

УДК 635.21[631. 524.86 + 602.6 (476)]

СОЗДАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА КАРТОФЕЛЯ УСТОЙЧИВОГО К ФИТОФТОРОЗУ НА ОСНОВЕ СОМАТИЧЕСКИХ ГИБРИДОВ МЕЖДУ ТЕТРАПЛОИДНЫМ *SOLANUM TUBEROSUM* И *S. BULBOCASTANUM*

Яковлева Г.А., Семанюк Т.В., Родькина И.А.

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству», Республика Беларусь

E.mail: y_galina@tut.by

РЕЗЮМЕ

*Исходный материал, перспективный для селекции картофеля на устойчивость к фитофторозу создан на основе соматических гибридов между тетраплоидным образцом культурного картофеля 78563-76 и *S. bulbocastanum* (SH_{SB}). Для стабилизации генома соматических гибридов SH_{SB} и получения первых жизнеспособных сеянцев от их свободного опыления и скрещиваний с фертильными селекционными образцами 88.16/20, 88.14/34 в направлении SH_{SB} × tbr, 4х потребовалось 4 года вегетативного размножения. Половые поколения соматических гибридов получены в период 2000–2012 гг., в том числе: первое половое поколение – 2000–2004, второе – 2003–2008, третье – 2006–2012. Исходные формы для селекции на устойчивость к фитофторозу отобраны среди гибридов второго и третьего поколений соматических гибридов SH_{SB}.*

Ключевые слова: картофель, соматические гибриды, половые поколения, фитофтороз, устойчивость

ВВЕДЕНИЕ

Мексиканский вид *Solanum bulbocastanum* отличается наличием образцов с высокой устойчивостью к фитофторозу [1] и практическая недоступность для половой гибридизации с *S. tuberosum*, присущая дикорастущим видам картофеля с балансовым числом эндосперма (EBN), равным 1. Проблема сохраняется и при скрещиваниях между дигамплоидами картофеля и видами с EBN = 1: *S. etuberosum*, *S. pinnatisectum*, *S. jamesii*, *S. bulbocastanum* [2]. Принципиально новым способом, который может быть использован для преодоления межвидовых, межродовых, межсемейственных барьеров является слияние протопластов соматических клеток исходных партнеров, происходящее при соматической гибридизации.

Возможность практического использования межвидовых соматических гибридов картофеля в большинстве случаев ограничена их низкой фертильностью. Соматические гибриды картофеля получены

между *S. tuberosum* и более чем 30 видами рода *Solanum*, из которых у гибридов с 10 малодоступными для традиционной селекции дикими видами отмечено наличие желаемого признака устойчивости в половых поколениях [3]. При определении перспективности созданных межвидовых соматических гибридов картофеля необходимо провести их тестирование на фенотипическое проявление присущего дикому виду признака устойчивости и оценку их способности цвести, завязывать ягоды с полноценными семенами и скрещиваться с культурным картофелем. В лаборатории биотехнологии РУП «НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству» выполнены исследования по получению соматических гибридов между *S. tuberosum* и *S. bulbocastanum* и оценке их перспективности для селекции картофеля [4–8].

Цель настоящей работы – создание исходного материала для селекции картофеля на основе межвидовых соматических гибридов с фенотипическим проявлением устойчивости, присущей использованному образцу мексиканского вида *S. bulbocastanum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования проводили в 2000–2012 годах.

Объекты исследования – линии соматических гибридов комбинации: SB – 78563-76 (*S. tuberosum*, 4x) + Sb (*S. bulbocastanum*).

Условия и способы оценки фенотипического проявления признаков устойчивости к болезням описаны ранее: Y-вирусу картофеля – [9], фитофторозу ботвы в условиях искусственного – [7] и естественного фонов – [5, 7], – клубней [5].

Условия проведения скрещиваний с тетраплоидными селекционными образцами в направлении, представленном на рисунке 1, изложены в статье [6].

$$\text{SH (tbr + blb)} \times \text{S. tuberosum} = \text{BC1}$$

↓

$$\text{BC1} \times \text{S. tuberosum} = \text{BC2}$$

↓

$$\text{BC2} \times \text{S. tuberosum} = \text{BC3}$$

Рисунок 1 – Направления скрещиваний с участием соматических гибридов и их полового потомства

SH – соматический гибрид, BC1 – половое поколение первого беккросса, BC2 – половое поколение второго беккросса, tbr – *S. tuberosum*, blb – *S. bulbocastanum*. Аббревиатура видов *Solanum* дана по [10].

Для ПЦР-идентификации гена устойчивости *RB* из *S. bulbocastanum* был использован SCAR-маркер RGA2 (*Rpi-blb1*, *RB*₆₃₈), разработанный учеными из России [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Характеристика исходных родителей-партнёров и соматических гибридов SB по устойчивости к фитофторозу

Образец Sb мексиканского вида *S. bulbocastanum* (дикий партнер в комбинации соматической гибридизации SB) отличается стабильно высоким уровнем устойчивости к фитофторозу ботвы и клубней, подтвержденный результатами многолетних экспериментов (1996–2011 гг.) по искусственному заражению растений и клубней с использованием местных изолятов *Phytophthora infestans*, собранных в годы, различающиеся по развитию фитофтороза. Эпифитотия фитофтороза (развитие фитофтороза >50%) отмечена на территории Беларуси в 1996, 1998, 2000, 2001, 2006, 2009, 2011 и 2012 годах. Для образцов *S. bulbocastanum* коллекции видов *Solanum*, депонируемых в лаборатории биотехнологии *in vitro*, характерна внутривидовая дифференциация по устойчивости к фитофторозу и наличию гена *RB* [12]. Ген *RB* содержат пять из 11-ти образцов *S. bulbocastanum*, включая Sb.

Наиболее высокий уровень устойчивости к фитофторозу ботвы (лист, стебель, верхушка растения) культурного родителя-партнёра 78563-76 комбинации соматической гибридизации SB при выращивании в естественных условиях поля без защиты фунгицидами был отмечен в 2002 году при депрессивном развитии заболевания в Беларуси [13] и соответствовал $5,5 \pm 0,2$ балла на 22.08.2002. На протяжении всех лет наблюдений устойчивость сортообразца 78563-76 к фитофторозу ботвы при эпифитотиях болезни не превышала 3 балла и в 2012 г. в конце августа была равна $2,0 \pm 0,2$. Устойчивость к фитофторозу при искусственном заражении целых клубней была немного выше и варьировала в период наблюдений с 1998 по 2012 годы от 1 до 5,8 баллов. Культурный партнёр комбинации соматической гибридизации SB не содержит ген устойчивости к фитофторозу *RB* из *S. bulbocastanum*, но содержит ген устойчивости к фитофторозу *R1* из *S. demissum*, который отсутствует у дикого родителя Sb [5]. Наличие гена *R1* не обеспечивает эффективной защиты 78563-76 от фитофтороза ботвы и клубней.

Все линии соматических гибридов комбинации SB содержат в геноме ген устойчивости к фитофторозу *RB* из *S. bulbocastanum*, и сохраняют устойчивость к фитофторозу ботвы и клубней в течение более 10-ти лет выращивания без использования средств защиты [5,7,8].

Характеристика исходных родителей-партнёров и соматических гибридов SB по устойчивости к Y-вирусу картофеля

Исследования по оценке на устойчивость к инфицированию YВК для соматических гибридов и дикого родителя Sb комбинации SB были предприняты после передачи гибридов в лаборатории исходного материала и селекции и подозрений на их зараженность Y-вирусом в связи с присущим отдельным линиям соматических гибридов SB морфологическим признакам (морщинистость и хлороз листовой пластинки, краевые некрозы листьев), напоминающих симптомы

поражения YBK. Испытания на устойчивость к Y-вирусу проводили с использованием 2-х методов искусственного заражения: прививки черенков анализируемых образцов на инфицированные различными штаммами YBK растения томата (растения-накопители вируса) и механической инокуляции растений тестируемых образцов вирусом Y с последующим их анализом на наличие инфекции визуально по симптомам вироза и инструментально (титр ИФА, значения абсорбции) [9].

Тестирование образца Sb на устойчивость к Y-вирусу методом механической инокуляции выполнено в 2007 г., прививки – в 2001, 2003, 2008 и 2009 годах (таблица 1).

Таблица 1 – Оценка образца Sb мексиканского вида *S. bulbocastanum* – дикого родителя комбинации соматической гибридизации SB на устойчивость к Y-вирусу картофеля при искусственном заражении

Заражение Sb вирусом Y			Характеристика растений привоев Sb		*Тип устойчивости
Год	Метод	Штамм	По фенотипу	По титру ИФА	
2007	Механическая инокуляция	Y ⁰ + Y ^N	Норма	-0,036; -0,038; -0,036; -0,032; -0,036; -0,035; -0,036; -0,040; -0,032; -0,026; -0,031	И
2001	Прививка черенка Sb на растения-инфекторы (томат)	Y ⁰ + Y ^N	Некрозы у 2-х привоев	Среднее 3-х привоев -0,028	СВЧ
2003		Y ⁰	Норма	-0,004; -0,006; +0,002	ВУ
		Y ^N	Норма	+0,006; -0,003; +0,004	ВУ
2008		Y ⁰ + Y ^N	Неразвиты	-0,069; -0,023	ВУ
2008		Y ⁰	Некроз верхушки	-0,76	ВУ, СВЧ
		Y ^{NTN}	Неразвиты	-0,109; -0,045	ВУ
2009		Y ⁰	Слабый хлороз	-0,003; -0,008	ВУ
		Y ^N	Слабый хлороз	-0,003; -0,001	ВУ
		Y ^{NTN}	Слабое развитие	-0,009; 0,0	ВУ
2009		Y ⁰	Единичные некрозы	-0,015; -0,005	ВУ
		Y ^N	Норма	-0,004; -0,007	ВУ
		Y ^{NTN}	Некроз	-0,019	СВЧ

*[9]: ВУ – высокая устойчивость (отсутствие симптомов вироза и отрицательный титр ИФА при заражении конкретным штаммом YBK), И –

иммунитет (ВУ независимо от штамма YBK), СВЧ – сверхчувствительность (некротическая реакция на заражение YBK, отрицательный титр ИФА).

Согласно результатам многолетних экспериментов образец Sb мексиканского вида *S. bulbocastanum* проявляет высокую степень устойчивости к заражению обычным (Y^0) и некротическими (Y^N , Y^{NTN}) штаммами Y-вируса картофеля и может быть отнесен к образцам с иммунитетом или крайней устойчивостью к YBK. При устойчивости по типу иммунитет (крайняя устойчивость) не исключается возможность частичной некротической реакции при инфицировании растения вирусом [14-16]. Некрозы были отмечены в отдельные годы при искусственном заражении образца Sb различными штаммами Y-вируса картофеля (таблица 1). Следует также учесть высказываемое в литературе мнение, что реакция сверхчувствительности у диких видов защищает от всех штаммов вируса, а у культурных сортов имеет расоспецифический характер [15].

Тесты с прививкой на инфицированные обычным и некротическим штаммами YBK растения томата для оценки устойчивости сортообразца 78563-76 к заражению вирозом были выполнены дважды в 2001 и 2005 годах. Привои 78563-76 в 2001 году проявили симптомы поражения Y-вирусом в виде морщинистой мозаики листьев и имели значения абсорбции $>0,1$ (+0,116; +0,257; +0,766), что свидетельствовало о тяжелом поражении вирозом. В 2005 г. на привоях 78563-76 наблюдали хлороз и положительные значения титра ИФА, максимальное из которых составило +0,064. Таким образом, 78563-76 не обладает признаком устойчивости к Y-вирусу картофеля.

Ни одна из линий соматических гибридов комбинации SB, не проявила в тесте с прививкой (SB3-1, SB3-2, SB5-2, SB6-7, SB7, SB10) симптомов вироза, помимо некроза [9]. Положительные значения титра ИФА были отмечены только у привоев на томат сорта «Невский», инфицированный Y^{NTN} для линии SB7 (0,010 у одной из 5 прививок) и Y^N – SB10 (0,027 у одной из двух прививок). Для гибрида SB6-7 и, возможно, SB5-2 характерна устойчивость к YBK по типу иммунитет, SB3-1, SB3-2 – сверхчувствительность, линии SB7, SB10 высоко устойчивы к обычному штамму (Y^0) и устойчивы к некротическим штаммам [7,9].

Характеристика фертильности исходных родителей-партнёров и соматических гибридов SB

Для оценки фертильности межвидовых соматических гибридов между 78563-76 и *S. bulbocastanum* определили их способность к цветению, спонтанному образованию ягод, генерации жизнеспособного полового потомства от свободного опыления и в кроссах с тетраплоидным *S. tuberosum*. Тетраплоидный образец культурного картофеля 78563-76 обильно цветёт. Ягоды образуют до 50% цветков, в среднем в одной ягоде присутствует более 100 жизнеспособных семян, способных к прорастанию.

Образование цветков у образца Sb мексиканского вида *S. bulbocastanum* происходит нерегулярно, ягоды отсутствуют.

В популяции гибридов комбинации SB первоначально преобладали растения с морфологическими аномалиями, которые в т.ч. затрагивали цветок, проявляясь в непропорциональном развитии лепестков, тычинок и пестиков. Способность цвести проявили 20 из 34 соматических гибридов.

Различные морфологические аномалии являются частым следствием слияния протопластов, при котором происходит объединение нескольких, как правило, плохо совместимых геномов с различным уровнем хромосом и балансового числа эндосперма. При вегетативном размножении наблюдали уменьшение доли аномальных растений, что сопровождалось улучшением их генеративной сферы (репродуктивной функции) [3].

Соматические гибриды SB в течение первых 3-х лет выращивания (1996-1998 гг.) проявили способность к спонтанному образованию бессемянных ягод.

Первые ягоды с семенами от свободного опыления и кроссов с участием соматических гибридов SB с мексиканским видом *S. bulbocastanum* и тетраплоидом *S. tuberosum* были получены в 4-м клубневом поколении соматических гибридов (2000 г.) после предварительной стабилизации посредством вегетативного размножения.

В сезон 2000 года с растений 3-х соматических гибридов SB3-2, SB5-2, SB6-7 было собрано 25 ягод. Семь ягод гибрида SB3-2 содержали зачатки семян, одна ягода SB5-2 – 10 полноценных семян. Семена в количестве 89 шт., были обнаружены в двух ягодах из 17-ти, полученных для гибрида SB6-7, в то время как 15 ягод были без семян или содержали их зачатки. В 2000 г. были выполнены первые успешные беккроссы с использованием в качестве опылителей фертильных образцов 88.14/34 и 88.16/20, любезно предоставленных И.М. Яшиной из НИИКХ РФ.

В скрещиваниях 2002 г. на 6-й год вегетативного размножения клубнями гибридов SB получено жизнеспособное потомство в комбинациях, где отцовской формой был сортообразец 951997-5 белорусской селекции. В сумме за 2000-2002 гг. нами выполнена 101 комбинация скрещиваний с использованием 20 линий соматических гибридов в качестве материнских форм и 21 образца культурного картофеля в качестве отцовской и собрано 33 ягоды от 2185 опыленных бутонов (1,51%).

Ягоды получены с гибридами SB3-1, SB3-2, SB5-2, SB6-7, SB7 в 12 комбинациях скрещиваний по схеме $SH_{SB} \times tbr$, 4х из 38 выполненных (таблица 2). В комбинациях SB3-2 $\times$ Лань, SB3-2 $\times$ 911776-47 ягоды были без семян. Ботанические семена (12 шт.), полученные в комбинации SB3-2 $\times$ Каприз, были нежизнеспособны и не проросли в культуре *in vitro*.

В 9-ти комбинациях получены сеянцы BC1. Из 33 ягод, собранных в первом беккроссе, 8 (24,2%) не содержали семян. Семена в количестве 560 выделены из 25 ягод. Вследствие малого количества семян, выделенных из одной ягоды (3 – 50), их проращивали в оптимальных условиях *in vitro* на

агаризованной питательной среде Мурасиге-Скуга (МС) [17]. Из 560 семян регенерировано 356 сеянцев, всхожесть в культуре *in vitro* составила 63%.

Таблица 2 – Результативность половой гибридизации с соматическими гибридами SB в направлении SH_{SB} × *S. tuberosum* (4х) (2000–2002 гг.)

SH* ♀	Характеристика комбинаций половой гибридизации						Сеянцы гибридов BC1, шт.
	Количество комбинаций, шт.		Количество ягод, шт.		Количество семян, шт.		
	общее	с ягодами	всего	с семенами	всего	в 1-й ягоде	
SB3-1	5	1	1	1	27	27	14
SB3-2	10	5	14	8	130	16,3	67
SB5-2	12	2	9	6	197	32,8	129
SB6-7	2	2	2	2	28	14,0	11
SB7	9	2	7	6	178	29,7	135
Итого	38	12	33	25	560	22,4	356

*: SH – соматический гибрид.

Таким образом, женская фертильность по показателю – генерация жизнеспособных сеянцев от свободного опыления и кроссов с селекционными образцами соматических гибридов SB установлена для 5-ти гибридов: SB3-1, SB3-2, SB5-2, SB6-7, SB7 после вегетативного размножения клубнями в течение 4-х лет, по-видимому, необходимых для стабилизации их генотипа. Для регенерации растений из ботанических семян комбинаций первого полового поколения соматических гибридов наиболее оптимальным является их проращивание на питательной среде в условиях культуры *in vitro*.

Вовлечение половых поколений соматических гибридов SB в скрещивания с селекционными образцами картофеля

Первое половое поколение было получено в период с 2000 по 2004 годы (таблица 3) для пяти соматических гибридов SB3-1, SB3-2, SB5-2, SB6-7, SB7, но сеянцы гибрида SB3-1 отличались диким морфотипом и были исключены из дальнейших экспериментов. Скрещивания по схеме SH_{SB} × tbr,4х, выполненные селекционерами института на 7-ой год вегетативного размножения клубнями соматических гибридов SB (2003 г.), были много семенные. Ягоды с семенами получены в 3-х комбинациях из 18-ти: SB5-2 × Фельзина, SB5-2 × Фелокс, SB5-2 × 962100-12. Семена 3-х комбинаций (1746 шт.: 146 – Фельзина, 300 – Фелокс, 1300 – 962100-12) высеяли в условия теплицы, где получили 514 растений (всхожесть в условиях *in vivo* 29,4%). В мало семенной комбинации SB5-2 × 982208-14, выполненной селекционерами в 2004 г., семена (50 шт.) проростили *in vitro* с регенерацией 48 сеянцев (всхожесть 96 %).

Таблица 3 – Получение половых поколений соматических гибридов SB: 78563-76 (*tbr*,4х) + Sb (*blb*)

Годы проведения гибри-зации	Половые поколения соматических гибридов SB		Успешные комбинации в половых поколениях соматических гибридов SB	
	Номер	Формула ♀	Схемы скрещиваний	Количество
2000 – 2004	1-ое	F1, BC1	BC1 (F1) × <i>tbr</i> , 4х	12
2003 – 2008	2-ое	F2, F1BC1, BC1F1, BC2	BC2 (F2, F1BC1, BC1F1) × <i>tbr</i> , 4х	48
2006 – 2012	3-е	F3, F1BC1F1, BC2F1, BC3	BC3 (F3, F1BC1F1, BC2F1) × <i>tbr</i> , 4х	51

Обозначения: SH = соматический гибрид. Первое половое поколение соматического гибрида: F1 = свободное опыление SH, BC1 = SH × *tbr*, 4х. Второе половое поколение соматического гибрида: F2 = свободное опыление F1, F1BC1 = (свободное опыление SH) × *tbr*, 4х, BC2 = BC1 × *tbr*, 4х, BC1F1 = свободное опыление BC1. Третье половое поколение соматического гибрида: F3 = свободное опыление F2, F1BC1F1 = свободное опыление F1BC1, BC3 = BC2 × *tbr*, 4х, BC1F2 = свободное опыление BC1F1, BC2F1 = свободное опыление BC2.

Гибриды первого полового поколения соматических гибридов SB в качестве материнской формы скрестили с сортообразцами картофеля. Для гибрида SB6-7, являющегося наименее результативным в скрещиваниях с *S. tubersum*, 4х, показана эффективность использования в дальнейших кроссах в качестве материнской формы генотипов от свободного опыления SB6-7 (таблица 4). 29 гибридов (F1, BC1) использовали в качестве материнской формы в кроссах с *S. tuberosum*, 4х. В качестве опылителей использовали 22 сорта и гибрида. Для 10 опылителей: сорта – Бриз, Блакит, Крыница, Соната, Акцент, Рагнеда, Янка, гибриды – 002336-8, 962100-12, 182-99-12 получены ягоды с семенами. С использованием первого полового поколения (BC1, F1) соматических гибридов SB в качестве материнской формы за 2003-2008 годы выполнена 131 комбинация скрещивания. В таблице 4 учтено 90 комбинаций с фертильными материнскими формами, завязавшими ягоды, хотя бы в одной из выполненных комбинаций. Образование ягод отмечено для 30 комбинаций, в сумме собрано 114 ягод. В комбинациях BC1_{SH} × *tbr*,4х семена содержали 54,2% завязавшихся ягод с количеством семян в ягоде от 16,3 до 122,2 штук. Все ягоды комбинаций F1_{SB6-7} × *tbr*,4х содержали семена, количество которых в 3-х из 4-х комбинаций превышало 600 штук, а количество семян в одной ягоде варьировало в пределах 38,3–226. Ягоды, собранные в половом потомстве соматических гибридов SB, как правило, выполнены и содержат полноценные семена. Всхожесть семян в условиях теплицы была в пределах 18-87% на комбинацию.

Таблица 4 – Характеристика комбинаций второго полового поколения соматических гибридов SB с фертильными материнскими формами

Материнская форма			Результативность половой гибридизации BC1 (F1) × tbr, 4х				
			Комбинации, шт. всего / с ягодами	Ягоды, шт. всего / с семенами	Семена, шт. Всего / в 1 ягоде	Высеяно: in vivo / in vitro	Сеянцы, шт. / формула
Sc14-40	BC1	SB3-2	8 / 1	2 / 2	43 / 21,5	0 / 43	35 / BC2
432-40	BC1	SB5-2	1 / 1	5 / 5	611 / 122,2	200 / 0	81 / BC2
312-53	BC1	SB5-2	8 / 1	3 / 3	61 / 20,3	0 / 61	50 / BC2
Sc5-19	BC1	SB5-2	23 / 2	11 / 10	407 / 40,7	365 / 42	200 / BC2
Sc5-22	BC1	SB5-2	13 / 1	2 / 2	188 / 94	188 / 0	165 / BC2
Sc6-87	BC1	SB7	10 / 7	34 / 8	130 / 16,3	130 / 0	24 / BC2
Sc6-97	BC1	SB7	8 / 1	2 / 2	41 / 20,5	н/д	н/д
Sp1-37	F1	SB6-7	10 / 7	19 / 19	727 / 38,3	600 / 127	348 / F1BC1
Sp1-47	F1	SB6-7	6 / 6	19 / 19	2067 / 108,8	1293 / 0	649 / F1BC1
Sp1-57	F1	SB6-7	2 / 2	16 / 16	3617 / 226	674 / 0	453 / F1BC1
Sp1-71	F1	SB6-7	1 / 1	1 / 1	143 / 143	143 / 0	74 / F1BC1

SH* - соматический гибрид в родословной

Присутствие в половых поколениях соматических гибридов SB генетических элементов *S. bulbocastanum* выявлено на электрофореграммах белков паренхимы клубней по наличию компонент, специфичных образцу Sb [18].

Скращения, направленные на получение третьего полового поколения, были выполнены в 2006–2012 годы (таблица 3).

Для выделения гибридов с хозяйственно ценными признаками последовательно проводили следующие оценки и отборы в первом, втором и третьем половых поколениях соматических гибридов SB:

(1). Оценка на устойчивость к фитофторозу при искусственном заражении сеянцев, мало семенные комбинации – в кассетах, много семенные – в теплице.

(2). Отбор выживших после искусственного заражения гибридов по устойчивости к фитофторозу: а) ботвы на естественном фоне без защиты

фунгицидами на дату последнего учета (по баллу максимального поражения фитофторозом) – 2-3 года; б) клубней при искусственном заражении – 2-3 года.

(3). Отбор фертильных и продуктивных гибридов.

(4). Оценка на устойчивость к УБК в тесте с прививкой на инфицированные некротическими (N, NTN) и обычным (0) штаммами У-вируса растения томата сорта «Невский»

Таблица 5 – Характеристика исходного материала, перспективного для селекции картофеля на устойчивость к фитофторозу, созданного на генетической основе межвидовых соматических гибридов SB: *S. tuberosum*, 4x + *S. bulbocastanum* (естественные условия Беларуси, п. Самохваловичи Минской области, 2010-2012 гг.).

Образец	Устойчивость к фитофторозу				Продуктивность, г/куст		Содержание крахмала-ла, %, 2012	± SC AR RB 638
	Среднее значение, балл		Min-max, балл		Среднее значение	Min-max		
	Ботва а	Клубни	Ботва	Клубни				
BC2: (SB5-2 × tbr, 4x) × tbr, 4x								
501-17**	6,8	8,1	5,0-8,5	6,8-9,0	935	775-1035	13,7	+
501-48	7,3	8,8	7,0-8,0	8,6-9,0	780	730-880	16,9 (2010)	+
503-22**	7,0	8,6	5,0-9,0	7,8-9,0	820	760-915	22,5	+
BC3: [(SB5-2 × tbr, 4x) × tbr, 4x] × tbr, 4x								
815-12	7,9	8,5	7,1-8,7	7,4-9,0	920	515-1340	15,4	+
815-41	8,3	8,6	8,0-9,0	8,2-9,0	750	675-875	13,2	+
815-59**	7,4	8,3	7,0-8,3	7,0-9,0	890	770-1100	21,1	—
815-86	7,1	8,7	6,0-8,0	8,2-9,0	1170	940-1620	17,7	—
815-94	7,9	8,3	6,6-9,0	7,6-9,0	760	680-840	15,7	+
815-95	7,2	8,1	5,7-8,0	7,4-8,8	1225	905-1700	17,0	+
815-99**	7,6	8,4	7,0-8,7	7,1-9,0	1395	1210-1635	17,5	+
816-6	7,7	8,9	7,0-9,0	8,8-9,0	895	610-1200	17,7	+
901-6	8,5	8,4*	8,0-9,0	-	1115	1100-1130	17,2	н/д
901-15	8,0	7,6*	7,0-9,0	-	1345	990-1700	17,0	н/д
901-25	8,0	8,6*	7,0-9,0	-	1115	1100-1130	15,7	н/д
911-7	8,0	7,4*	7,0-9,0	-	1500	1200-1800	20,1	н/д
911-9	7,5	9*	7,0-8,0	-	1440	1380-1500	18,0	н/д
Сорта стандарты поздней группы спелости								
Атлант	4,0	4,6	1,0-5,8	2,6-8,2	885	750-1085	20,1	—
Здабыта к	4,6	8,1	1,0-5,9	7,2-9,0	970	700-1185	23,5	н/д
Сузорье	4,7	5,1	1,0-7,7	2,6-7,0	810	740-945	н/д	—
12-03-2	4,0	5,3	1,0-6,0	4,2-6,0	1020	780-1230	н/д	н/д

* – данные одного года оценки, 2012; ** – иммунные к PVY гибриды

По результатам проведенных оценок в 2006–2012 годах среди гибридов второго и третьего полового поколений соматического гибрида SB5-2 отобран фитофтороустойчивый исходный материал для селекции картофеля (таблица 5). Гибриды BC2 (кроссы 2005 г.) и 815-х и 816-6 (кроссы 2008 г.) из группы BC3 прошли все необходимые оценки и отборы от (1) до (4), учитываемые нами для выделения исходной формы. Среди них присутствуют формы с иммунитетом к YBK (501-17, 503-22, 815-59, 815-99) и геном устойчивости к фитофторозу *RB* по наличию маркера SCAR-RGA. Для гибридов BC3 комбинаций 901 и 911 (кроссы 2009 г.) к настоящему времени выполнены не все запланированные учеты. Гибриды 901-х и 911-х обладают продуктивностью на уровне и выше сортов-стандартов поздней группы спелости, устойчивы к фитофторозу ботвы при эпифитотиях фитофтороза 2011 и 2012 гг., и клубней по данным оценки 2012 г., и могут рассматриваться как исходный материал, перспективный для селекции на устойчивость к *Ph. infestans*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Межвидовые соматические гибриды SB между тетраплоидным культурным родителем 78563-76 и фитофтороустойчивым образцом Sb мексиканского вида *Solanum bulbocastanum* получены с несовместимыми исходными партнерами и, как следствие, характеризуются первоначальной несбалансированностью (нестабильностью) генома, которая проявляется в различных аномалиях развития. Для стабилизации их генома необходимо 4 года вегетативного размножения, в процессе которого наблюдается уменьшение доли аномальных растений и улучшение их генеративной сферы (репродуктивной функции). Первые ягоды с семенами от свободного опыления и кроссов с участием соматических гибридов SB и высоко фертильных опылителей И.М. Яшиной 88.16/20 и 88.34/14 были получены в 4-м клубневом поколении соматических гибридов (2000 г.).

Женская фертильность по показателю – генерация жизнеспособных сеянцев от свободного опыления и кроссов с селекционными образцами соматических гибридов SB установлена для 5-ти гибридов: SB3-1, SB3-2, SB5-2, SB6-7, SB7. Для регенерации растений из ботанических семян мало семенных комбинаций первого полового поколения соматических гибридов наиболее оптимальным является их проращивание на питательной среде в условиях культуры *in vitro*.

Половые поколения соматических гибридов SB получали с 2000 по 2012 гг., в том числе: первое половое поколение – 2000–2004, второе – 2003–2008, третье – 2006–2012.

Этапы отбора хозяйственно-ценных гибридов в половых поколениях соматических гибридов SB с целью выделения перспективного для селекции картофеля исходного материала включали:

- 1) оценку на устойчивость к фитофторозу сеянцев;

2) отбор выживших после искусственного заражения гибридов по устойчивости к фитофторозу: а) ботвы на естественном фоне без защиты фунгицидами на дату последнего учета (по баллу максимального поражения фитофторозом) – 2–3 года; б) клубней при искусственном заражении – 2–3 года;

3) отбор фертильных и продуктивных гибридов;

4) оценку на устойчивость к УВК в тесте с прививкой.

Перспективный для селекции на устойчивость к фитофторозу исходный материал был выделен во втором и третьем половых поколениях соматических гибридов SB. Отобранные исходные формы отличаются продуктивностью на уровне и выше сортов-стандартов поздней группы спелости, сохранение устойчивости к фитофторозу ботвы и клубней при выращивании в условиях эпифитотии болезни. Среди исходных форм выделены гибриды с иммунитетом к У-вирусу картофеля.

Литература

1. Каталог мировой коллекции ВИР. Виды картофеля Мексики и их значение для селекции / К.З. Будин [и др.]; под. ред. К.З. Будина. – Л.: ВИР, 1989. – В. 439. – 88 с.

2. Ермишин, А.П., Воронкова, Е.В., Козлов, В.А. Картофель // Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 2. Частная генетика растений / науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. – Минск: Беларус. Навука, 2010. – Гл. 4. – С. 156-234.

3. Яковлева, Г.А. Соматическая гибридизация и клеточная селекция картофеля (*Solanum tuberosum* L.) // Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия / науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. – Минск: Беларус. Навука, 2012. – Гл. 4. – С. 217-250.

4. Семанюк, Т.В. Слияние протопластов и регенерация растений в роде *Solanum* при участии *S. bulbocastanum* / Т.В. Семанюк, Г.А. Яковлева, С.В. Монархович // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тезисы IX Междунар. конф., Звенигород, 8-12 сент. 2008 г. / РАН, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, МГУ. – Звенигород, 2008. – С. 340-341.

5. Яковлева, Г.А. Устойчивость соматических гибридов картофеля с *Solanum bulbocastanum* к фитофторозу и присутствие генов *R1* и *RB* / Г.А. Яковлева и [др.] // Картофелеводство: сб. науч. тр. / РУП «Науч.-практ. центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»; редкол.: В.Г. Иванюк (гл. ред.) [и др.] – Минск, 2007. – Т. 12. – С. 81-93.

6. Яковлева, Г.А. Вовлечение межвидовых соматических гибридов *S. bulbocastanum* в селекционный процесс картофеля / Г.А. Яковлева, Т.В. Семанюк, С.В. Монархович // Картофелеводство: сб. научн. тр. / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и

плодоовощеводству»; редкол., В.Г. Иванюк (гл. ред.) и [др] – Минск, 2009. – Т.16. – С. 54-64.

7. Яковлева, Г.А. Интрогрессия признаков устойчивости к фитофторозу и вирусу Y в культурный картофель от мексиканского вида *Solanum bulbocastanum* посредством соматической гибридизации / Г.А. Яковлева, Т.В. Семанюк, И.А. Родькина, А.С. Корецкий // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Агрономія і біологія» – 2010. – випуск 10(20). – С. 90-99.

8. Семанюк, Т.В., Яковлева Г.А. Выделение межвидовых гибридов с геном *RB* из *S. bulbocastanum*, перспективных для селекции картофеля на устойчивость к фитофторозу // Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика: материалы конференции, Большие Вяземы, Московская обл., 17-21 июля, 2012 / ВНИИФ Россельхозакадемии, 2012. – С. 268-277.

9. Яковлева, Г.А. Выявление источников генов устойчивости к вирусам YVK и ВСЛК среди диких видов и межвидовых соматических гибридов картофеля / Г.А. Яковлева и [др.] // Картофелеводство: сб. научн. тр. / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»; редкол., В.Г. Иванюк (гл. ред.) и [др] – Минск, 2009. – Т.16. – С. 65-76.

10. Hawkes, J.G. The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources / J.G. Hawkes // Smithsonian Institution Press. - USA, 1990. – 259 p.

11. Бекетова, М.П. ДНК-маркеры для селекции картофеля методом интрогрессивной гибридизации / М.П. Бекетова [и др.] // Картофелеводство России: актуальные проблемы науки и практики: материалы Международного конгресса «Картофель. Россия-2007», Москва, 2007 г. / ФГНУ «Росинформагротех»; под общ. ред. А.А.Жученко. – Москва, 2007. – С.12-17.

12. Яковлева, Г.А. Формирование национальной признаковой коллекции дикорастущих видов картофеля, депонируемых *in vitro*/ Г.А. Яковлева и [др.] // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: материалы Междунар. конф., посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, Минск, 19-22 июня 2012 г. / Нац. акад. Наук Беларуси, Централ. ботан. сад; редкол.: В.В. Титок [и др.] / Минск, 2012. – Ч.2. – С. 355-358.

13. Иванюк, В.Г., Банадысев С.А., Журомский Г.К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. – Мн.: Белпринт, 2005. – 696 с.

14. Росс, Х. Селекция картофеля. Проблемы и перспективы. / Перевод с англ. В.А. Лебедевой, под редакцией И.М. Яшиной, 1989. – Москва, ВО «Агропромиздат». – 183 с.

15. Скларова, Н.П., Яшина И.М., Симаков Е.М., Жарова В.А., Кучумов В.О. Глава 6. Селекция в кн.: Картофель России / Под редакцией

А.В. Коршунова. – М., 2003. – С. 166-292. 6.1.4.1 Устойчивость к вирусам, С. 193-208.

16. Гавриленко, Т.А., Антонова О.Ю., Рогозина Е.В. Создание устойчивых к вирусам растений картофеля на основе традиционных подходов и методов биотехнологии. В кн. Идентифицированный генофонд растений и селекция, Санкт-Петербург: ГНЦ РФ ВИР, 2005. – С. 644-662.

17. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15, № 13. – P. 473-497.

18. Яковлева, Г.А. Использование белковых маркеров для анализа интрогрессии *Solanum bulbocastanum* в гибриды картофеля / Г.А. Яковлева, С.В. Монархович, Т.В. Семанюк // *Земляробства і ахова раслін.* – 2008, № 2 (57). – С. 52 - 56

CREATION PREBREEDING MATERIAL OF POTATO RESISTANT TO LATE BLIGHT FROM INTERSPECIFIC SOMATIC HYBRIDS BETWEEN TETRAPLOID CULTIVATED 78563-76 AND *S. BULBOCASTANUM*

YAKOVLEVA GALINA A., SEMANYUK TAMARA V.,
RODZKINA INNA A.

SUMMARY

*Prebreeding material of potato, perspective for resistance to late blight was created from somatic hybrids (SH) between tetraploid cultivated potato 78563-76 and *S. bulbocastanum* (SH_{SB}). It is necessary four years of vegetative propagation for stabilization of somatic hybrids and formation of first viable seedlings of their free pollination and crosses with fertile samples of cultivated potato 88.16/20, 88.14/34 in direction SH_{SB} × tbr, 4x. Sexual progenies of somatic hybrids were obtained in the period of 2000 to 2012 years: the first generation – 2000-2004, second – 2003-2008, third – 2006-2012. Initial forms for breeding on resistance to late blight were selected between interspecific hybrids of second and third sexual generations of somatic hybrids.*

Keywords: potato, somatic hybrids, generative progenies, late blight, resistance.

Поступила в редакцию 15.04.2013 г.