

ГОМОЛОГИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОФТОРОЗУ
У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ КЛУБНЕОБРАЗУЮЩИХ ВИДОВ РОДА *Solanum* L.¹© 2022 г. А. А. Гурина¹, *, Н. В. Алпатьева¹, Н. А. Чалая¹,
Н. В. Мироненко², А. В. Хютти², Е. В. Рогозина¹¹Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,
Санкт-Петербург, 190000 Россия²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
Санкт-Петербург, Пушкин, 196608 Россия

*e-mail: a.gurina@vir.nw.ru

Поступила в редакцию 16.06.2022 г.

После доработки 27.06.2022 г.

Принята к публикации 28.06.2022 г.

Возбудитель фитофтороза, оомицет *Phytophthora infestans* Mont de Bary, обладает высокой степенью изменчивости, в результате чего новые расы патогена способны преодолеть устойчивость длительное время возделываемых сортов картофеля. Примитивные культурные виды картофеля относятся к первичному генофонду, представители которого легко скрещиваются с *Solanum tuberosum* L., и их использование для селекции перспективно. Цель исследования – идентификация генотипов диких и примитивных культурных видов картофеля ВИР, несущих *Rpi*-гены. Впервые образцы примитивных культурных и диких видов картофеля (105 генотипов из коллекции ВИР) проанализированы на устойчивость к фитофторозу и наличие у них SCAR-маркеров *Rpi*-генов (*RB/blb1*, *Rpi-blb2*, *R2-like*, *Rpi-vnt1.3*). У культурного вида *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* обнаружена высокая (0.71) частота одного из двух маркерных фрагментов гена *RB/blb1* (*Rpi-sto1*), исходно охарактеризованного у дикого североамериканского вида *S. bulbocastanum*, который относится к третичному генофонду видов картофеля. У видов *S. phureja* и *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx* обнаружена высокая (0.71–0.88) частота маркера гена *Rpi-vnt1.3*, исходно охарактеризованного у дикого южноамериканского вида *S. venturii*. Впервые у примитивных видов картофеля охарактеризованы последовательности фрагментов – предполагаемых гомологов генов *Rpi-vnt1* и *RB/blb1*. У представителей *S. ajanhuiri*, *S. stenotomum* и *S. phureja* обнаружены три варианта нуклеотидных последовательностей, гомологичных *Rpi-vnt1.3*. Сделано предположение о возможной роли обнаруженного полиморфизма маркерных фрагментов *Rpi-vnt1.3* в обеспечении устойчивости примитивных культурных видов к фитофторозу.

Ключевые слова: *Rpi*-гены, SCAR-маркеры, *Phytophthora infestans*, примитивные виды картофеля.

DOI: 10.31857/S0016675822120049

Фитофтороз (возбудитель *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) – одно из наиболее вредоносных заболеваний картофеля. Вспышка этого заболевания была причиной Ирландского голода в середине XIX в. [1]. Наиболее эффективным методом борьбы с этим заболеванием является возделывание устойчивых сортов. Такие сорта создаются в результате интрогрессии генов устойчивости (*Rpi*) путем межвидовой гибридизации и последующего отбора. К настоящему времени у картофеля известно более 20 генов устойчивости к фитофторозу. В практической селекции в основном используют образцы с *Rpi*-генами, источниками которых являются дикие виды картофеля из Се-

верной и Центральной Америки – *S. bulbocastanum* Dunal, *S. demissum* Lindl., *S. stoloniferum* Schlttdl. [2]. Гены устойчивости также обнаружены и в других диких видах: североамериканских *S. cardiophyllum* Lindl. и *S. pinnatisectum* Dunal и южноамериканских *S. berthaultii* Hawkes, *S. mochiquense* Ochoa и *S. venturii* Hawkes & Hjert. и др. [3]. Для *P. infestans* характерна высокая внутривидовая генетическая вариабельность изолятов [4], которая фенотипически проявляется в виде образования новых (более вирулентных, агрессивных) рас патогена. По причине интенсивного расообразовательного процесса невозможно получить стабильно устойчивые сорта картофеля, и для эффективного проведения селекции по этому признаку требуются новые, ранее не используемые гены устойчивости. Источниками новых генов

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0016675822120049 для авторизованных пользователей.

устойчивости могут стать устойчивые примитивные культурные виды, являющиеся представителями первичного генофонда, что значительно облегчает процесс интрогрессии генов, ввиду отсутствия биологических барьеров для скрещивания [5].

Геном возбудителя фитофтороза секвенирован [6, 7]. С помощью молекулярно-генетических подходов достигнут заметный прогресс в изучении популяций *P. infestans*, молекулярных механизмов взаимодействия хозяина и патогена, генетического контроля вирулентности возбудителя и устойчивости хозяина [8]. Однако до настоящего времени нет единого мнения о том, где находится центр происхождения возбудителя фитофтороза картофеля: в центральной Мексике или южноамериканских Андах [9]. Примечательно, что оба возможных центра происхождения *P. infestans* расположены в пределах территорий, обозначенных как центры разнообразия клубнеобразующих видов секции *Petota Dumort.* рода *Solanum L.* – родичей возделываемого картофеля. В Южной Америке наибольшее видовое разнообразие диких и культурных картофелей выявлено на территории Перу, вторичный центр биоразнообразия картофелей находится на территории Мексики [10].

Клубнеобразующие виды рода *Solanum* занимают протяженный ареал, простирающийся от 38° с.ш. до 41° ю.ш., произрастают в широком диапазоне вертикальной зональности – от 0 до 5000 м над уровнем моря [10]. В пределах этой территории определены четыре центра возникновения фитофтороустойчивых форм у диких и культурных видов картофеля [11]. Изучение генетического контроля признака устойчивости к фитофторозу у видов картофеля, сформировавшихся в разных частях общего ареала секции *Petota*, является важным этапом на пути познания их филогении, установления их родственных связей. Сравнительный анализ *Rpi*-генов, выявление степени их структурного сходства позволит приблизиться к пониманию путей эволюции генетических детерминант устойчивости растений к патогену *P. infestans*. Секвенирование генома удвоенного моноплоида – клона *S. phureja* DM1-3 516 R44 [12] и его изучение активизировало интерес к группе культурных видов картофеля (ландрасам, возделываемым коренным населением в различных районах Анд). В референсной последовательности генома в результате биоинформатического поиска обнаружено 435 NBS-LRR генов (Nucleotide binding site, leucine rich repeats). К этому семейству относятся все основные *R*-гены растений, являющиеся ключевыми в обеспечении устойчивости растений к патогенам разной природы [13]. Методами классической генетики у межвидового гибрида *S. stenotomum* × *S. phureja* выявлен ген *Rpi-phu1*, локализованный на хромосоме 9. Ген *Rpi-phu1* отличается широким спектром действия, обеспечивая устойчивость как листьев, так

и клубней к фитофторозу [14, 15]. У дикого картофеля из Аргентины *S. venturii* в том же локусе хромосомы 9 идентифицирован ген устойчивости к фитофторозу *Rpi-vnt1.1* (и аллельные варианты *Rpi-vnt1.2* и *Rpi-vnt1.3*), который является гомологом гена *Tm-2²*, обеспечивающего устойчивость томата (*S. lycopersicum L.*) к вирусу мозаики томата [16]. Белки, кодируемые *Rpi-vnt1.1* и *Rpi-vnt1.3*, имеют 73% идентичности аминокислотной последовательности с белком гена *Tm-2²* [17]. Устойчивость к широкому спектру штаммов *P. infestans* обеспечивают гены дикого мексиканского вида *S. bulbocastanum*: *RB/blb1* [18], *Rpi-blb2* [19, 20] и *Rpi-blb3* [21]. В референсной последовательности DM1-3 516 R44 показана кластерная организация генов устойчивости: в том числе гомологи гена *Rpi-vnt1* на хромосоме 9, гена *Rpi-blb2* на хромосоме 6 и наиболее представительный (55 *R*-генов) кластер на хромосоме 4 [13]. Большое семейство генов, расположенных на хромосоме 4 и обеспечивающих защиту от фитофтороза, включает *R2*, *R2-like*, *Rpi-abpt*, *Rpi-blb3*, *Rpi-edn1.1*, *Rpi-hjt1.1*, *Rpi-hjt1.2*, *Rpi-hjt1.3*, *Rpi-snk1.1*, *Rpi-snk1.2* [22].

Разнообразие примитивных культурных видов картофеля, обусловленное их возделыванием в сильно различающихся климатических условиях [23], позволяет предположить наличие других, ранее неизвестных генов устойчивости к различным заболеваниям, в том числе к фитофторозу. В частности, по исследованиям Gabriel с соавт. у *S. phureja* фитофтороустойчивые образцы встречаются довольно часто, что подводит исследователей к необходимости более широкого изучения этой группы [24].

Цель данного исследования – идентификация генотипов, несущих гены устойчивости к фитофторозу (*Rpi*-гены), среди примитивных культурных видов, а также ранее не охарактеризованных образцов диких видов картофеля в коллекции ВИР. Поскольку спектр известных *Rpi*-генов чрезвычайно широк, для исследований были выбраны внутригенные SCAR-маркеры тех генов, гомологи которых ранее были обнаружены среди примитивных культурных видов и наиболее близких к культурным, диких видов картофеля [14, 25]. В первую очередь речь идет о генах *RB/blb1*, *Rpi-blb2* и *Rpi-vnt1*, у которых при биоинформатическом анализе были выявлены гомологичные последовательности референсного генома картофеля [13, 26].

Впервые проведен скрининг представительной выборки культурных и диких клубнеобразующих видов рода *Solanum L.* из южноамериканского и североамериканского центров биоразнообразия. Среди группы примитивных культурных видов картофеля было показано наличие маркеров всех исследованных генов устойчивости, кроме *R2-like*. Сопоставление данных о присутствии SCAR-маркеров и полиморфизме их последовательностей с

результатами лабораторного заражения картофеля фитопфторозом позволило предположить какие из изученных генов могут принимать участие в формировании устойчивости и выявить образцы, устойчивость которых не обусловлена ни одним из исследованных генов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы диплоидных примитивных культурных видов: *S. ajanhuiri* Juz. & Bukasov, *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx* (Juz. & Bukasov) Hawkes, *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* и *S. phureja*, а также образцы трех североамериканских и восьми южноамериканских диких видов картофеля из коллекции ВИР (Приложение 1). Для удобства сравнения с литературными источниками видовая принадлежность коллекционных образцов представлена в соответствии с наиболее распространенной систематикой секции *Petota* Dumort. рода *Solanum* L., принадлежащей J. Hawkes [27]. Всего исследованы 105 генотипов клубнеобразующих видов рода *Solanum*. Большинство (75 генотипов) относятся к группе примитивных культурных видов, 13 относятся к трем североамериканским диким видам (*S. brachystotrichum*, *S. lesteri* и *S. bulbocastanum*), а оставшиеся 17 – представители восьми диких южноамериканских видов картофеля. Исследованные генотипы дикорастущих видов получены из семян коллекционных образцов и сохраняются в виде клонов путем получения клубней у оранжерейных растений. Культурные виды поддерживаем путем получения клубневой репродукции в поле.

Культурные виды впервые проанализированы на устойчивость к фитопфторозу и наличие ДНК-маркеров *R*-генов. Включенные в опыт образцы диких видов ранее не были оценены на устойчивость к фитопфторозу, но были задействованы в других исследованиях, в частности скрининге на устойчивость к золотистой картофельной нематоде [28].

Лабораторная оценка устойчивости к фитопфторозу

Растения выращивали в теплице в пластиковых горшках объемом 500 см³ (по одному клубню в каждый горшок). Для оценки взято по 5 долей листьев срединной формации от растений в возрасте более 60 дней после посадки в двукратной биологической повторности.

Лабораторный скрининг образцов картофеля на устойчивость к фитопфторозу проводили по стандартной методике [29]. Для заражения использовался инокулюм на основе изолята MP1841, полученного из Института селекции и акклиматизации растений, Млохов, Польша (IHAR-Мло-

chow). Изолят содержит все 11 генов вирулентности (1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11). Инокулюм выдерживался в течение 30 мин при температуре 10–12°C для стимуляции выхода зооспор. Концентрация спорангиев в инокулюме соответствовала 50000 ед./мл. Листья выкладывались на увлажненную фильтровальную бумагу абаксимальной стороной вниз, между центральной и боковыми жилками наносилось по 30 мкл инокулюма. Через сутки после инокуляции листья переворачивали абаксимальной стороной вверх. В течение всего периода инокуляции поддерживались постоянные условия в климатическом боксе: 16°C [30]. Степень поражения оценивалась на шестые сутки после заражения по 9-балльной шкале [31]: образцы с оценкой от 1 до 3 баллов (поражение более 25% площади поверхности зараженного листа) считались восприимчивыми (S) к фитопфторозу, от 4 до 6 (от 5 до 25%) – среднеустойчивыми (MR) (умеренно восприимчивыми), а от 7 до 9 (менее 5%) – устойчивыми (R). Опыт проводили в двукратной повторности и устойчивость оценивали по усредненным значениям в обеих повторностях. Контролем в эксперименте служили сорта Невский (восприимчивый) и Сударыня (устойчивый).

Скрининг примитивных и диких видов картофеля с помощью SCAR-маркеров генов устойчивости RB/blb1, Rpi-blb2, R2-like и Rpi-vnt1.3

ДНК выделяли из молодых листьев картофеля в двукратной повторности с использованием СТАВ-буфера по протоколу Гавриленко и соавт. [32]. Фрагменты предполагаемых гомологов генов устойчивости у примитивных видов амплифицировали с помощью специфичных для SCAR-маркеров праймеров Rpi-blb1, Rpi-sto1, Rpi-blb2, R2-like и Rpi-vnt1.3 по протоколам, предложенным авторами (табл. 1) с использованием Таq-полимеразы (Диалат, Москва).

Продукты ПЦР визуализировали в 1.7%-ном агарозном геле, окрашивали бромистым этидием и документировали в системе BioDocII (Biometra GmbH, Германия).

Секвенирование фрагментов предполагаемых гомологов Rpi-vnt1 и RB/blb1 у примитивных видов картофеля

У семи образцов примитивных культурных видов (к-9911, к-3558, к-9345, к-8873, к-17618, к-9301 и к-1120), контрастных по устойчивости к патогену, секвенировали фрагменты, полученные с помощью праймеров Rpi-vnt1.3. У двух образцов *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* к-7366 и к-10478, восприимчивых к фитопфторозу, секвенировали фрагменты, полученные с помощью праймеров Rpi-sto1 и Rpi-blb1. Предварительно ампликоны обоих типов выделяли из ПЦР-смеси с помощью набора Cleanup

Таблица 1. Используемые в исследовании SCAR-маркеры генов *Rpi*

Ген	Маркер	Длина фрагмента, н	Последовательность праймеров	t°C отжига	Источник
<i>RB/blb1</i>	Rpi-sto1	890	F-accaaggccacaagattctc R-cctgcgggttcggttaataca	65	[33]
	Rpi-blb1	820	F-aacctgtatggcagtgcatg R-gtcagaaaaggcactcctg	62	[34]
<i>Rpi-blb2</i>	Rpi-blb2	976	F-ggactgggtaacgacaatcc R-atttatggctgcagaggacc	55	[34]
<i>R2-like</i>	R2 area 1/2	1137	F-aagatcaagtggtaaaggctgatg R-atctttctagcttccaagatcacg	60	[35]
<i>Rpi-vnt1.3</i>	Rpi-vnt1.3	611	F-ccttcctcatcctcacatttag R-gcatgccaaactattgaacaac	58	[17]

Standard, затем лигировали в pAL-TA вектор согласно протоколу фирмы “Евроген” (<http://evrogen.ru/kit-user-manuals/pAL-TA.pdf>). Для трансформации использовали штамм DH5 α *E. coli*. Подробно протокол представлен в методических указаниях ВИР [36]. Два фрагмента каждого образца секвенировали в двух направлениях с использованием оборудования ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ на приборе ABI 3500xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Выравнивание полученных последовательностей и их анализ проводили с помощью программы MEGA version 11 [37]. Идентифицировали фрагменты по степени сходства с последовательностями, депонированными в международной базе нуклеотидных последовательностей NCBI GenBank и в поисковой системе BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Нуклеотидные последовательности были депонированы в базу данных GenBank под номерами: для последовательностей гена *Rpi-vnt1.3* — ON322726—ON322739, для последовательностей гена *RB/blb1* — ON515750.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди образцов каждого культурного вида картофеля были обнаружены устойчивые (среднеустойчивые) к фитофторозу генотипы (рис. 1), что подтверждает перспективность изучения этой группы генофонда *Solanum*. Среди изученных образцов североамериканских диких видов у представителей *S. brachystotrichum* (Bitt.) Rydb. не было генотипов, устойчивых к фитофторозу, среди других видов устойчивые формы были обнаружены (рис. 2). Среди южноамериканских диких видов лишь некоторые генотипы *S. doddsii* Corell и *S. leptophyes* Bitter были среднеустойчивыми, изученные генотипы всех остальных видов восприимчивы к фитофторозу.

Встречаемость SCAR-маркеров генов *RB/blb1*, *Rpi-blb2*, *R2-like* и *Rpi-vnt1.3* у культурных и диких видов картофеля оказалась различной (рис. 1, 2). Наиболее заметны различия в распределении маркеров у североамериканских диких и примитивных культурных видов картофеля. В связи с небольшим числом образцов, изученных у южноамериканских диких видов картофеля, они представлены на рис. 2 в виде объединенной группы. Выявлена специфичность распределения SCAR-маркеров у представителей разных видов картофеля. Маркер R2 area 1/2 гена *R2-like* есть у всех изученных североамериканских диких видов, тогда как среди изученных южноамериканских видов он выявлен только у двух образцов дикого вида *S. doddsii*, а у культурных видов и вообще отсутствовал. Противоположная картина характерна для маркера Rpi-blb2: он обнаружен у представителей южноамериканских диких и культурных видов (*S. alandiae*, *S. doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. sparsipilum*, *S. yungasense*, *S. ajanhuirii* и *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx*) и отсутствовал у исследованных образцов из Северной Америки (рис. 1, 2). Маркер Rpi-vnt1.3 обнаружен у южноамериканских видов картофеля: с высокой частотой (0.71–0.88) у культурных видов *S. phureja* и *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx*, обнаружен также у диких видов *S. doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. neocardenasii*, *S. spegazzinii*, но найден только у единственного представителя североамериканских видов — образца *S. brachystotrichum*. Маркер Rpi-sto1 встречается у всех примитивных культурных видов картофеля, в том числе с высокой частотой (0.55–0.71) у образцов двух подвидов *S. stenotomum*, но из всех исследованных диких видов найден только у единственного образца *S. bulbocastanum*.

В пределах группы примитивных культурных видов наблюдаются значительные отличия по частоте двух маркеров гена *RB/blb1*. Маркер Rpi-sto1, обнаруженный у всех образцов примитивных видов, наиболее часто встречается у *S. stenotomum*

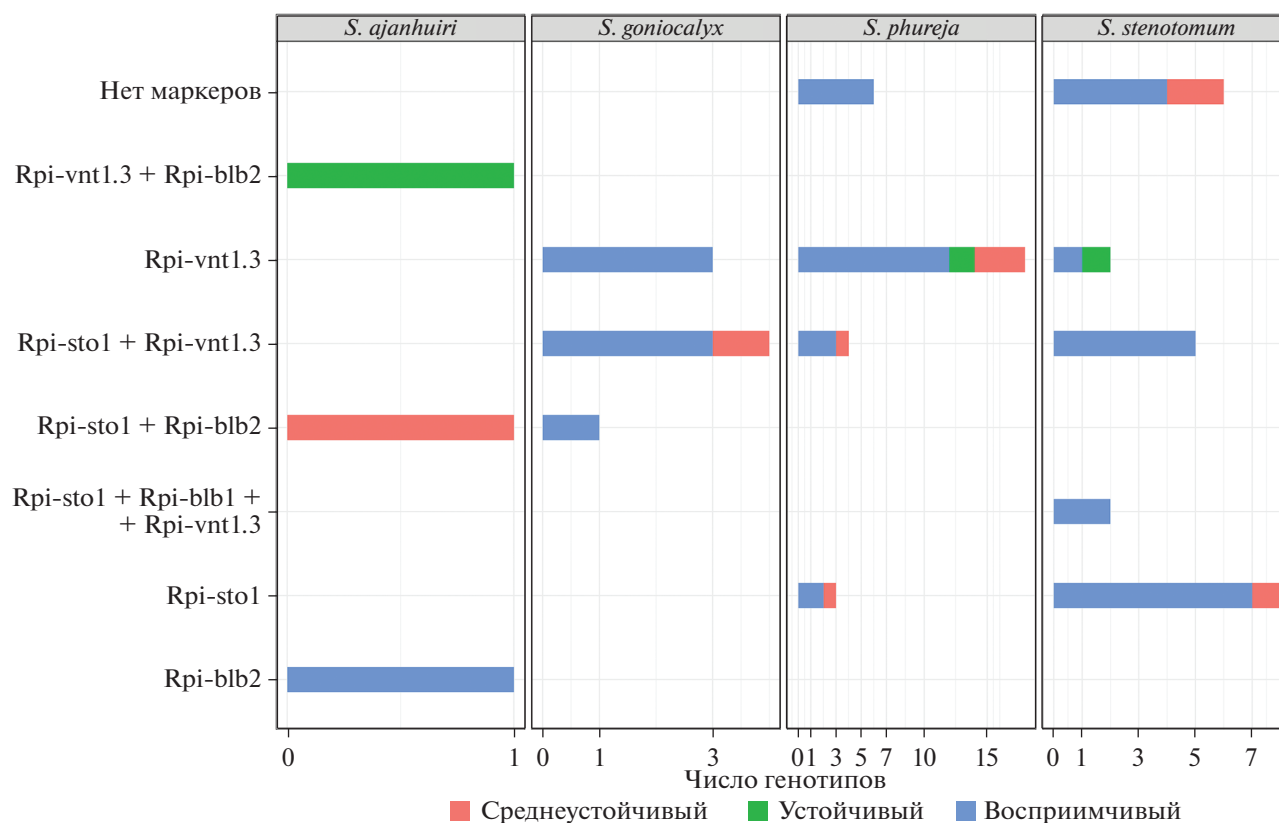


Рис. 1. Схема, демонстрирующая распределение маркеров среди различающихся по уровню устойчивости образцов примитивных культурных видов картофеля.

subsp. *stenotomum* и крайне редко у *S. phureja*; второй маркер – Rpi-blb1 обнаружен только у двух генотипов *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* (рис. 1). Маркер Rpi-blb2 обнаружен у представителей двух других видов – *S. ajanhuiri* и *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx* (рис. 1).

У *S. phureja* обнаружены два устойчивых (к-8873, к-17618) и пять среднеустойчивых (к-9345, к-11547, к-16896, к-19321, к-23516) к фитофторозу генотипов (табл. 2). Оба устойчивых образца имеют перуанское происхождение, четыре из пяти среднеустойчивых – колумбийское, еще один среднеустойчивый образец получен в Англии путем скрещивания образцов из Боливии и Колумбии. Образцы *S. phureja* из Боливии и Эквадора оказались неустойчивыми к фитофторозу. Корреляции между наличием маркеров и показателями устойчивости исследованных образцов *S. phureja* не обнаружено. Фрагмент Rpi-vnt1.3 был амплифицирован у образцов устойчивых, среднеустойчивых и восприимчивых к фитофторозу (рис. 1). У двух среднеустойчивых образцов *S. phureja* (к-11547, к-23516) также обнаружен один из двух маркеров гена *RB/blb1* – Rpi-sto1.

У *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* выявлен один устойчивый (к-11020) и три среднеустойчивых

(к-8354; к-9278; к-17486) генотипа. Три из них имеют перуанское происхождение, один среднеустойчивый (к-9278) получен в Англии путем скрещивания двух образцов из Боливии. У двух среднеустойчивых образцов этого вида не обнаружено ни одного из использованных маркеров. Единственный устойчивый генотип *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* (к-11020) так же, как и образцы *S. phureja*, обладает маркером Rpi-vnt1.3. У среднеустойчивого образца к-8354 обнаружен маркерный фрагмент Rpi-sto1, разработанный на coiled-coil домен (CC) гена *RB/blb1*, но отсутствует Rpi-blb1 – специфичный маркер для LRR-домена (leucine-rich repeat) того же гена [2]. В то же время два восприимчивых генотипа *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* (к-7366 и к-10478) имеют оба маркера гена *RB/blb1* и маркер Rpi-vnt1.3 (рис. 1).

Изученные генотипы *S. ajanhuiri* различаются по реакции на заражение патогеном, но у каждого обнаружен маркер Rpi-blb2. Кроме того, у устойчивого *S. ajanhuiri* к-9900 обнаружен SCAR-маркер Rpi-vnt1.3, а у среднеустойчивого *S. ajanhuiri* к-9911 – Rpi-sto1 (рис. 1). Среди изученных образцов *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx* выявлен только один среднеустойчивый генотип (к-9922), у которого обнаружены маркеры – Rpi-sto1 и Rpi-vnt1.3.

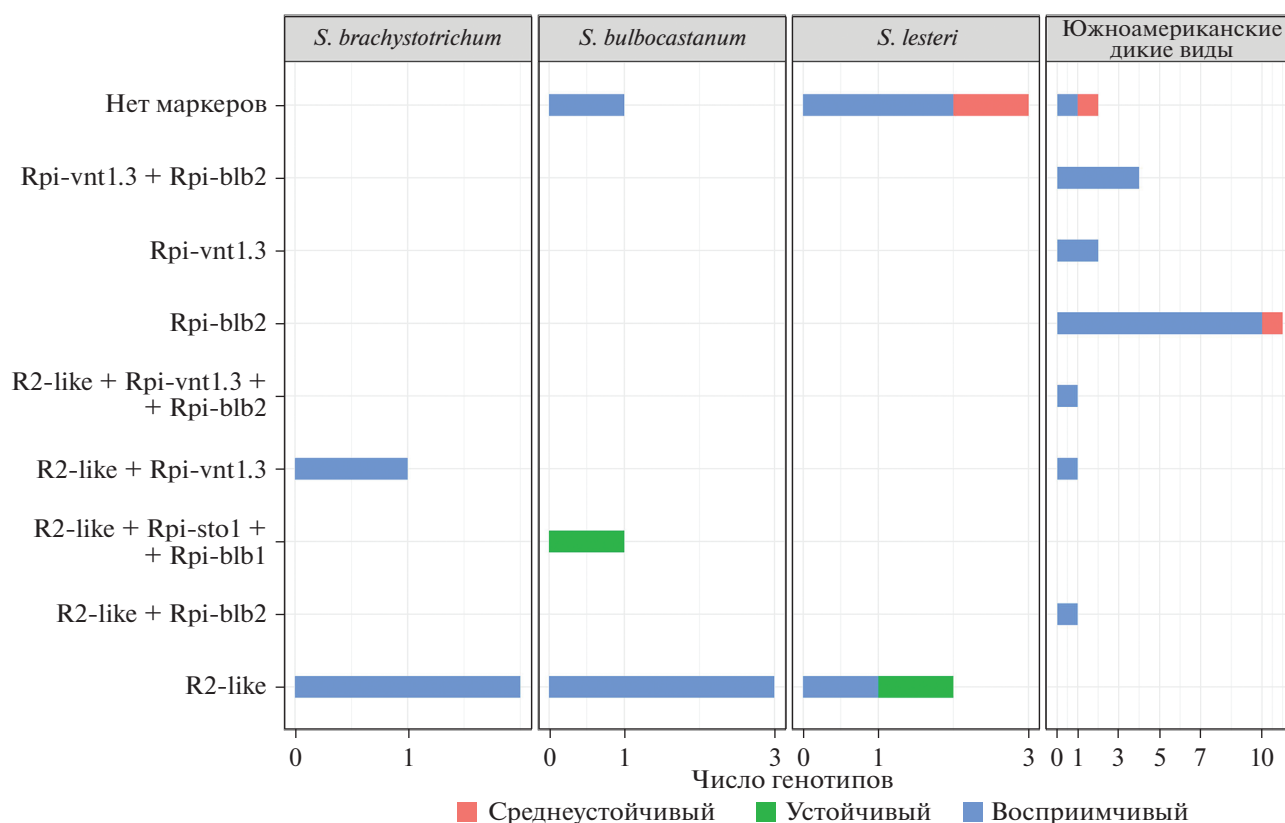


Рис. 2. Схема, демонстрирующая распределение маркеров среди различающихся по уровню устойчивости образцов диких видов картофеля.

Среди представителей диких южноамериканских видов картофеля выявлены два среднеустойчивых генотипа – *S. doddsii* (κ-19817) и *S. leptophyes* (κ-5764). У *S. doddsii* присутствует лишь один SCAR-маркер – Rpi-blb2, а у *S. leptophyes* маркеры не обнаружены.

Среди образцов диких североамериканских видов картофеля *S. bulbocastanum* и *S. lesteri* обнаружены один среднеустойчивый и два устойчивых генотипа. Все образцы *S. brachystotrichum* были восприимчивы к фитофторозу. У двух генотипов *S. bulbocastanum* κ-24868 и трех генотипов *S. lesteri* κ-24475 (в том числе одного среднеустойчивого) не обнаружено ни одного из исследованных маркеров. У устойчивого образца *S. bulbocastanum* обнаружены оба маркера гена *RB/blb1*, а также маркер гена *R2-like*. Можно предположить, что именно ген *RB/blb1* обеспечивает устойчивость этого генотипа *S. bulbocastanum* к фитофторозу, поскольку среди всех диких видов это единственный образец, обладающий обоими маркерными фрагментами гена.

У контрастных по устойчивости образцов примитивных культурных видов были изучены нуклеотидные последовательности ампликонов, полученных с использованием праймеров Rpi-sto1, Rpi-blb1 и Rpi-vnt1.3.

Нуклеотидная последовательность фрагмента Rpi-sto1 у образца *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* κ-10478 (GenBank: ON515750) в значительной степени сходна с референсной последовательностью СС-домена (coiled-coil) гена *RB/blb1* у *S. stoloniferum* (GenBank: EU884421.1), представленной в информационно-поисковой базе BLAST. Обнаружены восемь SNP в области экзона и достаточно крупная делеция (в районе между позициями 574 и 629 референсного гена) в некодирующей области (рис. 3). В то же время гомологии между нуклеотидной последовательностью другого ампликона, полученного с использованием праймеров Rpi-blb1, и референсной последовательностью LRR-домена гена *RB/blb1* (GenBank: EU884421.1) не обнаружено.

С использованием пары праймеров Rpi-vnt1.3 у большинства образцов примитивных видов были амплифицированы фрагменты ожидаемой длины около 600 пн. Выборочно фрагменты, амплифицированные у семи генотипов культурных видов, контрастных по устойчивости к фитофторозу, были выделены, клонированы и секвенированы (см. Материалы и методы). Полученные нами фрагменты представлены на рис. 4.

Таблица 2. Характеристика устойчивых и среднеустойчивых образцов

Вид	Происхождение образца	Номер коллекционного образца	Фенотип по устойчивости к фитофторозу	SCAR-маркеры
Примитивные культурные виды				
<i>S. ajanhuirii</i>	Боливия	к-9900	MR	Rpi-sto1, Rpi-blb2
<i>S. ajanhuirii</i>	Боливия	к-9911-2	R	Rpi-blb2, Rpi-vnt1.3
<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>goniocalyx</i>	Боливия	к-9922	MR	Rpi-sto1, Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Великобритания (Bol × Col)	к-9345	MR	Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Колумбия	к-11547	MR	Rpi-sto1, Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Колумбия	к-16896	MR	Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Колумбия	к-19321	MR	Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Колумбия	к-23516	MR	Rpi-sto1, Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Перу	к-8873	R	Rpi-vnt1.3
<i>S. phureja</i>	Перу	к-17618	R	Rpi-vnt1.3
<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>stenotomum</i>	Великобритания (Bol × Bol)	к-9278	MR	Не обнаружено
<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>stenotomum</i>	Перу	к-8354	MR	Rpi-sto1
<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>stenotomum</i>	Перу	к-11020	R	Rpi-vnt1.3
<i>S. stenotomum</i> subsp. <i>stenotomum</i>	Перу	к-17486	MR	Не обнаружено
Южноамериканские дикие виды картофеля				
<i>S. doddssii</i>	Боливия	к-19817	MR	Rpi-blb2
<i>S. leptophyes</i>	Великобритания	к-5764	MR	Не обнаружено
Североамериканские дикие виды картофеля				
<i>S. lesteri</i>	Мексика	к-24475-gt1	MR	Не обнаружено
<i>S. lesteri</i>	Мексика	к-24475-gt5	R	R2-area 1/2
<i>S. bulbocastanum</i>	Гватемала	к-24866	R	R2-area 1/2, Rpi-sto1, Rpi-blb1

Полученные последовательности имеют сходство с фрагментами генов *Rpi-vnt1.1* (GenBank: FJ423044), *Rpi-vnt1.2* (GenBank: FJ423045) и *Rpi-vnt1.3* (GenBank: FJ423046.1) вида *S. venturii* [16, 17] и псевдогенами типа *Rpi-vnt1* у *S. phureja* (GU338337.1) и *S. stenotomum* (GU338321.1, GU338322.1 и GU338323.1) [39]. Также выявлено сходство с фрагментом гена, кодирующего RPP13-подобный белок в полногеномной последовательности удвоенного моноплоида DM1–3 516 R44 (GenBank: XM_015315064.1).

Всего было обнаружено три варианта последовательностей, степень сходства которых с референсной последовательностью гена *Rpi-vnt1.3* (FJ423046.1) составляет 90.2, 97.7 и 94.9%. Первый вариант найден только у устойчивых к фитофторозу образцов: к-9911 *S. ajanhuirii* (GenBank: ON322726, ON322727), к-9345 (GenBank: ON322730,

ON322731), к-8873 (GenBank: ON322733) и к-17618 (GenBank: ON322735) *S. phureja*, к-11020 (GenBank: ON322739) *S. stenotomum* subsp. *stenotomum*. По сравнению с референсной последовательностью гена *Rpi-vnt1.3* в исследуемом фрагменте обнаружено 52 SNP, среди которых 22 транзиции: двенадцать G ↔ A и десять T ↔ C, а также 30 трансверсий: одиннадцать A ↔ T, четыре T ↔ G, семь G ↔ C и восемь A ↔ C. 28 нуклеотидных замен привели к замене аминокислот. Второй вариант последовательности фрагмента гена *Rpi-vnt1.1* найден только у одного ампликона устойчивого образца к-11020 *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* (GenBank: ON322738) и он отличался от аналогичного фрагмента в последовательности FJ423046.1 21 SNP, среди которых 10 транзиций (пять G ↔ A и пять T ↔ C) и 11 трансверсий (три A ↔ T, две T ↔ G, пять G ↔ C и одна A ↔ C). 14

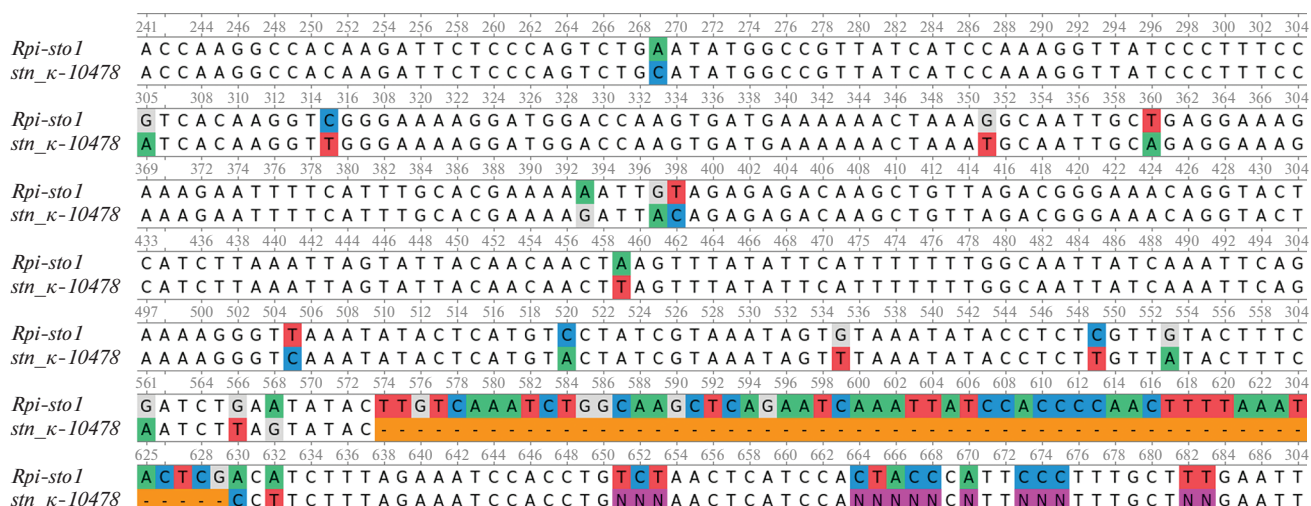


Рис. 3. Вываривание нуклеотидной последовательности фрагмента *Rpi-sto1* у образца *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* к-10478 (GenBank: ON515750) и фрагмента СС-домена референсной последовательности гена *RB/blb1* у *S. stoloniferum* (GenBank: EU884421.1). Сокращенные названия видов для рис. 3–5 приведены согласно Z. Huaman, R. Ross, 1985 [38].

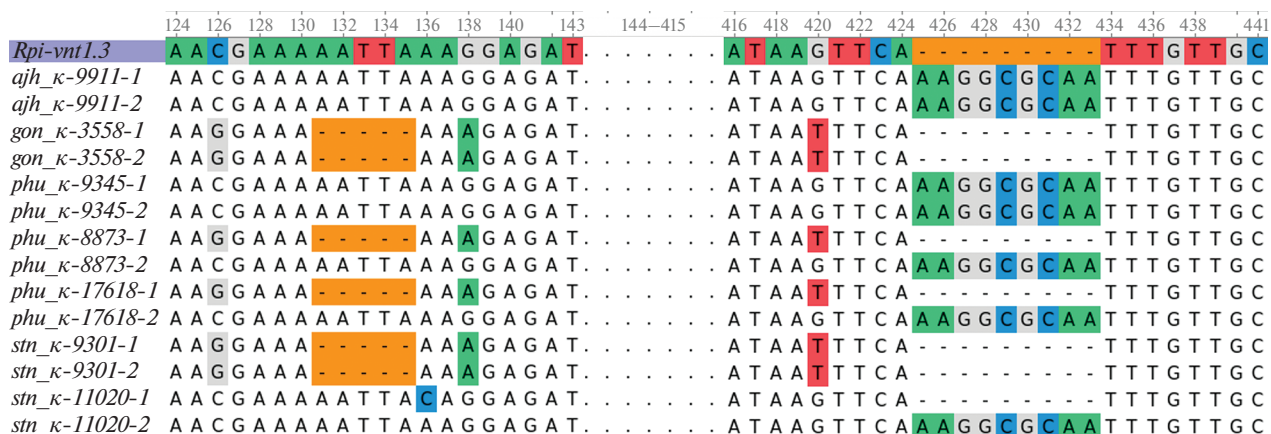


Рис. 4. Вываривание нуклеотидных последовательностей фрагмента СС-домена гомологов гена устойчивости *Rpi-vnt1.3* у клонов культурных видов: *S. ajanhuiri* (к-9911) (GenBank: ON322726, ON322727), *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx* (к-3558) (GenBank: ON322728, ON322729), *S. phureja* (к-9345) (GenBank: ON322730, ON322731), к-8873 (GenBank: ON322732, ON322733), к-17618 (GenBank: ON322734, ON322735) и *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* (к-9301) (GenBank: ON322736, ON322737), к-11020 (GenBank: ON322738, ON322739). Нумерация нуклеотидов соответствует референсной последовательности гена *Rpi-vnt1.3* (GenBank: FJ423046.1).

нуклеотидных замен оказались смысловыми. Несмотря на существенные различия, оба найденных нами варианта имеют традиционную для СС-домена структуру, в значительной степени сходную с доменом гена *Rpi-vnt1.3*. Известно, что аминокислотные последовательности СС-доменов включают повторы из семи аминокислот (гептады), причем в положениях 1 и 4 располагаются гидрофобные, а в положениях 5 и 7 — полярные аминокислотные остатки [40]. Предполагаемые аминокислотные последовательности, найденные у устойчивых к патогену образцов, имеют ту же структуру. Смысловых замен в ключевых точках гептад не обнаружено (рис. 5).

Третий вариант фрагмента гена *Rpi-vnt1.1* встречался как у устойчивых, так и восприимчивых образцов и является фрагментом псевдогена, так как имеет делецию размером в 5 нуклеотидов в СС-доме, что приводит к сдвигу рамки считывания и, следовательно, к образованию стоп-кодона (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам фитопатологического скрининга 71 коллекционного образца примитивных клубнеобразующих видов *S. ajanhuiri*, *S. stenotomum* subsp. *goniocalyx*, *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* и

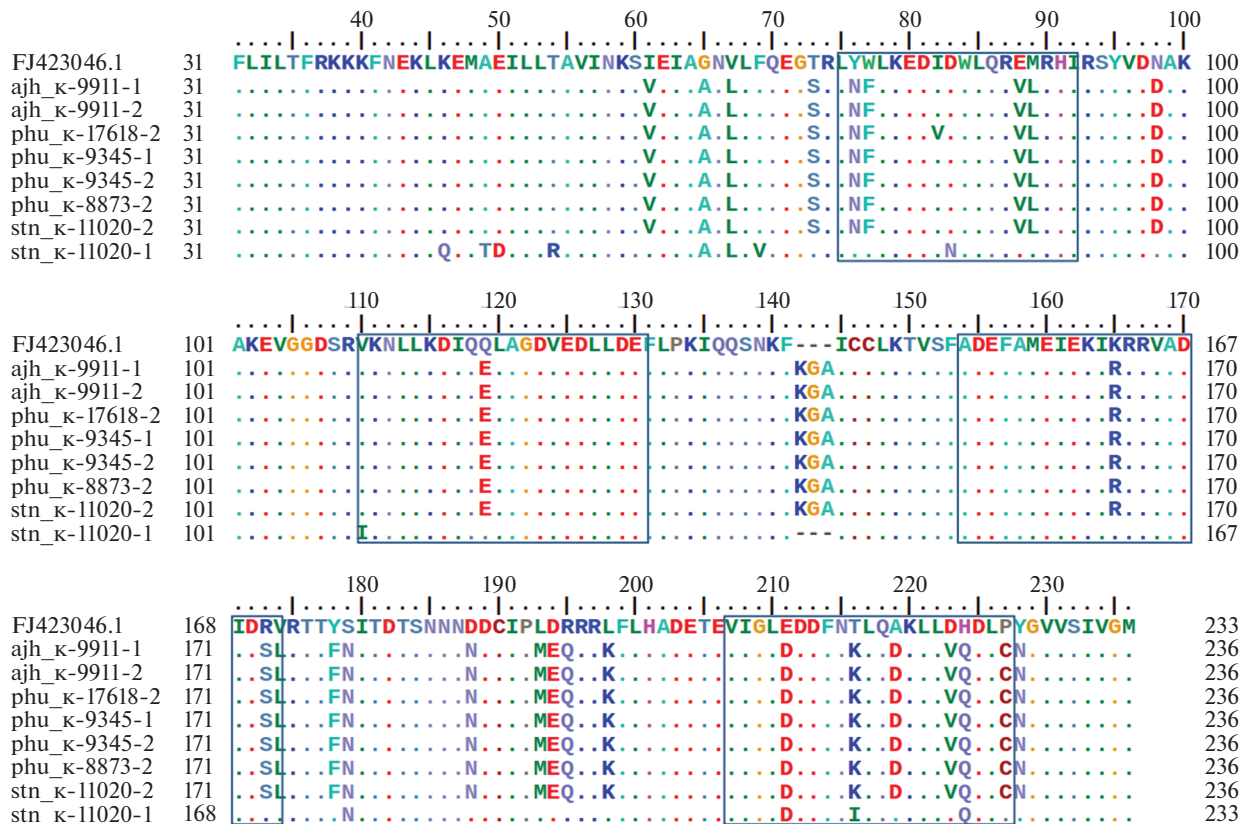


Рис. 5. Выравнивание предполагаемых белковых последовательностей фрагментов coiled-coil (CC) домена Rpi-vnt1.3 (ACJ66594.1) и предполагаемых гомологичных белковых последовательностей изученных образцов видов *S. ajanhuiri* (κ-9911) (GenBank: ON322726, ON322727), *S. phureja* (κ-8873 (GenBank: ON322733), κ-9345 (GenBank: ON3227230, ON322731) и κ-17618 (GenBank: ON322735)) и *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* (κ-11020 (GenBank: ON322739, ON322738)). Предполагаемые coiled-coil домены выделены рамками. Нумерация аминокислот соответствует последовательности Rpi-vnt1.3 (ACJ66596.1).

S. phureja с использованием в качестве инокулюма изолята *P. infestans* MP1841 выделено 14 устойчивых и среднеустойчивых образцов. В целом частота устойчивых и среднеустойчивых генотипов в выборке соответствует опубликованным данным об устойчивости к фитофторозу образцов *S. phureja* [24] и других примитивных видов [11].

При помощи SCAR-маркеров *Rpi*-генов, гомологи которых были ранее идентифицированы у удвоенного моноплоида, клона *S. phureja* DM1-3 516 R44 [13, 26], мы проанализировали присутствие маркерных фрагментов этих генов и их изменчивость у образцов *S. phureja* и близкородственных культурных видов картофеля. Проанализирована связь устойчивости к фитофторозу представителей диких и культурных видов картофеля с наличием фрагментов генов *RB/blb1*, *Rpi-blb2* и *Rpi-vnt1.3*, обеспечивающих защиту от фитофтороза у *S. bulbocastanum* и *S. venturii* [15–20]. Какой-либо связи между присутствием/отсутствием ампликонов SCAR-маркеров *Rpi*-генов и устойчивостью культурных видов картофеля к патогену *P. infestans* не выявлено.

Маркерный фрагмент гена *R2-like* не амплифицировался ни у одного из образцов примитивных видов, в то время как среди образцов североамериканских диких видов картофеля он был найден в большинстве образцов. Изначально этот ген был обнаружен у культурного картофеля (клон SW93-1015), в который он предположительно был интрогрессирован из *S. demissum* [41], ареал произрастания которого лежит в Северной и Центральной Америке. При сравнении последовательности *R2-like* (GenBank: FJ536323.1) с гомологами гена в полногеномной нуклеотидной последовательности референсного генома картофеля (NW_006239540.1) [42] были обнаружены существенные различия в нуклеотидных последовательностях. В частности, в области отжига праймеров маркера *R2* агеа 1/2 находились несколько SNP (от трех до восьми в разных гомологах). В любом случае корреляции между наличием этого маркера и устойчивостью не обнаружено ни в одной из изученных групп.

Оба маркера другого эффективного гена устойчивости к фитофторозу *RB/blb1* (*Rpi-sto1* и

Rpi-blb1) найдены только у одного устойчивого генотипа *S. bulbocastanum* и у двух восприимчивых *S. stenotomum* subsp. *stenotomum*, не выявлены ни у одного из исследованных образцов южноамериканских диких видов. В то же время фрагмент гена *RB/blb1* (маркер Rpi-sto1) встречался часто у примитивных культурных видов. Ранее при исследовании семейства NBS-LRR, к которым относится большинство известных генов устойчивости к разным заболеваниям растений, включая фитофтороз, в референсном геноме картофеля (*S. phureja* DM1-3 516 R44) был обнаружен целый ряд последовательностей схожих по отдельным участкам с *RB/blb1* [13]. Как и для гена *R2-like*, последовательности гена *RB/blb1* и его гомологов в референсном геноме удвоенного моноплоида DM1-3 516 R44 имеют ряд существенных отличий. Предсказуемо самые значительные отличия были найдены в области отжига праймеров маркера Rpi-blb1 – до 15 нуклеотидных замен. С другой стороны, наличие обоих маркеров гена *RB/blb1* у некоторых образцов *S. bulbocastanum* и *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* свидетельствует о сходстве областей праймирования у этих образцов.

Маркерный фрагмент другого гена, изначально обнаруженного у *S. bulbocastanum* – *Rpi-blb2*, не найден в образцах диких североамериканских видов и обнаружен лишь у единичных примитивных культурных видов картофеля, что также можно объяснить нуклеотидным полиморфизмом между последовательностью гена *S. bulbocastanum* (GenBank: DQ122125.1) и его гомологами у примитивных видов, особенно в областях отжига праймеров. Степень сходства *Rpi-blb2* и сходных последовательностей у DM1-3 516 R44 не превышает 90%.

Результаты исследований по поиску гомологов генов *RB/blb1* и *Rpi-blb2* у диких видов картофеля согласуются с опубликованными данными: гомологи гена *Rpi-blb2* обнаружены у южноамериканских видов *S. alandiae* и *S. okadae* [2] и отсутствуют у североамериканских видов *S. cardiophyllum*, *S. jamesii*, *S. lesteri*, *S. pinnatisectum*, *S. polyadenium*, *S. polytrichon*, *S. stoloniferum*, *S. trifidum* и *S. verrucosum* [43]. Для дальнейшего изучения гомологов гена *RB/blb1* у представителей клубнеобразующих видов рода *Solanum* следует использовать расширенную выборку образцов южноамериканских диких видов. В настоящем исследовании маркеры Rpi-sto1 и Rpi-blb1 не обнаружены у *S. alandiae*, что согласуется с данными Муратовой и соавт. [2], а также не найдены у образцов *S. doddsii*, *S. kurtzianum*, *S. leptophyes*, *S. neocardenasii*, *S. sparsipilum*, *S. spegazzinii* и *S. yungasense*. В то же время маркер RGA1F/R, амплифицируемый с другой парой праймеров, найден у южноамериканских видов *S. chacoense* и *S. huancabambense*, а также у североамериканских *S. cardiophyllum*, *S. jamesii*, *S. lesteri*,

S. pinnatisectum, *S. polyadenium*, *S. polytrichon*, *S. stoloniferum*, *S. trifidum* и *S. verrucosum* [43].

С помощью праймеров, разработанных для маркирования эффективного гена устойчивости *Rpi-vnt1*, впервые обнаруженного у дикорастущего вида *S. venturii*, и его гомолога – гена *Rpi-phu1* [16], почти у всех исследуемых образцов примитивных видов картофеля были получены маркерные фрагменты. Однако корреляции между наличием маркера и устойчивостью не наблюдалось. Авторы, ранее изучавшие гены устойчивости к фитофторозу у *S. venturii*, выявили целую серию близких по последовательностям генов, расположенных в едином кластере на хромосоме 9 [17]. Близко к этому кластеру также расположен известный ген устойчивости томата *Tm-2²* к вирусу мозаики, а также ген устойчивости к фитофторозу у *S. phureja* – *Rpi-phu1*. Высокая степень сходства *Rpi-vnt1.1*, *Rpi-vnt1.3* и относительная их схожесть с *Tm-2²* позволила предполагать их общее происхождение. В настоящем исследовании мы проанализировали N-концевые последовательности coiled-coil (CC) домена у примитивных культурных видов картофеля и выявили несколько вариаций. Один из вариантов является псевдогеном, так как несет делецию в 5 нуклеотидов, что ведет к значительным изменениям в структуре белка. У устойчивых образцов *S. ajanhuiri*, *S. phureja* и *S. stenotomum* subsp. *stenotomum* найдены другие варианты последовательностей, не имеющие стоп-кодона в данном участке. Предполагаемые аминокислотные последовательности этих фрагментов имеют характерную для CC-домена структуру и, возможно, являются частью функциональных генов. Одновременное присутствие нескольких вариантов сходных последовательностей в одном генотипе вполне объяснимо сложным строением локусов генов устойчивости типа CC-NBS-LRR с тандемно расположенными сходными последовательностями. На основе выявленных SNP у найденных вариантов в перспективе может быть разработан ПЦР-маркер для скрининга расширенной выборки примитивных видов картофеля из коллекции ВИР и оценки корреляции вариантов последовательностей подобных *Rpi-vnt1* с устойчивостью к фитофторозу.

Устойчивость к фитофторозу примитивных культурных видов *S. ajanhuiri*, *S. stenotomum*, *S. phureja* и диких видов картофеля, по-видимому, обусловлена разной генетической детерминацией. В настоящей работе для большинства устойчивых и среднеустойчивых образцов примитивных культурных видов обнаружена связь устойчивости к патогену с наличием одной из аллельных вариаций *Rpi-vnt1*. Биоинформационный поиск гомологов других известных генов устойчивости *RB/blb1*, *Rpi-blb2*, *R2-like*, изучение их полиморфизма и возможных связей с признаком у прими-

тивных культурных видов картофеля является перспективным. Наиболее интересны для дальнейшего изучения образцы *S. stenotomum* subsp. *stenotomum*, устойчивые к фитофторозу, но не обладающие ни одним из исследованных SCAR-маркеров *Rpi*-генов. Они могут послужить источниками новых, ранее неизвестных генов устойчивости.

Результаты секвенирования фрагментов *Rpi*-генов получены с использованием оборудования ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-26-00111 “Гены устойчивости картофеля к фитофторозу в контексте эволюции культурных и диких клубненосных видов *Solanum L.*”.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ristaino J.B.* Tracking historic migrations of the Irish potato famine pathogen, *Phytophthora infestans* // *Microbes Infect.* 2002. V. 4. № 13. P. 1369–1377. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(02\)00010-2](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(02)00010-2)
2. *Муратова (Фадина) О.А., Бекетова М.П., Кузнецова М.А. и др.* Южноамериканские виды *Solanum alandiae* Card. и *S. okadae* Hawkes et Hjerting как потенциальные источники генов устойчивости к фитофторозу картофеля // *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2020. Т. 181. № 1. С. 7–83. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-1-73-83>
3. *Kim H.J., Lee H.R., Jo K.R. et al.* Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants MaR8 and MaR9 is conferred by multiple stacked R genes // *Theor. Appl. Genet.* 2012. V. 124. P. 923–935. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1757-7>
4. *Samen F.M., Secor G.A., Gudmestad N.C.* Variability in virulence among asexual progenies of *Phytophthora infestans* // *Phytopathology.* 2003. V. 93. № 3. P. 293–304. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.3.293>
5. *Bradeen J.M., Haynes K.G., Kole C.* Introduction to potato // *Genetics, Genomics and Breeding of Potatoes.* Enfield, NH: Sci. Publ., 2011. P. 1–19.
6. *Haas B., Kamoun S., Zody M. et al.* Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* // *Nature.* 2009. V. 461. P. 393–398. <https://doi.org/10.1038/nature08358>
7. *Lee Y., Cho K.S., Seo J.H. et al.* Improved genome sequence and gene annotation resource for the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2020. V. 33. № 8. P. 1025–1028. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-20-0023-A>
8. *Khavkin E.E.* Plant–pathogen molecular dialogue: evolution, mechanisms and agricultural implementation // *Rus. J. Plant. Physiol.* 2021. V. 68. P. 197–211. <https://doi.org/10.1134/S1021443721020072>
9. *Martin M.D., Vieira F.G., Ho S.Y.W. et al.* Genomic characterization of a South American *Phytophthora* hybrid mandates reassessment of the geographic origins of *Phytophthora infestans* // *Mol. Biol. Evol.* 2016. V. 33. P. 478–491. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv241>
10. *Spooner D.M., Ghislain M., Simon R. et al.* Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes // *Bot. Rev.* 2014. V. 80. P. 283–383. <https://doi.org/10.1007/s12229-014-9146-y>
11. *Budin K.Z.* Genetic foci of *Solanum* species, Petota Dumort, resistant to *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary // *Gen. Resurces and Crop Evolution.* 2002. V. 49. P. 229–235. <https://doi.org/10.1023/A:1015549214779>
12. Potato Genome Sequencing Consortium. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato // *Nature.* 2011. V. 475. P. 189–195. <https://doi.org/10.1038/nature10158>
13. *Lozano R., Ponce O., Ramirez M. et al.* Genome-wide identification and mapping of *nbs*-encoding resistance genes in *Solanum tuberosum* group *phureja* // *PLoS One.* 2012, V. 7. № 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034775>
14. *Sliwka J., Jakuczun H., Lebecka R. et al.* The novel, major locus *Rpi-phu1* for late blight resistance maps to potato chromosome IX and is not correlated with long vegetation period // *Theor. Appl. Genet.*, 2006. V. 113. № 4. P. 685–695. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0336-9>
15. *Śliwka J., Jakuczun H., Kamiński P. et al.* Marker-assisted selection of diploid and tetraploid potatoes carrying *Rpi-phu1*, a major gene for resistance to *Phytophthora infestans* // *J. Appl. Genet.* 2010. V. 51. P. 133–140. <https://doi.org/10.1007/BF03195721>
16. *Foster S., Park T.H., Pel M. et al.* *Rpi-vnt1.1*, a *Tm-22* homolog from *Solanum venturii*, confers resistance to potato late blight // *MPMI.* 2009. V. 22. P. 589–600. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-5-0589>
17. *Pel M.A., Foster S.J., Park T.H. et al.* Mapping and cloning of late blight resistance genes from *Solanum venturii* using an interspecific candidate gene approach // *MPMI.* 2009. V. 22. P. 601–615. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-5-0601>
18. *Song J., Bradeen J.M., Naess S.K. et al.* Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 16. P. 9128–9133. <https://doi.org/10.1073/pnas.1533501100>
19. *van der Vossen E.A., Gros J., Sikkema A. et al.* The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato // *The Plant J.* 2005. V. 44. P. 208–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x>
20. *Orbegozo J., Roman M.L., Rivera C. et al.* *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* confers extreme resistance to late blight disease in potato // *Plant Cell Tiss.*

- Organ. Cult. 2016. V. 125. P. 269–281.
<https://doi.org/10.1007/s11240-016-0947-z>
21. Zhu S., Li Y., Vossen J.H. et al. Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato // Transgenic Res. 2012. V. 21. № 1. P. 89–99.
<https://doi.org/10.1007/s11248-011-9510-1>
 22. Aguilera-Galvez C., Champouret N., Rietman H. et al. Two different R gene loci co-evolved with Avr2 of *Phytophthora infestans* and confer distinct resistance specificities in potato // Stud. Mycol. 2018. V. 89. P. 105–115.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.01.002>
 23. Рогозина Е.В., Гурина А.А. Состав коллекции примитивных культурных видов секции Petota Dumort. рода *Solanum* L. и актуальные направления их исследования // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020. Т. 181. № 3. С. 190–202.
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-3-190-202>
 24. Gabriel J., Plata G., Cadima X., Franco J. *Solanum phureja* Juz et Buk.: Valuable source of genetic resistance to potato late blight [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] // Revista Latinoamericana de la Papa. 2013. V. 17. P. 131–142.
 25. Blouise J., Uptmoor R., Thieme R. et al. Insights into the genetic basis of the pre-breeding potato clones developed at the Julius Kühn Institute for high and durable late blight resistance // Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. 2021. V. 1. № 4.
<https://doi.org/10.1017/S1479262121000447>
 26. Jupe F., Pritchard L., Etherington G.J. et al. Identification and localisation of the NB-LRR gene family within the potato genome // BMC Genomics. 2012. V. 13. № 75.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-75>
 27. Hawkes J.G. The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources. London: Belhaven Press, 1990. 259 p.
 28. Мироненко Н.В., Рогозина Е.В., Гурина А.А. и др. Дикие родичи и межвидовые гибриды картофеля — исходный материал для селекции на устойчивость к золотистой нематоде // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020. Т. 181. № 4. С. 173–184.
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-4-173-184>
 29. Brylińska M., Śliwka J. Laboratory assessment of potato resistance to *Phytophthora infestans* // Plant Breed. Seed Sci. 2017. V. 76. P. 17–23.
<https://doi.org/10.1515/plas-2017-00016>
 30. Хотти А.В., Рыбаков Д.А., Гавриленко Т.А., Афанасенко О.С. Устойчивость к возбудителям фитофтороза и глободероза современного сортимента семенного картофеля и его фитосанитарное состояние в различных агроклиматических зонах европейской части России // Вавил. журн. генетики и селекции. 2020. Т. 24. № 4. С. 363–375.
<https://doi.org/10.18699/VJ20.629>
 31. Vleeshouwers V.G., Van Dooijeweert W., Keizer L.C. et al. A laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various *Solanum* species reflects the field situation // Eur. J. Plant Pathol. 1999. V. 105. P. 241–250.
<https://doi.org/10.1023/A:1008710700363>
 32. Gavrilenko T., Antonova O., Shuvalova A. et al. Genetic diversity and origin of cultivated potatoes based on plastid microsatellite polymorphism // Genet. Resour. Crop Evol. 2013. V. 60. № 7. P. 1997–2015.
<https://doi.org/10.1007/s10722013-9968-1>
 33. Haesaert G., Vossen J.H., Custers R. et al. Transformation of the potato variety Desiree with single or multiple resistance genes increases resistance to late blight under field conditions // CROP PROTECTION. 2015. V. 77. P. 163–175.
<https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2015.07.018>
 34. Wang M., Allefs S., van den Berg R.G. et al. Allele mining in *Solanum*: Conserved homologues of Rpi-blb1 are identified in *Solanum stoloniferum* // Theor. Appl. Genet. 2008. V. 116. № 7. P. 933–943.
<https://doi.org/10.1007/s00122-008-0725-3>
 35. Lenman M., Ali A., Mühlenbock P. et al. Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015 // Theor. Appl. Genet. 2016. V. 129. № 1. P. 105–115.
<https://doi.org/10.1007/s00122-015-2613-y>
 36. Алпатьева Н.В., Антонова О.Ю., Радченко Е.Е. и др. ПЦР-диагностика вредных организмов гуара: (методические указания). Санкт-Петербург: ВИР, 2019. 36 с.
<https://doi.org/10.30901/978-5-907145-44-3>
 37. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11 // Mol. Biol. Evol. 2021. V. 38. № 7. P. 3022–3027.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
 38. Huaman Z., Ross R. Updated listing of potato species names, abbreviations and taxonomic status // Am. Potato J. 1985. V. 62. № 11. P. 629–641.
<https://doi.org/10.1007/BF02854438>
 39. Pel M.A., Jacobsen E., Van der Vossen E.A.G et al. Chapter 4: The potato late blight resistance alleles Rpi-vnt1.1, Rpi-vnt1.2 and Rpi-vnt1.3 from *S. venturii* are not widely spread across *Solanum* section Petota and have evolved most probably by illegitimate recombination // Mapping, Isolation and Characterization of Genes Responsible for Late Blight Resistance in Potato: PhD Thesis. The Netherlands: Wageningen Univ., 2010.
 40. Mason J.M., Arndt K.M. Coiled coil domains: stability, specificity, and biological implications // ChemBioChem. 2004. V. 5. P. 170–176.
<https://doi.org/10.1002/cbic.200300781>
 41. Plich J., Tatarowska B., Lebecka R. et al. R2-like gene contributes to resistance to *Phytophthora infestans* in Polish potato cultivar Bzura // Am. J. Potato Res. 2015. V. 92. P. 350–358.
<https://doi.org/10.1007/s12230-015-9437-9>
 42. Veilleux R.E. Genetic stocks used for potato genome sequencing // The Potato Genome Compendium of Plant Genomes. Springer, 2017.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-66135-3_4
 43. Tiwari J.K., Devi S., Sharma S. et al. Allele mining in *Solanum* germplasm: Cloning and characterization of RB-homologous gene fragments from late blight resistant wild potato species // Plant Mol. Biol. Reporter. 2015. V. 33. № 5. P. 1584–1598.
<https://doi.org/10.1007/s11105-015-0859-9>

Homologues of *R* Genes for Late Blight Resistance among Tuberbearing Species of *Solanum* L. Genus

A. A. Gurina^{a,*}, N. V. Alpatieva^a, N. A. Chalaya^a, N. V. Mironenko^b, A. V. Khiutti^b, and E. V. Rogozina^a

^aVavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, 190000 Russia

^bAll-Russian Research Institute of Plant Protection, Pushkin, St. Petersburg, 196608 Russia

*e-mail: a.gurina@vir.nw.ru

Late blight pathogen, oomycete *Phytophthora infestans* Mont de Bary is high variable. As a result, pathogen's new races could overcome resistance of long-term cultivated potatoes variety. Primitive cultivated potato species belongs to primary gene pool and could easily crossed with *Solanum tuberosum* L. So their using in breeding is highly promising. In this research primitive cultivated and some wild species of potato were tested on late blight resistance and presence of late blight resistance genes (*RB/blb1*, *Rpi-blb2*, *R2-like*, *Rpi-vnt1.3*) SCAR-markers. High frequency (up to 0.71) one (*Rpi-sto1*) of two marker fragments of *RB/blb1* gene found in primitive cultivated species. This gene was originally described in wild North American species *S. bulbocastanum* Dunal, which belongs to tertiary gene pool. Three variants of nucleotide sequences homologous to a *Rpi-vnt1.3* resistance gene were found in samples of primitive potato cultivars. We made an assumption about significance discovered allelic variances of *Rpi-vnt1.3* in ensuring the resistance of primitive cultivated potato species to late blight.

Keywords: *Rpi*-genes, SCAR-markers, *Phytophthora infestans*, primitive potato cultivars.