

Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты

Т.А. Гавриленко^{1,2}✉, А.П. Ермишин³

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия

³ Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Возделываемый картофель *Solanum tuberosum* L. является четвертой по значимости продовольственной культурой в мире и, как многие другие культурные растения, характеризуется низким уровнем генетического разнообразия. Наиболее эффективный подход к расширению генетического разнообразия селекционных сортов основан на интрогрессии генетического материала диких и культурных видов картофеля, относящихся к секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L., которая, по оценкам разных систематиков, включает от 112 до 235 видов. В то же время из-за барьеров презиготической и постзиготической несовместимости в генофонд селекционных сортов был интрогрессирован генетический материал лишь около 10 % дикорастущих видов картофеля. К настоящему времени в области молекулярной генетики, геномики и биотехнологии накоплен большой объем информации, позволяющий решать задачи кардинального расширения генетического разнообразия культурных растений. В статье приведен краткий обзор современных данных о генетических факторах, детерминирующих презиготическую и постзиготическую несовместимость, особенностях вовлечения в гибридизационный процесс самосовместимых и самонесовместимых видов секции *Petota*, видов с разными значениями балансового числа эндосперма (EBN), а также о возможных механизмах взаимодействия родительских геномов при формировании эндосперма гибридного семени. Показано значение теории EBN для дальнейшего развития прикладных исследований, направленных на расширение генетического разнообразия селекционного генофонда картофеля. Рассматриваются традиционные и современные подходы и методы преодоления межвидовой несовместимости и приведены примеры успешных исследований по интрогрессивной гибридизации картофеля. Статья предваряется сведениями о генетическом разнообразии видов картофеля, относящихся к секции *Petota* рода *Solanum*, а также о концепции генных пулов этих видов.

Ключевые слова: *Solanum*; картофель; межвидовая несовместимость; интрогрессивная гибридизация.

Interspecific hybridization of potato: theoretical and applied aspects

T.A. Gavrilenko^{1,2}✉, A.P. Yermishin³

¹ Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St.-Petersburg, Russia

² St. Petersburg State University, Biological Faculty, St. Petersburg, Russia

³ Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The common potato *Solanum tuberosum* is the fourth most important crop in the world and like many other cultivated plants is characterized by low level of genetic diversity. The most effective approach to broaden genetic diversity of breeding varieties is based on the introgression of genetic material of wild and cultivated species belonging to section *Petota* Dumort. of the genus *Solanum* L. This section, according to estimates by different taxonomists, includes from 112 to 235 species. At the same time, because of the barriers of prezygotic and postzygotic incompatibility, only about 10 % of wild potato species have been actively involved into the breeding process and their genetic material has been introgressed into the gene pool of varieties. To date, molecular genetics, genomics, and biotechnology have accumulated a large amount of information, allowing the problems of extension of the genetic diversity of common potato to be addressed. The article presents a review of modern data about the genetic factors determining prezygotic and postzygotic incompatibility, about the features of involvement in the hybridization process of the self-compatible and self-incompatible species of section *Petota* and species with different values of the endosperm balance number (EBN), as well as possible mechanisms of interaction between the parental genomes during the formation of the endosperm of the hybrid seed. Data are provided on the value of the theory of EBN for the further development of applied research aimed at increasing the genetic diversity of the breeding gene pool. This review discusses the traditional and modern approaches and methods of overcoming interspecific incompatibility and gives examples of successful studies on introgressive hybridization of potato. The article is preceded by information about the genetic diversity of potato species belonging to section *Petota* of the genus *Solanum*.

Key words: *Solanum*; potato; interspecific incompatibility; introgressive hybridization.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Гавриленко Т.А., Ермишин А.П. Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):16-29. DOI 10.18699/VJ17.220

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Gavrilenko T.A., Yermishin A.P. Interspecific hybridization of potato: theoretical and applied aspects. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):16-29. DOI 10.18699/VJ17.220

Картофель – четвертая по значимости продовольственная культура в мире после пшеницы, риса и кукурузы. Как и многие другие культурные растения, возделываемый картофель *Solanum tuberosum* ($2n = 4x = 48$, геном AAAA) характеризуется низким уровнем разнообразия, особенно в отношении генетических факторов, контролирующих устойчивость растений к действию биотических и абиотических стрессоров. В связи с этим актуальной проблемой селекционно-генетических исследований являются поиск и создание генетически разнообразных источников и доноров аллелей, генов, QTL, детерминирующих хозяйственно ценные признаки с целью выведения новых высокопродуктивных сортов, обладающих групповой и комплексной длительной устойчивостью к болезням и вредителям, толерантных к различным абиотическим стрессорам, с улучшенными качественными характеристиками. Отметим, что задача повышения устойчивости к вредным организмам приоритетна для картофеля. Это обусловлено вегетативным размножением данной культуры, способствующим накоплению в растениях вирусных, виroidной, бактериальных, грибных и микоплазменных инфекций. Наиболее эффективный подход к расширению генетического разнообразия селекционных сортов основан на интрогрессии генетического материала диких и культурных видов картофеля.

В исследованиях по интрогрессивной гибридизации огромное значение имеет информация о межвидовом и внутривидовом генетическом разнообразии многочисленных видов картофеля; в свою очередь результаты изучения процессов гибридизации предоставили важные данные для уточнения вопросов филогении и систематики видов секции *Petota*.

Разнообразие видов картофеля и перспективы интрогрессии генетического материала диких видов в селекционный генофонд

Клубнеобразующие виды рода *Solanum* (картофель) относятся к секции *Petota*, которая, по оценкам ведущих специалистов, включает от 112 (Spooner et al., 2014) до 235 видов (Hawkes, 1990), произрастающих в основном вдоль западного побережья американских континентов от 38° с. ш. до 41° ю. ш. (Hijmans et al., 2002). Наибольшее разнообразие видов картофеля сосредоточено в Центральной Мексике и на Перуано-Боливийском горном плато (Hawkes, 1990, 1994; Hijmans, Spooner, 2001; Spooner et al., 2014). Помимо многочисленных дикорастущих видов в секцию *Petota* входит незначительное количество культурных видов (от 3 до 17, по оценкам разных систематиков), среди которых возделываемый картофель *S. tuberosum* имеет наибольшее экономическое значение. В представлениях о таксономическом составе и структуре секции *Petota* существуют значительные противоречия (Hawkes, 1956, 1990; Correll, 1962; Букасов, 1978). В традиционной систематике разные авторы разделяли виды секции *Petota* на разное число надвидовых таксонов. Так, С.М. Букасов (1978) выделял 25 подсекций и 36 серий, D. Correll (1962) – 32 серии, J. Hawkes (1990) – 21 серию. В настоящее время общепринятой классификации секции *Petota* не существует.

Виды картофеля образуют полный полиплоидный ряд (от $2n = 2x = 24$ до $2n = 6x = 72$), причем около 70 % из них являются диплоидами (Hawkes, 1990; Hijmans et al., 2007; Spooner et al., 2014) (Доп. материалы 1)¹. Во второй половине XX в. по результатам традиционного цитогенетического анализа мейоза межвидовых гибридов и полиплоидных видов был установлен геномный состав большинства видов секции *Petota* (Marks, 1955, 1965; Irikura, 1976; Matsubayashi, 1991). Согласно этим исследованиям, все культурные виды и их дикорастущие предшественники имеют базовый геном А. Многочисленные модификации генома А представлены у диких южноамериканских видов картофеля, ареалы которых находятся на территории современных Колумбии, Перу, Боливии, Аргентины, Чили. В состав аллополиплоидных геномов диких видов Северных Анд и Центральной Америки входят субгеномы А, Р или А, С, а в состав геномов отдаленных мексиканских аллополиплоидов – субгеномы А, В или А, D. Диплоидные доноры В, С, D и Р геномов в этих исследованиях не были идентифицированы.

С использованием современных подходов – геномной ДНК-ДНК гибридизации *in situ* на хромосомах (GISH) (Pendinen et al., 2008, 2012) и секвенирования однокопийных ядерных генов (Spooner et al., 2008; Rodríguez, Spooner, 2009; Rodríguez et al., 2010; Cai et al., 2012) – были получены новые данные о геномном составе мексиканских и ряда южноамериканских видов картофеля. Эти результаты обобщены в обзорах (Gavrilenko, 2011; Spooner et al., 2014). Интеграция данных молекулярных, биогеографических и морфологических исследований, выполненных в последние десятилетия, привела к появлению новых гипотез о филогенетических взаимосвязях существующих видов картофеля, а также к ревизии таксономического состава секции *Petota* (Spooner et al., 2004, 2014, 2016). Результаты этих исследований не поддерживают таксоны надвидовых рангов (подсекции и серии), так же как и выделение многих видов картофеля.

Результаты RFLP (restriction fragment length polymorphism) анализа хлоропластной ДНК (хлДНК) обозначили четыре клады: 1) мексиканские диплоидные виды серии *Pinnatisecta*, за исключением *S. cardiophyllum*; 2) *S. cardiophyllum* и *S. bulbocastanum*; 3) виды серии *Piurana* и ряд видов серии *Conicibaccata*; 4) все оставшиеся южноамериканские виды, полиплоиды Северной и Центральной Америки и диплоидный мексиканский вид *S. verrucosum* (Spooner et al., 1991; Spooner, Sytsma, 1992; Castillo, Spooner, 1997; Spooner, Castillo, 1997). Молекулярно-филогенетические исследования, выполненные с использованием различных молекулярных маркеров ядерной ДНК, обозначили три клады, которые формируют следующие группы видов, выделенные ранее в результате анализа полиморфизма хлДНК: (1+2), (3) и (4), см. обзор (Spooner et al., 2014). Отметим, что авторы современной системы не рассматривают полученные клады в качестве таксономических единиц, но в ряде случаев выделяют неформальные группы, указывая на то, что в этой области остается еще много нерешенных проблем (Spooner et al., 2004, 2014, 2016).

¹ Дополнительные материалы 1–3 см. в Приложении 1 по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2017-21/appx1.pdf>

В настоящем обзоре состав секции *Petota* приведен в соответствии с современной системой (Spooner et al., 2014) (см. Доп. материалы 1), а для согласования с данными других авторов использованы также таксономические категории, принятые в классификации (Hawkes, 1990), которая наиболее широко распространена в литературе в последние десятилетия.

Представления о таксономическом разнообразии и филогении секции *Petota* и близких секций рода *Solanum* имеют важнейшее значение для развития теоретических основ интрогрессивной гибридизации картофеля. Однако в практической селекции наибольший интерес представляет разделение генетического разнообразия дикорастущих видов картофеля на генные пулы в зависимости от потенциальных возможностей их использования в селекционном процессе. Согласно концепции генных пулов (Harlan, de Wet, 1971), к первичному генному пулу (GP1) относят виды, свободно скрещиваемые с сортами; образующиеся гибриды имеют регулярный мейоз и фертильное потомство. Ко вторичному генному пулу (GP2) относят дикие виды, вовлекаемые в гибридизацию с использованием традиционных методов; образующиеся гибриды частично фертильны, интрогрессия возможна. К третичному генному пулу (GP3) относят дикие виды, которые вовлекаются в интрогрессивную гибридизацию только при использовании радикальных методов преодоления межвидовой несовместимости на разных стадиях получения и развития гибридов.

Разделение видового разнообразия секции *Petota* на генные пулы (GP1, GP2, GP3) имеет свои особенности, связанные прежде всего со способностью видов картофеля преодолевать барьеры постзиготической несовместимости, которая определяется на основе теории «эффективной плоидности» или балансового числа эндосперма (endosperm balance number – EBN) (см. далее). Согласно данной теории, каждому виду присваивается определенное значение EBN в зависимости от результатов его участия в межвидовых скрещиваниях; в пределах секции *Petota* значения EBN видов варьируют от 1 до 4 (см. Доп. материалы 1).

К вопросу разделения видового разнообразия секции *Petota* на генные пулы обращались многие исследователи (Ortiz, 1998; Veilleux, De Jong, 2007; Bradeen, Haynes, 2011; Jansky et al., 2013; De Haan, Rodriguez, 2016), однако единого мнения о потенциале использования в селекции генетического разнообразия диких видов картофеля пока не сформировано.

К первичному генному пулу (GP1) большинство исследователей относят культурные виды картофеля, включающие все разнообразие аборигенных и селекционных сортов. S. De Haan, F. Rodriguez (2016) причисляют к GP1 также отдельные дикорастущие виды, которые принимали участие в формировании генофонда культурных видов картофеля: виды ‘комплекса *Solanum brevicaulle*’, *S. acaule*, *S. berthaultii* (= *S. tarijense*).

Ко вторичному генному пулу (GP2) относят подавляющее большинство южноамериканских диких видов разных уровней плоидности со значениями EBN, равными 2, 4 и 6, а также полиплоидные мексиканские виды различного геномного состава с EBN = 2 и EBN = 4 и диплоидный

мексиканский вид *S. verrucosum* (EBN = 2, геном AA). Дикие виды из GP2 могут непосредственно скрещиваться с *S. tuberosum* на основе подбора родительских пар с учетом направлений скрещиваний и значений балансового числа эндосперма. Ряд видов вторичного генного пула вовлекается в селекционный процесс с использованием *bridge species* – видов-посредников и эмбриокультуры (см. далее). Перечисленные методы позволяют преодолевать барьеры постзиготической несовместимости. Образующиеся гибриды культурного картофеля с видами из GP2 фертильны или частично фертильны. Отметим, что первичный и вторичный генные пулы включают виды, формирующие единую кладу 4 в молекулярно-филогенетическом анализе.

К третичному генному пулу (GP3) относят дикие диплоидные виды картофеля с EBN = 1, включающие мексиканские В-геномные виды (формирующие клады 1+2) и ряд южноамериканских видов с EBN = 1, например *S. commersonii*, *S. circaefolium* (см. Доп. материалы 1). Прямая гибридизация видов из GP3 с *S. tuberosum* невозможна. Известны единичные примеры успешной гибридизации GP3 видов с помощью видов-посредников и последующего использования эмбриокультуры (Hermsen, 1994; Carputo et al., 1997; Sanetomo et al., 2014). Чаще всего виды третичного генного пула вовлекаются в селекционный процесс с использованием соматической гибридизации, позволяющей преодолевать барьеры презиготической несовместимости (см. далее).

Можно заключить, что, как и у представителей других родов и семейств, перспективы интрогрессии генетического материала дикорастущих видов секции *Petota* в селекцию определяются прежде всего пре- и постзиготической несовместимостью. Интрогрессивную гибридизацию картофеля также осложняют генно-цитоплазматическая стерильность гибридов (Анисимова, Гавриленко, 2017), снижение жизнеспособности и/или низкая фертильность гибридов ранних ВС поколений. Ниже приведен краткий обзор современного состояния исследований ключевых проблем межвидовой гибридизации картофеля, а также основных методов преодоления межвидовой несовместимости.

Репродуктивные барьеры между культурным картофелем и дикими видами секции *Petota* рода *Solanum*

Презиготическая несовместимость при гибридизации разных видов картофеля может проявляться в неспособности к скрещиваниям, связанной с ингибированием роста пыльцевых трубок в тканях пестика: как правило, они останавливаются в верхней трети пестика. На основе общих проявлений реакций взаимодействия пыльцы с тканями пестика при межвидовых и внутривидовых скрещиваниях еще в середине прошлого века была выдвинута гипотеза об общих генетических факторах, определяющих самонесовместимость и межвидовую несовместимость (Lewis, Crowe, 1958). В этой связи И.М. Суриков (1972, 1991) предложил рассматривать обобщенную несовместимость, которая, с одной стороны, препятствует инбридингу (во внутривидовых скрещиваниях), а с другой –

обуславливает изолирующие механизмы обособления видов (при межвидовых скрещиваниях).

Практически все диплоидные виды картофеля самонесовместимы (self-incompatible – SI). Для одного диплоидного вида картофеля – *S. verrucosum* ($2n = 2x = 24$, AA, EBN = 2) установлена самосовместимость (self-compatibility – SC) (Abdalla, Hermsen, 1973), так же как и для не клубненосных диплоидных видов из близких секций рода *Solanum* – *Etuberosum* и *Lycopersicum*. Полиплоидные виды картофеля в разной степени автофертильны. В литературе сообщалось о возможности отбора самофертильных форм у SI диплоидных культурных (*S. phureja*, *S. stenotomum*) и диких (*S. kurtzianum*, *S. neohawkesii*, *S. raphanifolium*, *S. pinnatisectum*, *S. sanctae-rosae*) видов картофеля (Cipar et al., 1964). К. Hosaka, R.E. Hanneman (1998a) идентифицировали ген *Sli* (*S*-locus inhibitor – ингибитор *S*-локуса) у нескольких самофертильных мутантных клонов дикого самонесовместимого вида *S. chacoense* и картировали его на хромосоме XII (Hosaka, Hanneman, 1998b).

В скрещиваниях самосовместимых и самонесовместимых видов проявляется односторонняя несовместимость (unilateral incompatibility – UI). Комбинация SI × SC характерна презиготическая несовместимость – рост пыльцевых трубок ингибирован (Lewis, Crowe, 1958). В реципрокных скрещиваниях SC × SI пыльцевые трубки SI-видов хорошо растут в тканях пестика SC-видов; эти комбинации могут быть результативными при отсутствии постзиготической несовместимости. Примером односторонней несовместимости могут служить скрещивания SC-вида *S. verrucosum* с самонесовместимыми видами картофеля (Jansky, Hamernik, 2009). Самофертильные мутанты SI-видов не проявляют UI (Eijlander, 1998).

Картофель принадлежит к растениям с гаметофитным контролем реакции самонесовместимости (Pandey, 1962; Cipar et al., 1964), которую детерминирует *S*-локус (Xu et al., 1990), картированный на хромосоме I (Rivard et al., 1996). *S*-локус включает несколько генов, для которых характерен множественный аллелизм. Опыление и оплодотворение происходят только в случае различающихся аллелей генов локуса *S* пыльцы (гаметофита) и пестика (спорофита). Изучение UI в случае гибридизации между SI-дигаплоидами *S. tuberosum* и SC-видом *S. verrucosum* показало, что в этот процесс помимо *S*-генов вовлечены и другие генетические факторы, которые не имеют *S*-аллельной специфичности и могут быть не сцеплены с *S*-локусом (Hermsen et al., 1974; Eijlander, 1998).

Гены самонесовместимости экспрессируются независимо в тканях пестика и в пыльцевой трубке (Trognitz, Schmidiche, 1993). Экспрессирующиеся в диплоидных тканях пестика ген(ы) локуса *S* кодируют цитотоксичные гликопротеины с рибонуклеазной активностью (S-РНКазы), которые могут беспрепятственно проходить через мембрану пыльцевой трубки. В ходе реакции самонесовместимости они разрушают РНК пыльцы, ингибируя и останавливая таким образом рост пыльцевых трубок (Clarke, Newbigin, 1993). Самосовместимые виды рода *Solanum*, например *S. verrucosum*, не содержат в пестиках *S*-специфических РНКаз (Eijlander, 1998), которые, однако, сохраняются у самофертильных мутантных форм картофеля (Thompson et al., 1991).

Гены *S*-локуса, экспрессирующиеся в пыльцевых трубках, кодируют SLF-протеины (F-box протеины *S*-локуса) (Eckardt, 2004), которые узнают подлежащие деградации РНКазы и располагают их определенным образом в специальном комплексе ферментов (E3 убиквитин-лигазном SCF-комплексе, включающем Skp1, Cullin1 и F-box компоненты). Подлежащие деградации протеины метятся путем АТФ-зависимого присоединения убиквитина. В реакцию самонесовместимости вовлечены продукты, как правило, нескольких *SLF*-генов, локализованных в *S*-локусе в непосредственной близости с геном, кодирующим определенную S-РНКазу. У представителей рода *Petunia* идентифицировано от 16 до 20 *SLF*-генов (Fujii et al., 2016), у *S. penellii* – 23, а у *S. lycopersicum* обнаружено 19 *SLF*-генов (Li, Chetelat, 2015). Каждый из *SLF*-протеинов способен распознавать один или несколько аллельных вариантов S-РНКаз, а весь набор *SLF*-протеинов определенного генотипа обеспечивает распознавание широкого спектра аллельных вариантов генов, кодирующих S-РНКазы, за исключением своего собственного варианта (Kubo et al., 2010; Fujii et al., 2016).

В совместимых комбинациях скрещиваний пыльцевые трубки защищены от цитотоксического действия S-РНКаз, которые деградируются 26S протеасомами (комплексом протеолитических ферментов, переваривающих меченные убиквитином протеины). В несовместимых комбинациях скрещиваний, например при самоопылении SI-видов, S-РНКазы пестика не распознаются *SLF*-протеинами пыльцы и сохраняют свою активность, обуславливающую остановку роста пыльцевых трубок. Полиплоидные виды, как правило, самосовместимы, так как в пыльцевых трубках высокогетерозиготных генотипов представлены *SLF*-протеины, соответствующие разным аллельным вариантам S-РНКаз, благодаря чему они способны распознавать собственные S-РНКазы (Kubo et al., 2010; Fujii et al., 2016).

Представленная выше модель получила название «совместного распознавания S-вариантов, отличных от самоопыления» (англ. collaborative non-self recognition system) (Kubo et al., 2010). Согласно данной модели, презиготическая несовместимость, проявляющаяся при гибридизации *S. tuberosum* (дигаплоиды) с филогенетически отдаленными диплоидными видами картофеля, например с *S. bulbocastanum*, обусловлена тем, что аллельное разнообразие набора *SLF*-генов одного вида может не обеспечивать распознавания отдельных (или большинства) вариантов S-РНКаз другого вида.

Роль презиготической несовместимости в межвидовой гибридизации картофеля относительно ограничена. Так, например, отмечены высокие значения показателя роста пыльцевых трубок высокофертильных дигаплоидов *S. tuberosum* в столбиках пестиков большинства из изученных 194 образцов 24 диких южноамериканских и полиплоидных мексиканских видов картофеля из GP2 (Маханько, 2008). Можно полагать, что у многих диких видов картофеля могут быть выделены генотипы, для которых презиготические барьеры не являются препятствием в скрещиваниях с *S. tuberosum*. В то же время при гибридизации высокофертильных дигаплоидов *S. tuberosum* (опылители) с отдаленными мексиканскими

диплоидными видами (геном ВВ) из GP3 отмечена высокая частота комбинаций с выраженной презиготической несовместимостью (100 % – с *S. bulbocastanum*, 86 % – с *S. pinnatisectum*, 69 % – с *S. jamesii*) (Маханько, 2008).

Постзиготическая несовместимость, проявляющаяся после оплодотворения, наиболее часто связана с угнетением и гибелью гибридного зародыша или с аномальным развитием и нежизнеспособностью гибридных семян вследствие нарушений развития эндосперма. У семенных растений эндосперм – это один из важнейших элементов семени, выполняющий функцию питания зародыша в ходе его развития с момента образования зиготы. У диплоидных видов триплоидный ($3x$) эндосперм формируется в результате оплодотворения центральной клетки ($2x$) зародышевого мешка одним из спермиев (x); второй спермий (x) оплодотворяет гаплоидную яйцеклетку (x) с образованием диплоидной зиготы ($2x$). Генотип эндосперма идентичен генотипу зародыша, отличаясь от него лишь дозой генов материнского родителя. В норме после оплодотворения центральная клетка претерпевает несколько циклов митотических делений без цитокинеза. В результате образуется синтиций с многочисленными ядрами без клеточных перегородок (Berger, 2003). При переходе зародыша к стадии сердечка начинается процесс перехода от ядерного к клеточному состоянию (*англ.* cellularization) эндосперма. По завершении формирования клеток эндосперм более не развивается, он поддерживает рост зародыша и постепенно дегенерирует.

В межвидовых, а также внутривидовых интерплоидных скрещиваниях разных видов растений имеют место различные нарушения в развитии эндосперма гибридных семян, касающиеся прежде всего продолжительности синтициальной стадии и сроков начала клеточной стадии развития эндосперма: преждевременное образование клеток или более позднее по сравнению с нормой (внутривидовые скрещивания между формами с одинаковым уровнем ploидности) начало этой стадии; отсутствие клеточной стадии. Также могут происходить нарушения митотических делений в ядрах эндосперма и разрастание эндотелия. У многих видов растений, в том числе картофеля, эти и другие нарушения развития эндосперма приводят к гибели зародыша на ранних стадиях. В частности, при гибридизации диплоидного и тетраплоидного картофеля триплоидные гибриды чаще всего не образуются, вне зависимости от направления скрещиваний. Это явление, получившее название «триплоидный блок» (Marks, 1966), позднее было исследовано в модельной системе с разноплоидными формами диплоидного вида *Arabidopsis thaliana*. В норме – в скрещиваниях диплоидных форм ($2x \times 2x$) – соотношение материнских и отцовского геномов в гибридном эндосперме составляет 2:1, формируются жизнеспособные диплоидные зародыши в семенах нормального размера. В скрещиваниях $4x \times 2x$ соотношение материнского и отцовского геномов в гибридном эндосперме составляет 4:1 (доза геномов материнского родителя повышена по сравнению с нормой), образуются жизнеспособные мелкие семена. При этом наблюдается преждевременное наступление стадии образования клеток в эндосперме гибридных семян. В обратных скрещиваниях ($2x \times 4x$) соотношение материнского

и отцовского геномов в эндосперме составляет 2:2 (доза геномов отцовского родителя повышена по сравнению со скрещиваниями диплоидных форм), формируются крупные семена с нежизнеспособными в большинстве случаев зародышами, что коррелирует с поздним наступлением или отсутствием клеточной стадии развития эндосперма (Berger, 2003). Аналогичная картина нередко наблюдается и при межвидовой гибридизации, например у картофеля (Ehlenfeldt, Hanneman, 1988), что дало основание предполагать наличие общих механизмов постзиготической несовместимости при межвидовых и интерплоидных внутривидовых скрещиваниях (Hanneman, 1999).

Общее правило, согласно которому нормальное развитие эндосперма возможно только в случае, когда соотношение материнского и отцовского геномов в эндосперме составляет строго 2:1, было сформулировано в работе (Nishiyama, Inomata, 1966). Позднее эта гипотеза получила экспериментальное подтверждение (Lin, 1984). Для того чтобы в эндосперме соблюдалось указанное соотношение 2:1, родительские формы должны иметь одинаковый уровень ploидности. Однако в некоторых межвидовых скрещиваниях картофеля это правило не действует. Так, дикий тетраплоидный вид *S. acaule* и аллотетраплоидные мексиканские виды картофеля не скрещиваются с тетраплоидными сортами *S. tuberosum*, хотя соотношение геномов родительских видов в эндосперме гибридных семян составляет 4:2 (т. е. равно 2:1). В то же время указанные дикие тетраплоидные виды образуют триплоидные гибриды в скрещиваниях с дигаплоидами *S. tuberosum*, хотя у гибридных семян, полученных в этих комбинациях, в эндосперме соотношение материнского и отцовского геномов составляет 4:1. Для объяснения указанных отклонений была предложена гипотеза балансового числа эндосперма (Johnston et al., 1980). Значение EBN («эффективной ploидности»), устанавливаемое для каждого вида картофеля экспериментально, определяет возможность данного вида участвовать в определенных межвидовых скрещиваниях (формировать эндосперм и жизнеспособные гибридные семена). Согласно гипотезе EBN, для нормального развития гибридного зародыша в межвидовых скрещиваниях в эндосперме должно соблюдаться соотношение 2:1 «эффективной ploидности» материнского и отцовского родительских видов, а не их реальных уровней ploидности (Johnston et al., 1980).

Величину EBN для каждого вида картофеля определяют путем скрещиваний со стандартными видами, у которых значения EBN точно известны. Первым стандартным видом был выбран аргентинский дикий диплоидный вид *S. chacoense* ($2n = 2x$), ему присвоено EBN, равное 2 (Johnston, Hanneman, 1980). Всем видам картофеля, которые успешно скрещивались с *S. chacoense*, также было присвоено значение EBN = 2. Величина EBN каждого вида является постоянной и может не совпадать с его уровнем ploидности (см. Доп. материалы 1). Так, у тетраплоидных видов ($2n = 4x$) *S. acaule* и *S. stoloniferum* значение эффективной ploидности равно двум (EBN = 2), поскольку они успешно скрещивались с *S. chacoense*. В то же время тетраплоидному возделываемому картофелю *S. tuberosum* ($2n = 4x$) и гексаплоидному мексиканскому виду *S. demissum* ($2n = 6x$) присвоено EBN = 4, поскольку

они формировали жизнеспособные гибридные семена в скрещиваниях с тетраплоидными формами *S. chacoense*, полученными с помощью колхицина. Для большинства видов секции *Petota* установлены значения «эффективной плоидности», в соответствии с которыми их можно разделить на три группы: EBN = 1 ($2n = 2x$), EBN = 2 ($2n = 2x$, $2n = 4x$) и EBN = 4 ($2n = 4x$, $2n = 6x$) (см. Доп. материалы 1). Виды картофеля с одинаковыми значениями «эффективной плоидности» (EBN) успешно скрещиваются между собой, поэтому информация о значениях «эффективной плоидности» культурных и диких видов картофеля широко востребована в исследованиях по интрогрессивной гибридизации и в практической селекции.

В фундаментальных исследованиях EBN рассматривают в качестве одного из механизмов изоляции симпатрических видов. Например, аргентинские диплоидные виды *S. commersonii* (EBN = 1) и *S. chacoense* (EBN = 2) произрастают на одной территории, но практически не скрещиваются между собой (Summers, Grun, 1981; Ortiz, Ehlenfeldt, 1992). Высказано предположение, что новые виды могли возникать в результате мутаций генов, действие которых оказывает сильное влияние на развитие эндосперма и приводит к изменению EBN (Johnston et al., 1980). По мнению (Ehlenfeldt, Hanneman, 1988), увеличение значений EBN могло происходить в результате дупликации генов, контролирующей этот признак, или в результате изменения уровня экспрессии этих генов.

В настоящее время нарушения в развитии эндосперма гибридных семян связывают с геномным импринтингом – дифференциальной экспрессией материнских и отцовских аллелей определенных генов. Для разных организмов, включая отдельные виды растений (например, арабидопсис), показано, что экспрессия импринтированных генов определяется активностью комплекса FIS PRC2 (fertilization independent seed polycomb repressive complex 2) (Kinoshita, 2007; Pignatta, Gehring, 2012; Tonosaki et al., 2016). Белки группы Polycomb представляют собой семейство эпигенетических регуляторов, которые модифицируя гистоны, подавляют транскрипцию генов, детерминирующих клеточную дифференциацию. В частности, комплекс PRC2 вызывает репрессию генов-мишеней путем три-метилирования лизина 27 в гистоне H3.

Одними из первых у растений были идентифицированы импринтированные гены комплекса PRC2: *MEA* (*MEDEA*), *FWA* и *FIS2*, регулирующие формирование эндосперма. После оплодотворения эти гены экспрессируются исключительно в геноме, полученном от материнского родителя, и подавляют пролиферацию клеток эндосперма. Мутации генов комплекса PRC2 вызывают нарушения баланса импринтированных генов материнского и отцовского происхождения, что проявляется в нарушениях развития эндосперма, наблюдаемых при интерплоидных внутривидовых и межвидовых скрещиваниях (Kinoshita, 2007).

Мишенью комплекса PRC2 является ген *ADM*, который экспрессируется в геноме, полученном гибридами от отцовского родителя, и репрессирован в материнском геноме. Использование в гибридизационном процессе мутантов арабидопсиса по гену *ADM* позволяет получать жизнеспособные триплоидные семена (Kradolfer et al., 2013).

В работе (Xiao et al., 2006) продемонстрирована ключевая роль процессов метилирования–деметилирования ДНК в регуляции развития эндосперма и формировании жизнеспособных семян. Показано, что мутация *met1* у арабидопсиса, проявляющаяся в гипометилировании промоторной области импринтированного гена *MEDEA*, приводит к преждевременному переходу к клеточной стадии формирующегося эндосперма семян и к снижению жизнеспособности зародышей (Xiao et al., 2006). Аналогичные эффекты наблюдаются при интерплоидных скрещиваниях. Так, установлено (Schatlowski et al., 2014), что использование мутанта арабидопсиса по гену *met1* в скрещиваниях $2x \times 4x$ позволяет практически полностью преодолеть триплоидный блок и получить нормальные семена с высокой всхожестью. Мутация *met1* приводит к супрессии гена *ADM*, что, по мнению авторов (Schatlowski et al., 2014), является основной причиной восстановления жизнеспособности триплоидных семян.

В свете современных представлений о механизмах взаимодействия родительских геномов при формировании эндосперма отнесение двух видов к одной и той же группе EBN определяется балансом продуктов импринтированных генов, который складывается в формирующемся гибридном семени. Получение жизнеспособных семян межвидовых гибридов (соответственно, включение скрещиваемых видов в группу с одинаковыми значениями EBN) возможно в том случае, если этот баланс обеспечивает нормальное прохождение всех стадий развития эндосперма. Остановка развития эндосперма гибридных семян связана с нарушением эпигенетической регуляции генов материнского и отцовского родителей при его формировании.

Методы преодоления межвидовой несовместимости

Проведение межвидовой гибридизации предъявляет высокие требования к условиям выращивания родительских форм растений, проведения скрещиваний и формирования гибридных семян. Для повышения эффективности этих этапов используют различные приемы и методы: обработку пыльцы и завязей физиологически активными веществами, использование двойного опыления (пыльцой совместимых и несовместимых видов), культивирование *in vitro* изолированных семяпочек и зародышей и др. (Hermsen, 1994; Jansky, 2006; Ермишин и др., 2010). Однако наиболее эффективные методы межвидовой гибридизации картофеля основаны на использовании информации о механизмах пре- и постзиготической межвидовой несовместимости.

Преодоление презиготической несовместимости

Как отмечалось выше, презиготическая несовместимость не является основным фактором, затрудняющим гибридизацию *S. tuberosum* с большинством диких видов картофеля из вторичного генного пула. Однако она может существенно осложнить интрогрессию в селекционный материал генетического материала диких видов из GP3, а также диких видов из GP2, для которых характерна односторонняя несовместимость в скрещиваниях с *S. tuberosum*.

Наиболее простой способ преодоления презиготической несовместимости скрещиваемых видов – подбор совместимых комбинаций (Jansky, 2006; Маханько, 2008). Для оценки степени совместимости/несовместимости образцов скрещиваемых видов проводят изучение роста пыльцевых трубок в пестиках после окрашивания флуорохромом анилиновым синим (Martin, 1958).

Как уже говорилось, комбинациям скрещиваний мексиканских диплоидных В-геномных видов из GP3 (EBN = 1) с высокофертильными дигаплоидами *S. tuberosum* характерна выраженная презиготическая несовместимость (Маханько, 2008). Однако японским исследователям (Sanetomo et al., 2014) удалось создать гибриды мексиканского вида *S. pinnatisectum* ($2n = 2x$, геном BB, EBN = 1) с диплоидными гибридными клонами картофеля ($2n = 2x$, EBN = 2), полученными в скрещиваниях примитивных культурных видов (*S. phureja*, *S. stenotomum*) и мутантного образца южноамериканского дикого вида *S. chacoense*, несущего мутацию самосовместимости *Sli* (Hosaka, Hanpeman, 1998a). Авторы сделали вывод, что ген *Sli* ингибирует не только реакцию самонесовместимости, но и межвидовую презиготическую несовместимость (Sanetomo et al., 2014). Для преодоления постзиготической несовместимости в этих скрещиваниях использовался тетраплоидный клон *S. pinnatisectum* ($2n = 4x$, EBN = 2), митотическое удвоение хромосом которого было выполнено для повышения величины «эффективной плоидности» данного вида.

Вовлечению в селекционный процесс самосовместимого (SC) мексиканского вида *S. verrucosum* ($2n = 2x$, геном AA, EBN = 2) из GP2, устойчивого к ряду патогенов, препятствует односторонняя несовместимость. Презиготическая несовместимость проявляется в скрещиваниях SI × SC, поэтому в межвидовых скрещиваниях с самонесовместимыми (SI) видами картофеля *S. verrucosum* может быть использован только в качестве материнской формы – SC × SI. В то же время межвидовые гибриды с цитоплазмой *S. verrucosum*, как правило, характеризуются мужской стерильностью (Abdalla, Hermsen, 1973). Для преодоления односторонней несовместимости и получения фертильных гибридов с *S. verrucosum* успешно используются «акцепторные генотипы» дигаплоидов *S. tuberosum* или других диплоидных видов, которые не проявляют одностороннюю несовместимость в SI × SC скрещиваниях (Grun, Aubertin, 1966; Hermsen et al., 1974; Eijlander et al., 2000).

Обнаружение акцепторных генотипов позволило получить так называемые S_vS_v -линии, которые представляют собой гибриды F2, полученные в комбинации скрещиваний дигаплоидов *S. tuberosum* × *S. verrucosum* (Полюхович и др., 2010). Они несут в гомозиготном состоянии ген S_v от *S. verrucosum*, благодаря чему, как и *S. verrucosum*, не образуют пестичных S-РНКаз. Это свойство позволяет устранить презиготическую несовместимость при межвидовых скрещиваниях. В частности, *S. verrucosum* и S_vS_v -линии оказались эффективными для преодоления односторонней несовместимости в скрещиваниях с дикими тетраплоидными видами *S. acaule* и *S. stoloniferum* (Полюхович и др., 2013; Левый и др., 2016).

Очевидно, что *S. verrucosum* и полученные на его основе S_vS_v -линии способны устранять презиготическую несовместимость, что обусловило их успешное приме-

нение в программах по интрогрессивной гибридизации, направленных на вовлечение в селекцию ценного генофонда диплоидных (EBN = 1) диких видов картофеля из GP3 (Hermsen, Ramanna, 1976; Dinu et al., 2005; Jansky, Hamernik, 2009; Yermishin et al., 2014; Ермишин и др., 2017) (Доп. материалы 2, б).

Использование методов соматической гибридизации. Для преодоления презиготической несовместимости культурного картофеля с дикими видами третичного генопула и с более отдаленными видами семейства пасленовых активно используются методы соматической гибридизации. Гибридные растения-регенеранты получены в комбинациях слияния протопластов *S. tuberosum* с многими дикими видами рода *Solanum* (Waara, Glimelius, 1995; Gavrilenko, 2005; Davey et al., 2005). Однако на следующих этапах интрогрессивной гибридизации исследователи сталкиваются с проблемами стерильности гибридов, генетической нестабильности, летальности или пониженной жизнеспособности гибридного потомства и потерей гибридами целевых признаков, поскольку генетические факторы, вовлеченные в контроль пре- и постзиготической несовместимости, оказывают негативный эффект и в более поздних поколениях. Поэтому исследований, в которых получено фертильное потомство в возвратных скрещиваниях (BC) соматических гибридов с культурным картофелем, совсем немного. Первые беккроссные поколения, как правило, получают на основе подбора родительских компонентов скрещиваний с учетом информации о значениях EBN, эффектах генноцитоплазматической мужской стерильности, а также с использованием методов культуры *in vitro* незрелых семян или эмбриокультуры. Анализ беккроссных поколений соматических гибридов (как и в исследованиях потомства гибридов, полученных на основе половой гибридизации) проводится с использованием методов фенотипической селекции и маркер-опосредованного отбора. Примеры успешных работ по межвидовой соматической гибридизации картофеля, в которых были реализованы различные этапы (1–4) интрогрессивной гибридизации, приведены ниже и в Доп. материалах 3.

Этап 1. Создание межвидовых соматических гибридов картофеля, полученных с участием диких видов третичного генопула (EBN = 1): *S. bulbocastanum* (Helgeson et al., 1998), *S. tarnii* (Thieme et al., 2008), *S. commersonii* (Chen et al., 1999; Carputo et al., 2000), а также с участием отдаленных неklubненосных видов из других секций рода *Solanum*: *S. brevidens* (Austin et al., 1993), *S. etuberosum* (Novy et al., 2002; Gavrilenko et al., 2003), *S. nigrum* (Horsman et al., 2001). В этих работах были получены первые поколения от скрещиваний соматических гибридов, в которых были отобраны гибридные формы с целевыми признаками диких видов: устойчивостью к бактериальным гнилям, фитофторозу, нематодам, вирусам, тле и кратковременным заморозкам (см. Доп. материалы 3).

Этап 2. Создание доноров устойчивости к патогенам, несущих единичные чужеродные хромосомы и/или хромосомные сегменты генома диких видов. Различные механизмы интрогрессии генетического материала отдаленных диких видов в геном *S. tuberosum* выявлены с использованием хромосом-специфичных полиморфных

ДНК-маркеров и методов молекулярной цитогенетики. Так, возможность интрогрессии генетического материала *S. brevidens* в геном *S. tuberosum* на основе межгеномных транслокаций продемонстрирована в молекулярно-генетическом (RFLP) анализе «высоких» ВС поколений соматических гибридов (Helgeson et al., 1993; McGrath et al., 2002). Устойчивые к *Erwinia carotovora* интрогрессивные формы возделываемого картофеля, замещенные по хромосоме VIII *S. brevidens*, были отобраны среди ВС потомства соматических гибридов *S. tuberosum* (+) *S. brevidens* (Tek et al., 2004). Возможность гомеологичного межгеномного спаривания хромосом А-генома *S. tuberosum* и Е-генома не клубненосного вида *S. etuberosum* продемонстрирована в GISH-FISH анализе уникальных аллоглоидных гибридов, полученных с использованием методов клеточной и хромосомной инженерии (Gavrilenko et al., 2015).

Этап 3. Картирование и идентификация генов/QTLs, детерминирующих целевые признаки, и разработка тесно сцепленных с ними маркеров. В результате косегрегационного анализа ВС популяций, полученных в возвратных скрещиваниях межвидовых соматических гибридов, были картированы гены *S. bulbocastanum*: *RMc1* (XI), детерминирующий устойчивость к нематоде *Meloidogyne chitwoodi* (Brown et al., 1995, 1996) и *RB* (VIII), контролирующей нерасоспецифичную устойчивость к *Phytophthora infestans* (Naess et al., 2000, 2001), а также ген *Rlr_{etb}* (IV) не клубненосного вида *S. etuberosum*, который детерминирует устойчивость к ВСЛК (Novy et al., 2002, 2007) (см. Доп. материалы 3).

В отдельных работах выполнена молекулярная идентификация генов дикорастущих видов, интрогрессированных в геном *S. tuberosum* с использованием методов слияния протопластов. Так, группа проф. J.P. Helgeson провела структурно-функциональный анализ и клонирование гена *RB* (VIII) дикорастущего вида *S. bulbocastanum*, а также конструирование векторных систем, содержащих данный ген (Bradeen et al., 2003; Song et al., 2003; Kuhl et al., 2007), которые могут быть использованы для трансгенеза широкого круга культурных видов семейства пасленовых, поражаемых фитотфторой.

Этап 4. Вовлечение в селекционный процесс генов/QTLs диких видов, ранее не использованных в селекции; расширение генетического разнообразия культурного картофеля; создание пребридингового материала; выведение новых сортов. В экспериментах, проведенных группой проф. R. Novy, в результате молекулярно-генетического анализа интрогрессивных форм BC_3 - BC_4 поколений соматических гибридов *S. tuberosum* (+) *S. etuberosum* была разработана серия ДНК-маркеров, фланкирующих ген *Rlr_{etb}* (IV), который детерминирует устойчивость к ВСЛК (Gillen, Novy, 2007; Kelley et al., 2009; Kuhl et al., 2016), что позволяет проводить эффективный молекулярный скрининг селекционных клонов – доноров гена *Rlr_{etb}* в программах по созданию новых устойчивых к ВСЛК сортов, возделывание которых позволит снизить инсектицидную нагрузку в агробиоценозах.

Южнокорейские исследователи (Kim et al., 2013) сообщили о выведении сорта картофеля 'Jeseo', устойчивого к возбудителю мокрой гнили, парше и ВСЛК, созданного на основе интрогрессивных форм, выделенных в воз-

вратных скрещиваниях соматических гибридов *S. tuberosum* (+) *S. brevidens*.

Еще одним перспективным направлением соматической гибридизации картофеля является получение аллоплазматических форм, поскольку односторонняя межвидовая несовместимость, наблюдаемая в межвидовых скрещиваниях видов секции *Petota*, осложняет создание таких форм методами половой гибридизации. Как известно, соматическая гибридизация позволяет осуществлять перенос органелл между видами и создавать новые формы культурных растений с различными комбинациями ядерных, митохондриальных и пластидных генов, в том числе цитоплазматические гетерозиготы и формы с рекомбинантными органелльными геномами (Glimelius et al., 1991; Waara, Glimelius, 1995). Изучение особенностей передачи геномов органелл родительских видов в процессе межвидовой соматической гибридизации *S. tuberosum* с дикими видами картофеля из GP3 и с отдельными не клубненосными видами рода *Solanum*, а также при беккроссировании соматических гибридов не выявило эффектов ядерно-цитоплазматической несовместимости и/или несовместимости пластид и митохондрий отдаленных видов (Scotti et al., 2003; Gavrilenko et al., 2005; Антонова, Гавриленко, 2006). Практический интерес представляют работы по созданию форм с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС). Возможность интрогрессии ЦМС от дикорастущего вида *S. stoloniferum* к *S. tuberosum* на основе метода асимметричной соматической гибридизации продемонстрирована в работе (Perl et al., 1990).

Преодоление постзиготической несовместимости на основе варьирования значений EBN (мейотическая и митотическая полиплоидизация) и использования видов-посредников

Концепция балансового числа эндосперма нашла широкое применение в зарубежных селекционно-генетических программах (и, к сожалению, недостаточно используется отечественными исследователями). Информация о значениях «эффективной ploидности» (EBN) скрещиваемых видов имеет первостепенное значение для подбора видов для гибридизации, планирования скрещиваний, прогнозирования результатов преодоления постзиготических барьеров несовместимости, оптимизации программ по модификации уровней ploидности – значений EBN образцов родительских видов и схем использования видов-посредников с целью интрогрессии генофонда дикорастущих видов в селекционный материал.

Виды картофеля делятся на группы со значениями $EBN = 1$ ($2n = 2x$), $EBN = 2$ ($2n = 2x$, $2n = 4x$) и $EBN = 4$ ($2n = 4x$, $2n = 6x$) (см. Доп. материалы 1). В случае отсутствия барьеров презиготической несовместимости виды с одинаковыми значениями EBN относительно легко скрещиваются друг с другом, формируя жизнеспособные гибридные семена. Вовлечение в гибридизацию видов картофеля с разными значениями EBN возможно при использовании специальных экспериментальных подходов, основанных на манипуляциях с уровнем ploидности скрещиваемых образцов. Как отмечалось выше, около 70 % диких видов картофеля являются диплоидами, причем у большинства из них значения EBN равны 2 (см. Доп.

материалы 1). Для успешной гибридизации этих видов с сортами возделываемого картофеля *S. tuberosum* ($2n = 4x$, EBN = 4) необходимо либо повысить величину EBN дикорастущих видов (удвоив ploидность), либо снизить EBN сортов (уменьшив уровень ploидности, получить дигаплоиды), чтобы уравнивать значения «эффективной ploидности» скрещиваемых образцов и достичь соотношения 2:1 «эффективных ploидностей» материнской и отцовской родительских форм в эндосперме формирующихся гибридных семян (см. Доп. материалы 2, а).

Для повышения EBN используют либо митотическое удвоение хромосом отобранных образцов диких диплоидных видов – экспериментальную полиploидию, либо мейотическое удвоение хромосом (Johnston, Hanneman, 1980; Carputo et al., 1997). В популяциях диплоидных дикорастущих видов картофеля наблюдается относительно высокая частота генотипов, образующих $2n$ гаметы (Jansky et al., 1990; Hijmans et al., 2007), которые формируются в результате реституции первого (first division restitution – FDR) или второго (second division restitution – SDR) делений мейоза (Ramanna, 1979). У картофеля к формированию FDR-гамет приводит мутация *ps* (parallel spindles) (Mok, Peloquin, 1975) или *fs* (fused spindles) (Ramanna, 1979), легко детектируемая по образованию параллельных или слитых веретен деления в метафазе II, что позволяет отбирать *ps ps* (или *fs fs*) генотипы среди образцов диких видов. К образованию гамет SDR-типа, связанного с утратой второго деления мейоза, приводят мутации *os* (omission of the second meiotic division), *fc* (failure of cytokinesis) (Werner, Peloquin, 1990) и *pc* (premature cytokinesis) (Mok, Peloquin, 1975). FDR-гаметы формируются в микроспорогенезе, SDR-гаметы – и в микро-, и в макроспорогенезе. В селекционно-генетических исследованиях преимущество имеют генотипы, которые формируют FDR-гаметы, несущие несестринские хроматиды, поскольку в этом случае сохраняется высокий уровень гетерозиготности (Ramanna, 1983; Hermsen, 1984; Peloquin et al., 1999). Селекцию гибридов, полученных в скрещиваниях $4x \times 4x$ (с участием экспериментальных полиploидов диких диплоидных видов) или в скрещиваниях $4x \times 2x$ (с участием генотипов диких диплоидных видов, формирующих $2n$ гаметы), ведут на тетраploидном уровне.

Для понижения значения EBN *S. tuberosum* получают дигаплоиды ($2n = 2x$, EBN = 2) селекционных сортов, которые относительно легко скрещиваются со многими диплоидными дикими видами картофеля ($2n = 2x$, EBN = 2), произрастающими в Южной Америке – комбинации скрещиваний $2x \times 2x$. Это направление интродукции генетического материала диплоидных диких видов в селекционный материал наиболее эффективно, поскольку включает проведение отбора на диплоидном уровне. В селекции картофеля для снижения уровня ploидности сортов и тетраploидных селекционных форм (для получения дигаплоидов) используются специальные клоны-опылители (например, IvP 35 и IvP 48 *S. phureja*). В качестве механизмов получения дигаплоидов *S. tuberosum* рассматривают псевдогамию (гиногенез) (Hermsen, Verdenius, 1973). Некоторые исследователи полагают, что к образованию дигаплоидов приводит избирательная элиминация хромосом опылителей – клонов *S. phureja*

(Clulow et al., 1991). Возврат на исходный тетраploидный уровень отобранных диплоидных гибридных клонов осуществляется через мейотическую полиploидизацию (Peloquin et al., 1989; Jansky et al., 1990).

Дикие тетраploидные виды *S. acaule*, *S. hijertingii*, *S. stoloniferum* ($2n = 4x$, EBN = 2) вовлекаются в гибридизацию с *S. tuberosum* ($2n = 4x$, EBN = 4) на основе различных манипуляций с уровнем ploидности; селекционный процесс проводится на полиploидном уровне от $3x$ до $6x$ (см. Доп. материалы 2, а). Впервые возможность получения диплоидных гибридов в скрещиваниях *S. acaule* и *S. stoloniferum* (= *S. fendleri*, *S. polytrichon*) и дигаплоидов *S. tuberosum* была продемонстрирована в работах (Воронкова и др., 2007; Ермишин и др., 2010). Среди диплоидных гибридов выделены генотипы с высокой устойчивостью к ХВК, УВК и фитофторозу (Воронкова и др., 2008, 2015; Левый и др., 2015). Поскольку для диплоидных гибридов, полученных в комбинации *S. stoloniferum* ($2n = 4x$, EBN = 2, геном AABB) \times дигаплоиды *S. tuberosum* ($2n = 2x$, EBN = 2, геном AA), характерен регулярный мейоз и, как следствие, высокая фертильность, было сделано заключение, что помимо генома A *S. tuberosum* диплоидные гибриды несут и гомологичный ему субгеном A' *S. stoloniferum* (Воронкова и др., 2007). По нашему мнению, возможным механизмом образования таких диплоидных гибридов может быть избирательная элиминация хромосом субгенома В аллотетраploидного дикого вида *S. stoloniferum* при формировании гибридных зародышей. Данное предположение требует экспериментального подтверждения.

Дикие виды картофеля из третичного генного пула с EBN = 1, которые не скрещиваются ни с сортами, ни с дигаплоидами возделываемого картофеля, вовлекают в селекционный процесс путем промежуточных скрещиваний с видами-посредниками (bridge species). Виды-посредники могут скрещиваться с отобранными образцами исходных несовместимых диких видов, а полученные гибриды или их потомство в отдельных случаях возможно вовлечь в гибридизацию с сортами *S. tuberosum* или его дигаплоидами (см. Доп. материалы 2, б) (Hermsen, Ramanna, 1976; Hermsen, 1994; Dinu et al., 2005; Jansky, Namernik, 2009; Yermishin et al., 2014; Ермишин и др., 2017). Например, диплоидные В-геномные виды из GP3 – *S. bulbocastanum* и *S. cardiophyllum* ($2n = 2x$, EBN = 1) с длительной нерасоспецифической устойчивостью к фитофторозу – удалось вовлечь в интродуктивную гибридизацию с использованием диких (*S. acaule*, *S. verrucosum*) и культурных (*S. phureja*) видов-посредников. Отметим, что большинство гибридов, созданных с участием видов-посредников, получены вопреки правилу EBN, поэтому реализация каждого из этапов потребовала много времени и была сопряжена со значительными трудозатратами при очень низкой результативности. Так, для получения 36 четырехвидовых гибридных форм АВРТ (*S. acaule* – *S. bulbocastanum* – *S. phureja* – *S. tuberosum*) (см. Доп. материалы 2, б) потребовалось опылить в общей сложности 18616 цветков (Hermsen, 1994), а на создание первых сортов Толука и Бионика с интродуктивным от *S. bulbocastanum* геном устойчивости к фитофторозу *Rpi-blb2* голландские исследователи затратили 46 лет (Haverkort et al., 2009).

Заключение

На протяжении последних ста лет межвидовая гибридизация была основным методом расширения генетического разнообразия селекционного материала и создания новых сортов картофеля. Большинство современных селекционных сортов являются комплексными многовидовыми гибридами. В то же время из-за барьеров пре- и постзиготической несовместимости в генофонд селекционных сортов был интродуцирован генетический материал лишь около 10 % дикорастущих видов картофеля. Чаще всего в селекцию вовлекались гибриды с отдельными дикими видами первичного и вторичного генных пулов: *S. acaule*, *S. chacoense*, *S. demissum*, *S. spagazzinii* (= *S. brevicaulis*), *S. stoloniferum*, *S. vernei*, в меньшей мере – *S. maglia*, *S. microdontum*, *S. sparsipilum* (= *S. brevicaulis*), *S. verrucosum* (Ross, 1986), причем в гибридизационном процессе принимало участие очень ограниченное число образцов каждого из дикорастущих видов. В результате этих усилий в генофонд селекционных сортов от диких видов были интродуцированы: ряд ценных генов и QTLs, контролирующих устойчивость к патогенам, например гены *R1–R11* расоспецифичной устойчивости к фитофторозу от *S. demissum*; гены устойчивости к вирусам – к ХВК ген *Rx2* от *S. acaule*, к УВК гены *RY_{chc}* и *NY_{chc}* от *S. chacoense* и гены *RY_{sto}*, *Ry-f_{sto}* от *S. stoloniferum*; гены устойчивости к цистообразующим нематодам – *GroVI* от *S. vernei*, *GroI* от *S. spagazzinii* (= *S. brevicaulis*) (Ross, 1986; Simko et al., 2007; Gebhardt, 2013; Ramakrishnan et al., 2015). При этом эффективность межвидовой гибридизации остается низкой, реализация программ по преодолению несовместимости видов, интрогрессии целевых признаков и созданию доноров новых генов занимает многие годы и требует больших трудозатрат.

В последние десятилетия получены новые фундаментальные данные о механизмах пре- и постзиготической несовместимости. Разработаны новые технологии (клеточная и хромосомная инженерия, маркер-опосредованный отбор и геномная селекция), повышающие эффективность традиционных методов интрогрессивной гибридизации. Анализ литературных данных показывает, что наиболее перспективны комплексные подходы, основанные прежде всего на использовании информации о механизмах пре- и постзиготической несовместимости, анализе меж- и внутривидового генетического разнообразия и на применении комбинации разных методов интрогрессивной гибридизации. Наиболее часто используются следующие методы и подходы: поиск акцепторных генотипов и видов-посредников, манипуляция с уровнем пloidности с целью модификации значений EBN образцов скрещиваемых видов, привлечение биотехнологических и молекулярных подходов для контроля интрогрессии и развития новых направлений по пирамидированию *R*-генов устойчивости для создания сортов нового поколения с широким спектром длительной устойчивости.

В результате использования комплексных подходов, основанных на сочетании традиционных и современных методов, в интрогрессивную гибридизацию удалось вовлечь дикие виды третичного генного пула и отдельные неклубненоносные виды близких секций рода *Solanum*, хотя вклад таких интрогрессивных форм в создание новых

сортов остается пока еще очень небольшим. С развитием новых методов и подходов к расширению генетического разнообразия селекционного генофонда меняется и концепция генных пулов картофеля. Так, уже после первых примеров успешного применения биотехнологических и молекулярно-генетических методов в интрогрессивной гибридизации было предложено относить ко вторичному генному пулу диплоидные мексиканские виды картофеля с EBN = 1, а в третичный генный пул включать неклубненоносные виды из других секций рода *Solanum*, не относящиеся к секции *Petota* (Ortiz, 1998). Можно ожидать, что использование новых технологий, например цис-генетики, приведет к дальнейшему пересмотру концепции генных пулов картофеля.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 16-54-0020-Bel-a and the Belarusian Republican Foundation for Basic Research, project B16P-103.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Abdalla M.M., Hermesen J.G.Th. An evaluation of *Solanum verrucosum* Schlecht. for its possible use in potato breeding. Euphytica. 1973; 22:19-27.
- Adiwilaga K.D., Brown C.R. Use of 2n pollen-producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild species germplasm to cultivated tetraploid potato gene pool. Theor. Appl. Genet. 1991;81:645-652.
- Anisimova I.N., Gavrilenko T.A. The prospects for utilization of cytoplasmic male sterility in breeding and genetic studies and seed production of potato. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):83-95. DOI 10.18699/VJ17.226. (in Russian)
- Antonova O.Yu., Gavrilenko T.A. Yaderno-tsitoplazmaticheskie vzaimootnosheniya u somaticheskikh gibridov roda *Solanum* L. [Nuclear-cytoplasmic interactions in somatic hybrids of the genus *Solanum* L.]. Struktura i ekspressiya mitokhondrial'nogo genoma rasteniy [Structure and expression of the plant mitochondrial genome]. Irkutsk, 2006;5–10. (in Russian)
- Austin S., Pohlman J.D., Brown C.R., Mojtahedi H., Santo G.S., Douches D.S., Helgeson J.P. Interspecific somatic hybridization between *Solanum tuberosum* L. and *S. bulbocastanum* Dun. as a means of transferring nematode resistance. Am. Potato J. 1993;70:485-495.
- Berger F. Endosperm: the crossroad of seed development. Curr. Opin. Plant Biol. 2003;6:42-50.
- Bradeen J.M., Haynes K.G. Introduction to Potato. Ch. 1. Genetics, Genomics and Breeding of Potato. Eds. J. Bradeen, C. Kole. 1st ed. USA: Sci. Publ., 2011;1-19.
- Bradeen J.M., Naess S.K., Song J., Haberlach G.T., Wielgus S.M., Buell C.R., Jiang J., Helgeson J.P. Concomitant reiterative BAC walking and fine genetic mapping enable physical map development for the broad-spectrum late blight resistance region, RB. Mol. Genet. Genom. 2003;269:603-611. DOI 10.1007/s00438-003-0865-8.
- Brown C.R., Mojtahedi H., James S., Novy R.G., Love S. Development and evaluation of potato breeding lines with introgressed resistance to Columbia root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*). Am. J. Potato Res. 2006;83:1-8.
- Brown C.R., Mojtahedi H., Santo G.S. Introgression of resistance to Columbia and northern root-knot nematodes from *Solanum bulbocastanum* into cultivated potato. Euphytica. 1995;83:71-78.
- Brown C.R., Yang C.-P., Mojtahedi H., Santo G.S., Masuelli R. RFLP analysis of resistance to Columbia root-knot nematode derived from

- Solanum bulbocastanum* in a BC2 population. *Theor. Appl. Genet.* 1996;92:572-576.
- Bukasov S.M. Principles of potato systematics. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii* = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 1978;62:3-35. (in Russian)
- Cai D., Rodríguez F., Teng Y., Ané C., Bonierbale M., Mueller L.A., Spooner D.M. Single copy nuclear gene analysis of polyploidy in wild potatoes (*Solanum* section *Petota*). *BMC Evol. Biol.* 2012;12:70.
- Camadro E.L., Espinillo J.C. Germplasm transfer from the wild tetraploid species *Solanum acaule* Bitt. to the cultivated potato, *S. tuberosum* L. using 2n eggs. *Am. Potato J.* 1991;67:737-749.
- Carpato D., Barone A., Cardi T., Sebastiano A., Frusciant L., Peloquin S.J. Endosperm Balance Number manipulation for direct *in vivo* germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;94:12013-12017.
- Carpato D., Basile B., Cardi T., Frusciant L. *Erwinia* resistance in backcross progenies of *Solanum tuberosum* × *S. tarijense* and *S. tuberosum* (+) *S. commersonii* hybrids. *Potato Res.* 2000;43:135-142. DOI 10.1007/BF02357954.
- Castillo R., Spooner D.M. Phylogenetic relationships of wild potatoes, *Solanum* series *Conicibaccata* (sect. *Petota*). *Syst. Botany.* 1997;22:45-83.
- Chen Y.-K.H., Palta J.P., Bamberg J.B. Freezing tolerance and tuber production in selfed and backcross progenies derived from somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. commersonii* Dun. *Theor. Appl. Genet.* 1999;99:100-107.
- Cipar M.S., Peloquin S.J., Hougas R.W. Variability in the expression of self-incompatibility in tuber-bearing diploid *Solanum* species. *Am. Potato J.* 1964;41:155-162.
- Clarke A.E., Newbigin E. Molecular aspects of self-incompatibility in flowering plants. *Annu. Rev. Genet.* 1993;27:257-279.
- Clulow S.A., Wilkinson M.J., Waugh R., Baird E., Demaine M.J., Powell W. Cytological and molecular observations on *Solanum phureja*-induced dihaploid potatoes. *Theor. Appl. Genet.* 1991;82:545-551. DOI 10.1007/BF00226789.
- Corell D. *The Potato and its Wild Relatives*. Renner. Texas: Texas Res. Foundation, 1962.
- Davey M.R., Anthony P., Power J.B., Lowe K.C. Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives. *Biotechnol. Advances.* 2005; 23:131-171. DOI 10.1016/j.biotechadv.2004.09.008.
- de Haan S., Rodriguez F. Potato origin and production. *Advances in Potato Chemistry and Technology*. Eds. J. Singh, L. Kaur. London (UK): Elsevier Inc., 2016;1-32.
- Dinu I.I., Hayes R.J., Kynast R.G., Phillips R.L., Thill C.A. Novel inter-series hybrids in *Solanum*, section *Petota*. *Theor. Appl. Genet.* 2005;110:403-415. DOI: 10.1007/s00122-004-1782-x.
- Eckardt N.A. F-box proteins take center stage. *Plant Cell.* 2004;16: 558-561.
- Ehlenfeldt M.K., Hanneman R.E., Jr. Genetic control of Endosperm Balance Number (EBN): three additive loci in a threshold-like system. *Theor. Appl. Genet.* 1988;75:825-832.
- Eijlander R. Mechanisms of self-incompatibility and unilateral incompatibility in diploid potato (*Solanum tuberosum* L.) Wageningen, Netherlands: Wageningen Univ., 1998.
- Eijlander R., ter Laak W., Hermesen J.G.Th., Ramanna M.S., Jacobsen E. Occurrence of self-compatibility, self-incompatibility and unilateral incompatibility after crossing diploid *S. tuberosum* (SI) with *S. verrucosum* (SC): I. Expression and inheritance of self-compatibility. *Euphytica.* 2000;115(2):127-139.
- Fujii S., Kubo K., Takayama S. Non-self and self recognition models in plant self-incompatibility. *Nature Plants.* 2016;2(9):16130. DOI 10.1038/NPLANTS.2016.130.
- Gavrilenko T.A. Sozdanie novykh form kul'turnykh rasteniy na osnove somaticheskoy gibridizatsii [Raise of novel crop forms by somatic fusion] Rigin B.V. (Ed.). *Identifitsirovannyi genofond rasteniy i selektsiya* [Identified plant gene pool and breeding]. St. Petersburg, VIR Publ., 2005;628-643. (in Russian)
- Gavrilenko T. Application of molecular cytogenetics in fundamental and applied research of potato (Review). Ch. 9. Genetics, Genomics and Breeding of Potato. Eds. J. Bradeen, C. Kole. 1st ed. USA: Sci. Publ., 2011;184-206.
- Gavrilenko T., Antonova O., Thieme R., Szczerbakowa A., Wielgat B. Inheritance of chloroplast and mitochondrial DNAs in interspecific somatic hybrids of potato. *EAPR-Papers*. Bilbao, Spain. 2005;II: 652-654.
- Gavrilenko T., Pendinen G., Rokka V.-M., Antonova O., Thieme R. Homeologous chromosome pairing in distant allohaploid hybrids of the genus *Solanum*. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 2015;5(3):182-190.
- Gavrilenko T., Thieme R., Heimback U., Thieme T. Fertile somatic hybrids of *Solanum etuberosum* (+) dihaploid *Solanum tuberosum* and their backcrossing progenies: relationships of genome dosage with tuber development and resistance to potato virus Y. *Euphytica.* 2003;131:323-332. DOI 10.1023/A:1024041104170.
- Gebhardt C. Bridging the gap between genome analysis and precision breeding in potato. *Trends in Genetics.* 2013;29(4):248-256. DOI 10.1016/j.tig.2012.11.006.
- Gillen A.M., Novy R.G. Molecular characterization of the progeny of *Solanum etuberosum* identifies a genomic region associated with resistance to potato leafroll virus. *Euphytica.* 2007;155:403-415. DOI 10.1007/s10681-006-9342-x.
- Glimelius K., Fahleson G., Landgren M., Sjödin C., Sundberg E. Gene transfer via somatic hybridization in plants. *Trends Biotechnol.* 1991;9:24-30.
- Grun P., Aubertin M. The inheritance and expression of unilateral incompatibility in *Solanum*. *Heredity.* 1966;212:131-138. DOI 10.1038/hdy.1966.7.
- Hanneman R.E., Jr. The reproductive biology of the potato and its implication for breeding. *Potato Res.* 1999;42:283-312.
- Harlan J.R., de Wet J.M.J. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon.* 1971;20(4):509-517. DOI 10.2307/1218252.
- Haverkort A.J., Struik P.C., Visser R.G.F., Jacobsen E. Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Res.* 2009;52:249-264.
- Hawkes J.G. A revision of the tuber-bearing Solanums. *Scottish Plant Breed. Stat. Ann. Rep.* 1956;37-109.
- Hawkes J.G. *The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources*. London: Belhaven Press, 1990.
- Hawkes J.G. Origins of cultivated potatoes and species relationships. *Potato Genetics*. Eds. J.E. Bradshaw, G.R. Mackay. Wallingford: CAB International, 1994;3-42.
- Helgeson J.P., Hunt G.J., Haberlach G.T., Ehlenfeldt M.K., Hunt G., Pohlman J.D., Austin S. Sexual progeny of somatic hybrids between potato and *Solanum brevidens*: potential for use in breeding programs. *Am. Potato J.* 1993;70(6):437-452.
- 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. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight. *Theor. Appl. Genet.* 1998;96:738-742. DOI 10.1007/s001220050796.
- Hermesen J.G.Th. Mechanisms and genetic implications of 2n-gamete formation. *Iowa State J. Research.* 1984;58:421-434.
- Hermesen J.G.Th. Introgression of genes from wild species, including molecular and cellular approaches. *Potato Genetics*. Eds. J.E. Bradshaw, G.R. Mackay. Wallingford, UK: CABI, 1994;515-539.
- Hermesen J.G.Th., Olsder J., Jansen P., Hoving E. Acceptance of self-compatible pollen from *Solanum verrucosum* in dihaploids from *S. tuberosum*. *Fertilization in Higher Plants*. Ed. H.F. Linskens. Amsterdam; New York: North Holland Am. Elsevier, 1974;37-40.
- Hermesen J.G.Th., Ramanna M.S. Barriers to hybridization of *Solanum bulbocastanum* Dun. and *Solanum verrucosum* Schlecht. and structural hybridity in their F1 plants. *Euphytica.* 1976;25(1):1-10. DOI 10.1007/BF00041523.
- Hermesen J.G.Th., Verdenius J. Selection from *Solanum tuberosum* group *Phureja* of genotypes combining high frequency haploid induction with homozygosity for embryo-spot. *Euphytica.* 1973;22:244-259.

- Hijmans R.J., Gavrilenko T., Stephenson S., Bamberg J., Salas A., Spooner D. The geographic and environmental distribution of polyploidy in wild potatoes (*Solanum* section *Petota*). *Global Ecol. Biogeogr.* 2007;16(4):485-495. DOI 10.1111/j.1466-8238.2007.00308.x.
- Hijmans R.J., Spooner D.M. Geographic distribution of wild potato species. *Am. J. Botany.* 2001;88:2101-2112.
- Hijmans R.J., Spooner D.M., Salas A.R., Guarino L., de la Cruz J. Atlas of Wild Potatoes. *Syst. Ecogeogr. Studies on Crop GenePools.* 2002. www.vcru.wisc.edu/spoonerlab/pdf/Potato%20Atlas%20Final.pdf.
- Horsman K., Gavrilenko T., Bergervoet M., Huigen D.J., Joe A.T.W., Jacobsen E. Alteration of the genomic composition of *Solanum nigrum* (+) potato backcross derivatives by somatic hybridization: selection of fusion hybrids by DNA measurements and GISH. *Plant Breeding.* 2001;120:201-207. DOI 10.1046/j.1439-0523.2001.00591.x.
- Hosaka K., Hanneman R.E. Genetics of self-compatibility in a self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 1. Detection of an S locus inhibitor (*Sli*) gene. *Euphytica.* 1998a;99:191-197.
- Hosaka K., Hanneman R.E. Genetics of self-compatibility in a self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 2. Localization of an S locus inhibitor (*Sli*) gene on the potato genome using DNA markers. *Euphytica.* 1998b;103:65-271.
- Irikura Y. Cytogenetic studies on the haploid plants of tuber-bearing *Solanum* species. II. Cytogenetic investigations on haploid plants and interspecific hybrids by utilizing haploidy. *Res. Bull. Hokkaido Nat. Agric. Exp. Stat.* 1976;115:1-80.
- Jansky S.H. Overcoming hybridization barriers in potato. *Plant Breeding.* 2006;125:1-12.
- Jansky S.H., Dempewolf H., Camadro E.L., Simon R., Zimnoch-Guzowska E., Bisognin D.A., Bonierbale M.A. Case for crop wild relative preservation and use in potato. *Crop Science.* 2013;53:746-754. DOI 10.2135/cropsci2012.11.0627.
- Jansky S.H., Hamernik A.J. The introgression of 2x 1 EBN *Solanum* species into the cultivated potato using *Solanum verrucosum* as a bridge. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2009;56:1107-1115.
- Jansky S.H., Peloquin S.J., Yerk G.L. Use of potato haploids to put 2x wild species germplasm in usable form. *Plant Breeding.* 1990;104(4):290-294. DOI 10.1111/j.1439-0523.1990.tb00438.x.
- Johnston S.A., den Nijs T.M., Peloquin S.J., Hanneman R.E., Jr. The significance of genetic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theor. Appl. Genet.* 1980;57:5-9.
- Johnston S.A., Hanneman R.E., Jr. Support of the endosperm balance number hypothesis utilizing some tuber-bearing *Solanum* species. *Am. Potato J.* 1980;57:7-14.
- Kelley K., Whitworth J.L., Novy R.G. Mapping of the potato leafroll virus resistance gene, *Rlretb*, from *Solanum tuberosum* identifies interchromosomal translocations among its E-genome chromosomes 4 and 9 relative to the A-genome of *Solanum* L. sect. *Petota*. *Mol. Breeding.* 2009;23:489-500.
- Kim S.R., Ahn Y.K., Kim T.G., Kang H.S., Song S.W., Kim B.C., Kang S.G. Breeding of a new cultivar 'Jeseo' with resistance to common scab. *Kor. J. Breed. Sci.* 2013;45:468-473. DOI https://doi.org/10.9787/KJBS.2013.45.4.468.
- Kinoshita T. Reproductive barrier and genomic imprinting in the endosperm of flowering plants. *Genes Genet. Syst.* 2007;82:177-186.
- Kradolfer D., Wolff P., Jiang H., Siretskiy A., Kohler C. An imprinted gene underlies postzygotic reproductive isolation in *Arabidopsis thaliana*. *Dev. Cell.* 2013;26:525-535.
- Kubo K., Entani T., Takara A., Wang N., Fields A.M., Hua Z., Toyoda M., Kawashima S., Ando T., Isogai A., Kao T., Takayama S. Collaborative non-self recognition system in S-RNase-based self-incompatibility. *Science.* 2010;330:796-799.
- Kuhl J.C., Novy R.G., Whitworth J.L., Dibble M.S., Schneider B., Hall D. Development of molecular markers closely linked to the Potato leafroll virus resistance gene, *Rlretb*, for use in marker-assisted selection. *Am. J. Potato Res.* 2016;93(3):203-212.
- Kuhl J.C., Zarka K., Coombs J., Kirk W., Douches D.S. Late blight resistance of RB transgenic potato lines. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 2007;132(6):783-789.
- Laferriere L., Helgeson J., Allen C. Fertile *Solanum tuberosum*+*S. comersonii* somatic hybrids as sources of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Theor. Appl. Genet.* 1999;98:1272-1278. DOI 10.1007/s001220051193.
- Lamm R. Investigation of some tuber-bearing *Solanum* hybrids. *Hereditas.* 1953;39:97-112.
- Levy A.V., Voronkova E.V., Polyukhovich Yu.V., Yermishin A.P. Polymorphism of microsatellite DNA fragments in interspecific hybrids contrasting for late blight resistance that were derived from from *Solanum stoloniferum*. *Vesti NAN Belarusi. Ser. biyal. navuk = Proc. Nat. Acad. Sci. Belarus. Ser. Biol. Sci.* 2015;1:43-49. (in Russian)
- Levy A.V., Polyukhovich Yu.V., Voronkova E.V., Gukasyan O.N., Yermishin A.P. Use of *Solanum verrucosum* and *S_v*-lines for overcoming unilateral incompatibility in involvement to breeding of wild allotetraploid potato species *S. stoloniferum*. *Tez. dokl. mezhd. nauch. konf. Sankt-Peterburg.* 3-5 avgusta 2016 g. [Abstracts from the Int. Conf. "Problems of systematics and breeding of potato". Aug. 3-5, 2016]. St.-Petersburg, 2016;69-70. (in Russian)
- Lewis D., Crowe L.K. Unilateral incompatibility in flowering plants. *Heredity.* 1958;12:233-256.
- Li W., Chetelat R.T. Unilateral incompatibility gene *uil1* encodes an S-locus F-box protein expressed in pollen of *Solanum* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112(14):4417-4422. DOI 10.1073/pnas.1423301112.
- Lin B.-Y. Ploidy barrier to endosperm development in maize. *Genetics.* 1984;107:103-115.
- Makhan'ko O.V. Interspecific incompatibility in potato diploid breeding. *Zemlyarobstva i akhova raslin = Agriculture and Plant Protection.* 2008;1:11-14. (in Russian)
- Marks G.E. Cytogenetic studies in tuberous *Solanum* species. I. Genomic differentiation in the group Demissa. *J. Genetics.* 1955;53:262-269.
- Marks G.E. Cytogenetic studies in tuberous *Solanum* species: III. Species relationships in some South and Central American species. *New Phytologist.* 1965;64:293-306.
- Marks G.E. The origin and significance of intraspecific polyploidy: experimental evidence from *Solanum chacoense*. *Evolution.* 1966;20:552-557.
- Martin F.W. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.* 1958;34:125-128.
- Matsubayashi M. Phylogenetic relationships in the potato and its related species. *Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution.* Pt. B. Eds. T. Tsuchiya, P.K. Gupta. Amsterdam: Elsevier, 1991;93-118.
- McGrath J., Williams C., Haberlach G., Wielgus S., Uchytel T., Helgeson J.P. Introgression and stabilization of *Erwinia* tuber soft rot resistance into potato after somatic hybridization of *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Am. J. Potato Res.* 2002;79:19-24.
- Mok D.W.S., Peloquin S.J. Three mechanisms of 2n pollen formation in diploid potatoes. *Can. J. Genet. Cytol.* 1975;17:217-225.
- Naess S., Bradeen J., Wielgus S., Haberlach G., McGrath J., Helgeson J.P. Resistance to late blight in *Solanum bulbocastanum* is mapped to chromosome 8. *Theor. Appl. Gen.* 2000;101:697-704.
- Naess S., Bradeen J., Wielgus S., Haberlach G., McGrath J., Helgeson J.P. Analysis of the introgression of *Solanum bulbocastanum* DNA into potato breeding lines. *Mol. Gen. Genomics.* 2001;265(4):694-704.
- Nishiyama I., Inomata N. Embryological studies in cross incompatibility between 2x and 4x in *Brassica*. *Japan. J. Genetics.* 1966;41(1):27-42.
- Novy R.G., Gillen A.M., Whitworth J.L. Characterization of the expression and inheritance of potato leafroll virus (PLRV) and potato virus Y (PVY) resistance in three generations of germplasm derived from *Solanum tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 2007;114:1161-1172. DOI 10.1007/s00122-007-0508-2.
- Novy R.G., Nasruddin A., Ragsdale D.W., Radcliffe E.B. Genetic resistances to potato leafroll virus, potato virus Y, and green peach aphid in progeny of *Solanum tuberosum*. *Am. J. Potato Res.* 2002;79:9-18. DOI 10.1007/BF02883518.

- Ortiz R. Potato breeding via ploidy manipulations. *Plant Breed. Rev.* 1998;16:15-86.
- Ortiz R., Ehlenfeldt M. The importance of Endosperm Balance Number in potato breeding and the evolution of tuber-bearing *Solanum* species. *Euphytica*. 1992;60:105-113.
- Pandey K.K. Interspecific incompatibility in *Solanum* species. *Am. J. Bot.* 1962;49:874-882.
- Peloquin S.J., Boiteux L.S., Carputo D. Meiotic mutants in potato. Valuable variants. *Genetics*. 1999;153(4):1493-1499.
- Peloquin S.J., Yerk G.L., Werner J.E., Darmo E. Potato breeding with haploids and 2n gametes. *Genome*. 1989;31:1000-1004.
- Pendinen G., Gavrilenko T., Jiang J., Spooner D.M. Allopolyploid speciation of the tetraploid Mexican potato species revealed by genomic *in situ* hybridization. *Genome*. 2008;51:714-720. DOI 10.1139/G08-052.
- Pendinen G., Spooner D.M., Jiang J., Gavrilenko T. Genomic *in situ* hybridization (GISH) reveals both auto- and allopolyploid origins of different North and Central American hexaploid potato (*Solanum* section *Petota*) species. *Genome*. 2012;55(6):407-415. DOI 10.1139/G2012-027.
- Perl A., Aviv D., Galun E. Protoplast-fusion-derived *Solanum* hybrids: application and phylogenetic limitations. *Theor. Appl. Genet.* 1990; 79(5):632-640.
- Pidgaetskiy A.A. Vikarystannya dikogo vidu kartopli *S. demissum* Lindl. pri zaluchenni do selektsionnoy roboti *S. bulbocastanum* Dun. [Use of wild potato species *S. demissum* Lindl. in the involvement of *S. bulbocastanum* Dun. to breeding]. *Kartoplyarstvo, mezhdromstvennyy tematicheskyy sbornik* [Potato Growing, an interdepartmental subject collection]. Kyiv, 1981;12:9-12. (in Ukrainian)
- Pignatta D., Gehring M. Imprinting meets genomics: new insights and new challenges. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2012;15(5):530-535. DOI 10.1016/j.pbi.2012.09.004.
- Polyukhovych Yu.V., Makhan'ko O.V., Savchuk A.V., Voronkova E.V., Yermishin A.P. Development of bridge lines for overcoming interspecific incompatibility in potatoes. *Vesti NAN Belarusi. Ser. biyal. navuk = Proc. Nat. Acad. Sci. Belarus. Ser. Biol. Sci.* 2010;2:51-58. (in Russian)
- Polyukhovych Yu.V., Voronkova E.V., Savchuk A.V., Yermishin A.P. Use of *Solanum verrucosum* for overcoming unilateral incompatibility in crosses with wild allotetraploid potato species. *Kartofelevodstvo = Potato Growing* (Minsk), 2013;21(1):136-145. (in Russian)
- Ramakrishnan A.P., Ritland C.E., Blas Sevillano R.H., Riseman A. Review of potato molecular markers to enhance trait selection. *Am. J. Potato Res.* 2015;92(4):455-472. DOI 10.1007/s12230-015-9455-7.
- Ramanna M.S. A re-examination of the mechanisms of 2n-gamete formation in potato and its implications for breeding. *Euphytica*. 1979;28:537-561.
- Ramanna M.S. First division restitution gametes through fertile desynaptic mutants of potato. *Euphytica*. 1983;32:337-350.
- Rivard S.R., Cappadocia M., Landry B.S. A comparison of RFLP maps based on another culture derived, selfed, and hybrid progenies of *Solanum chacoense*. *Genome*. 1996;39:611-621.
- Rodríguez F., Ghislain M., Clausen A.M., Jansky S.H., Spooner D.M. Hybrid origins of cultivated potatoes. *Theor. Appl. Genet.* 2010; 121:1187-1198. DOI 10.1007/s00122-010-1422-6.
- Rodríguez F., Spooner D. Nitrate reductase phylogeny of potato (*Solanum* sect. *Petota*) genomes with emphasis on the origins of the polyploid species. *Syst. Botany*. 2009;34:207-219.
- Ross H. Potato breeding. Problems and perspectives. *Adv. Plant Breed.* 1986;13.
- Sanetomo R., Akino S., Suzuki N., Hosaka K. Breakdown of a hybridization barrier between *Solanum pinnatisectum* Dunal and potato using the *S* locus inhibitor gene (*Sli*). *Euphytica*. 2014;197:119-132. DOI 10.1007/s10681-013-1057-1.
- Schatlowski N., Wolff P., Santos-González J., Schoft V., Siretskiy A., Scott R., Tamaru H., Kohlera C. Hypomethylated pollen bypasses the interploidy hybridization barrier in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2014;26(9):5356-5368. DOI 10.1105/tpc.114.130120.
- Scotti N., Monti L., Cardi T. Organelle DNA variation in parental *Solanum* spp. genotypes and nuclear-cytoplasmic interactions in *Solanum tuberosum* (+) *S. commersonii* somatic hybrid-backcross progeny. *Theor. Appl. Genet.* 2003;108(1):87-94.
- Simko I., Jansky S., Stephenson S., Spooner D. Genetics of resistance to pests and disease. Ch. 7. *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*. Ed. D. Vreugdenhil. Elsevier, 2007.
- Song J., Bradeen J.M., Naess S.K., Raasch J.A., Wielgus S.M., Haberalach G.T., Liu J., Kuang H., Austin-Phillips S., Buell C.R., Helgeson J.P., Jiang J. Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003;100:9128-9133. DOI 10.1073/pnas.1533501100.
- Spooner D.M., Alvarez N., Peralta I.E., Clausen A.M. Taxonomy of wild potatoes and their relatives in southern South America (*Solanum* sects. *Petota* and *Etuberosum*). *Syst. Bot. Monogr.* 2016;100: 1-240.
- Spooner D.M., Castillo R.T. Reexamination of series relationships of South American wild potatoes (Solanaceae: *Solanum* sect. *Petota*): evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *Am. J. Botany*. 1997;84(5):671-685.
- Spooner D.M., Ghislain M., Simon R., Jansky S.H., Gavrilenko T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *Bot. Review*. 2014;80(4):283-383. DOI 10.1007/s12229-014-9146-y.
- Spooner D.M., Rodríguez F., Polgár Z., Ballard H.E., Jr., Jansky S.H. Genomic origins of potato polyploids: GBSSI gene sequencing data. *Plant Genome: Suppl. to Crop Sci.* 2008;48(S1):S27-S36.
- Spooner D.M., Sytsma K.J. Reexamination of series relationships of Mexican and Central American wild potatoes (*Solanum* sect. *Petota*): evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *Syst. Botany*. 1992;17:432-448.
- Spooner D.M., Sytsma K.J., Conti E. Chloroplast DNA evidence for genome differentiation in wild potatoes (*Solanum* sect. *Petota*: Solanaceae). *Am. J. Botany*. 1991;78:1354-1366.
- Spooner D.M., van den Berg R.G., Rodríguez A., Bamberg J., Hijmans R.J., Lara-Cabrera S.I. Wild potatoes (*Solanum* section *Petota*) of North and Central America. *Syst. Bot. Monogr.* 2004;68: 1-209.
- Summers D., Grun P. Reproductive isolation barriers to gene exchange between *Solanum chacoense* and *S. commersonii* (Solanaceae). *Am. J. Bot.* 1981;68:1240-1248.
- Surikov I.M. Genetics of intraspecific incompatibility of male gametophyte and pistil in flowering plants. *Uspekhi sovremennoy genetiky=Progress in Modern Genetics*. 1972;4:119-169. (in Russian)
- Surikov I.M. Nesovmestimost' i embrional'naya steril'nost' rasteniy [Incompatibility and embryonal sterility of plants]. Moscow, Agropromisdat Publ., 1991 (in Russian)
- Tek A.L., Stevenson W.R., Helgeson J.P., Jiang J. Transfer of tuber soft rot and early blight resistances from *Solanum brevidens* into cultivated potato. *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:249-254.
- Thieme R., Rakosy-Tican E., Gavrilenko T., Antonova O., Schubert J., Nachtigall M., Heimbach U., Thieme T. Novel somatic hybrids (*Solanum tuberosum* L. + *Solanum tarnii*) and their fertile BC₁ progenies express extreme resistance to potato virus Y and late blight. *Theor. Appl. Genet.* 2008;116:691-700. DOI 10.1007/s00122-007-0702-2.
- Thieme R., Rakosy-Tican E., Nachtigall M., Schubert J., Hammann T., Antonova O., Gavrilenko T., Heimbach U., Thieme T. Characterization of the multiple resistance traits of somatic hybrids between *Solanum cardiophyllum* Lindl. and two commercial potato cultivars. *Plant Cell Rep.* 2010;29:1187-1201. DOI 10.1007/s00299-010-0905-x.
- Thieme R., Schubert J., Nachtigall M., Hammann T., Truberg B., Heimbach U., Thieme T. Wild potato species of the series *Pinnatisecta* – progress in their utilisation in potato breeding. *Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors: Current Potential and Future Demands: Proc. of the 3rd Intern. Symp. on Plant Protection and Plant Health in Europe*, 14–16 May 2009, Berlin, Germany. Braunschweig, 2009;428-436.

- Thompson R.D., Uhrig H., Hermsen J.G.Th., Salamini F., Kaufmann H. Investigation of a self-compatible mutation in *Solanum tuberosum* clones inhibiting S-allele activity in pollen differentially. *Mol. Gen. Genet.* 1991;226:283-288.
- Tonosaki K., Osabe K., Kawanabe T., Fujimoto R. The importance of reproductive barriers and the effect of allopolyploidization on crop breeding. *Breed. Sci.* 2016;66(3):333-349. DOI 10.1270/jsbbs.15114.
- Trognitz B.R., Schmidiche P.E. A new look at incompatibility relationships in higher plants. *Sex Plant Reprod.* 1993;6:183-190.
- Veilleux R.E., De Jong H. Potato. Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement. Vol. 3. Ed. R.J. Singh. Boca Raton: CRC Press, 2007;17-58.
- Voronkova E.V., Lisovskaya V.M., Pavlyuchuk N.V., Savchuk A.V., Yermishin A.P. Resistance to virus diseases in the progeny of diploid interspecific hybrids derived from allotetraploid species *Solanum acaule* and *S. stoloniferum*. *Kartofelevodstvo = Potato Growing (Minsk)*. 2008;14:144-152. (in Russian)
- Voronkova E.V., Lisovskaya V.M., Yermishin A.P. Diploid hybrids between allotetraploid wild potato species *Solanum acaule* Bitt., *Solanum stoloniferum* Schltld. and dihaploids of *Solanum tuberosum* L. *Genetika = Genetics (Moscow)*. 2007;43(8):882-889. (in Russian)
- Voronkova E.V., Pavlyuchuk N.V., Polykhovich Yu.V., Gukasyan O.N., Zharich V.M., Luksha V.I., Yermishin A.P. Resistance to PVY transferred to diploid interspecific hybrids from *Solanum stoloniferum*. *Kartofelevodstvo = Potato Growing (Minsk)*. 2015;23:27-39. (in Russian)
- Waara S., Glimelius K. The potential of somatic hybridization in crop breeding. *Euphytica*. 1995;85:217-233.
- Watanabe K., Arbizu C., Schmiediche P. Potato germplasm enhancement with disomic tetraploid *Solanum acaule*. I. Efficiency of introgression. *Genome*. 1992;35:53-57.
- Werner J.E., Peloquin S.J. Inheritance and two mechanisms of 2n egg formation in 2x potatoes. *J. Heredity*. 1990;81:371-374.
- Xiao W., Brown R.C., Lemmon B.E., Harada J.J., Goldberg R.B., Fischer R.L. Regulation of seed size by hypomethylation of maternal and paternal genomes. *Plant Physiol.* 2006;142:1160-1168.
- Xu B.B., Mu J.H., Nevins D.L., Grun P., Kao T.H. Cloning and sequencing of cDNAs encoding two self-incompatibility associated proteins in *Solanum chacoense*. *Mol. Gen. Genet.* 1990;224:341-346.
- Yermishin A.P., Polykhovich Yu.V., Voronkova E.V., Gukasyan O.N. S_pS_v lines, an effective tool for involvement of valuable germplasm from 1EBN diploid potato species. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):42-50. DOI 10.18699/VJ17.222. (in Russian)
- Yermishin A.P., Polykhovich Y.V., Voronkova E.V., Savchuk A.V. Production of hybrids between 2 EBN bridge species *Solanum verucosum* and 1 EBN diploid potato species. *Am. J. Potato Res.* 2014; 91(6):610-617. DOI 10/1007/s12230-014-9385-9/.
- Yermishin A.P., Voronkova E.V., Kozlov V.A. *Kartofel [Potato]. Kilchevskiy A.V., Khotyleva L.V. (Eds.) Geneticheskie osnovy seleksii rasteniy. Tom 2. Chastnaya genetika rasteniy [Genetic basis of plant breeding. V. 2. Specific genetics]. Minsk, 2010;156-234. (in Russian)*