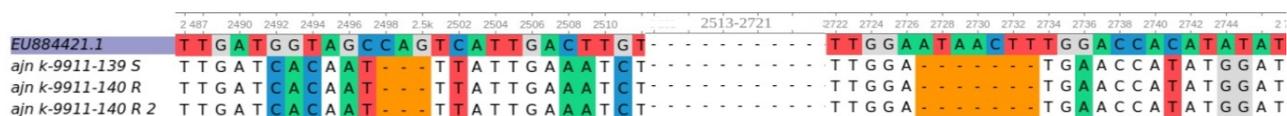


Рисунок 17 – Выравнивание нуклеотидных последовательностей маркерного фрагмента Rpi-blb-821, секвенированных у разных генотипов *S. × ajanhuiri* к-9911, контрастных по признаку устойчивости к фитофторозу, на референсную последовательность гена *Rpi-sto1* (Gene Bank: EU884421.1). Показаны участки, наиболее отличающиеся от референсной последовательности

У обоих генотипов *S. × ajanhuiri* обнаружено по две делеции, размером три и семь нуклеотидов. Соответственно мы не можем связать устойчивость генотипа к-9911 клон 140 с геном *RB/Rpi-blb1*, так как в четырёх клонированных фрагментах выявлены два аллельных варианта (предположительно гетерозигота) и в обоих выражена делеция, ведущая к образованию стоп-кодона.

Таким образом, в образцах ПКВ картофеля из клоновой коллекции ВИР в гомологах гена *RB/Rpi-blb1* обнаружен довольно широкий спектр общих изменений относительно референсных последовательностей. Их количество хорошо согласуется с данными полученными при *in silico* анализе – 34,15% SNP, найденных в этом гене, были выявлены у всех изученных образцов, а большинство более крупных изменений характеризовали отдельные копии, но присутствовали во всех сборках. Вместе с тем, в маркерном фрагменте Rpi-sto1-890 выявлен измененный сайт (двух-нуклеотидная инсерция), наличие которого может препятствовать нормальному функционированию гена у отдельных образцов, хотя конкретно этот сайт при биоинформатическом анализе открытых

данных обнаружен не был. Между сборками ПКВ картофеля также наблюдаются существенные отличия в сходстве с аминокислотной последовательностью референсного гена *RB/Rpi-blb1*. Всё это говорит о существовании полиморфизма среди ПКВ картофеля, который, однако, связать с признаком устойчивости не удалось. Этот ген, скорее всего, не формирует устойчивость у образца *S. × ajanhuiri* к-9911, но судить о его участии в формировании признака у других образцов преждевременно. В то же время высокая доля общих отличий последовательностей ПКВ от референсного гена, как в *in silico* анализе, так и у образцов коллекции ВИР, скорее говорит об отсутствии связи между аллельными вариантами этого гена и устойчивостью к фитофторозу у ПКВ картофеля.

4.4.2 Полиморфизм последовательности гена *Rpi-vnt1*

Ген *Rpi-vnt1* с тремя аллельными вариантами (*Rpi-vnt1.1*, *Rpi-vnt1.2*, *Rpi-vnt1.3*) впервые клонирован и секвенирован у южноамериканского дикого вида *S. venturii* (Foster et al., 2009; Pel et al., 2009). Этот ген гомологичен гену устойчивости томата к вирусу мозаики *Tm2²*. Предположительно, он также является гомологом *Rpi-phu1* – гена устойчивости к фитофторозу, обнаруженного у *S. phureja*, но поскольку этот ген не секвенирован, точно определить схожесть их последовательностей невозможно. М. Пел (M. Pel) в своих исследованиях не обнаружил у ПКВ картофеля функциональных вариантов гена *Rpi-vnt1*, но, вероятно, это связано с ограниченностью исследованной выборки (Pel, 2009). В своих исследованиях С. Фостер (S.Foster) показал полную идентичность продукта маркера *vntNBSHae-F/R* у трёх устойчивых образцов *S. phureja*, но полноразмерная последовательность гена исследована не была (Foster et al., 2009). В то же время мы в своих исследованиях, при помощи *in silico* анализа, не обнаружили гомологов гена, которые могли быть амплифицированы при помощи этой пары праймеров. Попытка амплификации на образцах из коллекции ВИР приводила к появлению большого количества фрагментов неспецифической длины. Поскольку в этой области у всех исследованных копий имеется инсерция, частично или полностью совпадающая с таковой у аллельного варианта *Rpi-vnt1.3*

(GenBank:FJ423046.1), мы ориентировались в первую очередь на маркеры, разработанные для этого гена (рисунок 18).

При скрининге коллекции ВИР в большинстве (64%) исследованных образцов был выявлен SCAR-маркер *Rpi-vnt1.3-612*. Для этого маркера была использована и модифицированная нами версия праймеров с изменениями двух нуклеотидов в прямом праймере (forward), которые соответствовали частотным заменам. При использовании модифицированной версии праймеров, маркер *Rpi-vnt1.3-612-M* амплифицировался у всех образцов.

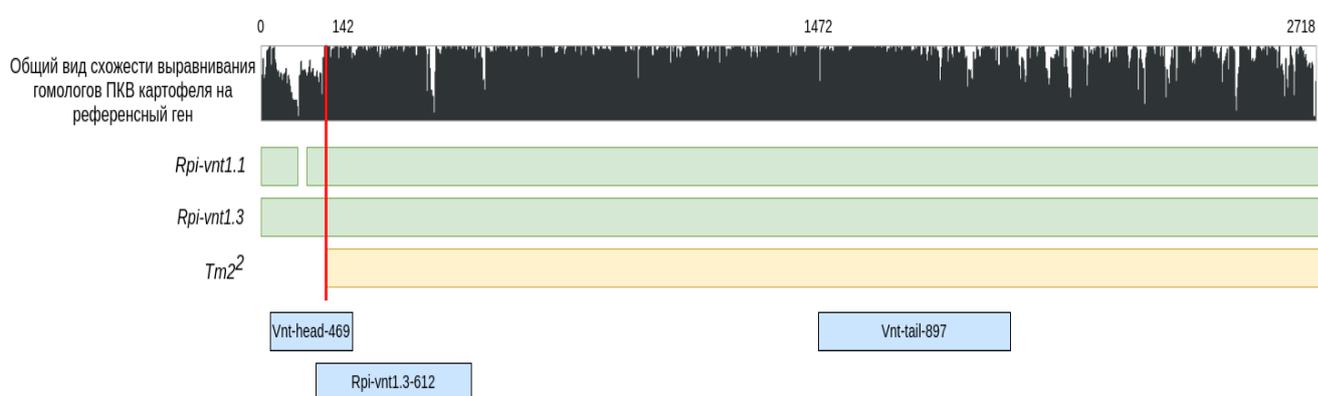


Рисунок 18. Схема *Rpi-vnt1* и гомолога *Tm2* с общим видом множественного выравнивания различных копий гомологичных генов у ПКВ картофеля

Первоначально при секвенировании маркерного фрагмента (*Rpi-vnt-612*) у образцов из коллекции ВИР было выявлено несколько его вариантов (рисунок 19) (Гурина и др., 2022). Различия с референсным геномом на этом участке составляют от 5 до 13%. В последовательности данного маркера у ПКВ картофеля обнаружен ряд сайтов полиморфизма, в том числе такие значимые, как инсерции и делеции. В частности, у восприимчивых образцов (к-3558 и к-9301) представлен вариант, содержащий пяти-нуклеотидную делецию (рисунок 19), которая может привести к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона. Впоследствии оказалось, что у одного из восприимчивых генотипов *S. × ajanhuiri* к-9911-139 эта делеция отсутствует, но обнаружены ещё одна делеция и инсерция, которых нет у других исследованных образцов. Среди устойчивых генотипов оказалась распространённой девяти-нуклеотидная инсерция. Ещё один из вариантов обнаружен только в устойчивом генотипе

S. stenotomum к-11020, он не содержит инсерций и делеций, но отличается от референсной аллели по 18 позициям (SNP). Все остальные варианты являются вариациями вышеперечисленных с небольшими отличиями по 1–2 SNP.

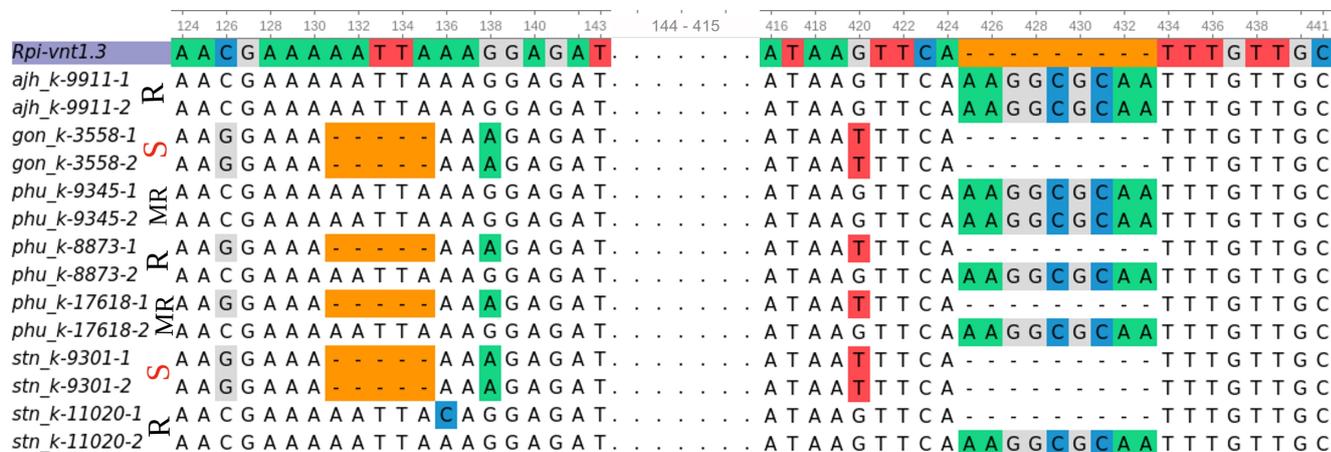


Рисунок 19 – Выравнивание последовательностей маркерного фрагмента (Rpi-vnt1.3-612) образцов ПКВ картофеля из коллекции ВИР на референсную последовательность гена *Rpi-vnt1.3* (FJ423046.1). R, MR и S – устойчивость к фитофторозу: устойчивый, среднеустойчивый и восприимчивый, соответственно.

На основании *in silico* анализа и литературных данных было разработано ещё два маркера: на начало кодирующей последовательности гена (Vnt-head-459), для которой показано наличие сильного полиморфизма (частично пересекается с маркером Rpi-vnt1.3-612), а также на участок, расположенный в середине гена (Vnt-tail-897), соответствующий области конца NBS-домена и начала LRR-домена (рисунок 18).

При *in silico* анализе гомологов *Rpi-vnt1.3* в сборках геномов ПКВ картофеля было обнаружено, что начальный участок последовательности (соответствующий участку до 141 п.н. у *Rpi-vnt1.3*) имеет значительно более сильные отличия, чем кодирующие последовательности всех исследованных *R*-генов. Поскольку у некоторых гомологов этого гена (в частности *Tm2²*) этот участок отсутствует (точнее не является частью белок-кодирующей последовательности), возможно, что и у гомологов гена *Rpi-vnt1.3* у ПКВ картофеля этот участок не относится к белок-кодирующей последовательности. Более того, в большинстве копий из сборок геномов ПКВ картофеля было обнаружено, что стартовый кодон,

соответствующий стартовому кодону *Rpi-vnt1.3*, отсутствовал, а также есть несколько делеций и инсерций, приводящих к сдвигу рамки считывания. В то же время, если началом белок-кодирующей последовательности считать 142-й нуклеотид, где у гена *Rpi-vnt1* также есть кодон ATG (стартовый кодон), а известные гомологи этого гена у других видов семейства Solanaceae начинаются, то большинство копий оказываются потенциально функциональными.

Дополнительным свидетельством в пользу более позднего начала гена является тот факт, что при анализе М. Пела (M. Pel) укороченная версия гена *Rpi-vnt1.1* также была функциональной (Pel., 2009), хотя устойчивость и проявлялась только при использовании методов, обеспечивающих сверхэкспрессию. Мы предполагаем, что эта часть гена может служить для привлечения или, напротив, блокирования факторов инициации трансляции. Иными словами, обеспечивать дополнительный механизм тонкой регуляции действия *NLR*-гена, которая, необходима для нормального функционирования и эволюции иммунитета растений в ряду поколений (Borelli, 2018). С таким механизмом регуляции могут быть также связаны значительные отличия последовательностей этого фрагмента в разных копиях в пределах одного генома ПКВ картофеля, которые были обнаружены и при анализе UTR5` других *R*-генов, поскольку механизмы регуляции трансляции могут значительно отличаться в разных тканях растений.

Таблица 9 – Сравнение участков, соответствующих окружению первого и второго (142 пн относительно первого) возможных старт-кодонов, в гене *Rpi-vnt1* с последовательностью Козак для двудольных (Joshi et al., 1997; Gupta et al., 2016).

Позиция	-5	-4	-3	-2	-1	+1	+2	+3	+4	+5	+6
Консенсусная н.п. Козак	a	a	A	A/C	a	A	U	G	G	C	u
1-й стартовый кодон <i>Rpi-vnt1</i>	A	A	A	A	G	A	U	G	A	A	U
2-й стартовый кодон <i>Rpi-vnt1</i>	A	G	G	A	G	A	U	G	G	C	U

Еще одним фактором в поддержку нашей гипотезы укороченного варианта гена является более точное соответствие окружения второго стартового кодона фрагменту Козак (Joshi et al., 1997), характерному для двудольных, а точнее, наличию гуанина и цитозина в +4 и +5 позициях, соответственно (таблица 9).

образцов (к-8873, к-11020) также выявлено большое количество SNP (более 50 SNP в любом из секвенированных вариантов). У исследованных восприимчивых образцов (к-8940, к-9301) количество SNP меньше: 28–35 SNP в разных вариантах.

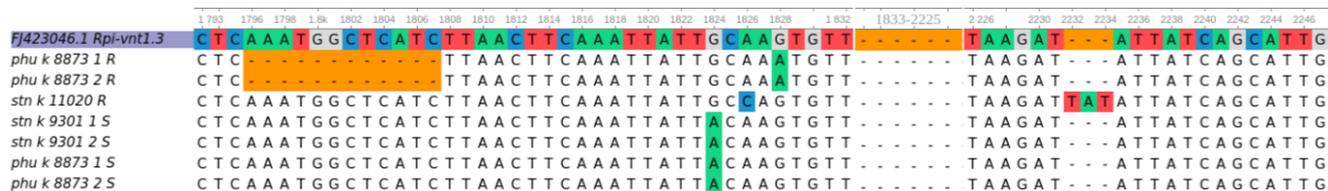


Рисунок 21 – Выравнивание последовательностей маркерного фрагмента (Vnt-tail-897) образцов ПКВ картофеля из коллекции ВИР на референсную последовательность фрагмента гена *Rpi-vnt1.3*

Таким образом, у образцов ПКВ картофеля в коллекции ВИР обнаружено несколько вариантов гена *Rpi-vnt1.3*, которые различаются между собой и отличаются от референсного гена наличием SNP и более крупных изменений. Некоторые делеции и инсерции приводят к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона и как следствие - к нефункциональности гена, но у других образцов, в том числе восприимчивых, таких изменений нет. На основе выявленных различий между последовательностями из образцов *S. stenotomum* к-9301 и двух аллелей к-11020 разработана серия CAPS-маркеров, позволяющих отличить варианты друг от друга (см раздел 4.5.3).

4.4.3 Полиморфизм последовательности гена *Gro1-4*

Gro1-4 (GeneBank: AY196151.1) – ген устойчивости к золотистой картофельной нематодe, первоначально описанный у *S. spagazzini*. Имеет сложную структуру, состоящую из четырёх экзонов, трёх интронов (рис. 22). Ввиду очень крупных некодирующих областей, которые у примитивных культурных видов картофеля имеют значительно более сильные отличия от референсных последовательностей, установить степень гомологии полных последовательностей не удалось.

При анализе последовательностей маркерного участка Gro1-4-620 (рисунок 22) в образцах из коллекции ВИР, мы также обнаружили значительные изменения в области интрона 3, в частности крупную инсерцию в 27 нуклеотидов, но нас в большей степени интересовали изменения в кодирующей области гена (рисунок 23) и их возможная связь с устойчивостью.

На участок, соответствующий экзону 3, приходится в общей сложности 21 SNP, семь из которых характерны для большинства образцов, а остальные представлены лишь у одного или двух образцов. На участке маркерного фрагмента, лежащего в области экзона 4, обнаружено 10 SNP, а также трёхнуклеотидная делеция. Восемь из обнаруженных SNP и делеция, характерны для всех образцов. Ни один из SNP не ассоциирован с устойчивостью, хотя большинство из них привели к аминокислотным заменам, в том числе у всех образцов есть участки с несколькими заменёнными подряд аминокислотами. Большая часть маркерной последовательность кодирует один из лейцин-богатых повторов в соответствующей белковой структуре, а также начало C-JID домена, которые предположительно отвечают за распознавание субстрата. Поэтому изменения аминокислотной последовательности в этом регионе могут повлиять на распознавание патогена. Тем не менее никакой связи SNP с устойчивостью (различий между группами устойчивых и восприимчивых образцов) мы не обнаружили, так что судить о возможной роли гена *Gro1-4* в формировании устойчивости к золотистой картофельной нематоды у примитивных культурных видов картофеля не представляется возможным.

4.5. Создание и анализ гибридных популяций от скрещивания родительских форм с контрастными фенотипами

На основании данных об устойчивости растений- клонов в коллекции ПКВ картофеля ВИР были выбраны контрастные формы для скрещивания. Всего было проведено 13 комбинаций скрещивания, из них 11 внутривидовых и 2 межвидовых. Скрещивания в четырёх комбинациях оказались

нерезультативными, и ещё в нескольких мы не получили достаточного количества семян для проведения генетического анализа (см раздел 2.1, таблица 4).

Поскольку нам не удалось сопоставить устойчивость к золотистой картофельной нематоде ни с одним из маркеров, а в маркерном фрагменте *Gro1-4* не было изменений, которые ассоциированы с устойчивостью (восприимчивостью), их дальнейший анализ не проводился. Для анализа ассоциации аллельных вариантов *R*-генов с устойчивостью к фитофторозу были выбраны две комбинации от внутривидовых скрещиваний: *S. stenotomum* (к-9301 × к-11020) и *S. × ajanhuiri* (к-9911-139 × к-9911-140). Также была получена популяция от контролируемого самоопыления устойчивого генотипа *S. × ajanhuiri* к-9911-140.

4.5.1 Разнообразие популяций *S. stenotomum* и *S. × ajanhuiri* по морфологическим признакам

В 2022 году выполнена оценка генотипов из гибридных популяций по морфологическим признакам. Произведено ботаническое описание по 65 дескрипторам. Для проведения анализа главных компонент (РСА) использованы признаки надземной части растения, демонстрирующие отличия между образцами, стабильные, не меняющиеся на образцах коллекции в течение нескольких лет (не зависимые от условий среды). В итоге изначально в анализ было взято 39 признаков, но по результатам первичного анализа были убраны признаки, чьё влияние проявлялось на 5 и более поздних осях, всего оставлено 17 осей. Первые три оси объясняли 20.9, 18.1 и 11.1% изменчивости соответственно (рисунок 24), а вклад последующих составлял менее 10%.

Параметрами, вносящими наибольшую вариацию между генотипами популяций, оказались: размеры листовой пластинки, высота растения, длина стерженьков, число пар долей, длина цветоножки и ширина лепестков. Некоторые из этих признаков – это видоспецифичные параметры, поскольку для *S. stenotomum* характерна большая рассеченность листовых пластинок.

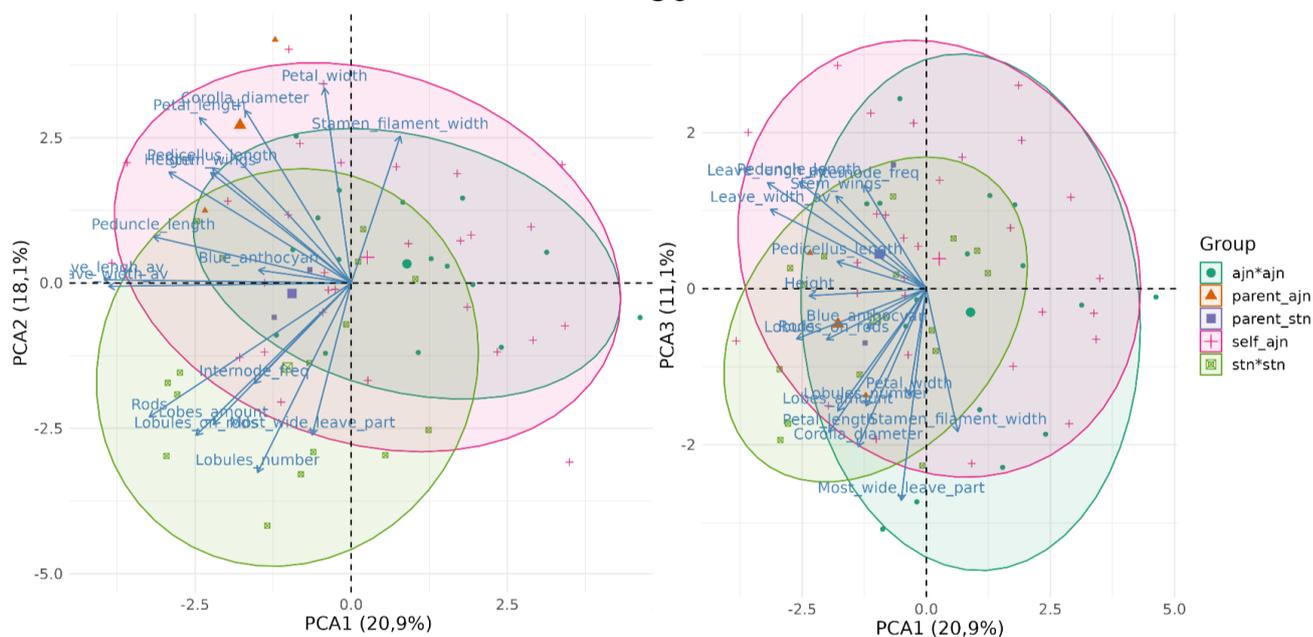


Рисунок 24 – Анализ главных компонент по морфологическим характеристикам популяций (показаны оси 1–3, объясняющие более 10% изменчивости). Использованы 17 признаков: Height - высота растений; Stem_wings - крылатость стебля; Internode_freq — частота междоузлий; Leave_length_av — средняя длина листа; Leave_width_av — средняя ширина листа; Lobes_amount — число долей; Rods — наличие стерженьков; Lobules_on_rods — дольки на стерженьках; Lobules_number — число долек в серии; Most_wide_leave_part — наиболее широкая часть листа (показатель формы листа); Peduncle_length — длина цветоноса; Pedicellus_length — длина цветоножки; Corolla_diameter — диаметр венчика; Blue_anthocyan — наличие синего антоциана в окраске венчика; Petal_length — длина лепестков; Petal_width — ширина лепестков; Stamen_filament_width — ширина тычиночных нитей.

При анализе популяции от самоопыления мы получили более высокое разнообразие, по сравнению с исследованием популяции от скрещивания *S. × ajanhuiri* (рисунок 24). Даже при первичном осмотре образцов из популяции от самоопыления были отмечены образцы с белым цветом венчика, которых не было при анализе других популяций, а анализ главных компонент показал, что по некоторым параметрам растения из популяции от самоопыления отличаются как от родительских форм, так и от гибридов других популяций. Таким образом

проявляется высокое скрытое разнообразие ПКВ картофеля, которое способно проявить себя через несколько поколений.

4.5.2 Устойчивость внутривидовых гибридов *S. stenotomum* и *S. × ajanhuiri* к фитофторозу

В 2021 и 2022 годах была произведена полевая оценка внутривидовых гибридов *S. stenotomum*, *S. × ajanhuiri* и их родительских форм по поражению фитофторозом в условиях естественного инфекционного фона (раздел 3.2). Ежегодно производилось распределение гибридов на четыре категории: гипервосприимчивые, восприимчивые, среднеустойчивые, устойчивые к фитофторозу. Гипервосприимчивыми считались быстро поразившиеся до полного отмирания надземной части образцы, устойчивыми – образцы, слабо поразившиеся за время исследования (итоговый балл не менее 7). Несмотря на значительные отличия в скорости распространения инфекции в годы исследования, корреляция данных двухлетней оценки по устойчивости к фитофторозу среди генотипов в популяции от внутривидового скрещивания *S. stenotomum* составила более 80% (рисунок 25).

Обе популяции *S. × ajanhuiri* (как от скрещивания, так и от самоопыления) в 2022 году сильно поразились фитофторозом и альтернариозом (в результате совместного течения двух инфекций). Заметное поражение листовой поверхности растений *S. × ajanhuiri* не всегда могло быть связано с воздействием определенного заболевания. Поэтому для молекулярно-генетического исследования была отобрана только популяция от внутривидового скрещивания *S. stenotomum*.

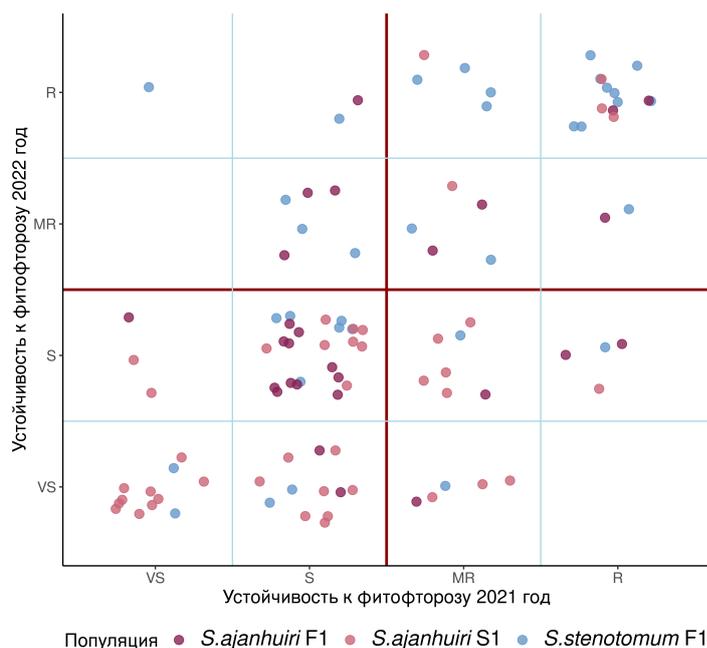


Рисунок 25 – Данные двухлетней оценки гибридов *S. stenotomum* и *S. × ajanhuiri* по устойчивости к фитофторозу

4.5.3 Разработка CAPS-маркеров для внутривидовых гибридов *S. stenotomum*

Секвенирование маркерных фрагментов гена *Rpi-vnt1* – *Rpi-vnt1.3-612* и *Vnt-tail-897* показало наличие нескольких вариантов последовательностей (рисунки 19, 21, 26, 27). Первый фрагмент *Rpi-vnt1.3-612* находился в начале гена (позиции 89-701), второй (*Vnt-tail-897*) на области, кодирующей конец NBS-домена и начало LRR-домена (позиции 1472-2369).

От референса вариант последовательности *Rpi-vnt1.3-612*, обнаруженный у восприимчивого клона к-9301–276 (*a1*), отличается наличием пятинуклеотидной делеции и 28 SNP. У устойчивого родителя (к-11020-283) выявлено два варианта: один из них (*a2*) не содержит инсерций и делеций, и наиболее близок к последовательности референсного гена, отличаясь только 21 SNP. Другой (*A3*) содержит девятинуклеотидную инсерцию и 52 SNP (рисунок 26).

Для доказательства этой гипотезы нами было поставлено скрещивание ♀ восприимчивый клон к-9301–276 × ♂ устойчивый клон к-11020–283. В получившейся популяции выявлено распределение расщепления по фенотипу (признака устойчивость к фитофторозу) близкое к 1:1 (17 устойчивых и 19 восприимчивых), что соответствует нашему предположению о гетерозиготности устойчивого родителя (рисунок 28).

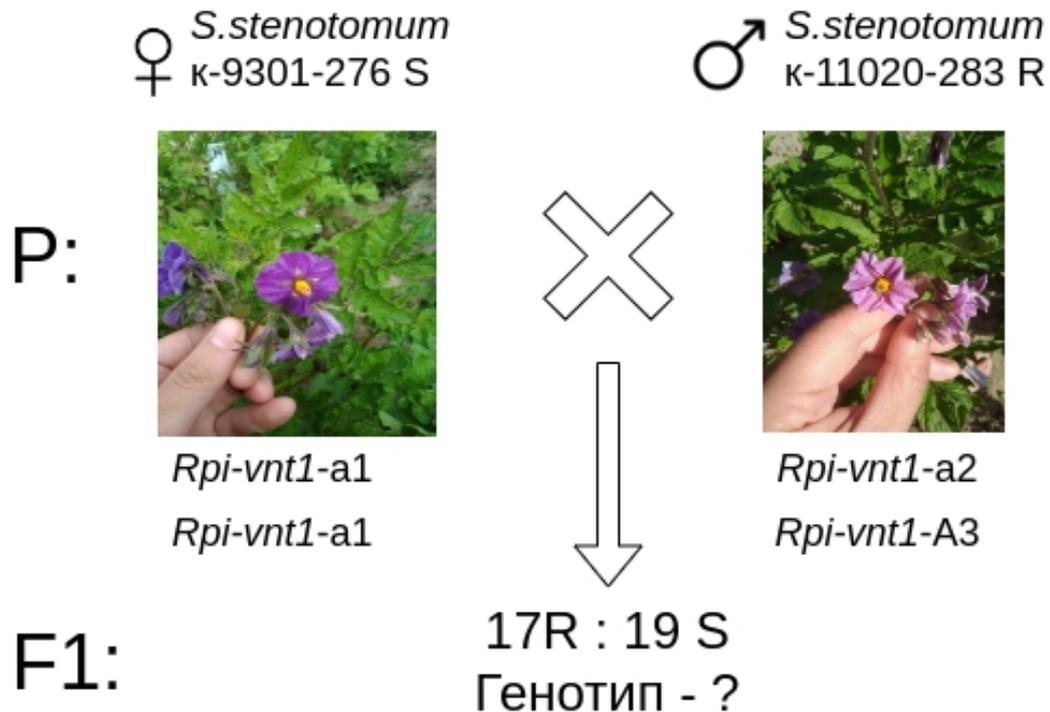


Рисунок 28. Схема скрещивания при создании популяции внутривидовых гибридов *S. stenotomum*

Для проверки расщепления по генотипу нами разработано 4 CAPS-маркера (по два на каждый фрагмент гена). Соответственно согласно данным моделирования рестрикции обработка каждой из рестриктаз отделяла один из вариантов устойчивого родителя от двух других вариантов (таблица 10). CAPS1 (*Rpi-vnt1.3-612* + *AscI*) выявлял аллельный вариант A3 (с девятинуклеотидной инсерцией), использование маркера CAPS2 (*Rpi-vnt1.3-612* + *HaeIII*), напротив в потомстве позволяло отделить генотипы, содержащие аллельный вариант a2, который не имел инсерций и делеций относительно референсной последовательности. Маркеры CAPS3 и CAPS4, разработанные на другой

маркерный фрагмент (Vnt-tail-897), также разделяли аллельные варианты *a2* и *A3*, соответственно. Последовательность *a2* этого маркерного фрагмента содержит трёхнуклеотидную инсерцию, аллельный вариант *A3* последовательности данного фрагмента не известен.

Таблица 10 – CAPS-маркеры для выявления аллельных вариантов *Rpi-vnt1* у родительских форм *S. stenotomum*

Номер CAPS-маркера	Фрагмент	Рестриктаза	Ожидаемая длина фрагментов		Диагностируемая аллель
			Другие варианты	Диагностируемый вариант (устойчивого родителя)	
CAPS1	Rpi-vnt1.3-612	AscI	299+252+30+26	367+117+76+31+30	<i>A3</i>
CAPS2	Rpi-vnt1.3-612	HaeIII	399 + 208	612	<i>a2</i>
CAPS3	Vnt-tail-897	RsaI	897	647+150	<i>a2</i>
CAPS4	Vnt-tail-897	Tru9 I	Диагностический фрагмент длиной около 350 нуклеотидов		<i>A3</i>

Примечание: Жирным шрифтом выделены диагностические фрагменты

При валидации CAPS-маркеров на популяции получено четкое разделение двух аллелей устойчивого родителя — гетерозиготного по гену *Rpi-vnt1* (Таблица 11). В результате можно идентифицировать аллели у каждого генотипа в популяции *S. stenotomum* к-9301–276 × *S. stenotomum* к-11020–283. Соответственно мы смогли соотнести варианты, полученные при использовании двух маркеров, и вычислить, как варианты разных участков гена соотносятся друг с другом. Установлено какие варианты маркерных участков являются единой последовательностью, поскольку варианты CAPS-маркеров (по одному на каждый из маркерных фрагментов) полностью совпадают. Две возможные аллели устойчивого родителя разделялись в потомстве, и в каждом генотипе из популяции идентифицирована конкретная аллель (Таблица 11).

Таблица 11 – Результаты скрининга популяции внутривидовых гибридов *S. stenotomum* при помощи CAPS-маркера

Номер клона	Полевая устойчивость			Rpi-vnt1.3-612		Vnt-tail-897	
	2021	2022	Итог	AscI	HaeIII	RsaI	Tru9 I
N1	R	R	R	un	A3a1	un	A3a1
N4	R	R	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N5	R	R	R	A3a1	un	A3a1	A3a1
N6	R	R	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N8	R	R	R	A3a1	A3a1	un	A3a1
N9	R	R	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N10	S	S	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N11	S	S	S	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N20	R	R	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N22	MR	MR	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N27	R	R	R	A3a1	A3a1	un	A3a1
N34	S	S	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N46	R	S	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N49	S	S	S	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N52	MR	R	R	A3a1	un	A3a1	A3a1
N53	MR	R	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N58	un	MR	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N59	VS	R	S	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N62	S	VS	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N64	S	VS	S	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N67	MR	R	R	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N70	S	R	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N71	R	MR	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N76	R	S	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N79	S	MR	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N87	S	MR	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N89	S	S	S	A3a1	A3a1	un	A3a1
N92	VS	VS	S	a2a1	a2a1	un	a2a1
N94	MR	MR	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N95	S	MR	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1

N100	MR	VS	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N102	VS	VS	S	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N105	R	R	R	A3a1	A3a1	A3a1	A3a1
N106	S	S	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N107	MR	S	S	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1
N113	MR	R	R	a2a1	a2a1	a2a1	a2a1

Примечание: указаны выявленные у каждого генотипа популяции аллели: *a1* — аллель восприимчивого родителя, *a2* и *A3* — аллели устойчивого родителя. Зеленым цветом выделены совпадающие, а красным - не совпадающие с полевой устойчивостью результаты (если принимать аллель *A3*, как функциональную).

Поскольку ни один из вариантов нуклеотидной последовательности устойчивого родителя не содержал явных признаков нефункциональности, то мы проверяли корреляцию устойчивости с каждым из вариантов. Проведена проверка ассоциации полевой устойчивости клонов из популяции за два года и CAPS-маркеров (таблица 12). В результате обнаружена статистически достоверная связь между наличием аллели *A3* (stn к-11020-283 вариант *A3*, на рисунке 26) и полевой устойчивостью к фитофторозу по данным двухлетнего испытания (таблица 12).

Таблица 12 – Таблица сопряженности устойчивость/аллель по CAPS-маркерам

*$\chi^2 = 9,63$ ($p < 0.05$)**	Полевая устойчивость за 2 года		
	устойчив	восприимчив	Всего
а1А3	15	6	21
а1а2	2	13	15
Всего	17	19	36

Примечания: * χ^2 подсчитывался исходя из ожидаемого распределения 1:1:1:1
 ** показано значение χ^2 с учетом поправки Йейтса (поскольку в одной из категорий менее 5 генотипов)

Выявленная связь не исключает, что устойчивость обеспечивается не этим геном, а находящимся в непосредственной близости от него. Но ввиду кластерной организации генов семейства *NLR*, к которому относится, в том числе *Rpi-vnt1*, с большой долей вероятности можно утверждать, что один из паралогов именно этого гена обеспечивает распознавание патогена *P. infestans* у *S. stenotomum* к-

11020–283.

Проверка CAPS-маркеров на расширенной выборке, включающей другие охарактеризованные по устойчивости к фитофторозу образцы ПКВ картофеля из коллекции ВИР, не дала результатов. При выборочной проверке по 26 генотипам из клоновой коллекции ВИР, в 18 случаях результат совпал с ожидаемым, но у восьми генотипов выявлено несоответствие между предполагаемым генотипом (по CAPS-маркеру) и устойчивостью. Наиболее распространённый вариант – это восприимчивый образец с профилем CAPS-маркера, соответствующим устойчивому родителю. Таким образом, вопрос о частоте кандидатной аллели среди ПКВ картофеля остаётся открытым и требует дополнительных исследований.

Заключение

В ходе исследования проведена комплексная оценка образцов клоновой коллекции ПКВ картофеля ВИР, включающая фенотипирование по морфологическим признакам, продуктивности, устойчивости к фитофторозу и ЗКН и молекулярно-генетический анализ. *In silico* проведён поиск и анализ гомологов 26 известных *R*-генов в образцах ПКВ картофеля из общедоступных баз данных. Впервые показано наличие гомологов кодирующих последовательностей генов *Ve1*, *Ve2*, *R3b*, *Rpi-ber1*, *Gro1-4*, *Gpa2*, *Rx1* у ПКВ картофеля. Проведён анализ образцов клоновой коллекции ПКВ картофеля ВИР на наличие маркеров генов устойчивости к фитофторозу и ЗКН и исследован полиморфизм последовательностей маркерных фрагментов генов *RB/Rpi-blb1*, *Rpi-vnt1* и *Gro1-4*. Впервые охарактеризованы аллельные варианты гомологов *R*-генов у представителей *S. × ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja* и *S. stenotomum* в коллекции ВИР и их отличия от референсных последовательностей этих генов. Выявлена связь одного из аллельных вариантов гена *Rpi-vnt1* с устойчивостью к фитофторозу генотипа *S. stenotomum* к-11020-283.

Выводы

- Образцы ПКВ картофеля из коллекции ВИР характеризуются большим разнообразием, включающим высокое скрытое разнообразие по морфологическим и генетическим признакам.
- Образцы из клоновой коллекции ПКВ картофеля ВИР *S. × ajanhuiri* к-9900 и к-9911; *S. goniocalyx* к-9922; *S. phureja* к-8873, к-9345, к-11547, к-16896, к-17618, к-19321 и к-23516; *S. stenotomum* к-8354, к-9778, к-11020, к-17486 перспективны для использования в селекции, в качестве источников устойчивости к фитофторозу, а образцы *S. goniocalyx* к-11080 и *S. phureja* к-8210, к-8497, к-8940, к-9402, к-17462, к-19198, к-24326 — в качестве источников устойчивости к ЗКН. Выявлена потенциальная возможность использования ПКВ картофеля в качестве источников устойчивости к вертициллёзному увяданию.

- В геномах ПКВ картофеля выявлены последовательности, гомологичные белок-кодирующим последовательностям *R*-генов, в том числе клонированным у филогенетически далёких источников – образцов диких видов картофеля.

- Различия в полиморфизме гомологов *R*-генов образцов ПКВ картофеля и общие отличия от референсной последовательности зависят от филогенетической удалённости источника исследуемого гена от культурного картофеля. Частоты аминокислотных замен не зависят от происхождения источников референсных генов, но различны для определённых доменов белков семейства CNL: минимальное количество замен (3,6–5,5%) выявлено в домене NBS, наибольшая вариабельность (более 9%) отмечена у домена LRR, частота замен в домене CC варьирует от 0 до 11%.

- В образцах ПКВ картофеля из коллекции ВИР идентифицировано несколько аллельных вариантов маркерных фрагментов гена *Rpi-vnt1*. Для образца к-11020 *S. stenotomum* показана связь одного из вариантов с устойчивостью. У образца *S. phureja* к-8873 обнаружены три последовательных делеции в LRR-домене, препятствующие функционированию гена.

- В образцах из коллекции ПКВ картофеля ВИР обнаружены различные аллельные варианты маркерных фрагментов гена *RB/Rpi-blb1*. В последовательности маркера *Rpi-sto1-890* среднеустойчивого образца *S. goniocalyx* к-9922 обнаружена двухнуклеотидная делеция, а в последовательности *Rpi-blb1-821* устойчивого генотипа *S. × ajanhuiri* к-9911 – семинуклеотидная делеция. Оба варианта явно препятствуют функционированию гена.

- У образцов видов *S. × ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. phureja*, *S. stenotomum* из коллекции ВИР выявлен полиморфизм маркерной последовательности гена *Gro1-4*. Связи каких-либо вариантов с устойчивостью ЗКН не обнаружено, но и вариантов, явно препятствующих работе гена также не выявлено.

- Разработаны CAPS-маркеры для скрининга популяции от внутривидового скрещивания *S. stenotomum* к-11020–283 × *S. stenotomum* к-9301–276 на предмет наличия аллельного варианта *Rpi-vnt1*, ассоциированного с устойчивостью.

Дальнейшие перспективы и планы исследования

Автор планирует продолжить исследование связи аллельного варианта *Rpi-vnt1.3* с устойчивостью в популяции *S. stenotomum*, продолжить исследования образцов из коллекции ВИР по другим генам, из которых *Rpi-ber1*, *R8* и, возможно, *Gpa2* и *Rx1* являются наиболее перспективными. Представляет интерес проведение *in silico* анализа на расширенной выборке, с включением диких южноамериканских видов картофеля, что позволит продвинуться вперед в познании эволюционных особенностей *R*-генов картофеля.

Перспективным направлением исследования является выявление патогенов, распознаваемых геном *Ve1*, изучение полиморфизма этого гена в более широкой выборке образцов коллекции картофеля и определение степени устойчивости, которую он может обеспечить, а также поиск новых *R*-генов семейства *RLP/RLK* у представителей ПКВ картофеля.

Список опубликованных работ

1. Гурина А. А., Алпатьева Н. В., Чалая Н.А, Мироненко Н. В., Хютти А.В, Рогозина Е. В. Гомологи генов устойчивости к фитофторозу у представителей клубнеобразующих видов рода *Solanum* L. Генетика. – 2022. – Т. 58. – № 12. – С. 1418–1430. – DOI 10.31857/S0016675822120049.
2. Рогозина Е. В., Гурина А. А. Состав коллекции примитивных культурных видов секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. и актуальные направления их исследования. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):190-202. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-3-190-202>
3. Rogozina, E.V.; Gurina, A.A.; Chalaya, N.A.; Zoteyeva, N.M.; Kuznetsova, M.A.; Beketova, M.P.; Muratova, O.A.; Sokolova, E.A.; Drobyazina, P.E.; Khavkin, E.E.

Diversity of Late Blight Resistance Genes in the VIR Potato Collection. *Plants* 2023, 12, 273. <https://doi.org/10.3390/plants12020273>

4. Рогозина Е. В., Гурина А. А. Распространение мозаичных вирусов картофеля на видах секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. в коллекции ВИР. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2023;184(2):226-234. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-2-226-234>

5. Гурина А. А., Ганчева М. С., Алпатьева Н. А., Рогозина Е. В. In silico поиск и анализ *R* генов у примитивных культурных видов картофеля. Вавиловский Журнал Генетики и селекции (в печати)

Список литературы

1. Алпатьева Н. В. ПЦР-диагностика вредных организмов гуара: (методические указания) / Н. В. Алпатьева, О. Ю. Антонова, Е. Е. Радченко, Р. А. Абдуллаев, Ю.И. Карабицина, И. Н. Анисимова; под ред. Е.К. Потокиной. – Санкт-Петербург: ВИР, 2019. – 36 с. – DOI: 10.30901/978-5-907145-44-3
2. Бавыко Н.Ф. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 519. Примитивные культурные виды картофеля Южной Америки / Н.Ф. Бавыко; под редакцией К. З. Будина. – Ленинград: ВИР, 1989. – 172 с
3. Бавыко Н.Ф. Толерантность и устойчивость к отдельным вирусам примитивных культурных видов картофеля / Н.Ф. Бавыко // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1987. – Т. 115. – С. 49–53
4. Басиев С.С. История культуры картофеля / С. С. Басиев, С. А. Бекузарова, З. А. Болиева, М. Ч. Чшиева // Вестник Владикавказского научного центра. – 2017. – Т. 17, № 1. – С. 39–45.
5. Букасов, С.М. Принципы систематики картофеля / С.М. Букасов // Труды по прикл. бот., ген. и селекции. – 1978. – Т. 62, вып. 1. – С. 3–35
6. Букасов С.М. Новая система видов картофеля / С.М. Букасов // Доклад ВАСХНИЛ. – 1970. – №6 – С. 8–9
7. Букасов С.М. Эволюция видов картофеля / С.М. Букасов // Наследственность и изменчивость растений, животных и микроорганизмов: Тезисы докл. Инта генетики АН СССР. – 1959. – Т. 2. – С. 181–188.
8. Вавилов Н. И. Иммуниетет растений к инфекционным заболеваниям / Н. И. Вавилов. – М: Изв. Петровск с.-х наук, 1919. – вып. 1–4. – С. 1–174.
9. Гавриленко, Т.А. Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты / Т. А. Гавриленко, А.П. Ермишин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Т. 21, вып. 1. – С. 16–29.
10. Горбатенко Л. Е. Виды картофеля Южной Америки (Экология, география интродукция, систематика, селекционная значимость) / Л. Е. Горбатенко – СПб: ВИР, 2006. – 456 с.
11. Гурина А. А. Гомологи генов устойчивости к фитофторозу у представителей клубнеобразующих видов рода *Solanum* L. / А. А. Гурина, Н. В. Алпатьева, Н.А. Чалая, Н. В. Мироненко, А.В. Хютти, Е. В. Рогозина // Генетика. – 2022. – Т. 58. – № 12. – С. 1418–1430. – DOI 10.31857/S0016675822120049.
12. Зыкин А. Г. Растениеводство Боливии / А. Г. Зыкин // Труды по прикл. бот., ген. и селекции. – 1973. – Т. 49, вып. 1. – С. 289–294.

13. Киру, С.Д. Мобилизация, сохранение и изучение генетических ресурсов культивируемого и дикорастущего картофеля. / С. Д. Киру, Е. В. Рогозина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Т. 21. – № 1. – С. 7–15
14. Киру, С.Д. Методические указания по поддержанию и изучению мировой коллекции картофеля / С. Д. Киру, Л. И. Костина, Э.В. Трускинов, Н. М. Зотеева, Е. В. Рогозина, Л. В. Королева, В. Е. Фомина, С.В. Палеха, О. С. Косарева, Д.А. Кирилов. – СПб.: ВИР, 2010. – 27 с.
15. Киру С. Д. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 738. Культурные виды картофеля / С. Д. Киру, Н.Ф. Бавыко, С.В. Палеха, Л. П. Евстратова. – Санкт-Петербург: ВИР; 2002. – 74 с.
16. Лехнович В.С. Культурные виды картофеля / В.С. Лехнович // Культурная Флора СССР. Т. 9. Картофель – Л.: Колос, 1971. – С. 41–304.
17. Рогозина Е. В. Распространение мозаичных вирусов картофеля на видах секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L. в коллекции ВИР / Е. В. Рогозина, А. А. Гурина // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2023. – Т. 184. – №2. – С. 226–234. – <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-2-226-234>
18. Хютти А.В. Устойчивость к возбудителям фитофтороза и глободероза современного сортимента семенного картофеля и его фитосанитарное состояние в различных агроклиматических зонах европейской части России / А.В. Хютти, Д. А. Рыбаков, Т. А. Гавриленко, О. С. Афанасенко // Вавил. журн. генетики и селекции. – 2020. – Т. 24. – № 4. – С. 363–375. – <https://doi.org/10.18699/VJ20.629>
19. Юзепчук, С.В. К вопросу о происхождении картофеля. Изучение культурных растений / С.В. Юзепчук, С.М. Букасов // Труды Всесоюз. съезда по генетике, селекции, семеноводству и плем. животноводству. – 1929. – № 3. – С. 593–611.
20. Яковлева В. А. Положение о порядке испытания картофеля на устойчивость к возбудителю рака картофеля (патотип I) и золотистой картофельной цистообразующей нематоды (патотип Ro1). / В. А. Яковлева, А.Б. Долягин – М.: МСХ, 1993. – 12 с
21. Achakkagari, S. R. Genome sequencing of adapted diploid potato clones / S.R. Achakkagari, M. Kyriakidou, K.M. Gardner, D. De Koeeyer, H. De Jong, M.V. Strömvik, H.H. Tai // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – 13. – <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.954933>
22. Adachi, H. An N-terminal motif in NLR immune receptors is functionally conserved across distantly related plant species / H. Adachi, M. Contreras, A. Harant,

C.H. Wu, L. Derevnina, T. Sakai, C. Duggan, E. Moratto, T.O. Bozkurt, A. Maqbool, J. Win, S. Kamoun // *Elife*. – 2019a. – 8. – <https://doi.org/10.7554/ELIFE.49956>

23. Adachi, H. NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants / H. Adachi, L. Derevnina, S. Kamoun // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2019b. – 50. – P. 121–131. – <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2019.04.007>

24. Ahmadvand R. Potato viruses and resistance genes in potato / R. Ahmadvand, A. Takács, J. Taller, I. Wolf, Z. Polgár // *Acta Agronomica Hungarica*. – 2012. – V.60. – № 3. – P. 283–298. doi: [10.1556/AAgr.60.2012.3.10](https://doi.org/10.1556/AAgr.60.2012.3.10)

25. Altamirano, R. A. M. (2011). Potato landraces: description and dynamics in three areas of Ecuador: Ph.D. thesis / R.A.M. Altamirano // Wageningen University. – Netherlands. – 2011

26. Álvarez, M. F. Identification of novel associations of candidate genes with resistance to late blight in *Solanum tuberosum* Group Phureja / M.F. Álvarez, M. Angarita, M.C. Delgado, C. García, J. Jiménez-Gomez, C. Gebhardt, T. Mosquera // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – V. 8. – <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01040/FULL>

27. Andersen, E. J. Disease Resistance Mechanisms in Plants / E.J. Andersen, S. Ali, E. Byamukama, Y. Yen, M.P. Nepal // *Genes*. – 2018. – Vol. 9. – №7. – <https://doi.org/10.3390/GENES9070339>

28. Andersen, E. J. Diversity and evolution of disease resistance genes in barley (*Hordeum vulgare* L.) / E.J. Andersen, S. Ali, R. Neil Reese, Y. Yen, S. Neupane, M.P. Nepal // *Evolutionary Bioinformatics*. – 2016. – Vol. 12. – P. 99–108. – <https://doi.org/10.4137/EBO.S38085/>

29. Armstrong, M. R. Tracking disease resistance deployment in potato breeding by enrichment sequencing / M.R. Armstrong, J. Vossen, T.Y. Lim, R.C.B. Hutten, J. Xu, S.M. Strachan, B. Harrower, N. Champouret, E.M. Gilroy, I. Hein // *Plant Biotechnology Journal*. – 2019. – Vol. 17. – 2. – P. 540–549. <https://doi.org/10.1111/PBI.12997>

30. Aversano, R. The *Solanum commersonii* Genome Sequence Provides Insights into Adaptation to Stress Conditions and Genome Evolution of Wild Potato Relatives / R. Aversano, F. Contaldi, M.R. Ercolano, V. Grosso, M. Iorizzo, F. Tatino, L. Xumerle, A. Dal, C. Avanzato, A. Ferrarini, M. Delledonne, W. Sanseverino, R.A. Cigliano, S. Capella-Gutierrez, T. Gabaldón, L. Frusciante, J.M. Bradeen, D. Carputo // *The Plant Cell*. – 2015. – Vol. 27. – P. 954–968. – <https://doi.org/10.1105/tpc.114.135954>

31. Baker, H. NemaTaxa: A new taxonomic database for analysis of nematode community data / H. Baker, J. Ibarra Caballero, C. Gleason, C. Jahn, C. Hesse, J.E. Stewart, I. Zasada // *Phytobiomes Journal*. – 2023. – <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-07-22-0042-R>

32. Bakker, E. A high-resolution map of the *H1* locus harboring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* / E. Bakker, U. Achenbach, J. Bakker, J. Van Vliet, J. Peleman, B. Segers, S. Van Der Heijden, P. Van Der Linde, R. Graveland, R. Hutten, H. Van Eck, E. Coppoolse, E. Van Der Vossen, J. Bakker, A. Goverse // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2004. – Vol. 109. – № 1. – P.146–152. – <https://doi.org/10.1007/S00122-004-1606-Z/FIGURES/3>

33. Ballvora, A. The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes / A. Ballvora, M.R. Ercolano, J. Weiß, K. Meksem, C.A. Bormann, P. Oberhagemann, F. Salamini, C. Gebhardt // *The Plant Journal*. – 2002. – Vol. 30. – №3. – P. 361–371. – <https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.2001.01292.X>

34. Bao, Z. Genome architecture and tetrasomic inheritance of autotetraploid potato / Z. Bao, C. Li, G. Li, P. Wang, Z. Peng, L. Cheng, H. Li, Z. Zhang, Y. Li, W. Huang, M. Ye, D. Dong, Z. Cheng, P. Vander Zaag, E. Jacobsen, C.W.B. Bachem, S. Dong, C. Zhang, S. Huang, Q. Zhou // *Molecular Plant*. – 2022. – Vol. 15. – № 7. – P. 1211–1226. – <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2022.06.009>

35. Beketova, M.P. The *R1* gene for late blight resistance in early and late maturing potato cultivars / M.P. Beketova, P.E. Drobyazina, E.E. Khavkin // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2006. – Vol. 53. – № 3. – P. 384–389. – <https://doi.org/10.1134/S1021443706030149>

36. Bendahmane, A. Constitutive gain-of-function mutants in a nucleotide binding site–leucine rich repeat protein encoded at the *Rx* locus of potato / A. Bendahmane, G. Farnham, P. Moffett, D.C. Baulcombe // *The Plant Journal*. – 2002. – Vol. 32. – № 2. – P. 195–204. – <https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.2002.01413.X>

37. Bendahmane, A. The *Rx* Gene from Potato Controls Separate Virus Resistance and Cell Death Responses / A. Bendahmane, K. Kanyuka, D.C. Baulcombe // *The Plant Cell*. – 1999. – Vol. 11. – P. 781–791

38. Bendahmane, A. The coat protein of potato virus X is a strain-specific elicitor of *Rx1*-mediated virus resistance in potato / A. Bendahmane, B.A. Köhm, C. Dedi, D.C. Baulcombe // *The Plant Journal*. – 1995. – Vol. 8. – № 6. – P. 933–941. – <https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.1995.8060933.X>

39. Bentham, A. R. Uncoiling CNLs: Structure/Function Approaches to Understanding CC Domain Function in Plant NLRs / A.R. Bentham, R. Zdrzalek, J.C. De la Concepcion, M.J. Banfield // *Plant and Cell Physiology*. – 2018. – Vol. 59. – № 12. – P. 2398. <https://doi.org/10.1093/PCP/PCY185>

40. Bi, G. The *ZAR1* resistosome is a calcium-permeable channel triggering plant immune signaling / G. Bi, M. Su, N. Li, Y. Liang, S. Dang, J. Xu, M. Hu, J. Wang, M. Zou, Y. Deng, Q. Li, S. Huang, J. Li, J. Chai, K. He, Y. Chen, J.M. Zhou // *Cell*. – 2021. – Vol. 184. – № 13. – P. 3528-3541. – <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.05.003>

41. Blossei, J. Late blight resistance in wild potato species—Resources for future potato (*Solanum tuberosum*) breeding / J. Blossei, R. Gäbelein, T. Hammann, R. Uptmoor // *Plant Breeding*. – 2022. – Vol. 141. – №3. – P. 314–331. – <https://doi.org/10.1111/pbr.13023>

42. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A.M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // *Bioinformatics*. – 2014. – Vol. 30. – № 15. – P. 2114. – <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU170>

43. Bonierbale, M. W. RFLP Maps Based on a Common Set of Clones Reveal Modes of Chromosomal Evolution in Potato and Tomato / M.W. Bonierbale, R.L. Plaisted, S.D. Tanksley // *Genetics*. – 1988. – Vol. 120. – № 4. – P. 1095-103. – doi: 10.1093/genetics/120.4.1095.

44. Borrelli, G. M. Regulation and evolution of NLR genes: A close interconnection for plant immunity / G.M. Borrelli, E. Mazzucotelli, D. Marone, C. Crosatti, V. Michelotti, G. Valè, A.M. Mastrangelo // *In International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19. – Issue 6. – <https://doi.org/10.3390/ijms19061662>

45. Boutrot, F. Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance / F. Boutrot, C. Zipfel // *Annu Rev Phytopathol*. – 2017. – Vol. 4. – Issue 55. – P. 257-286. – doi:10.1146/annurev-phyto-080614-120106.

46. Bradeen, J. M. Genetics, genomics and breeding of potato / Bradeen, J. M; edited by M. James, C. Kole. – Boca Raton: CRC Press, 2011. – 326 p.

47. Bradshaw, J. E. Potato breeding at the Scottish plant breeding station and the Scottish crop research institute: 1920-2008 / J.E. Bradshaw // *Potato Research*. – 2009. – Vol. 52. – Issue 2. – P. 141–172. – <https://doi.org/10.1007/s11540-009-9126-5>

48. Bradshaw, J. E. QTL mapping of yield, agronomic and quality traits in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) / J.E. Bradshaw, C.A. Hackett, B. Pande,

R. Waugh, G.J. Bryan // Theoretical and Applied Genetics. – 2008. – Vol. 116. – Issue 2. – P. 193–211. – <https://doi.org/10.1007/S00122-007-0659-1/TABLES/5>

49. Bradshaw, J.E. Inheritance of resistance to nematodes / J.E. Bradshaw, G.R. Mackay // Potato Genetics, CAB International. - Wallingford, UK, 1998. - P. 319-337.

50. Brown, C. R. RFLP analysis of resistance to Columbia root-knot nematode derived from *Solanum bulbocastanum* in a BC2 population / C.R. Brown, C.P. Yang, H. Mojtahedi, G.S. Santo, R. Masuelli // Theoretical and Applied Genetics. – 1996. – Vol. 92. – Issue 5. – P. 572–576. – <https://doi.org/10.1007/BF00224560>

51. Brush, S. B. Farmers' Bounty: Locating Crop Diversity in the Contemporary World / S.B. Brush. – New Haven: CT, 2004. – <https://doi.org/10.12987/YALE/9780300100495.001.0001>

52. Bryan, G. J. Mapping QTLs for resistance to the cyst nematode *Globodera pallida* derived from the wild potato species *Solanum vernei* / G.J. Bryan, K. McLean, J.E. Bradshaw, W.S. De Jong, M. Phillips, L. Castelli, R. Waugh // Theoretical and Applied Genetics. – 2002. – Vol. 105. – Issue 1. – P. 68–77. – <https://doi.org/10.1007/S00122-002-0873-9/METRICS>

53. Bryan, G. J. Genetical dissection of *H3*-mediated polygenic PCN resistance in a heterozygous autotetraploid potato population / G.J. Bryan, K. Mclean, B. Pande, A. Purvis, C.A. Hackett, J.E. Bradshaw, R. Waugh // Molecular Breeding. – 2004. – Vol. 14. – P. 105–116

54. Brylińska, M. Laboratory assessment of potato resistance to *Phytophthora infestans* / M. Brylińska, J. Śliwka // Plant Breeding and Seed Science. – 2017. – Vol. 76. – P. 17-23.

55. Burdett, H. The Plant “Resistosome”: Structural Insights into Immune Signaling / H. Burdett, A.R. Bentham, S.J. Williams, P.N. Dodds, P.A. Anderson, M.J. Banfield, B. Kobe // Cell Host & Microbe. – 2019. – Vol. 26. – Issue 2. – P. 193–201. – <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2019.07.020>

56. Burgos, G. Ascorbic acid concentration of native Andean potato varieties as affected by environment, cooking and storage / G. Burgos, S. Auqui, W. Amoros, E. Salas, M. Bonierbale // Journal of Food Composition and Analysis. – 2009. – Vol. 22. – Issue 6. – P. 533–538. – <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2008.05.013>

57. Calliope, S. R. Biodiversity of Andean potatoes: Morphological, nutritional and functional characterization / S.R. Calliope, M.O. Lobo, N.C. Sarmán // Food Chemistry. – 2018. – Vol. 238. – P. 42–50. – <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.12.074>

58. Campbell, C.L. Introduction to Plant Disease Epidemiology / C.L. Campbell, L.V. Madden. – New York: Wiley & Sons, 1990. – 560 p.
59. Chavez, R. The importance of wild potato species resistant to the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, pathotypes P4A and P5A, in potato breeding. I. Resistance studies / R. Chavez, M.T. Jackson, P.E. Schmiediche, J. Franco // *Euphytica*. – 1988. – Vol. 37. – P.15-22
60. Christiansen, J. The Utilization of Bitter Potatoes to Improve Food Production in the High Altitude of the Tropics: Ph.D. thesis / J. Christiansen; Cornell University. – Ithaca, NY. – 1977
61. Cipar, M. S. Variability in the expression of self-incompatibility in tuber-bearing diploid *Solanum species* / M.S. Cipar, S.J. Peloquin, R.W. Hougas // *American Potato Journal*. – 1964. – Vol. 41. – Issue 6. – P. 155–162. – <https://doi.org/10.1007/BF02855317/METRICS>
62. Coll, N. S. Programmed cell death in the plant immune system / N.S. Coll, P. Epple, J.L. Dangl // *Cell Death and Differentiation*. – 2011. – Vol. 18. – Issue 8. – P. 1247–1256. – <https://doi.org/10.1038/CDD.2011.37>
63. Collier, S. M. Cell Death Mediated by the N-Terminal Domains of a Unique and Highly Conserved Class of NB-LRR Protein / S.M. Collier, L.P. Hamel, P. Moffett // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2011. – Vol. 24. – Issue 8. – P. 918–931. – <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-11-0050>
64. Concibido', V. C. Evaluation of resistance to verticillium wilt in diploid, wild potato interspecific hybrids / V.C. Concibido, G.A. Secor, S.H. Jansky // *Euphytica*. – 1994. – Vol. 76. – P. 145-152
65. Correll, D.C. The potato and its wild relatives / D.C. Correll // *American Potato Journal*. – 1962. – Vol. 39. – Issue 12. – 471 p. – <https://doi.org/10.1007/BF02861992>
66. Costanzo, S. QTL analysis of late blight resistance in a diploid potato family of *Solanum phureja* x *S. stenotomum* / S. Costanzo, I. Simko, B.J. Christ, K.G. Haynes // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2005. – Vol. 111. – Issue 3. – P. 609–617. – <https://doi.org/10.1007/S00122-005-2053-1>
67. De Haan, S. The Nutritional Contribution of Potato Varietal Diversity in Andean Food Systems: A Case Study / S. de Haan, G. Burgos, R. Liria, F. Rodriguez, H.M. Creed-Kanashiro, M. Bonierbale // *American Journal of Potato Research*. – 2019. – Vol. 96. – Issue 2. – P. 151–163. – <https://doi.org/10.1007/S12230-018-09707-2/TABLES/5>

68.De Haan, S. Potato origin and production / S. De Haan, F. Rodriguez // *Advances in potato chemistry and technology*; 2nd ed. – Elsevier Science Publishing Co. Inc., 2016. – 1–32 pp.

69.De Oliveira, A. S. Cell death triggering and effector recognition by Sw-5 SD-CNL proteins from resistant and susceptible tomato isolines to Tomato spotted wilt virus / A.S. De Oliveira, I. Koolhaas, L.S. Boiteux, O.F. Caldararu, A.J. Petrescu, R.O. Resende, R. Kormelink // *Molecular Plant Pathology*. – 2016. – Vol 17. – Issue 9. – P. 1442. <https://doi.org/10.1111/MPP.12439>

70.Dellaert, L.M.W. Resistance to potato cyst nematodes *Globodera spp.*, in wild and primitive *Solanum species* / L.M.W. Dellaert, R. Hoekstra // *Potato Research*. – 1987. – Vol. 30. – Issue 4. – P. 579–587. – <https://doi.org/10.1007/BF02367639>

71.Depotter, J.R.L. *Verticillium longisporum*, the invisible threat to oilseed rape and other brassicaceous plant hosts / J.R.L. Depotter, S. Deketelaere, P. Inderbitzin, A.V. Tiedemann, M. Höfte, K.V. Subbarao, T.A. Wood, B.P.H.J. Thomma // *Molecular Plant Pathology*. – 2016. – Vol. 17. – Issue 7. – P. 1004. – <https://doi.org/10.1111/MPP.12350>

72.Dodds, K. S. (1962). The genetic system of cultivated diploid potatoes / K.S. Dodds, G.J. Paxman // *Evolution*. – 1962. – Vol. 16. – Issue 2. – P. 154–167. – <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1962.tb03208.x>

73.Duan, Y. Late Blight Resistance Evaluation and Genome-Wide Assessment of Genetic Diversity in Wild and Cultivated Potato Species / Y. Duan, S. Duan, J. Xu, J. Zheng, J. Hu, X. Li, B. Li, G. Li, L. Jin // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 12. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.710468>

74.Dufayard, J. F. New Insights on Leucine-Rich Repeats Receptor-Like Kinase Orthologous Relationships in Angiosperms / J.F. Dufayard, M. Bettembourg, I. Fischer, G. Droc, E. Guiderdoni, C. Périn, N. Chantret, A. Diévert // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – Vol. 8. – <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.00381>

75.Dunnett, J. Inheritance of resistance to potato root eelworm in a breeding line stemming from *Solanum multidissectum* Hawkes / J. Dunnet // *Report of the Scottish Plant Breeding Station*. – 1960. – P. 39–46

76.El Kasmi, F. How activated *NLRs* induce anti-microbial defenses in plants / F. El Kasmi // *Biochemical Society Transactions*. – 2021. – Vol. 49. – Issue 5. – P. 2177. – <https://doi.org/10.1042/BST20210242>

77.FAO. Land use statistics and indicators. Global, regional and country trends, 2000–2020 / FAO // *FAOSTAT Analytical Brief*. – 2020. – no. 48.

78.Fewell, A. M. Potato glycoalkaloid impairment of fungal development / A.M.

Fewell, J.G. Roddick // *Mycological Research*. – 1997. – Vol. 101. – Issue 5. – P. 597–603. – <https://doi.org/10.1017/S0953756296002973>

79.Flor, H. H. Current Status of the Gene-For-Gene Concept / H.H. Flor // *Annual Review of Phytopathology*. – 1971. – Vol. 9. – Issue 1. – P. 275–296. – <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PY.09.090171.001423>

80.Fock, I. Use of *Solanum stenotomum* for introduction of resistance to bacterial wilt in somatic hybrids of potato / I. Fock, C. Collonnier, J. Luisetti, A. Purwito, V. Souvannavong, F. Vedel, A. Servaes, A. Ambroise, H. Kodja, G. Ducreux, D. Sihachakr // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2001. – Vol. 39. – Issue 10. – P. 899–908. – [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(01\)01307-9](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01307-9)

81.Fock, I. Resistance to bacterial wilt in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum phureja* / I. Fock, C. Collonnier, A. Purwito, J. Luisetti, V. Souvannavong, F. Vedel, A. Servaes, A. Ambroise, H. Kodja, G. Ducreux, D. Sihachakr // *Plant Science*. – 2000. – Vol. 160. – Issue 1. – P. 165–176. – [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00375-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00375-7)

82.Foster, S. J. *Rpi-vnt1.1*, a *Tm-2²* Homolog from *Solanum venturii*, Confers Resistance to Potato Late Blight / S.J. Foster, T.H. Park, M. Pel, G. Brigneti, J. Sliwka, L. Jagger, E. Van Der Vossen, J.D.G. Jones // *Mol Plant Microbe Interact*. – 2009. – Vol. 22. – Issue 5. – P. 589-600. – doi: 10.1094/MPMI-22-5-0589.

83.Gabriel, J. Characterization of the resistance to *Phytophthora infestans* in local potato cultivars in Bolivia / J. Gabriel, A. Coca, G. Plata, J.E. Parlevliet // *Euphytica*. – 2007. – Vol. 153. – Issue 3. – P. 321–328. – <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9237-x>

84.Gabriel, J. *Solanum phureja* Juz et Buk.: Valuable Source of Genetic Resistance to Potato Late Blight [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] / J. Gabriel, G. Plata, X. Cadima, J. Franco // *Revista Latinoamericana de La Papa*. – 2013. – Vol. 17. – P. 131–142

85.Gaiero, P. Comparative analysis of repetitive sequences among species from the potato and the tomato clades / P. Gaiero, M. Vaio, S.A. Peters, M.E. Schranz, H. De Jong, P.R. Speranza // *Annals of Botany*. – 2019. – Vol. 123. – Issue 3. – P. 521–532. – <https://doi.org/10.1093/aob/mcy186>

86.Galvis-Tarazona, D. Y. Cultural and ethnobotanical legacy of native potatoes in Colombia / D.Y. Galvis-Tarazona, Z.Z. Ojeda-Pérez, D.M. Arias-Moreno // *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. – 2022. – Vol. 18. – Issue 1. – P. 1–12. – <https://doi.org/10.1186/S13002-022-00557-1/FIGURES/6>

87.Gartner, U. Resisting Potato Cyst Nematodes with Resistance / U. Gartner, I. Hein, L.H. Brown, X. Chen, S. Mantelin, S.K. Sharma, L.M. Dandurand, J.C. Kuhl, J.T.

Jones, G.J. Bryan, V.C. Blok // In *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 12. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.661194>

88.Gavrilenko, T. A. Phenotypic and DNA marker-assisted characterization of Russian potato cultivars for resistance to potato cyst nematodes / T.A. Gavrilenko, A.V. Khiutti, N.S. Klimenko, O.Y. Antonova, N.A. Fomina, O.S. Afanasenko // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11. – Issue 12. – <https://doi.org/10.3390/agronomy11122400>

89.Gavrilenko, T. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism / T.A. Gavrilenko, O.Y. Antonova, A. Shuvalova, E. Krylova, N.V. Alpatyeva, D.M. Spooner, L. Novikova // *Genet Resour Crop Evol.* – 2013. – Vol. 60. – P. 1997–2015. – <https://doi.org/10.1007/s10722-013-9968-1>

90.Gebhardt, C. II.8 Potato Genetics: Molecular Maps and More / C. Gebhardt // *Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement*. – Springer: 2004. – P. 215–227

91.Gebhardt, C. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato / C. Gebhardt, D. Bellin, H. Henselewski, W. Lehmann, J. Schwarzfischer, J.P.T. Valkonen // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2006. – Vol. 112. – Issue 8. – P. 1458–1464. – <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0248-8>

92.Gebhardt, C. Identification of RFLP markers closely linked to the *HI* gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato / C. Gebhardt, D. Mugniery, E. Ritter, E. Salamini, E. Bonnel // *Theor Appl Genet.* – 1993. – Vol. 85

93.Gebhardt, C. RFLP maps of potato and their alignment with the homoeologous tomato genome / C. Gebhardt, E. Ritter, A. Barone, T. Debener, B. Walkemeier, U. Schachtschabel, H. Kaufmann, R.D. Thompson, M.W. Bonierbale, M.W. Ganal, S.D. Tanksley, F. Salamini // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1991. – Vol. 83. – Issue 1. – P. 49–57. – <https://doi.org/10.1007/BF00229225>

94.Gebhardt, C. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum* / C. Gebhardt, E. Ritter, T. Debener, U. Schachtschabel, B. Walkemeier, H. Uhrig, F. Salamini // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1989. – Vol. 78. – Issue 1. – P. 65–75

95.Gibbs, A. J. The Prehistory of Potyviruses: Their Initial Radiation Was during the Dawn of Agriculture / A.J. Gibbs, K. Ohshima, M.J. Phillips, M.J. Gibbs // *PLoS ONE*. – 2008. – Vol. 3. – Issue 6. – <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0002523>

96.Goodell, J. J. Interrelations Between Potato Virus X, *Verticillium dahliae*, and *Colletotrichum atramentarium* in Potato / J.J. Goodell // *Phytopathology*. – 1982. – Vol. 72. – Issue 6. – P. 631. – <https://doi.org/10.1094/PHYTO-72-631>

97.Grech-Baran, M. Extreme resistance to Potato virus Y in potato carrying the *Ry sto* gene is mediated by a *TIR-NLR* immune receptor / M. Grech-Baran, K. Witek, K.

Szajko, A.I. Witek, K. Morgiewicz, I. Wasilewicz-Flis, H. Jakuczun, W. Marczewski, J.D.G. Jones, J. Hennig // *Plant Biotechnology Journal*. – 2020. – Vol. 18. – Issue 3. – P. 655. – <https://doi.org/10.1111/PBI.13230>

98. Gupta, P. Comparative analysis of contextual bias around the translation initiation sites in plant genomes / P. Gupta, L. Rangan, T.V. Ramesh, M. Gupta // *Journal of Theoretical Biology*. – 2016. – Vol. 404. – P. 303–311. – <https://doi.org/10.1016/J.JTBI.2016.06.015>

99. Haas, B. J. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* / B.J. Haas, S. Kamoun, M.C. Zody, R.H.Y. Jiang, R.E. Handsaker, L.M. Cano, M. Grabherr, C.D. Kodira, S. Raffaele, T. Torto-Alalibo, T.O. Bozkurt, A.M.V. Ah-Fong, L. Alvarado, V.L. Anderson, M.R. Armstrong, A. Avrova, L. Baxter, J. Beynon, P.C. Boevink, C. Nusbaum // *Nature*. – 2009. – Vol. 461. – Issue 7262. – P. 393–398. – <https://doi.org/10.1038/nature08358>

100. Haesaert, G. Transformation of the potato variety Desiree with single or multiple resistance genes increases resistance to late blight under field conditions / G. Haesaert, J.H. Vossen, R. Custers, M. De Loose, A. Haverkort, B. Heremans, R. Hutten, G. Kessel, S. Landschoot, B. Van Droogenbroeck, R.G.F. Visser, G. Gheysen // *Crop Protection*. – 2015. – Vol. 77. – P. 163–175. – <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2015.07.018>

101. Hardigan, M. A. Taxonomy and Genetic Differentiation among Wild and Cultivated Germplasm of *Solanum* sect. Petota / M.A. Hardigan, J. Bamberg, C.R. Buell, D.S. Douches // *The Plant Genome*. – 2015. – Vol. 8. – Issue 1. – <https://doi.org/10.3835/PLANTGENOME2014.06.0025>

102. Hardigan, M. A. Genome diversity of tuber-bearing *Solanum* uncovers complex evolutionary history and targets of domestication in the cultivated potato / M.A. Hardigan, F.P.E. Laimbeer, L. Newton, E. Crisovan, J.P. Hamilton, B. Vaillancourt, K. Wiegert-Rininger, J.C. Wood, D.S. Douches, E.M. Farré, R.E. Veilleux, C.R. Buell // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2017. – Vol. 114. – Issue 46. – P. E9999–E10008. – <https://doi.org/10.1073/pnas.1714380114>

103. Harlan, J. R. Toward a rational classification of cultivated plants / J.R. Harlan, J.M.J. de Wet // *TAXON*. – 1971. – Vol. 20. – Issue 4. – P. 509–517. – <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/1218252>

104. Haverkort, A. J. Durable Late Blight Resistance in Potato Through Dynamic Varieties Obtained by Cisgenesis: Scientific and Societal Advances in the DuRPh Project / A.J. Haverkort, P.M. Boonekamp, R. Hutten, E. Jacobsen, L.A.P. Lotz, G.J.T. Kessel, J.H. Vossen, R.G.F. Visser // *Potato Research*. – 2016. – Vol. 59. – Issue

1. – P.35–66. – <https://doi.org/10.1007/s11540-015-9312-6>

105. Hawkes, J. G. Taxonomic studies on the tuber-bearing *Solanum*. 1: *Solanum tuberosum* and tetraploid species complex / J.G. Hawkes // Proceedings of the Linnean Society of London. – 1956. – Vol. 166. – Issue 1–2. – P. 97–144. – <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1956.tb00754.x>

106. Hawkes, J. G. The Potato: Evolution, biodiversity and genetic resources / J.G. Hawkes // England: Belhaven Press, 1990. – 259 pp.

107. Hawkes, J. G., & Hjerting, J. P. (1989). The Potatoes of Bolivia: Their Breeding Value and Evolutionary Relationships / J.G. Hawkes, J.P. Hjerting // Oxford: Oxford University Press, 1989. – 472 pp.

108. Hawkes J. G. Origins of cultivated potatoes and species relationships / J.G. Hawkes // Potato genetics. – 1994. – C. 3-42.

109. Helgeson, J. P. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight / Helgeson, J. P., Pohlman, J. D., Austin, S., Haberlach, G. T., Wielgus, S. M., Ronis, D., Zambolim, L., Tooley, P., McGrath, J. M., James, R. V, & Stevenson, W. R. // Theoretical and Applied Genetics. – 1998. – Vol. 96. – Issue 6. – P. 738–742. – <https://doi.org/10.1007/s001220050796>

110. Hoopes, G. Phased, chromosome-scale genome assemblies of tetraploid potato reveal a complex genome, transcriptome, and predicted proteome landscape underpinning genetic diversity / G. Hoopes, X. Meng, J.P. Hamilton, S.R. Achakkagari, F. de Alves Freitas Guesdes, M.E. Bolger, J.J. Coombs, D. Esselink, N.R. Kaiser, L. Kodde, M. Kyriakidou, B. Lavrijssen, N. van Lieshout, R. Shereda, H.K. Tuttle, B. Vaillancourt, J.C. Wood, J.M. de Boer, N. Bornowski, R. Finkers // Molecular Plant. – 2022. – Vol. 15. – Issue 3. – P. 520–536. – <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2022.01.003>

111. Horsefield, S. NAD⁺ cleavage activity by animal and plant TIR domains in cell death pathways / S. Horsefield, H. Burdett, X. Zhang, M.K. Manik, Y. Shi, J. Chen, T. Qi, J. Gilley, J.S. Lai, M.X. Rank, L.W. Casey, W. Gu, D.J. Ericsson, G. Foley, R.O. Hughes, T. Bosanac, M. Von Itzstein, J.P. Rathjen, J.D. Nanson, B. Kobe // Science. – 2019. – Vol. 365. – Issue 6455. – P. 793–799. – <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX1911>

112. Huamán, Z. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. Petota) / Z. Huamán, D.M. Spooner // American Journal of Botany. – 2002. – Vol. 89. – Issue 6. – P. 947–965. – <https://doi.org/10.3732/ajb.89.6.947>

113. Huamán, Z. *Solanum ajanhuiri*: An important diploid potato cultivated in the andean altiplano / Z. Huamán, J.G. Hawkes, P.R. Rowe // Econ Bot. – 1980. – Vol. 34. – P. 335–343 <https://doi.org/10.1007/BF02858307>

114. Huang, J. Structure and function analysis of a *CC-NBS-LRR* protein AT1G12290 / J. Huang, X. Wu, K. Sun, Z. Gao // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2021. – Vol. 534. – P. 206–211. – <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2020.11.111>
115. Huang, S. *NLR* signaling in plants: from resistosomes to second messengers / S. Huang, A. Jia, S. Ma, Y. Sun, X. Chang, Z. Han, J. Chai // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2023. – Vol. 48. – Issue 9. – P. 776–787. – <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2023.06.002>
116. Huang, S. Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato / S. Huang, E.A.G. Van Der Vossen, H. Kuang, V.G.A. Vleeshouwers, N. Zhang, T.J.A. Borm, H.J. Van Eck, B. Baker, E. Jacobsen, R.G.F. Visser // *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*. – 2005. – Vol. 42. – Issue 2. – P. 251–261. – <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2005.02365.X>
117. Jansky, S. H. Multiple Disease Resistance in Interspecific Hybrids of Potato / S.H. Jansky, D.I. Rouse // *Plant Disease*. – 2003. – Vol. 87. – Issue 3. – P. 266–272. – <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.3.266>
118. Jansky, S. H. A Test of Taxonomic Predictivity: Resistance to Early Blight in Wild Relatives of Cultivated Potato / S.H. Jansky, R. Simon, D.M. Spooner // *Phytopathology*. – 2008. – Vol. 98. – Issue 6. – P. 680–7. – doi: 10.1094/PHYTO-98-6-0680.
119. WO/2009/013468A2, 2009. Late blight resistance genes and methods: 2009 / Jones JDG, Foster S, Chu Z, Park T, Van der Vossen E, Pel M, Visser R
120. Jones, J. D. G. An introduction to plant disease epidemiology / J. D.G. Jones // *The Epidemiology of Plant Diseases*. – Netherlands: Springer, 1998. – P. 3–13. – https://doi.org/10.1007/978-94-017-3302-1_1
121. Jones, J. D. G. The plant immune system / J.D.G. Jones, J.L. Dangl, J. L. // *Nature*. – 2006. – Vol. 444. – Issue 7117. – P. 323–329. – <https://doi.org/10.1038/nature05286>
122. Jones, J. D. G. Elevating crop disease resistance with cloned genes / J.D.G. Jones, K. Witek, W. Verweij, F. Jupe, D. Cooke, S. Dorling, L. Tomlinson, M. Smoker, S. Perkins, S. Foster // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2014. – Vol. 369. – P. 1639. – <https://doi.org/10.1098/RSTB.2013.0087>
123. Joshi, C. P. Context sequences of translation initiation codon in plants / C.P. Joshi, H. Zhou, X. Huang, V.L. Chiang // *Plant Molecular Biology*. – 1997. – Vol. 35. – Issue 6. – P. 993–1001. – <https://doi.org/10.1023/A:1005816823636>
124. Jubic, L. M. Help wanted: helper *NLRs* and plant immune responses / L.M.

Jubic, S. Saile, O.J. Furzer, F. El Kasmi, J.L. Dangl // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2019. – Vol. 50. – P. 82–94. – <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2019.03.013>

125. Jupe, F. Identification and localization of the *NB-LRR* gene family within the potato genome / F. Jupe, L. Pritchard, G.J. Etherington, K. Mackenzie, P.J.A. Cock, F. Wright, S.K. Sharma, D. Bolser, G.J. Bryan, J.D.G. Jones, I. Hein // *BMC Genomics*. – 2012. – Vol. 13. – Issue 1. – P. 75. – <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-75>

126. Kamoun, S. Receptor networks underpin plant immunity / S. Kamoun, C.H. Wu, L. Derevnina // *Science*. – 2018. – Vol. 360. – Issue 6395. – P. 1300–1301. – <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAT2623>

127. Kardile, H. B. Molecular Approaches to Overcome Self-Incompatibility in Diploid Potatoes / H.B. Kardile, S. Yilma, V. Sathuvalli // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – Issue 10. – <https://doi.org/10.3390/PLANTS11101328>

128. Khiutti, A. Characterization of resistance to *Synchytrium endobioticum* in cultivated potato accessions from the collection of Vavilov Institute of Plant Industry / A. Khiutti, O. Afanasenko, O. Antonova, O. Shuvalov, L. Novikova, E. Krylova, N. Chalaya, N. Mironenko, D.M. Spooner, T. Gavrilenko // *Plant Breeding*. – 2012. – Vol. 131. – Issue 6. – P. 744–750. – <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.02005.x>

129. Khoo, H. E. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits / H.E. Khoo, A. Azlan, S.T. Tang, S.M. Lim // *Food & Nutrition Research*. – 2017. – Vol. 61. – Issue 1. – <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>

130. Kloosterman, B. Naturally occurring allele diversity allows potato cultivation in northern latitudes / B. Kloosterman, J.A. Abelenda, M.D.M.C. Gomez, M. Oortwijn, J.M. De Boer, K. Kowitzanich, B.M. Horvath, H.J. Van Eck, C. Smaczniak, S. Prat, R.G.F. Visser, C.W.B. Bachem // *Nature*. – 2013. – Vol. 495. – Issue 7440. – P. 246–250. – <https://doi.org/10.1038/nature11912>

131. Kloosterman, S. J. Diversity, Pathogenicity, and Management of *Verticillium* Species / S.J. Kloosterman, Z.K. Atallah, G.E. Vallad, K.V. Subbarao // *Annual Rev Phytopathol*. – 2009. – Vol. 47. – P. 39-62. – doi: 10.1146/annurev-phyto-080508-081748.

132. Kobe, B. The leucine-rich repeat as a protein recognition motif / B. Kobe, A.V. Kajava // *Current Opinion in Structural Biology*. – 2001. – Vol. 11. – Issue 6. – P. 725–732. – [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(01\)00266-4](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(01)00266-4)

133. Koboldt, D. C. VarScan: variant detection in massively parallel sequencing of individual and pooled samples / D.C. Koboldt, K. Chen, T. Wylie, D.E. Larson, M.D.

McLellan, E.R. Mardis, G.M. Weinstock, R.K. Wilson, L. Ding // *Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 25. – Issue 17. – P. 2283. – <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTP373>

134. Kourelis, J. Activation and Regulation of *NLR* Immune Receptor Networks / J. Kourelis, H. Adachi // *Plant and Cell Physiology*. – 2022. – Vol. 63. – Issue 10. – P. 1366–1377. – <https://doi.org/10.1093/PCP/PCAC116>

135. Kourelis, J. Evolution of a guarded decoy protease and its receptor in Solanaceous plants / J. Kourelis, S. Malik, O. Mattinson, S. Krauter, P.S. Kahlon, J.K. Paulus, R.A.L. van der Hoorn // *Nat Commun*. – 2020. – Vol. 11. – Issue 1. – P. 4393. – <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18069-5>

136. Kourelis, J. Defended to the Nines: 25 Years of Resistance Gene Cloning Identifies Nine Mechanisms for R Protein Function / J. Kourelis, R.A.L. Van Der Hoorn // *The Plant Cell*. – 2018. – Vol. 30. – Issue 2. – P. 285–299. – <https://doi.org/10.1105/TPC.17.00579>

137. Kuang, H. Multiple Genetic Processes Result in Heterogeneous Rates of Evolution within the Major Cluster Disease Resistance Genes in Lettuce / H. Kuang, S.S. Woo, B.C. Meyers, E. Nevo, R.W. Michelmore // *The Plant Cell*. – 2004. – Vol. 16. – Issue 11. – P. 2870. – <https://doi.org/10.1105/TPC.104.025502>

138. Kumar, S. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // *Molecular Biology and Evolution*. – 2018. – Vol. 35. – Issue 6. – P. 1547–1549. – <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSY096>

139. Kyriakidou, M. Structural genome analysis in cultivated potato taxa / M. Kyriakidou, S.R. Achakkagari, J.H. Gálvez López, X. Zhu, C.Y. Tang, H.H. Tai, N.L. Anglin, D. Ellis, M.V. Strömvik // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2020a. – Vol. 133. – Issue 3. – P. 951–966. – <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03519-6>

140. Kyriakidou, M. Genome assembly of six polyploid potato genomes / M. Kyriakidou, N.L. Anglin, D. Ellis, H.H. Tai, M.V. Strömvik // *Scientific Data*. – 2020b. – Vol. 7. – Issue 1. – <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0428-4>

141. Lacaze, A. Structural specificity in plant–filamentous pathogen interactions / A. Lacaze, D.L. Joly // *Molecular Plant Pathology*. – 2020. – Vol. 21. – Issue 11. – P. 1513. – <https://doi.org/10.1111/MPP.12983>

142. Ladunga, I. Finding Similar Nucleotide Sequences Using Network BLAST Searches / I. Ladunga // *Current Protocols in Bioinformatics*. – 2017. – Vol. 58. – Issue 1. – <https://doi.org/10.1002/CPBI.29>

143. Langmead, B. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 / B. Langmead,

S.L. Salzberg // Nat.Methods. – 2012. – Vol. 9. – Issue 4. – P. 357–359. – <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>

144. Leister, D. Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance genes / D. Leister // Trends in Genetics. – 2004. – Vol. 20. – Issue 3. – P. 116–122. – <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2004.01.007>

145. Lenman, M. Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015 / M. Lenman, A. Ali, P. Mühlenbock, U. Carlson-Nilsson, E. Liljeroth, N. Champouret, V.G.A.A. Vleeshouwers, E. Andreasson // Theoretical and Applied Genetics. – 2016. – Vol. 129. – Issue 1. – P. 105–115. – <https://doi.org/10.1007/S00122-015-2613-Y/FIGURES/4>

146. Li, G. Cloning and Characterization of *R3b*; Members of the *R3* Superfamily of Late Blight Resistance Genes Show Sequence and Functional Divergence / G. Li, S. Huang, X. Guo, Y. Li, Y. Yang, Z. Guo, H. Kuang, H. Rietman, M. Bergervoet, V.G.G.A. Vleeshouwers, E.A.G. Van Der Vossen, D. Qu, R.G.F. Visser, E. Jacobsen, J.H. Vossen // Mol Plant Microbe Interact. – 2011. – Vol. 10. – P. 1132–42. – doi: 10.1094/MPMI-11-10-0276

147. Li, G. *Ry-chc* Confers Extreme Resistance to Potato virus Y in Potato / G. Li, J. Shao, Y. Wang, T. Liu, Y. Tong, S. Jansky, C. Xie, B. Song, X. Cai // Cells. – 2022. – Vol. 11. – Issue 16. – P. 2577. – <https://doi.org/10.3390/CELLS11162577/S1>

148. Li, H. Assessment of resistance in potato cultivars to verticillium wilt caused by *Verticillium dahliae* and *Verticillium nonalfalfae*. / H. Li, Z. Wang, X. Hu, W. Shang, R. Shen, C. Guo, Q. Guo, K.V. Subbarao // Plant Disease. – 2019. – Vol. 103. – Issue 6. – P. 1357–1362. – <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1815-RE>

149. Li, X. Identification and Characterization of *LRR-RLK* Family Genes in Potato Reveal Their Involvement in Peptide Signaling of Cell Fate Decisions and Biotic/Abiotic Stress Responses / X. Li, A. Salman, C. Guo, J. Yu, S. Cao, X. Gao, W. Li, H. Li, Y. Guo // Cells. – 2018b. – Vol. 7. – Issue 9. – <https://doi.org/10.3390/CELLS7090120>

150. Li, Y. Genomic Analyses Yield Markers for Identifying Agronomically Important Genes in Potato / Y. Li, C. Colleoni, J. Zhang, Q. Liang, Y. Hu, H. Ruess, R. Simon, Y. Liu, H. Liu, G. Yu, E. Schmitt, C. Ponitzki, G. Liu, H. Huang, F. Zhan, L. Chen, Y. Huang, D. Spooner, B. Huang // Molecular Plant. – 2018a. – Vol. 11. – Issue 3. – P. 473–484. – <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2018.01.009>

151. Limantseva, L. Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions from the Vavilov

Institute of Plant Industry / L. Limantseva, N. Mironenko, O. Shuvalov, O. Antonova, A. Khiutti, L. Novikova, O. Afanasenko, D. Spooner, T. Gavrilenko // *Plant Breeding*. – 2014. – Vol. 133. – Issue 5. – P. 660–665. – <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/pbr.12195>

152. Liu, Z. Diversity of *NB-LRR* genes in the genome of *Solanum stenotomum* subsp. *Goniocalyx*: Ph.D. thesis / Z. Liu; McGill University. – Montreal, Quebec, Canada. – 2020

153. Lokossou, A. A. Exploiting knowledge of *R/Avr* genes to rapidly clone a new *LZ-NBS-LRR* family of late blight resistance genes from potato linkage group IV / A.A. Lokossou, T. Park, G. van Arkel, M. Arens, C. Ruyter-Spira, J. Morales, S.C. Whisson, P.R.J. Birch, R.G.F. Visser, E. Jacobsen, E.A.G. van der Vossen // *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*. – 2009. – Vol. 22. – Issue 6. – P. 630–641. – <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0630>

154. Lolle, S. Plant *NLR*-triggered immunity: from receptor activation to downstream signaling / S. Lolle, D. Stevens, G. Coaker // *Current Opinion in Immunology*. – 2020. – Vol. 62. – P. 99–105. – <https://doi.org/10.1016/J.COI.2019.12.007>

155. National Research Council. *Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation*. Washington, DC: The National Academies Press, 1989. – <https://doi.org/10.17226/1398>

156. Lozano, R. Genome-wide identification and mapping of *NBS*-encoding resistance genes in *Solanum tuberosum* group Phureja / R. Lozano, O. Ponce, M. Ramirez, N. Mostajo, G. Orjeda // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – Issue 4. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034775>

157. Machida-Hirano, R. Diversity of potato genetic resources / R. Machida-Hirano // *Breeding Science*. – 2015. – Vol. 65. – Issue 1. – P. 26–40. – <https://doi.org/10.1270/JSBBS.65.26>

158. Martin, R. Structure of the activated *ROQ1* resistosome directly recognizing the pathogen effector *XopQ* / R. Martin, T. Qi, H. Zhang, F. Liu, M. King, C. Toth, E. Nogales, B.J. Staskawicz // *Science*. – 2020. – Vol. 70. – <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABD9993>

159. Meyers, B. C. Genome-Wide Analysis of *NBS-LRR*-Encoding Genes in *Arabidopsis*. / B.C. Meyers, A. Kozik, A. Griego, H. Kuang, R.W. Michelmore // *The Plant Cell*. – 2003. – Vol. 15. – Issue 4. – P. 809. – <https://doi.org/10.1105/TPC.009308>

160. Michelmore, R. W. Clusters of Resistance Genes in Plants Evolve by Divergent Selection and a Birth-and-Death Process / R.W. Michelmore, B.C. Meyers //

Genome Research. – 1998. – Vol. 8. – Issue 11. – P. 1113–1130. – <https://doi.org/10.1101/GR.8.11.1113>

161. Milczarek, D. Suitability of Molecular Markers for Selection of Potatoes Resistant to *Globodera spp.* / D. Milczarek, B. Flis, A. Przetakiewicz // American Journal of Potato Research. – 2011. – Vol. 88. – P. 245–255. – <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9189-0>

162. Monino-Lopez, D. Allelic variants of the NLR protein *Rpi-chc1* differentially recognize members of the *Phytophthora infestans PexRD12/31* effector superfamily through the leucine-rich repeat domain / D. Monino-Lopez, M. Nijenhuis, L. Kodde, S. Kamoun, H. Salehian, K. Schentsnyi, R. Stam, A. Lokossou, A. Abd-El-Haliem, R.G.F. Visser, J.H. Vossen // Plant Journal. – 2021. – Vol. 107. – Issue 1. – P. 182–197. – <https://doi.org/10.1111/tpj.15284>

163. Navarro, L. The Transcriptional Innate Immune Response to *flg22*. Interplay and Overlap with Avr Gene-Dependent Defense Responses and Bacterial Pathogenesis / L. Navarro, C. Zipfel, O. Rowland, I. Keller, S. Robatzek, T. Boller, J.D.G. Jones // Plant Physiology. – 2004. – Vol. 135. – Issue 2. – P. 1113. – <https://doi.org/10.1104/PP.103.036749>

164. NCBI (National center of Biotechnology Information): <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (date of the application: 25.10.2023)

165. Ngou, B. P. M. Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors / B.P.M. Ngou, H.-K. Ahn, P. Ding, J.D.G. Jones // Nature. – 2021. – Vol. 592. – Issue 7852. – P. 110–115. – <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03315-7>

166. Ngou, B. P. M. Thirty years of resistance: Zigzag through the plant immune system / B.M.P. Ngou, P. Ding, J.D.G. Jones // The Plant Cell. – 2022a. – Vol. 34. – Issue 5. – P. 1447–1478. – <https://doi.org/10.1093/PLCELL/KOAC041>

167. Ngou, B. P. M. Plant immune networks / B.P.M. Ngou, J.D.G. Jones, P. Ding // Trends in Plant Science. – 2022b. – Vol. 27. – Issue 3. – P. 255–273. – <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2021.08.012>

168. Ochoa, C. M. The Potatoes of South America: Bolivia / C.M. Ochoa, I.P. Center // Cambridge: Cambridge University Press, 1990 <https://books.google.ru/books?id=KT5jNbv-TCQC>

169. Ochoa, C. M. The Potatoes of South America: Peru / C.M. Ochoa, D. Ugent, I.P. Center // Lima: International Potato Center, 2004. – <https://books.google.ru/books?id=9ks1996F0cAC>

170. Oosumi, T. Gene *Rpi-bt1* from *Solanum bulbocastanum* Confers Resistance

to Late Blight in Transgenic Potatoes / T. Oosumi, D. Rockhold, M. Maccree, K. Deahl, K. McCue, W. Belknap // *American Journal of Potato Research*. – 2009. – Vol. 86. – P. 456–465. – <https://doi.org/10.1007/s12230-009-9100-4>

171. Ovchinnikova, A. Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section Petota: Solanaceae). / A. Ovchinnikova, E. Krylova, T. Gavrilenko, T. Smekalova, M. Zhuk, S. Knapp, D.M. Spooner // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2011. – Vol. 165. – Issue 2. – P. 107–155. – <https://doi.org/10.1111/J.1095-8339.2010.01107.X>

172. Paal, J. Molecular cloning of the potato *Gro1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach / J. Paal, H. Henselewski, J. Muth, K. Meksem, C.M. Menéndez, F. Salamini, A. Ballvora, C. Gebhardt // *The Plant Journal*. – 2004. – Vol. 38. – Issue 2. – P. 285–297. – <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2004.02047.X>

173. Pacheco, R. PVX–potyvirus synergistic infections differentially alter microRNA accumulation in *Nicotiana benthamiana* / R. Pacheco, A. García-Marcos, D. Barajas, J. Martiáñez, F. Tenllado // *Virus Research*. – 2012. – Vol. 165. – Issue 2. – P. 231–235. – <https://doi.org/10.1016/J.VIRUSRES.2012.02.012>

174. Paluchowska, P. Late blight resistance genes in potato breeding / P. Paluchowska, J. Śliwka, Z. Yin // *Planta*. – 2022. – Vol. 255. – Issue 6. – P. 127. – <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03910-6>

175. Palukaitis, P. Resistance to Viruses of Potato and their Vectors / P. Palukaitis // *The Plant Pathology Journal*. – 2012. – Vol. 28. – doi.org/10.5423/PPJ.RW.06.2012.0075

176. Park, T. H. The late blight resistance locus *Rpi-blb3* from *Solanum bulbocastanum* belongs to a major late blight *R* gene cluster on chromosome 4 of potato / T.H. Park, J. Gros, A. Sikkema, V.G.A.A. Vleeshouwers, M. Muskens, S. Allefs, E. Jacobsen, R.G.F. Visser, E.A.G. Van Der Vossen // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2005. – Vol. 18. – Issue 7. – P. 722–729. – <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0722>

177. Parniske, M. Novel Disease Resistance Specificities Result from Sequence Exchange between Tandemly Repeated Genes at the Cf-4/9 Locus of Tomato / M. Parniske, K.E. Hammond-Kosack, C. Golstein, C.M. Thomas, D.A. Jones, K. Harrison, B.B.H. Wulff, J.D.G. Jones // *Cell*. – 1997. – Vol. 91. – Issue 6. – P. 821–832. – [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80470-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80470-5)

178. Paysan-Lafosse, T. InterPro in 2022 / T. Paysan-Lafosse, M. Blum, S. Chuguransky, T. Grego, B.L. Pinto, G.A. Salazar, M.L. Bileschi, P. Bork, A. Bridge, L. Colwell, J. Gough, D.H. Haft, I. Letunić, A. Marchler-Bauer, H. Mi, D.A. Natale, C.A.

Orengo, A.P. Pandurangan, C. Rivoire, A. Bateman // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – Vol. 51. – Issue D1. – P. 418–427. – <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC993>

179. Pel, M. A. Mapping, Isolation and characterization of genes responsible for Late Blight Resistance in Potato: Ph.D. thesis / M.A. Pel // Wageningen University. – Netherlands. – 2009

180. Perez, W. Screening South American Potato Landraces and Potato Wild Relatives for Novel Sources of Late Blight Resistance / W. Perez, L. Alarcon, T. Rojas, Y. Correa, H. Juarez, J.L. Andrade-Piedra, N.L. Anglin, D. Ellis // *Plant Disease*. – 2022. – Vol. 106. – Issue 7. – P. 1845–1856. – <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-21-1582-RE/>

181. Pérez, W., Ñahui, M., Ellis, D., & Forbes, G. A. (2014). Wide Phenotypic Diversity for Resistance to *Phytophthora infestans* Found in Potato Landraces from Peru / Pérez, W., Ñahui, M., Ellis, D., & Forbes, G. A. // *Plant Disease*. – 2014. – Vol. 98. – Issue 11. – P. 1530–1533. – <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-14-0306-RE>

182. The Potato Genome Sequencing Consortium. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato / The Potato Genome Sequencing Consortium // *Nature*. – 2011. – Vol. 475. – P. 189–195. – <https://doi.org/10.1038/nature10158>

183. Pietkiewicz J. Effect of Viruses on the Reaction of Potato to *Phytophthora infestans* I. Characteristic of the reaction to *Ph. infestans* of plants infected with potato viruses X, Y, S, M and leafroll / J. Pietkiewicz // *Phytopathologische Zeitschrift*. – 1974. – T. 81. – №. 4.

184. Prodhomme, C. A. Hitchhiker’s guide to the potato wart disease resistance galaxy / C. Prodhomme, G. van Arkel, J. Plich, J.E. Tammes, J. Rijk, H.J. van Eck, R.G.F. Visser, J.H. Vossen // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2020. – Vol. 133. – Issue 12. – P. 3419. – <https://doi.org/10.1007/S00122-020-03678-X>

185. PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> (date of the application: 28.10.2023)

186. Quinlan, A. R. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features / A.R. Quinlan, I.M. Hall // *Bioinformatics*. – 2010. – Vol. 26. – Issue 6. – P. 841–842. – <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTQ033>

187. Rairdan, G. J. The coiled-coil and nucleotide binding domains of the potato Rx disease resistance protein function in pathogen recognition and signaling / G.J. Rairdan, S.M. Collier, M.A. Sacco, T.T. Baldwin, T. Boettrich, P. Moffett // *Plant Cell*. – 2008. – Vol. 20. – Issue 3. – P. 739–751. – <https://doi.org/10.1105/tpc.107.056036>

188. Rasheed, H. Genetic Diversity and Health Properties of Polyphenols in Potato / H. Rasheed, D. Ahmad, J. Bao // *Antioxidants*. – 2022. – Vol. 11. – Issue 4. –

<https://doi.org/10.3390/ANTIOX11040603>

189. Ristaino, J. B. Tracking historic migrations of the Irish potato famine pathogen, *Phytophthora infestans* / J.B. Ristaino // *Microbes and Infection*. – 2002. – Vol. 4. – Issue 13. – P. 1369–1377. – [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)00010-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)00010-2)

190. Robinson, B. R. Exploring Folate Diversity in Wild and Primitive Potatoes for Modern Crop Improvement / B.R. Robinson, V. Sathuvalli, J. Bamberg, A. Goyer // *Genes*. – 2015. – Vol. 6. – Issue 4. – P. 1300. – <https://doi.org/10.3390/GENES6041300>

191. Rogozina, E. V. Diversity of Late Blight Resistance Genes in the VIR Potato Collection / E.V. Rogozina, A.A. Gurina, N.A. Chalaya, N.M. Zoteyeva, M.A. Kuznetsova, M.P. Beketova, O.A. Muratova, E.A. Sokolova, P.E. Drobyazina, E.E. Khavkin // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – Issue 2. – P. 273. – <https://doi.org/10.3390/plants12020273>

192. Rondon, S. I. Identifying Resistance to the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Potato Germplasm: Review Update / S.I. Rondon, M. Feldman, A. Thompson, T. Oppedisano, G. Shrestha // *Frontiers in Agronomy*. – 2021. – Vol. 3. – <https://doi.org/10.3389/FAGRO.2021.642189/BIBTEX>

193. Roossinck, M. J. Plant Virus Metagenomics: Biodiversity and Ecology / M.J. Roossinck // *Annual Review of Genetics*. – 2012. – Vol. 46. – Issue 1. – P. 359–369. – <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155600>

194. Ross, B. T. Extreme Resistance to Viruses in Potato and Soybean / B.T. Ross, N.K. Zidack, M.L. Flenniken // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 12. – P. 554. – <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.658981/BIBTEX>

195. Ross, H. Potato Breeding - problems and perspectives / H. Ross // *Fortschritte Der Pflanzenzuechtung*. – 1997. – P. 5–68.

196. Sabeh, M. What determines host specificity in hyperspecialized plant parasitic nematodes? / M. Sabeh, E. Lord, É. Grenier, M. St-Arnaud, B. Mimee // *BMC Genomics*. – 2019. – Vol. 20. – Issue 1. – P. 1–13. – <https://doi.org/10.1186/S12864-019-5853-4/>

197. Salazar, L. F. Virus Diseases of Potatoes / Salazar, L. F. // *Encyclopedia of Life Sciences*. – Lima, International Potato center, 2006. – <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/npg.els.0004300>

198. Saucet, S. B. Integrity of the post-LRR domain is required for *TIR-NB-LRR* function / S.B. Saucet, D. Esmenjaud, C. Van Ghelder // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2021. – Vol. 34. – Issue 3. – P. 286–296. – <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-20-0156-R>

199. Savary, S. The global burden of pathogens and pests on major food crops /

S. Savary, L. Willocquet, S.J. Pethybridge, P. Esker, N. McRoberts, A. Nelson // *Nature Ecology & Evolution*. – 2019. – Vol. 3. – Issue 3. – P. 430–439. – <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

200. Schultz, L. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *H1*-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) / L. Schultz, N.O.I. Cogan, K. Mclean, M.F.B. Dale, G.J. Bryan, J.W. Forster, A.T. Slater // *Plant Breeding*. – 2012. – Vol. 131. – Issue 2. – P. 315–321. – <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01949.x>

201. Seo, E. Genome-wide comparative analyses reveal the dynamic evolution of nucleotide-binding leucine-rich repeat gene family among Solanaceae plants / E. Seo, S. Kim, S.I. Yeom, D. Choi // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7. – <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.01205/>

202. Śliwka, J. A resistance gene against potato late blight originating from *Solanum × michoacanum* maps to potato chromosome VII / J. Śliwka, H. Jakuczun, M. Chmielarz, A. Hara-Skrzypiec, I. Tomczyńska, A. Kilian, E. Zimnoch-Guzowska // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2012. – Vol. 124. – Issue 2. – P. 397. – <https://doi.org/10.1007/S00122-011-1715-4>

203. Sliwka, J. Marker-assisted selection of diploid and tetraploid potatoes carrying *Rpi-phu1*, a major gene for resistance to *Phytophthora infestans*. / J. Sliwka, H. Jakuczun, P. Kaminski, E. Zimnoch-Guzowska // *Journal of Applied Genetics*. – 2010. – Vol. 51. – Issue 2. – P. 133–140. – <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF03195721>

204. Śliwka, J. The novel, major locus *Rpi-phu1* for late blight resistance maps to potato chromosome IX and is not correlated with long vegetation period / J. Śliwka, H. Jakuczun, R. Lebecka, W. Marczewski, C. Gebhardt, E. Zimnoch-Guzowska // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2006. – Vol. 113. – Issue 4. – P. 685–695. – <https://doi.org/10.1007/S00122-006-0336-9/>

205. Sloomweg, E. Sequence Exchange between Homologous *NB-LRR* Genes Converts Virus Resistance into Nematode Resistance, and Vice Versa / E. Sloomweg, K. Koropacka, J. Roosien, R. Dees, H. Overmars, R.K. Lankhorst, C. Van Schaik, R. Pomp, L. Bouwman, J. Helder, A. Schots, J. Bakker, G. Smant, A. Goverse // *Plant Physiology*. – 2017. – Vol. 175. – Issue 1. – P. 498–510. – <https://doi.org/10.1104/PP.17.00485>

206. Song, Y. Broad taxonomic characterization of *Verticillium* wilt resistance genes reveals an ancient origin of the tomato *Ve1* immune receptor / Y. Song, Z. Zhang, M.F. Seidl, A. Majer, J. Jakse, B. Javornik, B.P.H.J. Thomma // *Molecular Plant Pathology*. – 2017. – Vol. 18. – Issue 2. – P. 195–209. – <https://doi.org/10.1111/MPP.12390>

207. Spooner, D. M. Systematics, Diversity, Genetics, and Evolution of Wild and Cultivated Potatoes / D.M. Spooner, M. Ghislain, R. Simon, S.H. Jansky, T. Gavrilenko // *Botanical Review*. – 2014. – Vol. 80. – Issue 4. – P. 283–383. – <https://doi.org/10.1007/s12229-014-9146-y>
208. Stein, J. M. Containment of existing potato late blight (*Phytophthora infestans*) foliar epidemics with fungicides / J.M. Stein, W.W. Kirk // *Crop Protection*. – 2002. – Vol. 21. – Issue 7. – P. 575–582. – [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00147-8)
209. Strachan, S. M. Mapping the *H2* resistance effective against *Globodera pallida* pathotype Pa1 in tetraploid potato / S.M. Strachan, M.R. Armstrong, A. Kaur, K.M. Wright, T.Y. Lim, K. Baker, J. Jones, G. Bryan, V. Blok, I. Hein // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2019. – Vol. 132. – Issue 4. – P. 1283–1294. – <https://doi.org/10.1007/S00122-019-03278-4/>
210. Strygina, K. V. Genetic control of anthocyanin pigmentation of potato tissues / K.V. Strygina, A.V. Kochetov, E.K. Khlestkina // *BMC Genetics*. – 2019. – Vol. 20. – Issue 1. – P. 35–43. – <https://doi.org/10.1186/S12863-019-0728-X/>
211. Subía, X. C. Potato quality traits: variation and genetics in Ecuadorian potato landraces: Ph.D. thesis / X.C. Subia // Wageningen University. – Netherlands. – 2013
212. Syller, J. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections / J. Syller // *Molecular Plant Pathology*. – 2012. – Vol. 13. – Issue 2. – P. 204. – <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2011.00734.X>
213. Tajner-Czopek, A. Content and Stability of Hydroxycinnamic Acids during the Production of French Fries Obtained from Potatoes of Varieties with Light-Yellow, Red and Purple Flesh / A. Tajner-Czopek, E. Rytel, A. Kita, A. Sokół-Łętowska, A.Z. Kucharska // *Antioxidants*. – 2023. – Vol. 12. – Issue 2. – <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12020311/S1>
214. Takken, F. L. W. How to build a pathogen detector: structural basis of *NB-LRR* function / F.L.W. Takken, A. Govere // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2012. – Vol. 15. – Issue 4. – P. 375–384. – <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2012.05.001>
215. Tang, D. Genome evolution and diversity of wild and cultivated potatoes / D. Tang, Y. Jia, J. Zhang, H. Li, L. Cheng, P. Wang, Z. Bao, Z. Liu, S. Feng, X. Zhu, D. Li, G. Zhu, H. Wang, Y. Zhou, Y. Zhou, G.J. Bryan, C.R. Buell, C. Zhang, S. Huang // *Nature*. – 2022. – Vol. 606. – Issue 7914. – P. 535–541. – <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04822-x>
216. Teng, P. S. Estimating potato yield responses from chemical control of

early blight in Minnesota / P.S. Teng, H.L. Bissonnette // *American Potato Journal*. – 1985. – Vol. 62. – Issue 11. – P. 595–606. – <https://doi.org/10.1007/BF02854434>

217. Thomma, B. P. H. J. Of PAMPs and Effectors: The Blurred PTI-ETI Dichotomy / B.P.H.J. Thomma, T. Nürnberger, M.H.A.J. Joosten // *The Plant Cell*. – 2011. – Vol. 23. – Issue 1. – P. 4. – <https://doi.org/10.1105/TPC.110.082602>

218. Tiwari, J. K. Germplasm, Breeding, and Genomics in Potato Improvement of Biotic and Abiotic Stresses Tolerance / J.K. Tiwari, T. Buckseth, R. Zinta, N. Bhatia, D. Dalamu, S. Naik, A.K. Poonia, H.B. Kardile, C. Challam, R.K. Singh, S.K. Luthra, V. Kumar, M. Kumar // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.805671>

219. Tommiska, T. J. Mapping of the gene *Nx(phu)* that controls hypersensitive resistance to potato virus X in *Solanum phureja* IvP35 / T.J. Tommiska, J.H. Hämäläinen, K.N. Watanabe, J.P.T. Valkonen // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1998. – Vol. 96. – Issue 6–7. – P. 840–843. – <https://doi.org/10.1007/S001220050810/METRICS>

220. Torrance, L. Natural resistance to Potato virus Y in *Solanum tuberosum* Group Phureja / L. Torrance, G.H. Cowan, K. McLean, S. MacFarlane, A.N. Al-Abedy, M. Armstrong, T.Y. Lim, I. Hein, G.J. Bryan // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2020. – Vol. 133. – Issue 3. – P. 967–980. – <https://doi.org/10.1007/S00122-019-03521-Y>

221. Trdá, L. The grapevine flagellin receptor *VvFLS2* differentially recognizes flagellin-derived epitopes from the endophytic growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* and plant pathogenic bacteria / L. Trdá, O. Fernandez, F. Boutrot, M.C. Héloir, J. Kelloniemi, X. Daire, M. Adrian, C. Clément, C. Zipfel, S. Dorey, B. Poinssot // *New Phytologist*. – 2014. – Vol. 201. – Issue 4. – P. 1371–1384. – <https://doi.org/10.1111/NPH.12592>

222. Turner S. J. *Plant nematology* / S.J. Turner, S.A. Subbotin. – 2013. 110-143

223. Vallejo, R. L. Inheritance of Resistance to Potato Virus Y and Potato Virus X in Hybrid *Solanum phureja* × *S. stenotomum* Diploid Potatoes / R.L. Vallejo, W.W. Collins, J.B. Young // *Journal of Heredity*. – 1995. – Vol. 86. – Issue 2. – P. 89–93. – <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.JHERED.A111554>

224. Van Der Voort, J. R. Tight physical linkage of the nematode resistance gene *Gpa2* and the virus resistance gene *Rx* on a single segment introgressed from the wild species *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* CPC 1673 into cultivated potato / J.R. Van Der Voort, K. Kanyuka, E. Van Der Vossen, A. Bendahmane, P. Mooijman, R. Klein-Lankhorst, W. Stiekema, D. Baulcombe, J. Bakker // *Molecular Plant-Microbe*

Interactions. – 1999. – Vol. 12. – Issue 3. – P. 197–206. – <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.3.197>

225. Van Der Voort, J. R. Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters / J.R. Van Der Voort, E. Van Der Vossen, E. Bakker, H. Overmars, P. Van Zandvoort, R. Hutten, R.K. Lankhorst, J. Bakker // Theoretical and Applied Genetics. – 2000. – Vol. 101. – Issue 7. – P. 1122–1130. – <https://doi.org/10.1007/S001220051588/>

226. Van Der Vossen, E. A. G. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato / E.A.G. Van Der Vossen, J. Gros, A. Sikkema, M. Muskens, D. Wouters, P. Wolters, A. Pereira, S. Allefs // Plant Journal. – 2005. – Vol. 44. – Issue 2. – P. 208–222. – <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x>

227. Van Der Vossen, E. A. G. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode / E.A.G. Van Der Vossen, J.N.A.M.R. Van Der Voort, K. Kanyuka, A. Bendahmane, H. Sandbrink, D.C. Baulcombe, J. Bakker, W.J. Stiekema, R.M. Klein-Lankhorst // The Plant Journal. – 2000. – Vol. 23. – Issue 5. – P. 567–576. – <https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.2000.00814.X>

228. Van Der Vossen, E. An ancient *R* gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato / E. Van Der Vossen, A. Sikkema, B. Te Lintel Hekkert, J. Gros, P. Stevens, M. Muskens, D. Wouters, A. Pereira, W. Stiekema, S. Allefs // Plant Journal. – 2003. – Vol. 36. – Issue 6. – P. 867–882. – <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01934.x>

229. Van Eck, H. J. Localisation of morphological traits on the genetic map of potato using RFLP and isozyme markers: Ph.D. thesis / H.J. van Eck // Landbouw universiteit, Wageningen, 1995.

230. Ve, T. Structure and function of Toll/interleukin-1 receptor/resistance protein (TIR) domains / T. Ve, S.J. Williams, B. Kobe // Apoptosis. – 2015. – Vol. 20. – Issue 2. – P. 250–261. – <https://doi.org/10.1007/S10495-014-1064-2>

231. Veilleux, R.E. Genetic Stocks Used for Potato Genome Sequencing / R.E. Veilleux // The Potato Genome. Compendium of Plant Genomes / Kumar Chakrabarti, S., Xie, C., Kumar Tiwari, J. (eds). – Cham. – Springer. – 2017. – P. 73-79. – https://doi.org/10.1007/978-3-319-66135-3_4

232. Verchot, J. Potato virus X: A global potato-infecting virus and type member of the Potexvirus genus / J. Verchot // Molecular Plant Pathology. – 2022. – Vol. 23. –

Issue 3. – P. 315–320. – <https://doi.org/10.1111/MPP.13163>

233. Verchot-Lubicz, J. Molecular biology of potexviruses: Recent advances / J. Verchot-Lubicz, C.M. Ye, D. Bamunusinghe // Journal of General Virology. – 2007. – Vol. 88. – Issue 6. – P. 1643–1655. – <https://doi.org/10.1099/VIR.0.82667-0/CITE/REFWORKS>

234. Vleeshouwers, V. G. A. A. Effector Genomics Accelerates Discovery and Functional Profiling of Potato Disease Resistance and *Phytophthora Infestans* Avirulence Genes / V.G.A.A. Vleeshouwers, H. Rietman, P. Krenek, N. Champouret, C. Young, S.K. Oh, M. Wang, K. Bouwmeester, B. Vosman, R.G.F. Visser, E. Jacobsen, F. Govers, S. Kamoun, E.A.G. Van der Vossen // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3. – Issue 8. – P. 2875. – <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0002875>

235. Vleeshouwers, V.G.A.A. A laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various *Solanum* species reflects the field situation / V.G.A.A. Vleeshouwers, W. Van Dooijeweert, L.C.P. Keizer, L. Sijpkens, F. Govers, L.T. Colon // European Journal of Plant Pathology. – 1999. – Vol. 105. – P. 241–250.

236. Voigt, C. A. Callose-mediated resistance to pathogenic intruders in plant defense-related papillae / C.A. Voigt // Frontiers in Plant Science. – 2014. – Vol. 5. – <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00168>

237. Vossen, J. H. The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is a Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties / J.H. Vossen, G. van Arkel, M. Bergervoet, K.R. Jo, E. Jacobsen, R.G.F. Visser // Theoretical and Applied Genetics. – 2016. – Vol. 129. – Issue 9. – P. 1785–1796. – <https://doi.org/10.1007/S00122-016-2740-0>

238. Wan, L. TIR domains of plant immune receptors are NAD⁺-cleaving enzymes that promote cell death / L. Wan, K. Essuman, R.G. Anderson, Y. Sasaki, F. Monteiro, E.H. Chung, E.O. Nishimura, A. DiAntonio, J. Milbrandt, J.L. Dangl, M.T. Nishimura // Science. – 2019. – Vol. 365. – Issue 6455. – P. 799. – <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAX1771>

239. Wang, J. Structural dynamics of a plant *NLR* resistosome: transition from autoinhibition to activation / J. Wang, M. Chern, X. Chen // Science China Life Sciences. – 2020. – Vol. 63. – Issue 4. – P. 617–619. – <https://doi.org/10.1007/S11427-019-9536-X/METRICS>

240. Wang, J. Reconstitution and structure of a plant *NLR* resistosome conferring immunity / J. Wang, M. Hu, J. Wang, J. Qi, Z. Han, G. Wang, Y. Qi, H.-W. Wang, J.-M. Zhou, J. Chai // Science. – 2019. – Vol. 364. – Issue 6435. – <https://doi.org/10.1126/science.aav5870>

241. Wang, M. Allele mining in *Solanum*: conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum* / M. Wang, S. Allefs, R.G. van den Berg, A.A.V.G. Vleeshouwers, E.A.G. van der Vossen, B. Vosman // *Theor Appl Genet.* – 2008. – Vol. 116. – P. 933–943. – <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0725-3>
242. Wharton, P. First Report of In-Vitro Boscalid-Resistant Isolates of *Alternaria solani* Causing Early Blight of Potato in Idaho / P. Wharton, K. Fairchild, A. Belcher, E. Wood // *Plant Dis.* – 2012. – Vol. 96. – Issue 3. – P. 454. – doi: 10.1094/PDIS-07-11-0544
243. Wingett, S. W. FastQ Screen: A tool for multi-genome mapping and quality control / S.W. Wingett, S. Andrews // *F1000Research.* – 2018. – Vol. 7. – P. 1338. – <https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.15931.2>
244. Witek, K. A complex resistance locus in *Solanum americanum* recognizes a conserved *Phytophthora* effector / K. Witek, X. Lin, H.S. Karki, F. Jupe, A.I. Witek, B. Steuernagel, R. Stam, C. van Oosterhout, S. Fairhead, R. Heal, J.M. Cocker, S. Bhanvadia, W. Barrett, C.H. Wu, H. Adachi, T. Song, S. Kamoun, V.G.A.A. Vleeshouwers, L. Tomlinson, J.D.G. Jones // *Nature Plants.* – 2021. – Vol. 7. – Issue 2. – P. 198. – <https://doi.org/10.1038/S41477-021-00854-9>
245. Wolters, P. J. A rapid method to screen wild *Solanum* for resistance to early blight / P.J. Wolters, L. de Vos, G. Bijsterbosch, J.H.C. Woudenberg, R.G.F. Visser, G. van der Linden, V.G.A.A. Vleeshouwers // *European Journal of Plant Pathology.* – 2019. – Vol. 154. – Issue 1. – P. 109–114. – <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01741-y>
246. Wolters, P. J. Qualitative and Quantitative Resistance against Early Blight Introgressed in Potato / P.J. Wolters, D. Wouters, E.J. Kromhout, D.J. Huigen, R.G.F. Visser, V.G.A.A. Vleeshouwers // *Biology.* – 2021. – Vol. 10. – Issue 9. – <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10090892>
247. Wu, C. H. *NLR* network mediates immunity to diverse plant pathogens / C.H. Wu, A. Abd-El-Haliem, T.O. Bozkurt, K. Belhaj, R. Terauchi, J.H. Vossen, S. Kamoun // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2017. – Vol. 114. – Issue 30. – P. 8113–8118. – <https://doi.org/10.1073/PNAS.1702041114/>
248. Wu, J. Y. Evolution of *NLR* Resistance Genes in Magnoliids: Dramatic Expansions of *CNLs* and Multiple Losses of *TNLs* / J.Y. Wu, J.Y. Xue, Y. Van de Peer // *Frontiers in Plant Science.* – 2021. – Vol. 12. – <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.777157>
249. Wu, X. Cloning and characterization of *LeTm-2*-homology gene *StTm-2* from potato / X. Wu, Z. Hu, G. Chen // Unpublished. – n.d.
250. Wu, Y. Genome-Wide Expression Pattern Analyses of the *Arabidopsis*

Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Kinases / Y. Wu, Q. Xun, Y. Guo, J. Zhang, K. Cheng, T. Shi, K. He, S. Hou, X. Gou, J. Li // *Molecular Plant*. – 2016. – Vol. 9. – Issue 2. – P. 289–300. – <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.12.011>

251. Xiaoxu, L. Identification and Characterization of LRR-RLK Family Genes in Potato Reveal Their Involvement in Peptide Signaling of Cell Fate Decisions and Biotic/Abiotic Stress Responses / L. Xiaoxu, S. Ahmad, C. Guo, J. Yu, S. Cao, X. Gao, W. Li, H. Li, Y. Guo // *Cells*. – 2018. – Vol. 7. – Issue 120. – <https://doi.org/10.3390/cells7090120>

252. Xue, J. Y. Editorial: Evolution and Functional Mechanisms of Plant Disease Resistance / J.Y. Xue, F.L.W. Takken, M.P. Nepal, T. Maekawa, Z.Q. Shao // *Frontiers in Genetics*. – 2020. – Vol. 11. – <https://doi.org/10.3389/FGENE.2020.593240>

253. Xue, W. Genetic Dissection of Early Blight Resistance in Tetraploid Potato / W. Xue, K.G. Haynes, C.R. Clarke, X. Qu // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.851538/FULL>

254. Yamada, K. Danger peptide receptor signaling in plants ensures basal immunity upon pathogen-induced depletion of *BAK1* / K. Yamada, M. Yamashita-Yamada, T. Hirase, T. Fujiwara, K. Tsuda, K. Hiruma, Y. Saijo // *The EMBO Journal*. – 2016. – Vol. 35. – Issue 1. – P. 46. – <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201591807>

255. Yan, L. Genome assembly of primitive cultivated potato *Solanum stenotomum* provides insights into potato evolution / L. Yan, Y. Zhang, G. Cai, Y. Qing, J. Song, H. Wang, X. Tan, C. Liu, M. Yang, Z. Fang, X. Lai // *G3: Genes|Genomes|Genetics*. – 2021. – Vol. 11. – Issue 10. – <https://doi.org/10.1093/G3JOURNAL/JKAB262>

256. Yu, D. TIR domains of plant immune receptors are 2',3'-cAMP/cGMP synthetases mediating cell death / D. Yu, W. Song, E.Y.J. Tan, L. Liu, Y. Cao, J. Jirschitzka, E. Li, E. Logemann, C. Xu, S. Huang, A. Jia, X. Chang, Z. Han, B. Wu, P. Schulze-Lefert, J. Chai // *Cell*. – 2022. – Vol. 185. – Issue 13. – P. 2370-2386.e18. – <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2022.04.032>

257. Zhang, Y. TurboID-based proximity labeling reveals that *UBR7* is a regulator of N *NLR* immune receptor-mediated immunity / Y. Zhang, G. Song, N.K. Lal, U. Nagalakshmi, Y. Li, W. Zheng, P.-J. Huang, T.C. Branon, A.Y. Ting, J.W. Walley, S.P. Dinesh-Kumar // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – Issue 1. – <https://doi.org/10.1038/S41467-019-11202-Z>

258. Zimnoch-Guzowska, E. Over 50 Years of Potato Parental Line Breeding Programme at the Plant Breeding and Acclimatization Institute in Poland / E. Zimnoch-Guzowska, B. Flis // *Potato Research*. – 2021. – Vol. 64. – Issue 4. – P. 743–760.

**Приложение 1 – Образцы ПКВ картофеля из открытых баз данных,
использованные в *in silico* анализе**

Вид	ID	Номер в базе данных	Номер образца в генбанке	Страна сбора	Провинция сбора
Собранные геномы. Проект PRJCA006011. http://solomics.agis.org.cn/potato/ Tang et al, 2022. и референсный геном PGSC, 2011					
<i>S. goniocalyx</i>	PG6148	PG6148	CIP 703825	Peru	Pasco
<i>S. stenotomum</i>	PG6055	PG6055	CIP 700235	Peru	Puno
<i>S. stenotomum</i>	PG6029	PG6029	CIP 703473	Bolivia	La Paz
<i>S. phureja</i>	PG6169	PG6169	PI 225677	Colombia	Narino
<i>S. phureja</i>	PG6225	PG6225	CIP 704120	Peru	Huanuco
Sequence Raw Archive (SRA) данные. Проект PRJNA394943 Li et al., 2019					
<i>S. goniocalyx</i>	gon1	SRR7716139	PI 458393	Bolivia	La Paz
<i>S. goniocalyx</i>	gon2	SRR7716138	PI 195214	Peru	Huanuco
<i>S. goniocalyx</i>	gon3	SRR7716137	PI 195188	Peru	Ayacucho
<i>S. goniocalyx</i>	gon4	SRR7716136	PI 195186	Peru	Ayacucho
<i>S. stenotomum</i>	stn1	SRR7716228	PI_365344	Peru	Yunin
<i>S. stenotomum</i>	stn2	SRR7716227	PI_283141	Colombia	
<i>S. stenotomum</i>	stn3	SRR7716226	PI_234011	Bolivia	
<i>S. stenotomum</i>	stn4	SRR7716225	PI 230513	Peru	Amazonas
<i>S. stenotomum</i>	stn5	SRR7716224	PI 230512	Peru	Amazonas
<i>S. stenotomum</i>	stn6	SRR7716223	PI 205527	Peru	Huanuco
<i>S. stenotomum</i>	stn7	SRR7716222	PI 195204	Peru	Cuzco
<i>S. stenotomum</i>	stn8	SRR7716152	haw320364	Colombia	Norte de Santador
<i>S. phureja</i>	phu1	SRR7716207	PI_258855	Bolivia	Santa-Cruz
<i>S. phureja</i>	phu2	SRR7716206	PI_243469	Peru	Apurimac
<i>S. phureja</i>	phu3	SRR7716205	PI 243468	Colombia	Narino

<i>S. phureja</i>	phu4	SRR7716204	PI 243467	Colombia	Valle
<i>S. phureja</i>	phu5	SRR7716203	PI 225703	Colombia	Boyaca
<i>S. phureja</i>	phu6	SRR7716202	PI 225693	Colombia	Cundinamaraca
<i>S. phureja</i>	phu7	SRR7716199	PI 195191	Ecuador	Pichincha
<i>S. phureja</i>	phu8	SRR7716201	PI_225665	Colombia	Cauca
<i>S. phureja</i>	phu9	SRR7716200	PI_195198	Colombia	Narino

Приложение 2 – Перечень R-генов, *in silico* анализ которых проведён в исследовании

Ген	NCBI ID	Источник	Длина гена (пн)	Длина cds (пн)	Заболевание	Автор
<i>Rpi-vnt1.1</i>	FJ423044.1	<i>S. venturii</i>	4310	2675	фитофтороз	Foster et al., 2009
<i>Rpi-vnt1.3</i>	FJ423046.1	<i>S. venturii</i>	2718	2718	фитофтороз	Foster et al., 2009
<i>Rpi-ber1</i>	MW410803.1	<i>S. berthaultii</i>	3898	3898	фитофтороз	Monino-Lopez et al., 2021
<i>Gro1-4</i>	AY196151.1	<i>S. spagazzinii</i>	14664	3408	нематода	Paal et al, 2004
<i>LCYB</i>	JX548327.1	<i>S. sparsipilum</i>	801	801	фитофтороз	Slivka et al.,2012
<i>Rpi-мос1</i>	GN043552.1	<i>S. mochiquense</i>	2589	2580	фитофтороз	Jones et al., 2014
<i>Rpi-R1</i>	AF447489.1	<i>S. demissum</i>	10388	3879	фитофтороз	Ballvora et al., 2002
<i>Rpi-R2</i>	FJ536325.1	<i>S. demissum</i>	2538	2538	фитофтороз	Lokossou et al.,2009
<i>Rpi-R2-like</i>	FJ536323.1	<i>S. demissum</i>	2544	2544	фитофтороз	Lokossou et al., 2009
<i>Rpi-abpt</i>	FJ536324.1	Гибрид	2538	2538	фитофтороз	Lokossou et al.,2009
<i>Rpi-blb3</i>	FJ536346.1	<i>S. bulbocastanum</i>	8456	2538	фитофтороз	Lokossou et al., 2009
<i>Rpi-R3a</i>	AY849382.1	<i>S. demissum</i>	3849	3849	фитофтороз	Huang et al., 2005
<i>Rpi-R3b</i>	JF900492.1	<i>S. demissum</i>	3502	3502	фитофтороз	Li et al., 2011, Armstrong et al., 2019

Ген	NCBI ID	Источник	Длина гена (пн)	Длина cds (пн)	Заболевание	Автор
<i>Rpi-mch1</i>	JX080720.1	<i>S. michoasatum</i>	931	931	фитофтороз	Sliwka et al., 2012
<i>Rpi-sto1</i>	EU884421.1	<i>S. stolonifenum</i>	3592	2910	фитофтороз	Vleeshouwers et al., 2008
<i>Rpi-blb1</i>	AY426259.1	<i>S. bulbocastanum</i>	7349	2910	фитофтороз	Van Der Vossen et al., 2003
<i>Rpi-bt1</i>	FJ188415.1	<i>S. bulbocastanum</i>	3585	2967	фитофтороз	Oosumi et al., 2009
<i>Rpi-blb2</i>	DQ122125.1	<i>S. bulbocastanum</i>	7967	3801	фитофтороз	Van Der Vossen et al., 2003
<i>Rpi-R8</i>	KU530153	Sargo Mira	7012	7012	фитофтороз	Van Der Vossen et al., 2016, Armstrong et al., 2019
<i>Gpa2</i>	AF195939.1	<i>S. tuberosum</i>	10331	2736	Нематода	Van Der Vossen et al., 2000
<i>Rx1</i>	AJ011801.1	<i>S. andigenum</i>	18284	2811	PVX	Bendahmane et al., 1999
<i>PSH-RGH6</i>	EU352874.1	<i>S. tuberosum</i>	2866	2866	нематода/PVX	Slootweg, E. et al., 2017
<i>Ve1</i>	KT946795.1	<i>S. tuberosum</i>	3162	3162	вертицилёзное увядание	Song et al, 2017
<i>Ve2</i>	KT946797.1	<i>S. tuberosum</i>	3417	3417	вертицилёзное увядание	Song et al, 2017
<i>Rpi-amr3</i>	KT373889	<i>S. americanum</i>	5352	5352	фитофтороз	Witek et al., 2016
<i>Tm2-ТоMV</i>	EF137705.1	Нет данных	2718	2718	фитофтороз	Wu X et al., неопубл

**Приложение 3 – Морфологические признаки, использованные для
ботанического описания ПКВ картофеля**

- Признаки надземной части растения:
 - Общий характер растения
 - ◆ Высота (в сантиметрах)
 - ◆ Количество и характер стеблей
 - ◆ Вид куста: раскидистый/компактный/розеточный
 - Стебель
 - ◆ Тип стебля: прямостоячий/полегающий/восходящий
 - ◆ Антоциановая окраска
 - ◆ Опушение
 - ◆ Диаметр
 - ◆ Крылатость и характер крыльев
 - ◆ Частота и распределение междоузлий
 - Лист
 - ◆ Размер листовой пластинки
 - ◆ Форма
 - ◆ Количество пар долей
 - ◆ Количество пар долек в серии
 - ◆ Распределение долек по сериям
 - ◆ Наличие третичных долек
 - ◆ Соотношение размеров конечной и боковых пар долей
 - ◆ Форма долей листа
 - ◆ Наличие капельницы
 - ◆ Наличие набегания долей на рахис
 - ◆ Длина стерженьков
 - ◆ Наличие долек на стерженьках

- ◆ Форма сечения рахиса
- ◆ Крылатость
- ◆ Антоциановая окраска
- ◆ Опушение листа
- Характер цветения
 - ◆ Общая характеристика обильности цветения
 - ◆ Количество ярусов цветения
 - ◆ Длина цветоноса
 - ◆ Высота расположения соцветий относительно уровня листвы
 - ◆ Среднее количество цветков в соцветии
- Цветоножка
 - ◆ Длина цветоножки
 - ◆ Характер сочленения цветоножки
 - ◆ Высота сочленения цветоножки
- Чашечка
 - ◆ Размер относительно венчика
 - ◆ Диаметр
 - ◆ Формула
 - ◆ Гранённость
 - ◆ Форма
 - ◆ Окраска антоцианом
 - ◆ Опушённость
 - ◆ Размер мукронов
 - ◆ Характер отделения мукронов от чашечки
- Венчик
 - ◆ Диаметр
 - ◆ Основной цвет
 - ◆ Характер дополнительной окраски
 - ◆ Форма

- ◆ Длина линии спайки
- ◆ Складчатость венчика
- ◆ Размер лепестков
- ◆ Форма лепестков
- ◆ Размер акуменов
- Генеративная часть
 - ◆ Ширина тычиночных нитей
 - ◆ Размер пыльников
 - ◆ Сочленения между пыльниками
 - ◆ Потемнение пыльников
 - ◆ Высота рыльца относительно пыльников
 - ◆ Форма рыльца
- Дескрипторы подземной части растения:
 - Основной цвет клубней
 - Дополнительный цвет клубней
 - Распределение дополнительного цвета клубней
 - Форма клубней
 - Средний размер клубней
 - Относительная длина столонов
 - Наличие ростков
 - Размер ростков

Приложение 4 – Результаты фитопатологической оценки и скрининга**ПКВ картофеля на наличие маркеров R-генов**

Номер каталога ВИР	Вид	Фитофтороз						ЗКН				Другие выделенные признаки
		R2-area 1/2	Rpi-blb2	Rpi-sto1-890	Rpi-blb1-821	Rpi-vnt1.3-612	Устойчивость	Gro1-4	TG689	57R	Устойчивость	
9900	<i>S.ajanhui</i>	0	1	1	0	0	MR	1	1	1	S	
9911-139	<i>S.ajanhui</i>	0	1	0	0	0	S	0	0	1	S	
9911-140	<i>S.ajanhui</i>	0	1	0	0	1	R	0	0	1	S	Образует семена от самоопыления
3558	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	0	0	1	S	1	1	1	S	
8509	<i>S.goniocalyx</i>	0	1	1	0	0	S	1	0	1	S	Многоклубневость; ярко-желтая мякоть
8865	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	1	0	1	S	0	0	1	S	Желтая мякоть с фиолетовыми вкраплениями
9249	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	1	0	1	S	1	1	1	S	
9922	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	1	0	1	MR	1	1	1	S	безвирусный
11080-134	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	0	0	1	S	1	0	1	MR	белая мякоть в розовым кольцом
11080-135	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	0	0	1	н.д.	0	1	1	HS	
17652	<i>S.goniocalyx</i>	0	0	1	0	1	S	0	0	1	S	Ярко-желтая мякоть
2892	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	1	1	S	многоклубневость
6502	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	S	1	0	1	S	Образует семена от самоопыления
7054	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	0	S	1	0	1	S	
7081	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	0	0	1	S	
7083	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	0	1	S	
8210	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	na	1	1	1	MR	многоклубневость
8362	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	0	0	1	S	многоклубневость
8497	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	0	0	1	MR	многоклубневость
8873	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	R	0	0	1	S	
8940	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	S	1	0	1	MR	
9345	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	MR	1	1	1	S	
9359	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	S	0	1	1	S	
9364	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	0	1	1	S	
9402	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	S	1	1	1	R	
9431	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	0	0	1	S	

Номер каталога ВИР	Вид	Фитофтороз						ЗКН				Другие выделенные признаки
		R2-area 1/2	Rpi-blb2	Rpi-sto1-890	Rpi-blb1-821	Rpi-vnt1.3-612	Устойчивость	Grо1-4	TG689	57R	Устойчивость	
11547	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	MR	1	1	1	S	Ярко-желтая мякоть Желтая мякоть в розовой сердцевине
16529	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	0	1	S	
16585	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	S	1	1	1	S	
16896	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	MR	0	0	1	S	
17462	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	S	0	1	1	R	
17618	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	MR	1	1	1	S	
17986	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	S	0	1	1	S	
19321	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	MR	0	1	1	S	
21560	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	1	1	S	
21564	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	0	S	1	0	1	S	белая мякоть с розовыми вкраплениями
21569	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	н.д.	0	0	1	HS	
22210	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	н.д.	1	1	1	HS	
22245	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	1	1	S	многоклубневость
23515	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	н.д.	1	0	1	S	
23516	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	MR	0	1	1	S	
23519	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	1	1	S	
23541	<i>S.phureja</i>	0	0	1	0	1	н.д.	1	0	1	HS	
23543	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	S	1	0	1	S	
24326	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	1	S	1	1	1	MR	Образует семена от самоопыления
19198	<i>S.phureja</i>	0	0	0	0	0	S	1	0	1	R	Образует семена от самоопыления
1667	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	S	0	1	1	S	
3637	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	0	S	1	1	1	S	
3639-257	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	0	S	0	0	1	S	
3639-258	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	1	S	0	0	1	S	
5642	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	0	S	0	0	1	S	
6504	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	1	S	0	0	1	S	Образует семена от самоопыления
6507	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	S	1	0	1	S	Ярко-желтая мякоть
7048	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	н.д.	1	1	1	HS	
7086	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	1	0	1	S	многоклубневость
7366	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	1	1	S	1	1	1	S	белая мякоть с фиолетовым кольцом

Номер каталога ВИР	Вид	Фитофтороз						ЗКН				Другие выделенные признаки
		R2-area 1/2	Rpi-blb2	Rpi-sto1-890	Rpi-blb1-821	Rpi-vnt1.3-612	Устойчивость	Grо1-4	TG689	57R	Устойчивость	
8354	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	MR	1	1	1	S	
8597	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	1	1	1	S	
9276-271	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	н.д.	0	1	1	HS	
9276-272	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	н.д.	0	1	1	н.д.	
9278	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	0	MR	0	0	1	S	
9296	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	0	S	1	0	1	S	
9301	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	S	0	1	1	S	
9306	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	н.д.	0	1	1	HS	
9379	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	0	1	1	S	
10478	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	1	1	S	1	1	1	S	Ярко-желтая мякоть
11020	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	1	R	1	0	1	S	Стабильная урожайность
12779	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	н.д.	1	1	1	HS	Ярко-желтая мякоть
14790	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	1	1	1	HS	
14790	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	1	1	1	S	
16596	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	S	0	1	1	S	Стабильная урожайность
17485	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	1	S	1	1	1	S	
17486	<i>S.stenotomum</i>	0	0	0	0	0	MR	1	1	1	S	
19189	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	0	1	1	S	многоклубневость
19190	<i>S.stenotomum</i>	0	0	1	0	0	S	0	1	1	S	