

МАРКЕР-ОПОСРЕДОВАННЫЙ ОТБОР СЕЛЕКЦИОННЫХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ С КОМБИНАЦИЕЙ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К PVY ОТ РАЗНЫХ ДИКИХ ВИДОВ

Воронкова Е. В.^{1*}, Русецкий Н. В.², Лукша В. И.,¹
Гукасян О. Н.,¹ Жарич В. М.,¹ Ермишин А. П.¹

¹ Институт генетики и цитологии Национальной Академии наук Беларуси, 220072 Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27;
✉ *E.Voronkova@igc.by

² Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»,
223013 Беларусь, Минская обл., ул. Ковалева, 2а, п. Самохваловичи;

Y-вирус картофеля (PVY) относят к группе наиболее опасных вирусных инфекций этой культуры. Актуальным является выведение сортов картофеля, устойчивых к широкому набору штаммов PVY, создание исходного материала для такой селекции с комбинацией генов устойчивости из разных источников. Цель работы – (1) с помощью ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY провести генотипирование коллекции, включающей 376 селекционных линий (СЛ) на основе сложных межвидовых гибридов, (2) выявить образцы с маркерами генов устойчивости от разных видов для последующего использования в маркер-опосредованной селекции (МОС или MAS), (3) оценить эффективность ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY применительно к материалу, полученному с помощью межвидовой гибридизации. Установлено, что наиболее широко в коллекции представлены СЛ с маркерами RYSC3 гена Ry_{adg} (49,7%), Ry364 и RAPD38-530 гена Ry_{chc} (соответственно, 50,5% и 45,2%), Yes3-3A гена Ry_{sto} (29,8%). Маркеры Ryl186 гена Ry_{chc} и GPI22/*EcoRV*₇₈₀ гена Ry_{fsto} выявлены лишь у единичных образцов. Частоты СЛ, имеющих маркеры генов устойчивости к PVY от двух разных видов картофеля, колебались от 2,7% (маркер Yes3-3a гена Ry_{sto} + оба маркера гена Ry_{chc}) до 8,5-9,0% (маркер RYSC3 гена Ry_{adg} + оба маркера гена Ry_{chc} или только маркер Ry364 этого гена, соответственно). Всего в коллекции выявлено 134 СЛ (47,6%), имеющих маркеры генов устойчивости к PVY от двух разных видов. Сочетание четырех маркеров к трем генам различного происхождения (Ry_{adg} , Ry_{sto} и Ry_{chc}) было обнаружено у 27 образцов (7,2%). Крайняя или, иначе, экстремальная (от англ. ER-extremely resistant) устойчивость к PVY большинства изученных СЛ (302 из 357) очевидно обусловлена наличием у них известных генов устойчивости к этому патогену, которые выявляются с помощью использованных в работе ДНК-маркеров. Тем не менее, в коллекции была значительная доля образцов, которые не имели используемых маркеров генов устойчивости к PVY, но оказались устойчивы к вирусу (55 из 61). Также выявлено 13 (3,5%) образцов с ДНК-маркерами генов устойчивости к PVY, которые были неустойчивы к патогену, что является приемлемым уровнем для первичного маркер-опосредованного отбора исходного селекционного материала. Полученные данные о наличии маркеров генов устойчивости к PVY и комбинации генов устойчивости разного происхождения у СЛ призваны обеспечить более эффективное их использование в селекции по сравнению с устойчивыми к вирусу линиями, не имеющими соответствующих маркеров.

Ключевые слова: картофель, межвидовые гибриды, маркер-опосредованный отбор, устойчивость к PVY, R гены экстремальной (крайней) устойчивости (ER).

Прозрачность финансовой деятельности / Financial transparency Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. / The authors have no financial interest in the presented materials or methods. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2019-4-01>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer

Все авторы одобрили рукопись / All authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

MARKER ASSISTED SELECTION OF POTATO BREEDING LINES WITH COMBINATION OF PVY RESISTANCE GENES FROM DIFFERENT WILD SPECIES

Voronkova E. V.,^{1*} Rusetskiy N. V.,² Luksha V. I.,¹
Gukasian O. N.,¹ Zharich V. M.,¹ Yermishin A. P.¹

¹ Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, 27 Akademicheskaya Street, Minsk 220072, Belarus;
✉ *E.Voronkova@igc.by

² Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Potato, Fruit and Vegetable Growing, 2a Kovalev Street, Samokhvalovichy, 223013 Minsk region, Republic of Belarus;

Potato virus Y (PVY) is considered as one of the most harmful virus infections of this crop. Thus, it is a topical problem to breed potato varieties resistant against a wide range of PVY strains and to create initial breeding material that will have a combination of resistance genes from different species. The aim of the study was: (1) to genotype a collection of 376 breeding lines (BL), developed from complex interspecific hybrids, using DNA markers of PVY resistance genes, (2) to identify accessions with markers of resistance genes from different species for subsequent use in marker assisted selection (MAS), (3) to evaluate the suitability of DNA markers of PVY resistance genes for genotyping BL developed through interspecific hybridization. It was ascertained that the markers most widely represented in the collection were RYSC3 of the Ry_{adg} gene (49.7%), Ry364 and RAPD38-530 of the Ry_{chc} gene (50.5% and 45.2%, respectively), and Yes3-3A of the Ry_{sto} gene (29.8%). The markers Ryl186 of Ry_{chc} and GPI22/*EcoRV*₇₈₀ of Ry_{fsto} were found only in some accessions. The frequency of occurrence of BL that had markers of PVY resistance genes from two different species varied between 2.7% (Yes3-3a marker of Ry_{sto} and both two markers of Ry_{chc}) and 8.5-9.0% (RYSC3 marker of Ry_{adg} and both two markers of Ry_{chc} or only Ry364 marker of this gene). In total, the collection was found to contain 134 BL (47.6%) with markers of resistance genes from two different species. A combination of four markers for three genes of different origin (Ry_{adg} , Ry_{sto} and Ry_{chc}) was found in 27 BL (7.2%). Extreme resistance to PVY of most BL (302 out of 357) was obviously determined by the presence in them of the currently used resistance genes detected by DNA markers applied in the study. Nevertheless, a significant part of accessions (55 of 61) that did not have any markers was resistant to PVY. At the same time, 13 BL (3.5%) with the markers were susceptible to the virus. Such a level of discrepancies is considered as acceptable for the initial MAS of breeding material. The obtained data on the presence of the markers of PVY resistance genes of different origin and their combination in BL ensures a more effective use of such BL in breeding in comparison with the BL resistant to the virus, though lacking corresponding markers.

Key words: potato, interspecific hybrids, marker-assisted selection (MAS), PVY resistance, R-genes of extreme resistance (ER).

Для цитирования: Воронкова Е. В., Русецкий Н. В., Лукша В. И., Гукасян О. Н., Жарич В. М., Ермишин А. П. Маркер-опосредованный отбор селекционных линий картофеля с комбинацией генов устойчивости к PVY от разных диких видов. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(4):6-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-4-01

For citation: Voronkova E. V., Rusetskiy N. V., Luksha V. I., Gukasian O. N., Zharich V. M., Yermishin A. P. Marker assisted selection of potato breeding lines with combination of PVY resistance genes from different wild species. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(4):6-14. (In Russ.) DOI: 10.30901/2658-6266-2019-4-01

ORCID:

Voronkova E. V. <https://orcid.org/0000-0001-9747-8622>
Yermishin A. P. <https://orcid.org/0000-0002-3106-4926>

УДК 631.524.86:635.21:632.3/4:577.21.08

Поступила в редакцию: 04.12.2019

Принята к публикации: 25.12.2019

Введение

Среди болезней картофеля особое место занимают патологии, вызванные Y-вирусом картофеля (PVY). Поражение растений этим патогеном может приводить к потере от 10 до 80% урожая, а при синергическом взаимодействии с другими вирусами (PVA, PVV, PVX, PLRV) – к практически полной его утрате (Ivanyuk et al., 2005). Высокая патогенность, повсеместная распространенность в мире, а также широкое генетическое разнообразие выделенных изолятов дали основание причислить PVY к группе наиболее опасных вирусных инфекций растений (Scholthof et al., 2011). Проблему защиты картофеля от PVY усугубляет наличие нескольких векторов переноса инфекции и достаточно быстрая реинфекция оздоровленного семенного материала.

Мониторинг разнообразия штаммов PVY, проводившийся в Беларуси несколько лет назад, показал, что преобладающим является обычный штамм PVY^O, в отличие от Западной Европы, где преобладают некротические штаммы. Не были выявлены наиболее опасные рекомбинантные некротические штаммы PVY^{NTN} и PVY^{N-wi} (Blotskaia, 2014). Однако, учитывая географическую близость Беларуси к странам Евросоюза, существует вероятность проникновения и распространения на территории республики новых опасных штаммов PVY. В связи с этим большую актуальность имеет так называемая «упреждающая селекция» сортов картофеля, устойчивых к максимально широкому набору изолятов и штаммов, а не только к циркулирующим в настоящее время, а также создание исходного материала для такой селекции: с широкой генетической базой, включающей комбинацию генов устойчивости из разных источников (Haverkort et al., 2016, Fadina et al., 2017).

Основными механизмами устойчивости к PVY являются гиперчувствительность (HR – hypersensitive response) и экстремальная (крайняя) устойчивость (ER – extreme resistance) (Cockerham, 1970; De Ronde et al., 2014). Они представляют собой два варианта R-генной устойчивости, возникающей при взаимодействии продуктов генов авирулентности патогена и специфических, как правило, доминантных моногенно наследуемых генов растения в соответствии с концепцией «ген – на – ген» (De Ronde et al., 2014). Идентифицированы восемь генов гиперчувствительности *Ny* и пять *Ry*-генов, обеспечивающих устойчивость к PVY ER-типа. Часть этих генов была картирована и маркирована. Важное преимущество устойчивости ER-типа по сравнению с HR состоит в том, что она не связана с возникновением некрозов и не имеет выраженной штаммоспецифичности, что обеспечивает достаточно длительную защиту растений от проникновения вирусной инфекции (De Ronde et al., 2014). Кроме того, некоторые из ER-генов устойчивости к PVY одновременно способны обеспечивать устойчивость и к другим вирусам той же группы (PVA и/или PVV). В част-

ности, это характерно для *Ry*-генов аллотетраплоидного дикого вида картофеля *Solanum stoloniferum* Schldtl. и гексаплоидного вида *S. hougasii* Correll (Cockerham, 1970; Solomon-Blackburn, Barker, 2001a).

Попытки интрогрессировать в культурный картофель экстремальную устойчивость к PVY от других видов известны с 1944 года. Однако долгое время существовало ограниченное число сортов с ER в силу незначительного количества генетических ресурсов, которые могли быть привлечены для гибридизации с тетраплоидным картофелем (Solomon-Blackburn, Barker, 2001b). За исключением *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (Juz. et Bukasov) Hawkes, являющегося источником гена *Ry_{adg}*, обеспечивающего ER к PVY и HR к PVA и картированного на хромосоме XI (Sorri et al., 1999; Kasai et al. 2000; Solomon-Blackburn, Barker 2001b), другие виды картофеля, носители генов *Ry* и *Ny*, как правило, не скрещиваются напрямую с *S. tuberosum* ssp. *tuberosum* Hawkes.

Кроме вышеназванного гена *Ry_{adg}*, представленного во многих сортах картофеля, известны гены *Rysto* и *Ryf-sto* аллотетраплоидного вида *S. stoloniferum*, *Ryhou* *S. hougasii*, контролирующие в различных комбинациях крайнюю устойчивость к PVY с ER или HR к PVA и PVV (Cockerham, 1970; Solomon-Blackburn, Barker, 2001a). Один из этих генов, *Rysto* обеспечивает экстремальную устойчивость к PVY и PVV в сочетании с HR к PVA, он картирован на хромосоме XII (Solomon-Blackburn, Barker 2001a; Flis et al., 2005; Song et al., 2005; Song, Schwarzfischer, 2008). Проблема его использования в селекции связана не только со сложностью интрогрессии при межвидовой гибридизации, но и с тем, что его наличие в сортах картофеля ассоциировано с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС). Из-за этого сорта с *Rysto* как правило, могут быть использованы в скрещиваниях только в качестве материнских образцов. Ген *Ryf-sto* также картированный на хромосоме XII, в отличие от *Rysto* не связан с ЦМС. Для него не отмечена связь с устойчивостью к другим *Potyvirus* (Flis et al., 2005).

В качестве перспективного источника генов устойчивости к PVY рассматривают дикий южноамериканский вид *S. chacoense* Bitter. Этот диплоидный вид достаточно легко скрещивается с дигиплоидами культурного картофеля, что позволяет получать селекционные линии-источники устойчивости к PVY. Такие линии, хотя и менее активно, чем селекционный материал на основе *S. tuberosum* ssp. *andigenum* и *S. stoloniferum*, начали использовать селекционеры в программах на устойчивость к PVY в Европе и Северной Америке (Fulladolsa et al., 2019). Ген *Rychc* устойчивости к PVY от *S. chacoense* картирован на хромосоме IX (Hosaka et al., 2001; Sato et al., 2006). Он был успешно интрогрессирован в некоторые сорта японской селекции (Mori et al., 2012). ДНК-маркеры этого гена также были выявлены в отдельных сортах российской селекции и многочисленных селекционных линиях (Biryukova et al., 2015).

Разработан ряд ДНК-маркеров R-генов устойчивости к PVY, которые используются в селекционных программах разных стран для выявления источников соответствующих генов (преимущественно в сортах картофеля) и прослеживания их интрогрессии в селекционный материал (Flis et al., 2005; Ottoman et al., 2009; Song, Schwarzfischer, 2008; Vales et al., 2010; Mori et al., 2012; Zimnoch-Guzowska et al., 2013; Fulladolsa et al., 2019).

В Научно-практическом центре НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству в рамках специальной программы создан обширный селекционный материал с высокой устойчивостью к PVY и PVX на основе межвидовых гибридов с рядом диких и примитивных культурных видов картофеля (Rusetskiy, 2018). Целью настоящей работы было: (1) с использованием ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY провести генотипирование коллекции, включающей 376 селекционных линий (СЛ), полученных на основе сложных межвидовых гибридов, (2) выявить образцы с маркерами генов устойчивости от разных видов для последующего использования в маркер-опосредованной селекции (МОС или MAS), (3) оценить эффективность ДНК-маркеров генов устойчивости к PVY применительно к материалу, полученному с помощью межвидовой гибридизации.

Материал и методы

Растительный материал. В качестве материала использовали 376 селекционных линий (далее СЛ), представляющих собой тетраплоидные сложные межвидовые гибриды, полученные в результате многоступенчатых скрещиваний и отбора устойчивых образцов (помимо основных, использованных в скрещиваниях видов *S. chacoense*, *S. acaule* Bitter, *S. andigenum* Juz. et Bukasov и *S. stoloniferum* в гибридах также присутствовал генетический материал *S. rybinii* Juz. et Bukasov, *S. demissum* Lindl., *S. berthaultii* Hawkes, *S. microdontum* Bitter, *S. bulbocastanum* Dunal et Poir., *S. hougassii* Correll, *S. gourlayi*, *S. kurtzianum* Bitter et Wittm., *S. brevicaulis* Bitter, *S. boergeri*, *S. etuberosum* Lindl. и др.), а также восемь сортов картофеля, известных своей устойчивостью к PVY: Esta, Bonus, Bazsta, Barycz, Гармония, Першацвет, Рубин и Юлия из коллекции Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству.

Фенотипическая оценка устойчивости образцов к PVY. Уровень устойчивости генотипов к вирусной инфекции определяли методом иммуноферментного анализа после искусственного заражения вирусом. Для приготовления инокулюмов листья табака сорта Samsun, инфицированные штаммами PVY^O, PVY^N и PVY^{NTN}, а также PVA, растирали в ступке с добавлением фосфатного буфера. Заражение исследуемого материала (3-5 растений каждого образца) осуществляли путем втирания

губкой суспензии в поверхность листьев, предварительно опудренных карборундом. Иммуноферментный анализ на наличие исследуемых вирусов проводили через 4-5 недель после инокуляции (Rusetskiy, 2018).

Молекулярный анализ. Выделение и очистку препаратов ДНК из свежесобраных или замороженных при -70° С листьев картофеля, взятых из среднего яруса куста, проводили после растирания образцов в жидком азоте с помощью стандартного набора для выделения ДНК из растительной ткани («Plant DNA Preparation Kit» производства фирмы «Jena Bioscience», Германия) по методике производителя китов с внесенными нами специально для картофеля незначительными модификациями. Качество и активность препаратов ДНК определяли после спектрофотометрии и электрофореза в агарозном геле, а также основываясь на результатах ПЦР с парой праймеров BCH-2 к консервативной последовательности из гена *bch* гидроксилызы бета-каротина (Brown et al., 2006). Скрининг селекционного материала на наличие R-генов устойчивости к PVY осуществляли с использованием следующих ПЦР-маркеров. Для идентификации гена *Ry_{adg}* использовали SCAR-маркер RYSC3₃₂₁ (Kasai et al., 2000). Наличие в материале гена *Ry_{sto}* выявляли с помощью STS маркера YES3-3A₃₄₁ (Song, Schwarzfischer, 2008), а гена *Ryf-sto* – с помощью CAPS-маркера GP122/*EcoRV*₇₁₈ (Flis et al., 2005). Для детекции гена *Rychc* применяли три маркера: RAPD38-530 (Hosaka et al., 2001), STS маркеры Ry186₅₈₇ (Mori et al., 2011) и Ry364₃₇₀ (Mori et al., 2012).

Для приготовления реакционной смеси для ПЦР использовали *Taq*-ДНК-полимеразу и сопутствующие реактивы производства «ДИАЛАТ» (Москва, Россия) или ОДО «Праймтех» (Минск, Беларусь). Праймеры синтезированы в ОДО «Праймтех». Реакцию рестрикции продуктов амплификации с парой праймеров GP122 проводили с помощью фермента *EcoRV* производства «Thermo Scientific» в буферной среде Red 1× при постоянной температуре 37°С в течение 16 часов.

Разделение продуктов амплификации проводили в 1,5% агарозном геле в трис-ацетатном буфере (ТАЕ) в течение 2,5-3 ч при напряжении 50-60 V и силе тока 6 mA для выявления RAPD маркера 38-530 и 1-1,5 ч при напряжении 80 V и силе тока 6 mA для SCAR, STS и CAPS маркеров. Визуализацию результатов электрофореза осуществляли с использованием трансиллюминатора или прибора для документирования гелей.

При идентификации гена *Rychc* с помощью маркера Ry364 (Mori et al., 2012) в качестве положительного сигнала принимали фрагмент размером 370 пн (размер, соответствующий секвенированной области генома), а не 289 пн, предлагавшийся разработчиками маркера (Voronkova et al., 2017a).

Статистическая обработка данных. Для оценки сопряженности наличия маркеров генов крайней устойчивости к PVY и фенотипическим проявлением признака использовали коэффициент ассоциации r_A (Lakin, 1980).

Результаты

Представленность в коллекции сортов и селекционных линий маркеров генов устойчивости к PVY.

В результате анализа использованных в работе сортов картофеля, известных своей высокой устойчивостью к PVY, установлено, что устойчивость к патогену

сорта польской селекции *Barycz*, *Bazsta* и немецкого сорта *Bonus*, очевидно, обусловлена наличием у них гена *Ryhc*, а у немецкого сорта *Esta* – гена *Rysto*. ДНК-маркер Yes3-3a гена *Rysto* также выявлен у нового сорта белорусской селекции Першацвет, а у сорта Гармония имелись маркеры генов *Ryhc* и *Ry_{adg}*. У сортов Рубин и Юлия изучаемые маркеры генов устойчивости к PVY не обнаружены. Ни у одного из сортов не были выявлены ДНК-маркеры Ry186 гена *Ryhc* и GP122/*EcoRV*718 гена *Ryf-sto* (табл. 1).

Таблица 1. ДНК-маркеры генов устойчивости к PVY, выявленные у использованных в работе сортов картофеля

Table 1. DNA markers of PVY resistance genes revealed in the studied potato varieties

Сорт	Гены устойчивости к PVY и соответствующие ДНК-маркеры*					
	<i>Ry_{hc}</i>			<i>Ry_{adg}</i>	<i>Ry_{sto}</i>	<i>Ry_{f-sto}</i>
	Ry364	RAPD 38-530	Ry186	RYSC3	Yes3-3a	GP122/ <i>EcoRV</i> 718
<i>Barycz</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Bazsta</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Bonus</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Esta</i>	0	0	0	0	1	0
Гармония	0	1	0	1	0	0
Першацвет	0	0	0	0	1	0
Рубин	0	0	0	0	0	0
Юлия	0	0	0	0	0	0
Итого	3	3	0	1	1	0

*1 – маркер присутствует, 0 – маркер не выявлен

*1 – presence of the marker, 0 – absence of the marker

Оценка коллекции селекционных линий картофеля на наличие маркеров генов экстремальной устойчивости к PVY показала высокий уровень (83,8%) представленности в ней генотипов, обладающих хотя бы одним маркером из изучаемого набора. В среднем на один генотип приходилось 1,8 маркера.

Распределение по встречаемости определенных маркеров было неравномерным. Высокой (49,7%) оказалась в коллекции доля генотипов с маркером RYSC3 гена *Ry_{adg}*. Маркер Yes3-3A гена *Rysto* интрогрессированного от аллотетраплоидного вида *S. stoloniferum*, был выявлен у 29,8% образцов. Напротив, маркер GP122/*EcoRV*₇₁₈

к другому гену устойчивости *Ryf-sto* от этого дико-го вида был обнаружен лишь в двух образцах: СЛ 196н-31 и 66у09-11. Также редким оказался маркер Ry186, способный выявлять гены устойчивости к PVY *Ryhc* от *S. chacoense* и *Ny-smira* от *S. tuberosum* ssp. *tuberosum* (Tomczyńska et al., 2014). Он обнаружен лишь в восьми СЛ (2,1% коллекции). Причем в семи случаях он присутствовал одновременно с RAPD38-530. Частота двух других маркеров гена *Ryhc* (RAPD38-530 и Ry364) в коллекции оказалась высокой: 45,2% и 50,5%, соответственно. Частота СЛ, несущих оба названных маркера, была равной 25,5% (табл. 2).

Таблица 2. Представленность маркеров генов устойчивости к PVY у устойчивых и неустойчивых к вирусу селекционных линий картофеля

Table 2. Representation of markers for PVY resistance genes among resistant and sensitive to the virus potato breeding lines

Наличие/отсутствие маркеров	Количество выявленных образцов (шт.)		
	Имеющих маркер, доля в коллекции (%)	В том числе устойчивых	В том числе неустойчивых
RYSC3	24 (6,4)	22	2
Yes3-3a	12 (3,2)	12	
RAPD38-530	22 (6,0)	22	
Ry364	32 (8,5)	32	
Ry186	1 (0,27)	1	
RAPD38-530 + Ry186	2 (0,53)	1	1
RAPD38-530 + Ry364	27 (7,2)	26	1
RYSC3+ Yes3-3a	15 (4,0)	15	
RYSC3+ RAPD38-530	18 (4,8)	15	3 (2)*
RYSC3+ (RAPD38-530+Ry186)	2 (0,53)	2	
RYSC3+ Ry364	34 (9,0)	32	2
RYSC3+ (RAPD38-530 + Ry364)	32 (8,5)	32	
Yes3-3a+RAPD38-530	12 (3,2)	12	
Yes3-3a+ Ry364	10 (2,7)	10	
Yes3-3a+ (RAPD38-530 + Ry186)	1 (0,27)	1	
Yes3-3a+ (RAPD38-530 + Ry364)	10 (2,7)	10	
RYSC3+ Yes3-3a+RAPD38-530	15 (4,0)	15	
RYSC3+ Yes3-3a+ (RAPD38-30+Ry186)	2 (0,53)	2	
RYSC3+ Yes3-3a+ Ry364	18 (4,8)	17	1
RYSC3+ Yes3-3a+ (RAPD38-530 + Ry364)	27 (7,2)	24	3
Без маркеров	61 (16,2)	55	6
Итого:	376	357	19

* в том числе два образца с устойчивостью гиперчувствительного типа

Сочетание генов устойчивости к PVY из разных источников у образцов коллекции.

Так как частоты СЛ с маркерами Ry186 и GP122/*EcoRV*₇₁₈ были низкими, их при анализе «пирамидирования» генов устойчивости не учитывали. Частоты СЛ, имеющих маркеры генов устойчивости к PVY от двух разных видов картофеля, колебались от 2,7% (маркер Yes3-3а гена *Ry_{sto}* + оба маркера гена *Ryhc*) до 8,5-9,0% (маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}* + оба маркера гена *Ryhc* или только маркер Ry364 этого гена, соответственно). Всего в коллекции выявлено 134 СЛ (47,6%), имеющих маркеры генов устойчивости к PVY от двух разных видов. Сочетание четырех маркеров к трем генам различного происхождения (*Ry_{adg}*, *Ry_{sto}* и *Ryhc*) было обнаружено у 27 образцов (7,2%) (табл. 2).

Корреляция между наличием маркеров у СЛ и их устойчивостью к PVY.

Выявлено 13 образцов (3,5%) с ДНК-маркерами генов устойчивости к PVY, которые были неустойчивы к патогену или имели устойчивость гиперчувствительного типа. Как правило, они несли маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}*, либо сочетание этого маркера с одним из маркеров гена *Ryhc*. Из числа неустойчивых СЛ выявлено три линии (0,8%), имевшие все четыре маркера к трем генам устойчивости к вирусу. В изученной коллекции селекционных линий представлена значительная доля образцов, которые не имели тестируемых маркеров генов устойчивости к PVY, но оказались устойчивы к вирусу (55 из 61) (табл. 2). В целом по опыту коэффициент ассоциации между устойчивостью к PVY и наличием маркеров генов устойчивости $r_A = 0,096$ (незначим).

Обсуждение

Использованные в работе сорта картофеля по данным фенотипической оценки показали высокую экстремальную устойчивость к PVY. Из литературы известно, что у сорта Esta эта устойчивость обусловлена наличием гена *Ry_{sto}* (Song, Schwarzfischer, 2008). Предполагаемая природа устойчивости к вирусу (наличие маркеров известных генов устойчивости) остальных сортов, в том числе использованных в работе новых сортов белорусской селекции, определена впервые. Как видим, использованные сорта не отличались разнообразием имеющих у них генов устойчивости к PVY: у четырех из них выявлены маркеры гена *Ryhc*, два имели маркер гена *Ry_{sto}* и один сорт – маркер гена *Ry_{adg}*. Поскольку имеется намерение использовать их в селекционных програм-

мах в качестве источников устойчивости к PVY, полученная в работе информация позволит оптимизировать этот процесс (применять МОС к сортам, у которых выявлены маркеры генов устойчивости).

Коллекция проанализированных СЛ выгодно отличалась от сортов высокой частотой маркеров генов устойчивости к PVY, что, очевидно, является результатом селекции, включающей многоступенчатую гибридизацию с привлечением в качестве родительских форм источников соответствующих генов и жесткий отбор в соответствии с фенотипическим проявлением признака. Не была неожиданной насыщенность коллекции образцами с маркерами генов *Ry_{adg}* и *Ryhc*. Первый из этих генов происходит от *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, который имеет давнюю историю использования в селекционной практике (Cockerham, 1970; Ross, 1986; Solomon-Blackburn, Barker, 2001b), так как относительно хорошо скрещивается с культурным картофелем. В связи с этим ген *Ry_{adg}* представлен во многих современных сортах и селекционных линиях. Источник гена *Ryhc* диплоидный вид *S. chacoense* также хорошо скрещивается с дигамноидными культурного картофеля. Он представлен в коллекции Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству большим числом оцененных на устойчивость к вирусу генотипов различного происхождения и перспективных линий на их основе. Он активно включался в гибридизацию на протяжении ряда лет.

Как видно из таблицы 2, практически во всех случаях частота генотипов с двумя и более маркерами генов устойчивости к PVY от разных видов была значительно ниже по сравнению с частотами маркеров отдельных генов устойчивости (во всех случаях ниже 10%). Очевидно, эффективность «пирамидирования» генов устойчивости, происходящих из разных источников, с помощью классической селекции картофеля, проводимой на тетраплоидном уровне по данным фенотипической оценки, достаточно низкая. Применение методов МОС позволит существенно повысить эффективность селекции, направленной на создание таких линий, особенно в случае применения отбора на диплоидном уровне с последующим удвоением хромосом у отобранных линий (Vorontkova et al., 2017b).

Тем не менее, в результате скрининга коллекции удалось выделить достаточно большое количество СЛ, имеющих маркеры двух и более генов устойчивости к PVY, в том числе 27 СЛ с маркерами трех изучаемых генов (табл. 2). Среди взятых в анализ сортов картофеля оказались только один сорт с маркерами двух генов устойчивости к PVY (Гармония) (табл. 1).

Создание селекционных линий с комплексом генов, происходящих из разных источников и имеющих разную локализацию в геноме, очень перспективно. Во-первых, они удовлетворяют требованиям так называемой «упреждающей» селекции (Haverkort et al., 2016; Fadina et al., 2017). Во-вторых, использование в селекции линий

с несколькими генами устойчивости к патогену повышает вероятность того, что хотя бы один из них удастся передать потомству.

Отдельного обсуждения заслуживает проблема применимости известных маркеров генов устойчивости для исследования селекционного материала, отличного от простых межсортовых гибридов. В частности, использованную в работе коллекцию СЛ составили образцы с богатой родословной, полученные в результате многоступенчатых скрещиваний межвидовых гибридов с участием нескольких видов картофеля (в том числе *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, *S. stoloniferum*, *S. chacoense*, а также *S. acaule*, *S. demissum*, *S. gourlai*, *S. rybinii* и др.) (Rusetskiy, 2018).

Как видно из полученных результатов, в коллекции было выявлено достаточно большое число устойчивых к вирусу образцов, у которых не были детектированы оцениваемые маркеры генов устойчивости. Напротив, наблюдали несколько случаев наличия маркеров генов устойчивости к PVY у неустойчивых образцов. Среди основных причин несовпадения оценок наличия/отсутствия маркера и фенотипического проявления признака, имеющих генетический характер и не связанных с методическими ошибками проведения эксперимента, следует выделить следующее. Очевидно, устойчивость к PVY отдельных СЛ, не имеющих соответствующих маркеров, могла определяться генами, отличными от изучаемых. Например, это могли быть HR-гены. Кроме того, гены крайней (экстремальной) устойчивости к PVY имеются у таких видов как *S. acaule*, *S. demissum* и *S. spegazzinii* Bitter (Ross, 1986), присутствие которых в родословной изученных образцов высоко вероятно. В данном исследовании не проводили анализ на наличие SSR маркера STM1031₂₇₃₊₂₇₅, позволяющего идентифицировать характерный для ряда образцов *S. stoloniferum* локус, ассоциированный с экстремальной устойчивостью к PVY, картированный на хромосоме V (Voronkova et al., 2016).

Наиболее часто встречаемый тип ДНК-маркеров – это фланкирующие ген участки ДНК, наличие которых у гибридных растений из расщепляющейся популяции косегрегирует с фенотипическим проявлением признака. Следовательно, одной из причин неправильных результатов генотипирования СЛ может быть рекомбинация между маркером и самим геном. Это может относиться, например, к маркеру RAPD38-530 гена *Ryhc*, для которого была показана частота рекомбинации 16,3% (Hosaka et al., 2001). Хотя в нашем эксперименте встречаемость маркеров гена *Ryhc* RAPD38-530 и Ry364 среди СЛ была примерно одинаковой, при анализе расщепления в гибридных популяциях, полученных с носителями обоих маркеров, их соотношение в ряде случаев оказалось примерно 2 : 1 (Rusetskiy, Voronkova, 2017). По-видимому, не во всех случаях, когда присутствует один из маркеров, особенно RAPD38-530, может происходить его совместное наследование с геном *Ryhc*. Очевидно, наибольший интерес в качестве источников гена *Ryhc* пред-

ставляют образцы, несущие одновременно оба маркера. Таких образцов в исследованной коллекции оказалось 96 (25,5%).

Появление ложно-положительных результатов, в частности, с участием образцов-носителей гена *Ryhc* может быть связано с их чувствительностью к некоторым рекомбинантным штаммам PVY. В работе Н. Зотеевой (Zoteyeva et al., 2012) было показано, что разные генотипы *S. chacoense* по-разному реагировали на комплексное заражение PVY: часть генотипов оказалась устойчивой ко всем штаммам, тогда как некоторые из них проявляли устойчивость к одним штаммам и чувствительность к другим.

В некоторых случаях ДНК-маркеры выявляют области консервативных последовательностей, характерные не только для гена, к которому они создавались, но и для других генов, связанных с устойчивостью к разным патогенам. К таким маркерам относится, например, маркер гена *Ry^{adg}* RYSC3 (Sorri et al., 1999; Kasai et al., 2000). Маркер RAPD38-530 гена *Ryhc* может проявлять специфичность не только к этому гену, но и в отношении генов гиперчувствительного типа (*Ny*). Созданный на его основе маркер Ry186 оказался пригодным для выявления гена *Nysmira*, происходящего, скорее всего, от *S. tuberosum* и впервые выявленного в сорте Sargo Mira (Tomczyńska et al., 2014).

Как маркеры, фланкирующие ген, так и внутригенные маркеры могут не выявлять аллельные варианты гена или прилегающих к нему областей генома, которые имеют структурные различия по сравнению с теми, что использовались при разработке маркеров. Следует иметь в виду, что маркеры разрабатываются для определенных случаев интрогрессии генов устойчивости. Если маркированный ген представлен в коммерческих сортах, происходящих от одной линии, то он будет эффективно выявляться с помощью соответствующего маркера. Однако этот маркер может оказаться неэффективным по отношению к сортам, ведущим свое происхождение от других образцов дикого вида. Например, маркер гена *Ry_{sto}* Yes3-3A, созданный на основе AFLP фрагмента ДНК, ассоциированного с ER в расщепляющейся популяции гибридов немецкого сорта Assia, с высокой точностью идентифицировал этот ген и в других устойчивых к PVY сортах немецкой селекции, а также некоторых венгерских и польских сортах, и в селекционных линиях, происходящих от *S. stoloniferum*. В то же время он не был обнаружен в устойчивых к PVY сортах голландской селекции Corine и Sante, ведущих свое происхождение от другого образца этого дикого вида (Song, Schwarzfischer, 2008).

Сказанное выше не ставит под сомнение возможность широкого применения ДНК-маркеров для детекции генов устойчивости из разных источников. В частности, Д. П. Т. Валконен с соавторами (Valkonen et al., 2008) показали пригодность известных маркеров ER к PVY (Song et al., 2005; Flis et al., 2005) для идентификации гена *Ry_{sto}* в селекционном материале Международно-

го центра по картофелю. Как видно из результатов настоящего исследования, экстремальная устойчивость к PVY большинства изученных СЛ (302 из 357) очевидно обусловлена наличием у них известных генов устойчивости к этому патогену, которые выявляются с помощью использованных в работе ДНК-маркеров.

Несмотря на отмеченные в работе расхождения в оценках, связанных с наличием/отсутствием маркеров генов устойчивости к PVY и фенотипическим проявлением признака, следует признать, что количество имеющих маркеры неустойчивых образцов в настоящем эксперименте оказалось относительно небольшим (13 образцов, 3,5%). Можно признать это приемлемым уровнем для первичного маркер-опосредованного отбора исходного селекционного материала. Низкий коэффициент ассоциации между этими оценками был обусловлен большим количеством устойчивых СЛ (55 образцов), не имеющих маркеров генов устойчивости к PVY. Аналогичная закономерность была отмечена в работе Е. В. Рогозиной с соавторами (Rogozina et al., 2019) при исследовании межвидовых гибридов картофеля. Устойчивые к PVY селекционные линии, не имеющие маркеров генов устойчивости к PVY, отмечены также в работах А.К. Фулладолса и К. Ни с соавторами (Fulladolsa et al., 2015; Nie et al., 2016) и других. Такие линии могут представлять интерес для селекции. Однако применительно к ним не могут быть использованы методы маркер-опосредованного отбора.

Заключение

Полученные в настоящем исследовании данные о наличии маркеров генов устойчивости к PVY и комбинации генов устойчивости разного происхождения у ряда образцов коллекции призваны обеспечить более эффективное их использование в селекции по сравнению с устойчивыми к вирусу линиями, не имеющими соответствующих маркеров. Результаты проведенного генотипирования, фенотипической оценки отобранных по маркерам генов устойчивости к PVY СЛ, а также последующая оценка аллельного состояния имеющихся у них генов устойчивости по данным анализа наследования соответствующих ДНК-маркеров у их потомства позволят отобрать наиболее ценные родительские линии для выведения устойчивых к вирусам сортов картофеля.

References/Литература

Biryukova V.A., Smyglya I.V., Abrosimova S.B., Zapkina T.I., Meleshin A.A., Mityushkin A.V., Manakov V.V. Search for sources of resistance to pathogens among the accessions of Lorch Potato Research Institute genetic and breeding collections by means of molecular markers. *Zaschita Kartofelya = Potato Protection*. 2015;(1):3-7 [in Russian] (Бирюкова В.А., Шмы-

- гля И.В., Абросимова С.Б., Запкина Т.И., Мелешин А.А., Митюшкин А.В., Манаков В.В. Поиск источников устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКС с использованием молекулярных маркеров. *Защита картофеля*. 2015;(1):3-7).
- Blotskaya Zh.V. Strain-specificity of potato virus Y (PVY) (Shtammospetsificheskiye osobennosti Y-virusa kartofelya (PVY)). *Zemledelie i Zashchita Rasteniy = Crop Farming and Plant Protection*. 2014;(4):49-50 [in Russian] (Блоцкая Ж.В. Штаммоспецифические особенности Y-вируса картофеля (PVY)). *Земледелие и защита растений*. 2014;(4):49-50).
- Brown C.R., Kim T.S., Ganga Z., Haynes K., De Jong D., Jahn M., Paran I., De Jong W. Segregation of total carotenoid in high level potato germplasm and its relationship to beta-carotene hydroxylase polymorphism. *American Journal of Potato Research*. 2006;83(5):365-372. DOI: 10.1007/BF02872013
- Cockerham G. Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y. *Heredity*. 1970;25(3):309-348. DOI: 10.1038/hdy.1970.35
- De Ronde D., Butterbach P., Kormelink R. Dominant resistance against plant viruses. *Frontier of Plant Science*. 2014;5:307. DOI: 10.3389/fpls.2014.00307
- Fadina O.A., Beketova M.P., Sokolova M.A., Smetanina T.I., Rogozina E.V., Khavkin E.E. Anticipatory breeding: molecular markers as a tool in developing donors of potato (*Solanum tuberosum* L.) late blight resistance from complex interspecific hybrids. *Agricultural Biology*. 2017;52(1):84-94 [in Russian] (Фадина О.А., Бекетова М.П., Соколова Е.А., Кузнецова М.А., Сметанина Т.И., Рогозина Е.В., Хавкин Э.Е. Упреждающая селекция: использование молекулярных маркеров при создании доноров устойчивости картофеля (*Solanum tuberosum* L.) к фитофторозу на основе сложных межвидовых гибридов. *Сельскохозяйственная биология*. 2017;52(1):84-94). DOI: 10.15389/agrobiol.2017.1.84rus
- Flis B., Hennig J., Strzelczyk-Żyta D., Gebhardt C., Marczewski W. The *Ry-fsto* gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to *Potato virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122₁₈ in PVY resistant potato cultivars. *Molecular Breeding*. 2005;15(1):95-101. DOI: 10.1007/s11032-004-2736-3
- Fulladolsa A.C., Navarro F.M., Kota R., Severson K., Palta J.P., Charkowski A.O. Application of marker assisted selection for *Potato virus Y* resistance in the University of Wisconsin Potato Breeding Program. *American Journal of Potato Research*. 2015;92(3):444-450. DOI: 10.1007/s12230-015-9431-2
- Fulladolsa A.C., Charkowski A., Cai X., Whitworth J., Gray S., Jansky S. Germplasm with resistance to potato virus Y derived from *Solanum chacoense*: clones M19 (39-7) and M20 (XD3). *American Journal of Potato Research*. 2019;96(4):390-395. DOI: 10.1007/s12230-019-09719-6
- Haverkort A.J., Boonekamp P.M., Hutten R., Jakobsen E., Lotz L.A.P., Kessel G.J.T., Vossen J.H., Visser R.G.F. Durable late blight resistance in potato through dynamic varieties obtained by cisgenesis: scientific and societal advances in the DuRPh Project. *Potato Research*. 2016;59(1):35-66. DOI: 10.1007/s11540-015-9312-6
- Hosaka K., Hosaka Y., Mori M., Maida T., Matsunaga H. Detection of simplex RAPD marker linked to resistance to *potato virus Y* in tetraploid potato. *American Journal of Potato Research*. 2001;78(3):191-196. DOI: 10.1007/BF02883544
- Ivanjuk V.G., Banadysev S.A., Zhuromsky G.K. Protecting potatoes from diseases, pests and weeds (*Zaschita kartofelya ot bolezney, vreditel'ey i sornyakov*). Minsk: Belprint; 2005. p.420-466 [in Russian] (Иванюк В.Г., Банадысев С.А., Журомский Г.К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Минск: Белпринт; 2005. С.420-466).
- Kasai K., Morikawa Y., Sorri V.A., Valkonen J.P.T., Gebhardt C., Watanabe K.N. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ry^{adg}* based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*. 2000;43(1):1-8. DOI: 10.1139/g99-092
- Lakin G.F. Biometrics (Biometriya). Moscow: Vysshaya shkola; 1980. p.176-177 [in Russian] (Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва: Высшая школа; 1980. С.176-177).
- Mori K., Sakamoto Yu., Mukojima N., Tamiya S. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic

- DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica*. 2011;180(3):347-355. DOI: 10.1007/s10681-011-0381-6.
- Mori K., Mukojima N., Nakao T., Tamiya S., Sakamoto Y., Soharu N., Hayashi K., Watanuki H., Nara K., Yamazaki K., Ishii T., Hosaka K. Germplasm release: Saikai₅₅, a male and female fertile breeding line carrying *Solanum Phureja*-derived cytoplasm and potato cyst nematode resistance (*HI*) and potato virus Y resistance (*Ryhc*) genes. *American Journal of Potato Research*. 2012;89(1):63-72. DOI: 10.1007/s12230-011-9221-4
- Nie X., Sutherland D., Dickson V., Singh M., Murphy A.M., De Koeber D. Development and validation of high-resolution melting markers derived from *Ry_{sto}* STS markers for high-throughput marker-assisted selection of potato carrying *Ry_{sto}*. *Phytopathology*. 2016;106(11):1366-1375. DOI: 10.1094/PHYTO-05-16-0204-R
- Ottoman R.J., Hane D.C., Brown C.R., Yilma S., Mosley A.R., Vales M. Validation and implementation of marker-assisted selection (MAS) for PVY resistance (*Ry_{adg}* gene) in tetraploid potato breeding. *American Journal of Potato Research*. 2009;86(4):304-314. DOI: 10.1007/s12230-009-9084-0
- Rogozina E.V., Terentjeva E.V., Potokina E.K., Yurkina E.N., Nikulin A.V., Alekseev Ya.I. Multiplex PCR-based identification of potato genotypes as donors in breeding for resistance to diseases and pests. *Agricultural Biology*. 2019;54(1):19-30 [in Russian] (Рогозина Е.В., Терентьева Е.В., Потоккина Е.В., Юркина Е.Н., Никулин А.В., Алексеев Я.И. Идентификация родительских форм для селекции картофеля, устойчивого к болезням и вредителям, методом мультиплексного ПЦР-анализа. *Сельскохозяйственная биология*. 2019;54(1):19-30). DOI: 10.15389/agrobiologia.2019.1.19rus
- Ross H. Potato breeding – problems and perspectives. Berlin, Hamburg: Paul Parey, Advances in Plant Breeding series no. 13; 1986. 132 p.
- Rusetskiy N.V. Initial material assessment of potatoes for immunity to potato viruses (Otsenka iskhodnogo materiala kartofelya na immunitet k virusam kartofelya). In: *Kartofelevodstvo = Potato-Growing: proceedings*. Minsk; 2018. Vol. 26. p.101-111 [in Russian] (Русецкий Н.В. Оценка исходного материала картофеля на иммунитет к вирусам картофеля. В кн.: *Картофелеводство: сборник научных трудов*. Минск; 2018. Т. 26. С.101-111).
- Rusetskiy N.V., Voronkova E.V. Initial potato material screening for resistance to PVY and PVX and study of the nature of its inheritance for the use as donor of this character in breeding for virus resistance (Vydeleniye iskhodnogo materiala kartofelya na ustoychivost k virusam PVY i PVX i izucheniye kharaktera yeye nasledovaniya dlya ispolzovaniya v kachestva donorov priznaka v selektsii na virusoustoychivost.). In: *Kartofelevodstvo = Potato-Growing: proceedings*. Minsk; 2017. Vol. 25. p.82-93 [in Russian] (Русецкий Н.В., Воронкова Е.В. Выделение исходного материала картофеля на устойчивость к вирусам PVY и PVX и изучение характера ее наследования для использования в качестве доноров признака в селекции на вирусоустойчивость. В кн.: *Картофелеводство: сборник научных трудов*. Минск; 2017. Т. 25. С.82-93).
- Sato M., Nishikawa K., Komura K., Hosaka K. Potato virus Y resistance gene, *Ryhc*, mapped to the distal end of potato chromosome 9. *Euphytica*. 2006;149(3):367-372. DOI: 10.1007/s10681-006-9090-y
- Scholthof K.G., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G.D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 2011;12(9):938-954. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x
- Solomon-Blackburn R.M., Barker H. A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: genes, genetics and mapped location. *Heredity*. 2001a;86(1):8-16. DOI: 10.1046/j.1365-2540.2001.00798.x
- Solomon-Blackburn R.M., Barker H. Breeding virus resistant potatoes (*Solanum tuberosum*): a review of traditional and molecular approaches. *Heredity*. 2001b;86(1):17-35. DOI: 10.1046/j.1365-2540.2001.00799.x
- Song Ye-S., Hepting L., Schweizer G., Hartl L., Wenzel G., Schwarzfischer A. Mapping of extreme resistance to PVY (*Ry_{sto}*) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid lines. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(5):879-887. DOI: 10.1007/s00122-005-0010-7
- Song Ye-S., Schwarzfischer A. Development of STS markers for selection of extreme resistance (*Ry_{sto}*) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. *American Journal of Potato Research*. 2008;85(5):159-170. DOI: 10.1007/s12230-008-9044-0.
- Sorri V.A., Watanabe K.N., Valkonen J.P.T. Predicted kinase-3a motif of a resistance gene analogue as a unique marker for virus resistance. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999;99(1):164-170.
- Tomczyńska I., Jupe F., Hein I., Marczewski W., Śliwka J. Hypersensitive response to *Potato virus Y* in potato cultivar Sarpo Mira is conferred by the *Ny-Smira* gene located on the long arm of chromosome IX. *Molecular Breeding*. 2014;34(2):471-480. DOI: 10.1007/s11032-014-0050-2
- Vales M.I., Ottoman R.J., Ortega J.A., Yilma S., Karaagac E. Marker-Assisted Selection for PVY resistance in tetraploid potato. *Acta Horticulturae*. 2010;859:409-416. DOI:10/17660/ActaHortic.2010.859.50
- Valkonen J.P.T., Wiegmann K., Hämäläinen J.H., Marczewski W., Watanabe K.N. Evidence for utility of the same PCR-based markers for selection of extreme resistance to *Potato virus Y* controlled by *Ry_{sto}* of *Solanum stoloniferum* derived from different sources. *Annual Applied Biology*. 2008;152(1):121-130. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2007.00194.x
- Voronkova E., Luksha V., Gukasian O., Levy A., Yermishin A. Novel DNA locus associated with PVY resistance in potato is mapped to chromosome V. In: *16th Triennial Meeting of the Virology Section of the EAPR and 8th Annual Meeting of PVY/WIDE Organization*; 2016 May 31 - June 3; Lubljana, Slovenia. Lubljana; 2016. p.30.
- Voronkova E.V., Luksha V.I., Rusetskiy N.V., Gukasyan O.N., Zharich V.M., Polyukhovich Yu.V., Yermishin A.P. Marker assisted selection of genotypes with *Ryhc* gene of extreme resistance to PVY in genotypes collection with *Solanum chacoense* germplasm in their pedigree. In: *Kartofelevodstvo = Potato Growing: proceedings*. Minsk; 2017a. Vol. 25. p.47-59 [in Russian] (Воронкова Е.В., Лукша В.И., Русецкий Н.В., Гукасян О.Н., Жарич В.М., Полухович Ю.В., Ермишин А.П. Маркер-опосредованный отбор на наличие гена *Ryhc* экстремальной устойчивости к PVY в коллекции генотипов, имеющих в родословной генетический материал *Solanum chacoense*. В кн.: *Картофелеводство: сборник научных трудов*. Минск; 2017a. Т. 25. С.47-59).
- Voronkova E.V., Luksha V.I., Gukasyan O.N., Polyukhovich Yu.V., Zharich V.M., Yermishin A.P. Use of mitotic chromosome doubling *in vitro* for production of potato multiplex parental lines. In: *Molekulyarnaya i Prikladnaya Genetika = Molecular and Applied Genetics: proceedings*. Minsk; 2017b. Vol. 22. p.62-75 [in Russian] (Воронкова Е.В., Лукша В.И., Гукасян О.Н., Полухович Ю.В., Жарич В.М., Ермишин А.П. Использование митотической полиплоидизации *in vitro* для создания мультиплексных родительских линий картофеля. В кн.: *Молекулярная и прикладная генетика: сборник научных трудов*. Минск; 2017b. Т. 22. С.62-75).
- Zimnoch-Guzowska E., Yin Zh., Chrzanovska M., Flis B. Sources and effectiveness of potato PVY resistance in IHAR's breeding research. *American Journal of Potato Research*. 2013;90(1):21-27. DOI: 10.1007/s12230-012-9289-5
- Zoteyeva N., Chrzanovska M., Flis B., Zimnoch-Guzowska E. Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *American Journal of Potato Research*. 2012;89(4):277-293. DOI: 10.1007/s12230-012-9252-5