



ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2020 ТОМ VOLUME 103 ВЫПУСК ISSUE 3



УСТОЙЧИВОСТЬ К ФИТОФТОРОЗУ КЛОНОВ КАРТОФЕЛЯ В РАСЩЕПЛЯЮЩИХСЯ ГИБРИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Н.М. Зотеева

Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

e-mail: zoteyeva@rambler.ru

Фитофтороз относится к одной из главных проблем картофелеводства. Эффективным способом повышения уровня устойчивости картофеля служит гибридизация с использованием диких видов *Solanum*. Однако, этот метод имеет недостатки, связанные с передачей гибридам нежелательных признаков от диких видов. Для решения проблем селекции требуется поиск новых источников устойчивости среди образцов культурного типа, к которым относятся межвидовые селекционные клоны с улучшенными агрономическими характеристиками. В работе изучена устойчивость клонов трех гибридов, полученных от скрещиваний устойчивого к фитофторозу селекционного клона SW93-1015×adg с тремя чувствительными сортами *Solanum tuberosum* – ‘Аврора’, ‘Дезире’ и ‘Валор’. Преобладание числа устойчивых растений отмечено в популяциях гибридов (SW93-1015×adg)×Аврора и (SW93-1015×adg)×‘Дезире’. По результатам оценки, соотношение устойчивых и неустойчивых фенотипов было найдено равным у гибрида ‘Валор’×(SW93-1015×adg). Для клона SW93-1015×adg показана эффективная передача устойчивости гибридному потомству. Во всех расщепляющихся популяциях гибридов от скрещиваний SW93-1015×adg с чувствительными к фитофторозу сортами возможен отбор устойчивых растений. Клон SW93-1015×adg может быть использован в гибридизации с неустойчивыми сортами, обладающими другими хозяйственно-ценными признаками.

Ключевые слова: фитофтороз картофеля, источник устойчивости, гибридизация, оценка потомства

Поступила в редакцию: 29.04.2020

Принята к печати: 30.08.2020

Введение

Во всем мире картофель является одной из важнейших продовольственных культур. Фитофтороз картофеля, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans* Mont. (de Bary), известен как вредоносное заболевание картофеля, имеющее важное экономическое значение. В настоящее время фитофтороз ежегодно приводит к многомиллиардным убыткам как при производстве картофеля, так и томатов (Fry, 2008). Многие коммерческие сорта подвержены заражению *P. infestans* и должны регулярно обрабатываться фунгицидами. В необработываемых посадках болезнь может уничтожить урожай картофеля полностью. Государственные агентства многих европейских стран ищут пути снижения применения пестицидов в связи с финансовыми затратами и поддержкой благополучия окружающей среды. При этом подсчитано, что потери урожая при отсутствии частых обработок составляют 22% (Stevenson 1994). Устойчивость сортов может обеспечить экономически менее затратный и экологически безопасный способ контроля болезни. Такой материал может быть создан при гибридизации с источниками устойчивости и дальнейшим отбором устойчивых растений из расщепляющихся гибридов (Jansky, Rouse, 2003).

Весьма перспективным является включение в программы скрещиваний устойчивых генотипов, эффективно передающих признак гибридным потомствам. Селекционные клоны и большинство современных сортов картофеля выведены с участием диких и андийских культурных видов картофеля. Существуют проблемы скрещиваемости сортов и селекционных клонов картофеля с гибридами,

имеющими в своих родословных дикие виды. Они могут быть вызваны различными факторами, в том числе, несоответствием числа хромосом (Jansky, 2006). Многие селекционные клоны, полученные от межвидовых скрещиваний, известны как источники высокой устойчивости к *P. infestans* (Ortiz 1998).

Для улучшения хозяйственно-ценных характеристик клубней у гибридных клонов, проводят беккроссы, используя сорта и перспективные клоны *Solanum tuberosum* L. В селекционных программах используют как внутривидовую (*S. tuberosum*), так и межвидовую гибридизацию. В учреждениях Северо-Западного региона РФ, с климатом, благоприятствующим ежегодному распространению фитофтороза, успешно проводятся работы по созданию устойчивого к патогену селекционных клонов с использованием межвидовой гибридизации (Евдокимова, Калашник, 2018). Для расширения и обогащения генетического пула создаваемого селекционного материала ведется поиск новых источников устойчивости к болезни. Однако, не все гибриды, полученные от гибридизации с дикими видами, могут успешно скрещиваться с сортами. В данной работе в качестве источника устойчивости использовали оригинальный межвидовой гибрид от скрещивания селекционного клона с высоким уровнем устойчивости к фитофторозу SW93-1015 (Ali et al., 2012) с образцом *S. tuberosum* spp. *andigenum*. Цель исследования – оценить эффективность передачи устойчивости в гибридном потомстве, полученном от скрещиваний этого гибрида с чувствительными к болезни сортами *S. tuberosum*.

Материал и методы

По устойчивости к фитофторозу изучали потомства разных сеянцев F₁ трех гибридов, полученных от скрещиваний высокоустойчивого клона гибридного

происхождения SW93-1015 × adg с тремя неустойчивыми сортами *S. tuberosum* – ‘Аврора’ из коллекции ВИР и ‘Дезире’ и ‘Валор’ из коллекции Шведского Университета

сельскохозяйственных наук (SLU-Alnarp). Всего изучен 91 клон. Оригинальный селекционный клон получен, в свою очередь, от скрещивания фитофтороустойчивого селекционного клона SW93-1015 с образцом *S. andigenum* Juz. et Buk. Он был использован в двух комбинациях скрещиваний в качестве материнской формы (с сортами 'Аврора' и 'Дезире') и в одной – (с сортом 'Валор') в качестве опылителя. Заражение отделенных долей листьев гибридов Валор × (SW93-1015 × adg) и (SW93-1015 × adg) × Дезире осуществляли на технической базе SLU-Alnarp. Гибрид (SW93-1015 × adg) × Аврора тестировали на базе «Пушкинских и Павловских лабораторий ВИР» в г. Пушкин (С-Пб.).

Для инокулирования *P. infestans* использовали растения, выращиваемые в поле, в фазе «начала цветения». Изолят 88069 (Alpizar et al. 2007) поддерживали на ржано-агаровой среде в чашках Петри при 17°C в темноте (Kamoun et al., 1998). Мицелий смывали дистиллированной водой, фильтровали, с помощью хемоцитометра доводили концентрацию инокулюма до 30000 спорангиев/мл. Затем его инокулировали при +4°C.

Со среднего яруса опытных растений собирали по 6 долей листьев (две повторности), укладывали их в кюветы,

высланные влажной фильтровальной бумагой и накрывали стеклами. Доли листьев заражали, нанося каплю инокулюма на центральную часть долей листьев, и инкубировали при 17°C при световом режиме 16/8 часов день/ночь. Оценку устойчивости проводили на 8-е сутки после инокулирования в соответствии с методом, описанным Х. Зажицкой (Zarzycka, 2001) с использованием шкалы от 1 до 9 баллов, где балл 9 – отсутствие симптомов болезни, балл 1 – поражение всей площади листа. Устойчивыми считали растения с баллами оценки от 6 до 9, чувствительными – от 1 до 5. В качестве устойчивого контроля использовали листья растений образца *S. guerreroense* Согг., в качестве чувствительного – листья неустойчивых сортов 'Бинтье' и 'Дориза'.

Гибридизация выполнена методом опыления кастрированных цветков на декапитированных побегах материнских растений. Цветущие стебли растений картофеля были срезаны и помещены в стеклянные банки с водопроводной водой. Цветки материнских растений эмаскулировали и затем опыляли пылью, собранной с опылителей. Семена экстрагировали из ягод, достигших спелости (мягкая консистенция).

Результаты и обсуждение

Клон SW93-1015 из коллекции SLU характеризуется высокой устойчивостью к фитофторозу (Ali et al., 2012) и полевой устойчивостью к вирусу Y картофеля (Zoteyeva et al., 2017). У данного клона идентифицирован ген *R2 like* устойчивости к фитофторозу (Lenman et al. 2016). Селекционный клон SW93-1015 характеризуется небольшим количеством клубней и невысокой урожайностью, он имеет повышенное содержание α-чаконина в клубнях (Carlson-Nilsson et al., 2012), поэтому его необходимо вовлекать в дальнейшую селекцию, проводя скрещивания с культурными видами. Андийский культурный вид *S. tuberosum* subsp. *andigena* обладает нейтральной фотопериодической реакцией, в связи с чем его растения способны формировать полноценный урожай клубней в условиях продолжительного светового дня. Его преимуществом является также устойчивость к вирусам, в том числе, вредоносному вирусу скручивания листьев (Mihovilovich et al., 2007). Многие попытки получить гибриды с SW93-1015 не были успешными, поэтому в программе гибридизации с культурными видами, клон SW93-1015 был вначале скрещен с образцом *S. tuberosum* subsp. *Andigena* (adg) из коллекции ВИР (к-8077), где он использован в качестве «мостика» для последующих скрещиваний с сортами *S. tuberosum*.

Клоны гибрида SW93-1015 × adg обладают высокой устойчивостью к фитофторозу и продуктивностью (Zoteyeva et al., 2017), а также высокой устойчивостью к альтернариозу (Odilbekov et al., 2014). При генотипировании ряда полученных нами гибридов, у SW93-1015 × adg детектирован маркер гена устойчивости к фитофторозу *R2-like*, переданный от материнской формы (Зотеева и др. 2017).

Один из клонов SW93-1015 × adg был использован в скрещиваниях с сортами *S. tuberosum*. В гибридизацию привлечены три неустойчивых сорта. Параллельно с отбором устойчивых гибридных растений от этих комбинаций скрещиваний, были оценены донорские свойства клона

SW93-1015 × adg. Все три сорта, использованные в качестве родительских форм – материнской (сорт 'Валор') и отцовской (сорта 'Аврора' и 'Дезире') в скрещиваниях с этим клоном, проявляли чувствительность к фитофторозу. В наших опытах листья 'Desirée' поражаются при искусственном инокулировании (Зотеева и др., 2019). О чувствительности этого сорта к фитофторозу сообщают Ali с соавторами (Ali et al., 2014). В полевых условиях 2016, 2017 гг., благоприятных для развития *P. infestans*, поражение ботвы у сорта 'Валор' происходило раньше, чем у сорта 'Дезире'. В конце периода вегетации устойчивость этого сорта оценивали баллом 3.0. В полевых условиях растения сорта 'Аврора' поражались в более поздние сроки, чем растения сортов 'Дезире' и 'Валор'.

Распределение по устойчивости в популяции гибрида сорт 'Валор' × (SW93-1015 × adg), где устойчивый клон SW93-1015 × adg был использован в качестве опылителя, составило 16 устойчивых и 14 неустойчивых растений. Общий средний балл устойчивости (среднее из двух повторностей) составил 5.4. У гибрида, где клон SW93-1015 × adg использован в качестве материнской формы, а опылителем был сорт 'Дезире', 22 растения были отнесены к устойчивым и 9 – к неустойчивым. Общий балл устойчивости здесь составил 6.5. В обоих вариантах на листьях отмечены симптомы в виде реакции сверхчувствительности (рис. а,б). В популяции гибрида (SW93-1015 × adg) × Аврора листья 22 растений не поражались, 8 растений оказались неустойчивыми; общий балл устойчивости составил 6.6.

Распределение растений по устойчивости к *P. infestans* выявило более частую встречаемость устойчивых фенотипов в гибридах (SW93-1015 × adg) × Аврора и (SW93-1015 × adg) × 'Дезире', общие баллы устойчивости в обоих вариантах были на одном уровне.

При лабораторном фенотипировании гибрида, полученного от скрещивания сорта Аврора с устойчивым

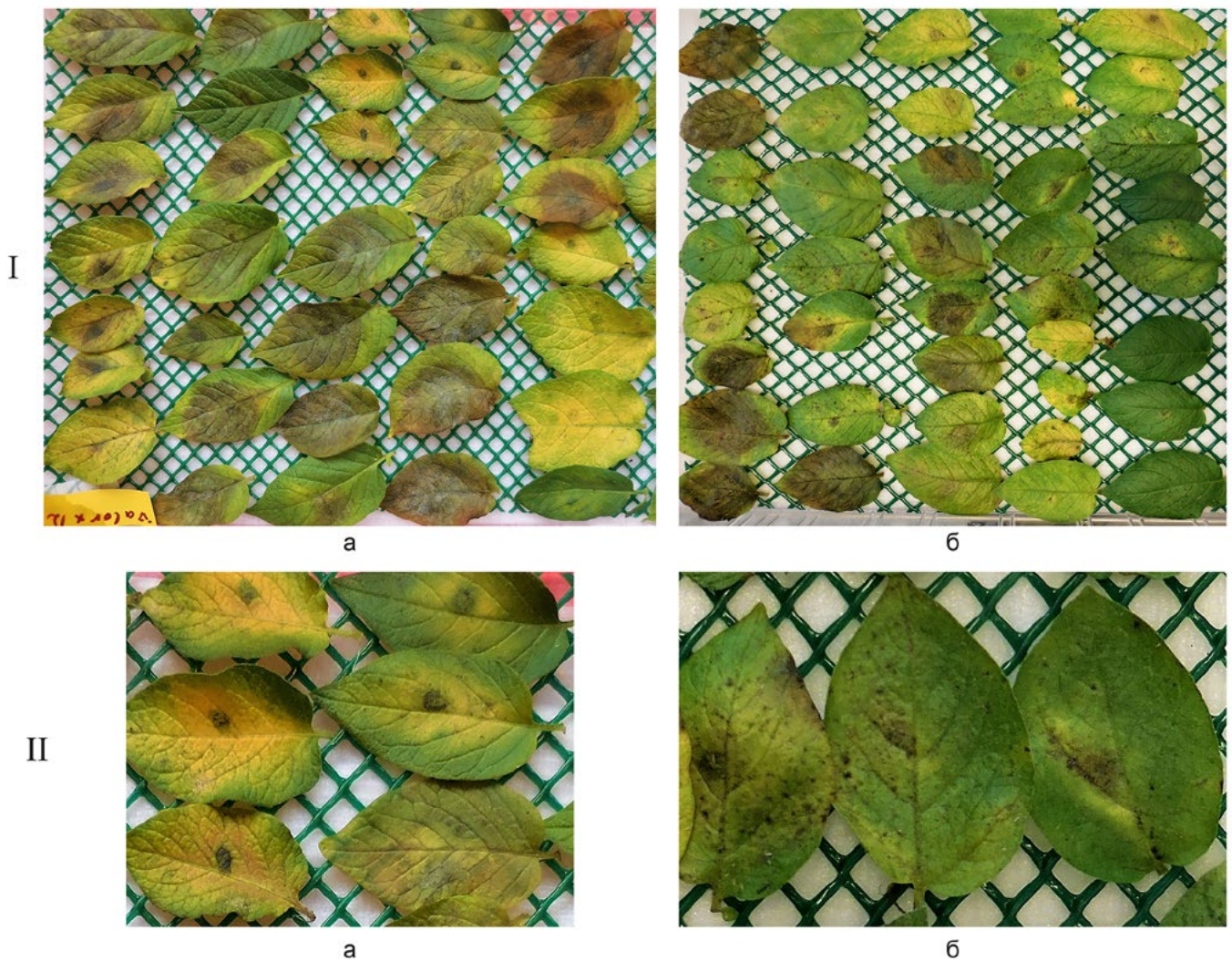


Рисунок. I. Реакция растений гибридов 'Валор' × (SW93-1015 × adg) (а) и (SW93-1015 × adg) × 'Дезире' (б) на заражение *P. infestans* (8-е сутки после заражения).

II. Реакция сверхчувствительности на долях листьев гибридов а и б

Figure. I. Response of the leaflets of hybrids 'Valor' × (SW93-1015 × adg) (a) and (SW93-1015 × adg) × 'Desiree' (b) to inoculation with *P. infestans* (8th day post inoculation).

II. Hypersensitivity reaction on leaflets of hybrids a and b

к фитофторозу образцом мексиканского вида *Solanum neoantipovicii* Buk. отмечено высокое число устойчивых растений; у всех из них ПЦР-анализ выявил наличие гена *R2-like* устойчивости к фитофторозу, которым обладает клон SW93-1015 (Зотеева и др., 2019). У двух изученных с использованием молекулярных маркеров устойчивых межвидовых гибридов, полученных от скрещиваний SW93-1015 × adg (материнское растение) с сортом 'Desirée' и сложным межвидовым гибридом, был детектирован маркер гена *R2-like* (Зотеева и др., 2017). Возможно, устойчивость обусловлена эффектом этого гена у гибридных потомств. Гибрид (SW93-1015 × adg) × Валор квалифицирован как неперспективный и не был включен в молекулярный скрининг.

Высокая доля устойчивых растений в расщепляющихся гибридных популяциях, полученных от скрещиваний с

клоном SW93-1015 × adg, показывает, что этот клон является эффективным источником устойчивости к фитофторозу. Во всех трех гибридах, полученных от скрещиваний с клоном SW93-1015 × adg с неустойчивыми сортами, использованными как в качестве материнского, так и отцовских родительских форм, устойчивые фенотипы составили от половины до двух третей растений. В комбинации, где SW93-1015 × adg служил отцовским растением, доля неустойчивых растений была выше. Это может быть связано с более эффективной передачей признака в случаях, когда устойчивый родитель используется в качестве материнской формы.

Этот клон может быть использован в гибридизации с неустойчивыми сортами, обладающими другими хозяйственно-ценными свойствами.

Автор выражает благодарность Рамешу Ветукури (Dr. Ramesh Vetukuri) из Шведского Университета сельскохозяйственных наук (Swedish University of Agricultural Sciences) за предоставление изолята *P. infestans* 88069.

Работа частично поддержана частным фондом E. and I. Nilssons (проведение скрещиваний, получение гибридов, тестирование двух комбинаций скрещиваний) и государственным заданием согласно тематическому плану ВИР по теме

№ 0662–2018–0019 «Скрининг генофонда основных сельскохозяйственных культур по устойчивости к болезням и вредителям с использованием современных лабораторных методов, изучение эффективности источников устойчивости к вредным организмам», номер государственной регистрации ЕГИСУ НИОКР АААА–А16–116040710361–8 (тестирование одного гибрида, подготовка статьи).

Библиографический список (References)

- Евдокимова ЗЗ, Калашник МВ (2018) Устойчивость гибридов второго клубневого поколения к полевой популяции *Phytophthora infestans* и выделение хозяйственно-ценных клонов. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 179(2):151–158. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-2-151-158>
- Зотеева НМ, Антонова ОЮ, Клименко НС, Апаликова ОВ, Carlson-Nilsson U и др (2017) Использование молекулярных маркеров R генов и типов цитоплазмы при интрогрессивной гибридизации диких полиплоидных мексиканских видов картофеля. *Сельскохозяйственная биология* 52:964–975. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.964rus>
- Зотеева НМ, Клименко НС, Хютти АВ (2019). Пирамидирование генов устойчивости к патогенам в комбинации скрещивания мексиканского вида картофеля *Solanum neoantipoviczii* с отбором из сорта 'Аврора'. *Вестник защиты растений* 102 (4):16–22 <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-4-102-16-22>
- Ali A, LI Moushib, M Lenman, F.Levander, K Olsson, U Carlson-Nilsson, N. Zoteyeva, E Liljeroth, E Andreasson (2012) Paranoid potato. *Phytophthora*-resistant genotype shows constitutively activated defense. *Plant Signal Behav* 7(3):400–408
- Ali A, E Alexandersson, M Sandin, S Resjö, M Lenman, P Hedley, F Levander, E Andreasson (2014) Quantitative proteomics and transcriptomics of potato in response to *Phytophthora infestans* in compatible and incompatible interactions. *BMC Genomics* 15(1):497. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-497>
- Alpizar LG., Carbone I, Ristaino JB (2007) An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies. *Proc Nat Acad Sci* 104(9):3306–3311
- Carlson-Nilsson U, Zoteyeva N, Reslow F (2012) Glycoalkaloid content in potato tubers with different levels of resistance to *Phytophthora infestans*. *Pro-Special Rep* 15: 195–200
- Fry W (2008) *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Mol Plant Pathol* 9:385–402
- Jansky S (2006) Overcoming hybridization barriers in potato. *Review Plant Breeding* 125:1–12
- Jansky SH, Rous D (2003) Multiple disease resistance in interspecific hybrids of potato. *Plant Dis* 87:266–272
- Kamoun S, van West P, Vleeshouwers VG, de Groot KE, Govers F (1998) Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elector protein INF1 elicitor. *Mol Plant Microbe In* 19:854–863
- Lenman M., Ali A, Mühlenbock P, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E, Champouret N, Vleeshouwers V.G., Andreasson E (2016) Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015. *Theor Appl Genet* 129(1):105–115 <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2613-y>
- Mihovilovich E, Alarson L, Perez AL, Alvarado J, Arrelano C, Bonierbale M (2007) High level of heritable resistance to Potato leafroll virus (PLRV) in *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*. *Crop Sci* 47:1091–1103
- Odilbekov F, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E (2014) Phenotyping early blight resistance in potato cultivars and breeding clones. *Euphytica* 197:87–97 <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1054-4>
- Ortiz R (1998) Potato breeding via ploidy manipulations. *Plant Breed Rev* 16:15–86
- Stevenson WR (1994) The potential impact of field resistance to early blight on fungicide inputs. *Am Potato J* 71:317–324
- Zarzycka H (2001) Evaluation of resistance to *Phytophthora infestans* in detached leaflet assay. *Monografie i Rozprawy Naukowe IHAR Radzików* 10:75–77
- Zoteyeva N, U Carlson-Nilsson, T Bengtsson, K Olsson, R Ortiz (2017) Late blight and virus host-plant resistances, crossing ability and glycoalkaloids in Nordic potato germplasm. *Acta Agr Scand B-S P* 67(7):628–636 <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1324042>

Translation of Russian References

- Zoteyeva НМ, Antonova ОЮ, Klimenko NS, Apalikova OV, Carlson-Nilsson U et al (2017) Ispolzovanie molekulyarnykh markerov R-genov i tipov tsytoplasmy pri introgressivnoy gibridizatsii dikikh polyploidnykh meksikanskikh vidov kartofelya [Facilitation of introgressive hybridization of wild polyploid Mexican potato species using DNA markers of R genes and of different cytoplasmic types]. *Agricultural Biology* 52:964–975. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.964rus> (in Russian)
- Evdikimova ZZ, Kalashnik MV (2018) Ustoychivost gibridov vtorogo klubneвого pokoleniya k polevoy populatsii *Phytophthora infestans* i videlenie chozyaystvenno-tsennykh klonov [Resistantce of the 2th generation clones to natural population of *Phytophthora infestans* and selection of clones with the marketable traits] *Proceedings on applied botany, genetics and breeding* 179(2):151–158. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-2-151-158> (in Russian)
- Zoteyeva НМ, Klimenko NS, Khyutti AV (2019) Piramidirovanie genov ustoyczyvosti k patogenam v kombinatsii skreschivaniya meksikanskogo vida kartofelya *Solanum neoantipoviczii* s otborom iz sorta 'Aurora' [Pyramiding of pathogen resistance genes in cross combination of Mexican potato species *Solanum neoantipoviczii* and selection from variety 'Aurora']. *Plant protection news* 102(4):16–22. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-4-102-16-22> (in Russian)

**RESISTANCE TO LATE BLIGHT OF POTATO CLONES
IN SEGREGATING HYBRID POPULATIONS**

N.M. Zoteyeva

*All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia**e-mail: zoteyeva@rambler.ru*

Late blight remains among the main problems of potato industry. Interspecific hybridization with the wild *Solanum* species is an efficient way to increase the resistance to this disease, though is accompanied with negative traits. To solve this problem, new sources of resistance, including resistant breeding clones with improved agronomic characteristics, are needed. In the present study, we investigated resistance of three hybrid populations derived from crossesbreeding of resistant original clone SW93-1015×adg with susceptible cultivars: ‘Aurora’, ‘Desirée’ and ‘Valor’. High predominance of the resistant plants was found among the hybrids (SW93-1015×adg)×Aurora and (SW93-1015×adg)×‘Desirée’. The numbers of resistant and susceptible plants within hybrid Valor’×(SW93-1015×adg) were almost equal. Results showed the efficiency of clone SW93-1015×adg as the late blight resistance source. Within each segregating population, the selection of resistant clones was possible. Clone SW93-1015×adg can be used in breeding programs for the hybridization with susceptible cultivars characterized by other useful characteristics.

Keywords: late blight, resistance source, hybridization, hybrid progeny, assessment*Received: 29.04.2020**Accepted: 30.08.2020*