

$S_V S_V$ -линии – эффективный инструмент для вовлечения в селекцию ценного генофонда 1 EBN диплоидных диких видов картофеля

А.П. Ермишин , Ю.В. Полюхович, Е.В. Воронкова, О.Н. Гукасян

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

Имеется ряд ценных для селекции диких видов картофеля, в частности 1 EBN мексиканские диплоидные виды, которые практически не скрещиваются с культурным картофелем, включая дигаплоиды *Solanum tuberosum* (2x, 2 EBN), из-за жестких пре- и постзиготных межвидовых репродуктивных барьеров. Для вовлечения в селекцию генофонда этих видов предлагается использовать оригинальные $S_V S_V$ -линии (F_2 дигаплоиды *S. tuberosum* × *S. verrucosum*), у которых S_V -аллели культурного картофеля замещены на S_V от самосовместимого диплоидного вида *S. verrucosum*, не образующего пестичных S-RNase. Предполагалось, что благодаря наличию в гомозиготном состоянии S-генов, привнесенных от *S. verrucosum*, $S_V S_V$ -линии имеют те же возможности для устранения презиготной несовместимости при межвидовой гибридизации, что и этот дикий вид, однако их использование позволит устранить нежелательные эффекты, связанные с его применением (мужская стерильность гибридов, пониженное клубнеобразование). Целью исследования была оценка эффективности использования $S_V S_V$ -линий (по сравнению с *S. verrucosum*) в качестве посредника для вовлечения в селекцию 1 EBN видов картофеля *S. bulbocastanum*, *S. pinnatisectum* и *S. polyadenium*. Установлено, что $S_V S_V$ -линии превосходят *S. verrucosum* по эффективности гибридизации с 1 EBN видами благодаря обильному и продолжительному цветению в более поздние, по сравнению с *S. verrucosum*, сроки, когда наступает цветение видов-опылителей. Среди гибридов между $S_V S_V$ -линиями и 1 EBN дикими видами было достоверно меньше стерильных и низкофертильных генотипов и больше генотипов со средней и высокой функциональной фертильностью пыльцы. Они обладали более высокой способностью к клубнеобразованию, благодаря чему, в отличие от гибридов на основе *S. verrucosum*, были пригодны для многолетней селекционной оценки в полевых условиях. Полученные межвидовые гибриды удалось скрестить в качестве материнских форм с дигаплоидами *S. tuberosum*.

Ключевые слова: картофель; отдаленная гибридизация; презиготная несовместимость; балансовое число эндосперма – EBN; *S. verrucosum*; $S_V S_V$ -линии.

$S_V S_V$ -lines is an effective tool for involvement of the valuable genepool of 1 EBN diploid potato species into breeding

A.P. Yermishin , Yu.V. Polyukhovich, E.V. Voronkova, O.N. Gukasyan

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

There is a set of wild potato species valuable for breeding, in particular 1 EBN diploid species from Mexico, which is practically not crossable to cultivated potatoes, including *Solanum tuberosum* dihaploids (2x, 2 EBN), because of strict pre- and postzygotic interspecific reproductive barriers. It is proposed to involve that species germplasm into breeding by using the original $S_V S_V$ -lines (F_2 *S. tuberosum* dihaploids × *S. verrucosum*), in which S_V -alleles have been substituted for S_V from the self-compatible diploid species *S. verrucosum* not producing stylar S-RNase. It was anticipated that $S_V S_V$ -lines have the same ability for elimination of prezygotic incompatibility in interspecific hybridization as *S. verrucosum* due to S-genes of that species in homozygous state. However, their use would help avoid undesirable effects associated with *S. verrucosum* application (male sterility and reduced tuber formation in hybrids). The aim of the research was estimation of the efficiency of using $S_V S_V$ -lines, in comparison with *S. verrucosum*, as a bridge for involvement of the 1 EBN potato species *S. bulbocastanum*, *S. pinnatisectum* and *S. polyadenium* into breeding. It was revealed that $S_V S_V$ -lines excels *S. verrucosum* in hybridization efficacy due to abundant and prolonged flowering in later term than *S. verrucosum*, when flowering of pollinator species occurs. There were significantly less sterile or low fertility genotypes among the hybrids between $S_V S_V$ -lines and 1 EBN wild species. They had higher ability for tuber formation, and so they were suitable for long term field trials, contrast to hybrids with *S. verrucosum*. The interspecific hybrids produced were crossed as female parents to *S. tuberosum* dihaploids.

Kew words: potato; hybridization between distantly related species; prezygotic incompatibility; endosperm balance number – EBN; *S. verrucosum*; $S_V S_V$ -lines.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Ермишин А.П., Полюхович Ю.В., Воронкова Е.В., Гукасян О.Н. $S_V S_V$ -линии – эффективный инструмент для вовлечения в селекцию ценного генофонда 1 EBN диплоидных диких видов картофеля. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):42-50. DOI 10.18699/VJ17.222

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Yermishin A.P., Polyukhovich Yu.V., Voronkova E.V., Gukasyan O.N. $S_V S_V$ -lines is an effective tool for involvement of the valuable genepool of 1 EBN diploid potato species into breeding. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):42-50. DOI 10.18699/VJ17.222

Одно из важных направлений в селекции картофеля – использование генофонда диких видов с целью расширения аллельного разнообразия культурного картофеля, интрогрессии новых генов устойчивости к болезням и вредителям. Большинство диплоидных южноамериканских диких и примитивных культурных видов картофеля хорошо скрещиваются с дигаплоидами ($2n = 2x = 24$) *Solanum tuberosum*. Применение беккрасса и отбора на диплоидном уровне позволяет эффективно осуществлять интрогрессию генов диких видов в селекционный материал, а с помощью мейотического удвоения хромосом переносить их на тетраплоидный уровень (Jansky et al., 1990). Однако имеется ряд ценных для селекции диких видов картофеля, в частности группа мексиканских диплоидных видов из секций *Bulbocastana*, *Pinnatisecta*, *Polyadenia*, которые практически не скрещиваются с культурным картофелем, включая дигаплоиды *S. tuberosum*.

Проблемы получения межвидовых гибридов с их участием связаны прежде всего с гибелью гибридных зародышей вследствие недоразвития эндосперма, что объясняют различиями их эффективной плоидности (EBN – балансового числа эндосперма), равной 1 EBN, и эффективной плоидности дигаплоидов (2 EBN). В соответствии с плоидностью и EBN виды картофеля объединены по группам скрещивания: 2x (1 EBN), 2x (2 EBN), 3x (2 EBN), 4x (2 EBN), 4x (4 EBN) и 6x (4 EBN). Для успешной гибридизации EBN родительских форм должны совпадать (Johnston, Hanneman, 1980, 1982; Carputo et al., 1999; Hanneman, 1999). Кроме того, для диплоидных видов картофеля из Мексики при гибридизации их с дигаплоидами *S. tuberosum* характерны также презиготные барьеры несовместимости, которые проявляются в виде ингибирования роста пыльцевых трубок в пестике (Маханько, 2008).

Методы преодоления названных межвидовых репродуктивных барьеров с целью интрогрессии в селекционный материал ценного генофонда 1 EBN диплоидных видов картофеля (Hermsen, Ramanna, 1973; Bamberg, 1990; Cardì et al., 1993; Carputo et al., 1997; Nyman, Waara, 1997; Thieme et al., 1997; Helgeson et al., 1998; и др.) технически сложные и в большинстве случаев неэффективные.

Разработанная нами технология вовлечения в селекцию 1 EBN видов картофеля основана на гипотезе, согласно которой в пыльце или среди яйцеклеток некоторых образцов этих видов наряду с нормальными 0.5 EBN гаметами может присутствовать небольшое количество нетипичных 1 EBN (но нормальной плоидности – n) гамет. Причинами того, что гибридные семена в интер-EBN скрещиваниях не завязываются или завязываются очень редко, могут быть низкая частота нетипичных гамет, низкая функциональная фертильность пыльцы опылителей, презиготная межвидовая несовместимость, преждевременное осыпание или недоразвитие малосемянных ягод. Устранение или минимизация названных факторов, препятствующих достижению завязи пыльцевыми трубками нетипичных гамет, позволило нам получить сравнительно большое количество гибридных семян между видом-посредником *S. verrucosum* (2x, 2 EBN) и рядом 1 EBN видов. Гибриды относительно легко скрещивались с дигаплоидами *S. tuberosum* (2x, 2 EBN), что открывает возможность

эффективной интрогрессии ценных генов 1 EBN видов в селекционный материал (Полухович и др., 2011; Yermishin et al., 2011, 2014).

Среди факторов, обеспечивших успех проведенной гибридизации, на наш взгляд, наибольшее значение имело использование для устранения презиготной несовместимости дикого диплоидного вида картофеля *S. verrucosum*.

У картофеля презиготные барьеры имеют место как при внутривидовых, так и при межвидовых скрещиваниях. Для диплоидных видов *Solanum* характерна система однолокусной гаметофитной самонесовместимости, связанная с функционированием S-локуса, который может быть представлен у конкретного генотипа разными аллелями. Продуктами пестичного компонента S-локуса являются гликопротеины, имеющие рибонуклеазную активность (S-РНКазы). S-РНКазы могут свободно проникать в цитоплазму пыльцевых трубок и, действуя как ингибитор процесса трансляции, останавливать их рост. Этот своеобразный барьер могут преодолеть лишь те пыльцевые трубки, которые содержат определенные продукты, способные дезактивировать соответствующие РНКазы (Ермишин, 2001).

Дикий диплоидный вид картофеля из Мексики *S. verrucosum* в систематическом отношении близок южноамериканским видам картофеля, в том числе *S. tuberosum* (Hawkes, 1990). Однако в отличие от большинства диплоидных видов картофеля он является самосовместимым, т. е. способен завязывать семена при самоопылении. Как и для многих самосовместимых видов, для *S. verrucosum* характерна односторонняя несовместимость: он легко завязывает семена в скрещиваниях с 2 EBN диплоидными видами картофеля в качестве материнской формы и практически не завязывает семян в таких скрещиваниях при использовании его в качестве опылителя, несмотря на высокую, как правило, функциональную фертильность пыльцы.

При изучении механизмов односторонней межвидовой несовместимости с участием *S. verrucosum* было установлено, что самосовместимость некоторых образцов этого вида обусловлена отсутствием в пестиках S-РНКаз (Eijlander, 1998). Известно, что при опылении *S. verrucosum* не только собственной пыльцой, но и пыльцой других видов картофеля, в том числе имеющих 1 EBN, не наблюдается ингибирования роста пыльцевых трубок, и они в большом количестве могут достигать семязпочки (Hermsen, Ramanna, 1976). Впервые на связь этого свойства *S. verrucosum* с отсутствием у него пестичных S-РНКаз и наличием видоспецифического аллеля S-гена – S_v – было указано в нашей работе (Ермишин, 2001).

В литературе имеется ряд сообщений об использовании (с разной долей успеха) *S. verrucosum* в качестве посредника для вовлечения в селекцию ценного генофонда 1 EBN диплоидных диких видов картофеля (Hermsen, Ramanna, 1976; Камераз и др., 1982; Dinu et al., 2005; Jansky, Hamernik, 2009; Полухович и др., 2011; Yermishin et al., 2014). Также показана высокая эффективность этого вида для преодоления односторонней несовместимости, характерной для гибридизации между *S. tuberosum* и дикими тетраплоидными видами картофеля *S. acaule* и *S. stoloniferum* (Полухович и др., 2013).

Отмечая высокую значимость *S. verrucosum* как ценного вида-посредника для вовлечения в селекцию генофонда диких видов картофеля, называют и его недостатки. Большинство растений межвидовых гибридов мужски стерильны по причине взаимодействия чувствительной цитоплазмы *S. verrucosum* с ядерными генами видов картофеля, которые используют в качестве опылителей (Abdalla, Hermsen, 1972). Мужски фертильные гибриды сложно вовлечь в скрещивания с культурным картофелем из-за односторонней межвидовой несовместимости. Все это существенно затрудняет их использование в селекционном процессе.

Для устранения названных недостатков *S. verrucosum* нами предложено использовать в скрещиваниях с 1 EBN дикими диплоидными видами картофеля не этот вид, а S_vS_v -линии *S. tuberosum*, которые представляют собой дигаплоиды *S. tuberosum*, у которых S_T -аллели культурного картофеля замещены на S_v от *S. verrucosum* (Ермишин, 2001). Благодаря наличию в гомозиготном состоянии S -генов (S_vS_v), привнесенных от *S. verrucosum*, S_vS_v -линии не образуют пестичных РНКаз. Следовательно, можно предположить, что они имеют те же возможности для устранения презиготной несовместимости, что и *S. verrucosum*.

Создание S_vS_v -линий – непростая задача из-за выраженной односторонней несовместимости при гибридизации между *S. verrucosum* и дигаплоидами *S. tuberosum*. Тем не менее нам удалось выявить так называемые акцепторные генотипы *S. tuberosum* (способные скрещиваться с *S. verrucosum* в качестве материнских форм) и отобрать в F_2 полученных гибридов *S. tuberosum* × *S. verrucosum* гомозиготы S_vS_v (S_vS_v -линии) (Ермишин и др., 2003; Полюхович и др., 2010).

Целью настоящего исследования была оценка эффективности использования S_vS_v -линий (по сравнению с *S. verrucosum*) в качестве посредника для вовлечения в селекцию генофонда 1 EBN видов картофеля.

Материалы и методы

Для сравнения эффективности использования S_vS_v -линий и *S. verrucosum* в качестве посредников для вовлечения в селекцию 1 EBN диплоидных диких видов картофеля, гибридизацию с их участием и испытания полученных гибридов проводили параллельно в сопоставимых условиях среды (Минск, 2009–2011 гг.).

В качестве материнских форм использовали 12 образцов *S. verrucosum* и 24 S_vS_v -линии. Последние – гибриды F_2 , полученные в результате самоопыления и сестринских скрещиваний F_1 между полученным нами первичным дигаплоидом IGC 98/109.5 мексиканского сорта Nortena и образцами *S. verrucosum*. В качестве опылителей выступали мужски фертильные образцы диплоидных 1 EBN видов картофеля *S. bulbocastanum*, *S. pinnatisectum* и *S. polyadenium*. Семена этих диких видов, как и семена *S. verrucosum*, были получены из Национального генбанка США по картофелю NRSP-6. В работе использованы следующие образцы: *S. verrucosum* – PI 190170, PI 195171, PI 195172, PI 275256, PI 275257, PI 310966, PI 498010, PI 570643, PI 570644, PI 570645, PI 545745, PI 498060; *S. bulbocastanum* – PI243505, PI243506,

PI243512, PI243513, PI255516, PI275191, PI275192, PI498011; *S. pinnatisectum* – PI275231–275236, PI537023; *S. polyadenium* – PI230480, PI275238, PI347770, PI498036.

Для проведения гибридизации растения родительских форм выращивали при естественном освещении (летний период 2009 и 2010 гг.) на участке, расположенном между двумя теплицами и оборудованном устройством для мелкокапельного полива. Семена проращивали в плошках с торфогрунтом в конце апреля–начале мая, предварительно замочив на 12 ч в водном растворе гиббереллина (GA_3 , 100 мг/л). Рассаду с пятью–шестью настоящими листьями высаживали на участке 15–20 мая. Сеянцы выращивали в гребнях, расстояние между гребнями 70 см, между растениями – 50 см. В 2009 г. условия были очень благоприятными для скрещиваний: в течение всего вегетационного периода стояла умеренно теплая погода с частыми дождями. В начале периода скрещиваний 2010 г. также были благоприятные условия, однако затем последовали продолжительные экстремально высокие температуры (более 30 °С), что привело к резкому снижению фертильности опылителей.

Для предотвращения самоопыления перед гибридизацией проводили кастрацию цветков материнских образцов (нераскрывшиеся бутоны). Распустившиеся цветки опылителей собирали на пике цветения, подсушивали 1 сут при комнатной температуре, затем вытряхивали из них пыльцу с помощью электрического вибратора. В скрещиваниях использовали только свежесобранную пыльцу. Перед проведением гибридизации оценивали функциональную фертильность пыльцы (ФФП) путем определения частоты прорастания пыльцевых зерен за 2 ч при 25 °С на питательной среде, содержащей сахарозу (200 г/л), H_3BO_3 (100 мг/л), $Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$ (300 мг/л), $MgSO_4 \times 7H_2O$ (200 мг/л), KNO_3 (100 мг/л); pH 5.5 (Pallais et al., 1984). Учитывали по 300 пыльцевых зерен с образца в нескольких полях зрения микроскопа (увеличение 600×). ФФП рассчитывали как отношение числа проросших пыльцевых зерен к общему числу пыльцевых зерен, помноженное на 100 %. В скрещиваниях использовали смесь пыльцы фертильных образцов одного вида.

У полученных семян межвидовых гибридов в 2010–2011 гг. оценивали всхожесть, а у выращенных из семян сеянцев – ФФП, способность к клубнеобразованию (доля сеянцев комбинации скрещивания, сформировавших клубни; масса клубней с растения; количество клубней с растения; средняя масса одного клубня) и скрещиваемость с фертильными дигаплоидами *S. tuberosum*. Оценка способности к клубнеобразованию у межвидовых гибридов проводилась в течение двух лет: в 2010 г. сеянцы выращивались в горшках с торфом на участке, расположенном между двумя теплицами и оборудованном устройством для мелкокапельного полива; в 2011 г. клубни, образовавшиеся в предыдущий год, были высажены в поле. Гибриды, формировавшие наиболее мелкие клубни, перед высадкой в поле подращивали в горшочках с торфом до рассады размером 20–25 см. Клубни диаметром более 15 мм высаживали непосредственно в поле. При гибридизации межвидовых гибридов в качестве опылителей использовали вторичные дигаплоиды *S. tuberosum* с высокой функциональной фертильностью пыльцы: IGC 01/60.5;

IGC 01/62.10; IGC 01/63.28, IGC 01/64.6, выделенные нами в результате специальной селекции на фертильность (Лушка и др., 2010).

Для детекции в межвидовых гибридах локусов ДНК, интрогрессированных от мексиканских диплоидных 1 EBN видов и связанных с наличием у них фрагментов генома этих видов, использовали ПЦР-маркеры RB629 и SolBCOSII-5₄₅₉, разработанные лабораторией ДНК-маркеров растений ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии (Москва). По данным (Pankin et al., 2011), SCAR-маркер RB629 области экзона гена *Rpi-blb1* устойчивости к фитофторозу *S. bulbocastanum* характерен для мексиканских 1 EBN диплоидных видов. SCAR-маркер SolBCOSII-5₄₅₉ применяется в филогенетических исследованиях для детекции генома В аллотетраплоидных диких видов картофеля, а также родственных геномов мексиканских 1 EBN диплоидных видов, в том числе *S. bulbocastanum*, *S. pinnatisectum* и др. (Соколова и др., 2013). ДНК выделяли из листьев семян с использованием наборов DNA purification Kit (фирма Thermo Scientific, EU) в соответствии с рекомендациями производителя. Амплификацию ДНК осуществляли на автоматическом программируемом термоциклере GeneAmp System 2700 (фирма PE Applied Biosystems, США). Программа ПЦР для праймеров, различающих последовательность RB629: начальная денатурация в течение 3 мин при 94 °C; далее 35 циклов по 30 с при 94 °C, 30 с при 65 °C и 2 мин при 72 °C; финальная элонгация в течение 7 мин при температуре 72 °C. Программа ПЦР для праймеров, различающих последовательность SolBCOSII-5₄₅₉: начальная денатурация в течение 3 мин при 94 °C; далее 35 циклов по 20 с при 94 °C, 40 с при 65 °C и 1 мин 30 с при 72 °C; финальная элонгация в течение 5 мин при температуре 72 °C.

Для статистической обработки данных использовали критерий *t* Стьюдента при сравнении показателей, выраженных в виде средних арифметических, и метод χ^2 – при сравнении показателей, представленных в виде частот.

Результаты

Средняя функциональная фертильность смеси пыльцы использованных в работе диких видов картофеля составила: 67.9 % у *S. polyadenium*, 53.7 % у *S. bulbocastanum* и 48.4 % у *S. pinnatisectum*. Это очень высокие показатели; наш опыт показывает, что хорошие результаты в скрещиваниях диплоидного картофеля получают при ФФП более 10 %.

Наиболее высокая скрещиваемость S_vS_v-линий установлена с *S. pinnatisectum* (получено 3 125 семян, 45.3 семени на опыление). Эффективность гибридизации с другими видами была несколько ниже: 37.3 семени на опыление в скрещиваниях с *S. bulbocastanum* и 30.3 семени на опыление в скрещиваниях с *S. polyadenium* (табл. 1). Ранее других 1 EBN видов в условиях опыта цвели растения *S. pinnatisectum*. В ходе выполнения последующих скрещиваний было уже видно, какие растения из использованных в работе гибридов F₂ дигиплоиды *S. tuberosum* × *S. verrucosum* завязывают ягоды после опыления пыльцой этого вида. Они преимущественно и опылялись далее пыльцой *S. bulbocastanum* и *S. polyadenium*. Очевидно, линии, которые завязывали менее 20 семян на опыление, на основании результатов проведенных нами

ранее исследований роста пыльцевых трубок диких видов в пестиках гибридов (Полюхович и др., 2010) могут быть отнесены к гетерозиготам S_vS_v. Линии, которые не завязывали семян, являются гомозиготами S_vS_v (в табл. 1 не приведены и не учитывались при вычислении эффективности гибридизации), а линии, которые завязывали более 20 семян на опыление, скорее всего, являются гомозиготами S_vS_v.

Сопоставление данных табл. 1 по скрещиваемости S_vS_v-линий с 1 EBN дикими диплоидными видами *S. bulbocastanum*, *S. pinnatisectum* и *S. polyadenium* и скрещиваемости *S. verrucosum* с этими видами (Yermishin et al., 2014) (см. табл. 1, последняя строка) указывает на преимущество первых. Во всех случаях эффективность гибридизации при использовании в качестве материнских форм S_vS_v-линий была выше (статистически достоверные различия отмечены для скрещиваний с *S. pinnatisectum*, а также в целом для всех использованных 1 EBN видов). У S_vS_v-линий удалось опылить значительно больше цветков, чем у образцов *S. verrucosum*, и получить в результате значительно больше гибридных семян.

Большинство семян, полученных в результате гибридизации S_vS_v-линий с 1 EBN дикими видами, обладало высокой выполненностью и жизнеспособностью, их всхожесть в среднем составила 66 % (табл. 2). По этому показателю они превосходили гибриды между *S. verrucosum* и 1 EBN дикими диплоидными видами *S. bulbocastanum* и *S. polyadenium*. Семена *S. verrucosum* × *S. pinnatisectum* имели более высокую всхожесть (88 %), чем семена соответствующих гибридов с участием S_vS_v-линий.

В большинстве случаев растения межвидовых гибридов по внешнему виду были ближе к материнской форме. Тем не менее среди них встречались образцы со звездчатой формой венчика, присущей примитивным *Stellata*, и строением листовой пластинки, характерной для диких видов, использованных в качестве опылителей. Детекция ДНК-маркеров, специфичных для генома В 1 EBN диплоидных диких видов, показала их наличие у большей части проанализированных гибридов (см. рисунок). С их помощью подтверждено гибридное происхождение всех 15 проанализированных гибридов S_vS_v-линии × *S. bulbocastanum*, 11 из 12 изученных гибридов *S. verrucosum* × *S. pinnatisectum* и 15 из 16 гибридов S_vS_v-линии × *S. pinnatisectum*.

Среди гибридов между S_vS_v-линиями и 1 EBN дикими видами было достоверно меньше стерильных и низкофертильных генотипов и больше генотипов со средней и высокой функциональной фертильностью пыльцы по сравнению с соответствующими гибридами на основе *S. verrucosum* (см. табл. 2).

Межвидовые гибриды, полученные при использовании в качестве материнских форм S_vS_v-линий, заметно превосходили аналогичные гибриды на основе *S. verrucosum* по всем показателям клубнеобразования на уровне как семян, так и первой клубневой репродукции (исключение – сеянцы гибридов с *S. polyadenium* по процентному содержанию генотипов, формирующих клубни) (табл. 3).

Как видно из табл. 4, гибриды на основе S_vS_v-линий, как и гибриды на основе *S. verrucosum*, в целом достаточно просто вовлекались в гибридизацию с дигиплоидами *S. tuberosum* в качестве материнских форм, хотя эффек-

Table 1. Results of hybridization between $S_V S_V$ -lines and 1 EBN wild diploid potato species and between *S. verrucosum* and 1 EBN wild diploid potato species (Minsk, 2009)

| $S_V S_V$ -line (<i>S. verrucosum</i>) | Males | | | | | | | | | Mean Seeds/ pollination |
|--|-------------------------|-------|------------------------|-------------------------|-------|------------------------|-----------------------|-------|------------------------|-------------------------------|
| | <i>S. bulbocastanum</i> | | | <i>S. pinnatisectum</i> | | | <i>S. polyadenium</i> | | | |
| | Pollina- tions | Seeds | Seeds / pollination | Pollina- tions | Seeds | Seeds / pollination | Pollina- tions | Seeds | Seeds / pollination | |
| IGC08/169.2 | 3 | 174 | 58 | 3 | 172 | 57.5 | –* | – | – | 57.6 |
| IGC08/169.3 | 4 | 42 | 10.5 | 3 | 150 | 50 | 3 | 140 | 46.6 | 33.2 |
| IGC08/169.4 | – | – | – | 4 | 20 | 5 | 6 | 40 | 6.6 | 6 |
| IGC08/169.5 | 5 | 92 | 23 | – | – | – | 7 | 172 | 24.6 | 22 |
| IGC08/169.6 | 3 | 117 | 39 | 2 | 0 | 0 | 4 | 187 | 46.8 | 33.8 |
| IGC08/169.7 | 4 | 208 | 52 | 7 | 89 | 12.7 | 5 | 55 | 11 | 22 |
| IGC08/170.2 | 4 | 0 | 0 | 7 | 323 | 46.1 | 4 | 251 | 62.8 | 38.3 |
| IGC08/170.3 | 6 | 555 | 92.5 | 7 | 575 | 82.1 | 7 | 100 | 14.3 | 61.5 |
| IGC08/170.4 | – | – | – | 5 | 227 | 45.4 | 4 | 295 | 73.8 | 58 |
| IGC08/170.5 | – | – | – | 5 | 521 | 104.2 | 5 | 156 | 31.2 | 67.7 |
| IGC08/170.6 | 4 | 113 | 28.3 | 3 | 235 | 78.3 | 5 | 45 | 9 | 32.8 |
| IGC08/172.2 | 2 | 37 | 18.5 | 1 | 16 | 16 | – | – | – | 17.7 |
| IGC08/172.5 | – | – | – | 3 | 330 | 110 | – | – | – | 110 |
| IGC08/172.6 | – | – | – | 3 | 133 | 44.3 | 3 | 52 | 17.3 | 30.8 |
| IGC08/172.7 | – | – | – | 3 | 91 | 30.3 | 5 | 266 | 53.2 | 44.6 |
| IGC08/173.1 | – | – | – | 4 | 32 | 8 | – | – | – | 8 |
| IGC08/173.2 | – | – | – | 3 | 31 | 10.3 | – | – | – | 10.3 |
| IGC08/173.3 | 3 | 82 | 27.3 | 2 | 0 | 0 | – | – | – | 16.4 |
| Total/mean | 38 | 1420 | 37.3±8.9 | 65 | 2945 | 45.3±8.3** | 58 | 1759 | 30.3±6.5 | 38.0±4.6** |
| <i>S. verrucosum</i> (by Yermishin et al., 2014) | 13 | 270 | 20.7±7.7 | 35 | 154 | 4.4±3.3 | 8 | 147 | 18.4±12.4 | 10.1±3.4 |

* Here and in other tables blank cells indicate lack of data.

** Excess of the corresponding character over the analogous hybrid ($S_V S_V$ -line or *S. verrucosum* as a female) is significant at $p < 0.01$.

тивность гибридизации гибридов на основе *S. verrucosum* была несколько выше.

Обсуждение

Полученные в результате настоящего исследования оценки эффективности использования $S_V S_V$ -линий в качестве посредника для вовлечения в селекцию 1 EBN диплоидных диких видов картофеля подтвердили возлагавшиеся на них надежды. Прежде всего показано, что они не уступали *S. verrucosum* по эффективности гибридизации с 1 EBN дикими видами картофеля, а в большинстве случаев она оказалась у них выше. Это можно объяснить тем, что, по данным многолетних наблюдений, $S_V S_V$ -линии начинали цветение в более поздние сроки, чем *S. verrucosum*, хотя и раньше, чем использованные в работе 1 EBN дикие диплоидные виды. Поэтому к началу скрещиваний они находились в физиологически более подходящем для гибридизации состоянии, чем *S. verrucosum* (последние практически заканчивали вегетацию). Обильное продолжительное цветение $S_V S_V$ -линий дало возможность выпол-

нить значительно больший, по сравнению с *S. verrucosum*, объем скрещиваний и получить намного больше гибридных семян (см. табл. 1).

Результаты гибридизации $S_V S_V$ -линий с 1 EBN дикими видами картофеля подтвердили предположение о ведущей роли S_V -генов в преодолении межвидовой презиготной несовместимости. Хотя точную числовую оценку расщепления гибридов F_2 дигиплоиды *S. tuberosum* × *S. verrucosum* по способности завязывать семена в скрещиваниях с 1 EBN видами сделать невозможно (поскольку скрещивания проводились в разное время), несложно заметить его сходство с наблюдавшимся при анализе степени роста пыльцевых трубок 1 EBN видов в пестиках аналогичных гибридов F_2 (Полюхович и др., 2010).

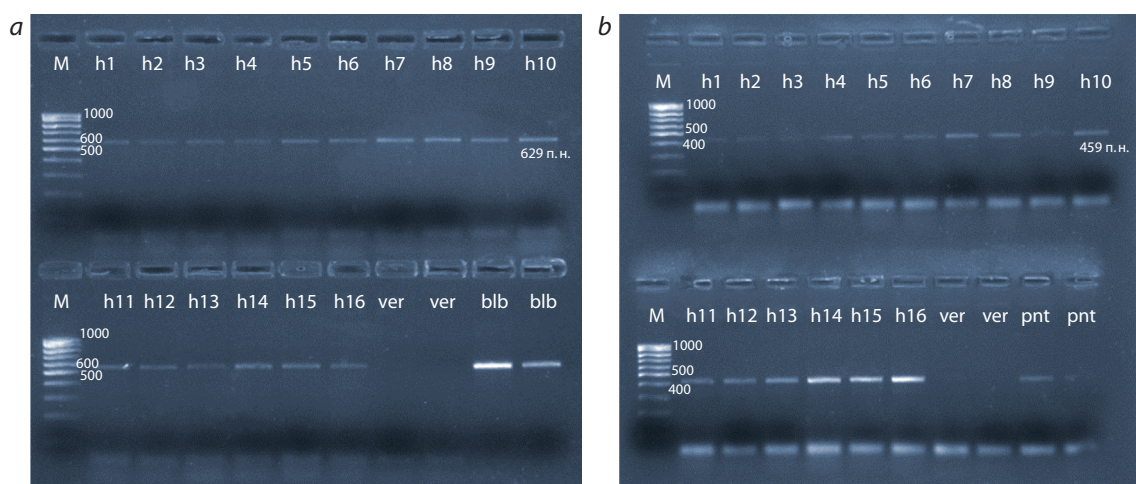
Большинство семян, полученных в результате гибридизации $S_V S_V$ -линий, как и *S. verrucosum*, с 1 EBN дикими видами, обладали высокой выполненностью и жизнеспособностью. По показателю всхожести они превосходили гибриды между *S. verrucosum* и 1 EBN дикими диплоидными видами (только семена *S. verrucosum* × *S. pinna-*

Table 2. Seed germination and male fertility of F₁ hybrids between *S_vS_v*-lines and 1 EBN wild diploid potato species and of F₁ hybrids between *S. verrucosum* and 1 EBN wild diploid potato species

| Hybrids | Seed germination, % | Number of plants studied | PFF, % | Percentages of plants belonging to different PFF classes | | |
|---|--------------------------|--------------------------|--------|--|---------------------------|---------------------------|
| | | | | Sterile and low fertility (PFF < 2) | Moderate (2.1 < PFF < 10) | high fertility (PFF > 10) |
| Hybrids F ₁ <i>S_vS_v</i> -lines × 1 EBN wild diploid potato species | | | | | | |
| <i>S_vS_v</i> -lines × <i>S. bulbocastanum</i> | 77.0* $\chi^2 = 3.87$ | 151 | 8.6 | 25.8 | 40.4 | 33.8 |
| <i>S_vS_v</i> -lines × <i>S. pinnatisectum</i> | 66.7 | 171 | 7.7 | 38.0 | 28.1 | 33.9 |
| <i>S_vS_v</i> -lines × <i>S. polyadenium</i> | 67.6 | 80 | 12.5 | 13.8 | 35.0** $\chi^2 = 7.7$ | 51.3 |
| Mean | 66.6 | 402 | 9.6 | 28.6 | 34.1* $\chi^2 = 4.7$ | 37.3 |
| Hybrids F ₁ <i>S. verrucosum</i> × 1 EBN wild diploid potato species (by Yermishin et al., 2014) | | | | | | |
| <i>S. verrucosum</i> × <i>S. bulbocastanum</i> | 50.0 | 18 | 7.1 | 55.6* $\chi^2 = 4.9$ | 22.2 | 22.2 |
| <i>S. verrucosum</i> × <i>S. pinnatisectum</i> | 88.1 | 23 | 9.0 | 34.8 | 30.4 | 34.8 |
| <i>S. verrucosum</i> × <i>S. polyadenium</i> | 46.4 | 22 | 6.1 | 63.6** $\chi^2 = 17.5$ | 0 | 36.4 |
| Mean | 59.5 | 63 | 7.4 | 50.8** $\chi^2 = 8.4$ | 17.5 | 31.8 |

* Excess of the corresponding character against the analogous hybrid (*S_vS_v*-line or *S. verrucosum* as a female) is significant at $p < 0.05$.

** $p < 0.01$.



The occurrence of markers typical for genome B of 1 EBN diploid potato species in DNA of interspecific hybrids: (a) hybrids *S_vS_v*-lines × *S. bulbocastanum*, marker RGA2₆₂₉; (b) hybrids *S_vS_v*-lines × *S. pinnatisectum*, marker SolBCOSII-5₄₅₉.

The markers are present in 1 EBN parental species (designated as blb and pnt) and in interspecific hybrids (h1, h2, h3...) but absent from the 2 EBN diploid species *S. verrucosum* (ver), which possesses genome A, like *S. tuberosum*.

tisectum имели более высокую всхожесть). Образование выполненных семян обычно связывают с формированием нередуцированных гамет у родителя с более низким EBN (Carputo et al., 1999). При этом в семени восстанавливается баланс эндосперма, но зародыш становится триплоидным (при скрещивании диплоидов), что приводит к стерильности межвидовых гибридов. Полученные в настоящем исследовании межвидовые гибриды были в основной массе диплоидными. В пользу этого говорит их высокая

фертильность, а также результаты подсчета числа хромосом у ряда гибридов на основе *S. verrucosum* (Yermishin et al., 2014). В литературе описаны и другие случаи получения выполненных семян, имеющих диплоидный зародыш, в частности при гибридизации *S. verrucosum* с 1 EBN видами (Hermesen, Ramanna, 1976; Jansky, Hamernik, 2009). На наш взгляд, образование таких семян подтверждает гипотезу о формировании 1 EBN видами нетипичных 1 EBN гамет (Yermishin et al., 2011).

Table 3. Tuber formation in interspecific hybrids between S_vS_v -lines and 1 EBN potato species in comparison with analogous hybrids with *S. verrucosum* (Minsk, 2010, 2011)

| Hybrids | 2010 (seedlings) | | | 2011 (the first tuber generation) | | | | |
|--|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|
| | Number of hybrids studied | Tuber formation, % | Tuber weight/plant, g | Number of hybrids studied | Tuber formation, % | Tuber weight/plant, g | Number of tubers/plant | Mean tuber weight, g |
| Hybrids $F_1 S_vS_v$ -lines \times 1 EBN wild diploid potato species | | | | | | | | |
| S_vS_v -lines \times <i>S. bulbocastanum</i> | 207 | 74.9* $\chi^2 = 4.65$ | 10.3 \pm 1.1** | 126 | 58.7 | 76.4 \pm 11.9** | 9.4 \pm 1.2** | 7.2 \pm 0.6 |
| S_vS_v -lines \times <i>S. pinnatisectum</i> | 234 | 77.6 | 22.9 \pm 2.7** | 139 | 62.6* $\chi^2 = 3.94$ | 124.3 \pm 15.9** | 11.9 \pm 1.4** | 9.0 \pm 0.7** |
| S_vS_v -lines \times <i>S. polyadenium</i> | 93 | 78.6 | 22.2 \pm 3.2** | 59 | 52.5 | 78.0 \pm 15.3** | 7.4 \pm 0.9** | 9.7 \pm 1.4** |
| Total/Mean | 534 | 79.0* $\chi^2 = 4.70$ | 17.9 \pm 1.6** | 324 | 59.3** $\chi^2 = 8.20$ | 98.4 \pm 9.0** | 10.2 \pm 0.8** | 8.4 \pm 0.5** |
| Hybrids $F_1 S. verrucosum$ \times 1 EBN wild diploid potato species (by Yermishin et al., 2014) | | | | | | | | |
| <i>S. verrucosum</i> \times <i>S. bulbocastanum</i> | 18 | 55.2 | 2.9 \pm 0.9 | 8 | 37.5 | 6.6 \pm 2.4 | 1.7 \pm 0.6 | 4.8 \pm 2.5 |
| <i>S. verrucosum</i> \times <i>S. pinnatisectum</i> | 24 | 58.3 | 3.3 \pm 0.9 | 12 | 33.3 | 6.0 \pm 1.5 | 1.5 \pm 0.3 | 4.0 \pm 0.2 |
| <i>S. verrucosum</i> \times <i>S. polyadenium</i> | 22 | 82.6 | 2.9 \pm 0.6 | 13 | 32.5 | 5.0 \pm 2.3 | 2.3 \pm 0.7 | 2.2 \pm 0.2 |
| Total/Mean | 64 | 67.2 | 3.17 \pm 0.5 | 33 | 33.3 | 5.9 \pm 1.2 | 1.8 \pm 0.3 | 3.5 \pm 0.7 |

*Excess of the corresponding character over the analogous hybrid (S_vS_v -line or *S. verrucosum* as a female) is significant at $p < 0.05$.

** $p < 0.01$.

Table 4. Crossability with *S. tuberosum* dihaploids of F_1 hybrids between S_vS_v -lines and 1 EBN potato species (as females) (Minsk, 2010)

| Females | Pollinations | Berries | Berry set, % | Seeds | Seeds/berry | Seeds/ pollination |
|---|--------------|---------|----------------------------|-------|-------------|--------------------|
| Hybrids $F_1 S_vS_v$ -lines \times 1 EBN wild diploid potato species | | | | | | |
| S_vS_v -lines \times <i>S. bulbocastanum</i> | 39 | 17 | 43.6 | 385 | 22.7 | 23.1 \pm 6.3 |
| S_vS_v -lines \times <i>S. pinnatisectum</i> | 81 | 45 | 55.6 | 2865 | 63.7 | 43.4 \pm 8.2* |
| S_vS_v -lines \times <i>S. polyadenium</i> | 37 | 15 | 40.5 | 738 | 49.2 | 15.7 \pm 7.4 |
| Total/Mean | 157 | 77 | 49.0 | 3988 | 51.8 | 33.4 \pm 5.4 |
| Hybrid $F_1 S. verrucosum$ \times 1 EBN wild diploid potato species (by Yermishin et al., 2014) | | | | | | |
| <i>S. verrucosum</i> \times <i>S. bulbocastanum</i> | 17 | 17 | 100** $\chi^2 = 10.8$ | 1518 | 89.3 | 88.1 \pm 28.1 |
| <i>S. verrucosum</i> \times <i>S. pinnatisectum</i> | 21 | 19 | 90.5** $\chi^2 = 8.69$ | 403 | 21.2 | 18.8 \pm 4.5 |
| <i>S. verrucosum</i> \times <i>S. polyadenium</i> | 37 | 27 | 73.0** $\chi^2 = 7.92$ | 897 | 33.2 | 29.8 \pm 10.9 |
| Total/Mean | 75 | 63 | 84.0** $\chi^2 = 25.91$ | 2818 | 44.7 | 39.7 \pm 9.3 |

* Excess of the corresponding character over the analogous hybrid (S_vS_v -line or *S. verrucosum* as a female) is significant at $p < 0.05$.

** $p < 0.01$

Как и ожидалось, среди гибридов между S_vS_v -линиями и 1 EBN дикими видами было достоверно меньше стерильных и низкофертильных генотипов и больше генотипов со средней и высокой функциональной фертильностью пыльцы по сравнению с соответствующими гибридами на основе *S. verrucosum*. Мужская стерильность межвидовых гибридов, полученных при использовании *S. verrucosum*

в качестве материнских форм, является их характерной особенностью (Abdalla, Hermsen, 1972, 1973). Она считается результатом взаимодействия специфического плазмона *S. verrucosum* и плазмон-чувствительных ядерных генов многих видов картофеля. В работе (Abdalla, Hermsen, 1973) на основании формирования всеми полученными гибридами с *S. verrucosum* стерильной пыльцы

было сделано заключение, что названные гены у диких видов картофеля находятся в гомозиготном состоянии. В нашем исследовании по гибридизации *S. verrucosum* с 1 EBN дикими видами, несмотря на получение большого количества стерильных генотипов, были выявлены и фертильные гибриды (Yermishin et al., 2014). О получении мужски фертильных гибридов на основе *S. verrucosum* сообщалось также в работах (Камераз и др., 1982; Jansky, Hamernik, 2009). По-видимому, плазмон-чувствительные ядерные гены могут быть представлены у диких видов картофеля не только в гомозиготном, но и в гетерозиготном состоянии.

Использование в межвидовых скрещиваниях вместо *S. verrucosum* S_vS_v -линий, имеющих цитоплазму *S. tuberosum*, позволяет в значительной мере решить рассматриваемую проблему. Мужская фертильность межвидовых гибридов расширяет возможности их беккроссирования культурным картофелем: их можно использовать в качестве опылителей в скрещиваниях с акцепторными генотипами дигаплоидов *S. tuberosum* или S_vS_v -линиями. Мужская фертильность диплоидного селекционного материала является обязательным условием успешного применения мейотического удвоения хромосом при его переводе на тетраплоидный уровень.

Межвидовые гибриды между S_vS_v -линиями и 1 EBN видами картофеля заметно превосходили аналогичные гибриды на основе *S. verrucosum* по способности к клубнеобразованию, размеру и урожаю клубней. Следовательно, требуется меньше поколений беккросса культурным картофелем, чтобы получить продвинутый селекционный материал (элиминировать нежелательные признаки диких видов). Благодаря этому свойству оказалось возможным проведение трехлетней оценки полевой устойчивости полученных межвидовых гибридов к фитофторозу (гибриды на основе *S. verrucosum* удалось оценить в течение только одного года). В результате выделен ряд ценных для селекции клонов со стабильно высокой устойчивостью к этому заболеванию (Воронкова и др., 2013). Дальнейшее улучшение S_vS_v -линий путем повторных скрещиваний с дигаплоидами культурного картофеля в сочетании с самоопылением (или сестринскими скрещиваниями) и отбором S_vS_v -гомозигот позволит значительно повысить клубнеобразование у них и у межвидовых гибридов.

Успех интрогрессии ценного генофонда 1 EBN видов в селекционный материал определяется не только получением межвидовых гибридов, но и возможностью их беккроссирования культурным картофелем. В свете рассмотренных выше взглядов на природу презиготной межвидовой несовместимости гибриды между *S. verrucosum* или S_vS_v -линиями и 1 EBN видами картофеля должны с трудом скрещиваться с дигаплоидами *S. tuberosum*. Поскольку они являются гетерозиготами по *S*-генам, в их пестиках будет образовываться S-РНКза дикого вида, использованного в качестве опылителя, которая может ингибировать рост пыльцевых трубок *S. tuberosum*. Так, по этой причине не скрещивались с сортами картофеля тетраплоидные соматические гибриды *S. tuberosum* + *S. bulbocastanum* (Ермишин и др., 2006).

В настоящем исследовании удалось скрестить с дигаплоидами межвидовые гибриды на основе как *S. verru-*

cosum, так и S_vS_v -линий. Это подтвердило их диплоидный статус и способность образовывать 1 EBN гаметы. Очевидно, аллель S_v может каким-то образом существенно снижать активность функционирующего *S*-аллеля дикого вида у гетерозигот межвидовых гибридов. В пользу этого говорят приведенные выше данные о получении S_vS_v -линий в результате самоопыления гибридов F_1 дигаплоиды *S. tuberosum* × *S. verrucosum* (они были самосовместимыми) и о росте пыльцевых трубок 1 EBN видов в пестиках гибридов F_2 (в пестиках предполагаемых гетерозигот S_vS_v наблюдали промежуточную скорость роста пыльцевых трубок) (Полюхович и др., 2010). S.H. Jansky, A.J. Hamernik (2009) удалось скрестить с дигаплоидами *S. tuberosum* один из полученных ими гибридов *S. verrucosum* × *S. cardiophyllum* и 9 из 10 гибридов *S. verrucosum* × *S. commersonii*, а также беккроссировать большинство межвидовых гибридов *S. verrucosum* (в качестве опылителя). Неудача в скрещиваниях между гибридами *S. verrucosum* × *S. bulbocastanum* и дигаплоидами *S. tuberosum* (Hermsen, Ramanna, 1976), по-видимому, связана с недостаточно высокой функциональной фертильностью пыльцы использованных генотипов *S. tuberosum*.

Таким образом, проведенное исследование показало, что S_vS_v -линии не уступают *S. verrucosum* по эффективности использования в качестве посредников для вовлечения в селекцию ценного генофонда 1 EBN диких видов картофеля, а по ряду показателей его превосходят. S_vS_v -линии лучше подходят для скрещиваний благодаря обильному и продолжительному цветению в более поздние, по сравнению с *S. verrucosum*, сроки, когда наступает цветение 1 EBN диких видов. Гибриды на основе S_vS_v -линий более удобны для последующего использования в селекции, чем гибриды с *S. verrucosum*. Высокая мужская фертильность отдельных межвидовых гибридов расширяет возможности их беккроссирования культурным картофелем. Такие гибриды можно использовать в качестве опылителей в скрещиваниях с акцепторными генотипами дигаплоидов *S. tuberosum* или S_vS_v -линиями, появляется возможность перевода беккроссов на тетраплоидный уровень с помощью мейотического удвоения хромосом (при условии образования $2n$ гамет). Они несут больше признаков культурного картофеля, в частности обладают более высокой способностью к клубнеобразованию. Следовательно, требуется меньше поколений беккросса культурным картофелем, чтобы получить продвинутый селекционный материал на их основе. Благодаря лучшей приспособленности к условиям длинного дня можно проводить полевую оценку межвидовых гибридов на основе S_vS_v -линий по продуктивности, устойчивости к фитофторозу, другим признакам, не опасаясь утратить их из-за пониженного клубнеобразования. Помимо возможности использовать S_vS_v -линии в качестве посредников для вовлечения в селекцию 1 EBN диких видов картофеля, их создание имеет большое самостоятельное значение, поскольку они представляют собой исходный материал, несущий гены ценного мексиканского диплоидного вида *S. verrucosum*, редко используемого в селекции из-за односторонней несовместимости и цитоплазматической мужской стерильности.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Abdalla M.M., Hermsen J.G.Th. Plasmons and male sterility types in *Solanum verrucosum* and its interspecific hybrid derivatives. *Euphytica*. 1972;21:209-220.
- Abdalla M.M., Hermsen J.G.Th. An evaluation of *Solanum verrucosum* Schlecht. for its possible use in potato breeding. *Euphytica*. 1973;22:19-27.
- Bamberg J.B. A practical method for making wild potato germplasm from Mexico accessible for evaluation and utilization. *Am. Potato J.* 1990;67:539.
- Cardi T., D'Ambrosio F., Consoli D., Puite K.J., Ramulu K.S. Production of somatic hybrids between frost resistant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 1993;87:193-200.
- Carputo 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(22):12013-12017.
- Carputo D., Monti L., Werner J.E., Frusciant L. Uses and usefulness of endosperm balance number. *Theor. Appl. Genet.* 1999;98:478-484.
- 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(3):403-415.
- Eijlander R. Mechanisms of self-incompatibility and unilateral incompatibility in diploid potato (*Solanum tuberosum* L.). NL: Wageningen Agricult. Univ., 1998.
- Hanneman R.E., Jr. The reproductive biology of the potato and its implication for breeding. *Potato Res.* 1999;42:283-312.
- Hawkes J.C. The Potato. Evolution, Biodiversity and Genetic Resources. London: Belhaven Press, 1990.
- Helgeson J.P., Pohlman J.D., Austin S., Haberlach G.T., Wielgus S.M., Ronis D., Zambolin 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.
- Hermsen J.G.Th., Ramanna M.S. Double-bridge hybrids of *Solanum bulbocastanum* and cultivars of *Solanum tuberosum*. *Euphytica*. 1973;22:457-466.
- Hermsen J.G.Th., Ramanna M.S. Barriers to hybridization of *Solanum bulbocastanum* Dun. and *Solanum verrucosum* Schlecht. and structural hybridity in their F1 plants. *Euphytica*. 1976;25:1-10.
- 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;104:290-294.
- 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(1):7-14.
- Johnston S.A., Hanneman R.E., Jr. Manipulations of endosperm balance number overcome crossing barriers between diploid *Solanum* species. *Science*. 1982;217:446-448.
- Kameraz A.Ya., Vavilova M.A., Zhitlova N.A. Interspecific hybridization of potatoes with participation of Mexican wild diploid species *S. verrucosum* Schlecht. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii* = Proceedings on Applied Botany, Genetics, and Breeding. 1982;73:56-65. (in Russian)
- Luksha V.I., Savchuk A.V., Voronkova E.V., Yermishin A.P. Results of selection on character "high functional pollen fertility" and a set of breeding indexes in populations of *Solanum tuberosum* L. dihaploids. *Kartofelevodstvo* = Potato Growing (Minsk). 2010;17:137-148. (in Russian)
- Makhan'ko O.V. Interspecific incompatibility in potato diploid breeding. *Zemlyarobstva i akhova raslin*=Agriculture and Plant Protection. 2008;1:11-14. (in Russian)
- Nyman M., Waara S. Characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and its frost-tolerant relative *Solanum commersonii*. *Theor. Appl. Genet.* 1997;95:1127-1132.
- Pallais N., Fong N., Berrios D. Research on the physiology of potato sexual seed production. *Innovative Methods for Propagating Potatoes*. CIP Rep. 28th Planning Conf. CIP, Lima, 1984;149-168.
- Pankin A., Sokolova E., Rogozina E., Kuznetsova M., Deal K., Jones R., Khavkin E. Allele mining in the gene pool of wild *Solanum* species for homologues of late blight resistance gene *RB/Rpi-blb1*. *Plant Genet. Resources*. 2011;9(2):305-308.
- Polyukhovich 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. *Vestsi NAN Belarusi. Ser. biyal. navuk* = Proc. Nat. Acad. Sci. Belarus. Ser. Biol. Sci. 2010;2:51-58. (in Russian)
- Polyukhovich Yu.V., Savchuk A.V., Voronkova E.V., Yermishin A.P. The efficacy of hybridization between *Solanum verrucosum* Schldl and 1 EBN wild diploid potato species with use of rescue pollination by *S. phureja* IvP 35. *Doklady NAN Belarusi* = Reports Nat. Acad. Sci. Belarus. 2011;55(3):88-92. (in Russian)
- Polyukhovich Yu.V., Voronkova E.V., Savchuk A.V., Yermishin A.P. Use of *Solanum verrucosum* for overcoming unilateral incompatibility in crosses with allotetraploid wild potato species. *Kartofelevodstvo* = Potato Growing (Minsk). 2013;21(1):136-145. (in Russian)
- Sokolova E.A., Fadina O.V., Khavkin E.E. Metodicheskie ukazaniya: molekulyarnye markery genov ustoychivosti i genomov-donorov ustoychivosti kartofelya k fitoflorozu [Methodology guidelines: molecular markers of resistance genes and genomes that are donors of resistance of potatoes to late blight]. Moscow, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology Publ., 2013. (in Russian)
- Thieme R., Darsow U., Gavrilenko T., Dorokhov D., Tiemann H. Production of somatic hybrids between *S. tuberosum* L. and late blight resistant Mexican wild potato species. *Euphytica*. 1997;97:189-200.
- Voronkova E.V., Polyukhovich Yu.V., Savchuk A.V., Gukasyan O.N., Yermishin A.P. Field resistance to late blight of hybrids produced by pollination of bridge species *Solanum verrucosum* and S_vS_v-lines derived from it by diploid 1 EBN potato species. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* = Molecular and Applied Genetics (Minsk). 2013;15:104-110. (in Russian)
- Yermishin A.P. Incompatibility in interspecific and intraspecific hybridization of diploid potatoes and the approaches to its overcoming. *Vestsi NAN Belarusi. Ser. biyal. navuk* = Proc. Nat. Acad. Sci. Belarus. Ser. Biol. Sci. 2001;3:105-118. (in Russian)
- Yermishin A.P., Makhan'ko O.V., Voronkova E.V. Application of somatic hybrids between dihaploids of potato *Solanum tuberosum* L. and wild diploid species from Mexico in breeding: generation and backcrossing of dihaploids of somatic hybrids. *Genetika* = Genetics (Moscow). 2006;42(12):1414-1421. (in Russian)
- Yermishin A.P., Polyukhovich Yu.V., Savchuk A.V., Voronkova E.V. A new look at the problem of inter-EBN interspecific crosses in potato. *EAPR 2011: Abstracts of the 18th Triennial Conf. of the Eur. Assoc. for Potato Research*, July 24–29, 2011, Oulu, Finland. Eds. J. Santala, J.P.T. Valkonen. Helsinki, Finland, 2011;71.
- Yermishin A.P., Polyukhovich Y.V., Voronkova E.V., Savchuk A.V. Production of hybrids between 2 EBN bridge species *Solanum verrucosum* and 1 EBN diploid potato species. *Am. J. Potato Res.* 2014;91:610-617. DOI 10/1007/s12230-014-9385-9.
- Yermishin A.P., Teltsova Yu.V., Savchuk A.V., Makhan'ko O.V. Development of the bridge lines with the sc-system from *Solanum verrucosum* for overcoming interspecific incompatibility in potatoes. *Materialy mezhdunarodnoi konferentsii "Otdalennaya gibridizatsiya. Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya"* [Proc. Intern. Conf. "Distant hybridization: State of the art and prospects of development", Moscow 16–17 December 2003]. M.: MSKha Publ., 2003;96-100. (in Russian)