

Молекулярно-генетический анализ сортов картофеля на устойчивость к фитопатогенам

Фатима Тамерлановна Гериева, Ирина Олеговна Газданова

Владикавказский научный центр Российской академии наук, г. Владикавказ, Россия
e-mail: Gazdanovaira2020@gmail.com.

Аннотация. Селекция картофеля традиционным способом – долгий и трудный процесс. Использование ДНК-маркеров, которые тесно связаны с генами устойчивости к болезням и вредителям, значительно усиливает поиск селекционно-ценных образцов, позволяет значительно расширить выборку тестируемого материала и, таким образом, значительно сокращает время, необходимое для создания новых сортов картофеля. С помощью ДНК-маркеров можно выбрать потомство с определенными комбинациями определенных генов. Это особенно важно, если гены контролируют один и тот же признак, например, устойчивость к определенному патогену. Это позволяет создавать генотипы с высокой устойчивостью к фитопатогенам. В результате молекулярного скрининга образцов картофеля выявлено, что маркер PVX гена устойчивости к вирусу X (Rx) диагностирован у 7 из исследованных образцов. Маркер Ry186 гена *Ryhc* среди исследованной выборки образцов не обнаружен. Маркеры RYSC33, YES3-3A, сцепленные с генами *Ryadg* и *Rysto*, обнаружены у 2 образцов. ДНК-маркеры гена устойчивости к золотистой цистообразующей нематоде (H1) и маркер гена устойчивости к бледной нематоде (*Gpa2*) обнаружены у пяти генотипов.

Ключевые слова: картофель; нематода; вирус; ген устойчивости; ДНК-маркеры; сорт.

Для цитирования: Гериева Ф. Т., Газданова И. О. Молекулярно-генетический анализ сортов картофеля на устойчивость к фитопатогенам // Аграрный научный журнал. 2022. № 6. С. 11–14. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i6pp11-14>.

AGRONOMY

Original article

Molecular and genetic analysis of potato cultivars from the collection of VSC RAS for resistance to phytopathogens

Fatima T. Gerieva, Irina O. Gazdanova

Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Vladikavkaz, Russia
e-mail: Gazdanovaira2020@gmail.com.

Abstract. Growing potatoes in the traditional way is a long and difficult process. The use of DNA markers, which are closely related to genes for resistance to diseases and pests, significantly enhances the search for breeding valuable samples and significantly expands the horizons of the sample of tested material and, thus, significantly reduces the time required to create new potato varieties. With the help of DNA markers, you can select offspring with certain combinations of certain genes. This is especially important if genes control the same trait, for example, resistance to a particular pathogen. This allows the creation of genotypes with high resistance to phytopathogens. As a result of molecular screening of potato samples, it was revealed that the PVX marker of the gene for resistance to virus X (Rx) was diagnosed in 7 of the studied samples. The Ry186 marker of the *Ryhc* gene was not found among the samples of the studied sample. Markers RYSC33, YES3-3A linked to the *Ryadg* and *Rysto* genes were found in 2 samples. A DNA marker of the gene for resistance to aureus cyst nematode (H1) and a marker of the gene for resistance to pale nematode (*Gpa2*) were found in five genotypes.

Keywords: potato; nematode; virus, gene resistance; DNA markers; cultivar.

For citation: Gerieva F. T., Gazdanova I. O. Molecular and genetic analysis of potato cultivars from the collection of VSC RAS for resistance to phytopathogens. Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal. 2022;(6):11–14. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i6pp11-14>.

Введение. Картофель (*Solanum tuberosum* L.) – один из важнейших продуктов питания не только в России, но и во всем мире. Эта культура является ключом к продовольственной безопасности благодаря ее высокой питательной ценности, обеспечиваемой углеводами, белками, клетчаткой, минералами и витаминами. Однако она в сильной степени поражается патогенами, которые снижают урожайность и качество клубней. Поэтому перед селекционерами стоит задача создания устойчивых сортов.

Традиционная селекция картофеля занимает много времени и требует значительных средств, что связано с множественными уровнями плоидности и высокой гетерозиготностью, наблюдаемой у представителей рода *Solanum*. Для ускорения селекционного процесса исследователи начали использовать молекулярные генетические маркеры. Новые возможности для решения проблемы повышения эффективности селекции картофеля открываются за счет использования методов молекулярного маркирования селекционно-ценных генов, в частности, за счет использования ДНК-маркеров доминантных генов устойчивости к болезням и вредителям [10, 12].

В связи с высокой информативностью молекул ДНК в мировой научной практике наблюдается стремительный рост числа методов молекулярно-генетического анализа культурных растений с использованием молекулярных маркеров, которые известны также под названием ДНК-маркеров [7, 8, 11]. С помощью ДНК-маркеров можно точно определить, какие специфические R-гены присутствуют в исследуемых генотипах. Как правило, идентификация ДНК-маркеров генов устойчивости менее сложная и дорогостоящая, чем фенотипическая оценка соответствующих





признаков, и ее можно использовать в любое время года [1, 5]. Использование ДНК-маркеров в селекции картофеля имеет первостепенное значение при оценке исходного материала. Информация о наличии определенных хозяйственно ценных генов, особенно генов устойчивости к болезням и вредителям, позволяет оптимизировать подбор родительских форм и прогнозировать вероятность отбора с желаемыми признаками среди гибридов [3, 6]. Их использование позволяет точно и быстро выявлять генетическое разнообразие популяций, подвидов, видов, определять хозяйственно ценные признаки еще на начальном этапе селекции. Технологии обнаружения молекулярных или ДНК-маркеров становятся важным этапом в селекции растений и все чаще используются во всем мире [4, 9, 15].

Особое значение при использовании ДНК-маркеров имеет возможность целенаправленного отбора, основанного на точных знаниях о том, какие гены и в каком состоянии передаются по наследству в выбранных селекционных формах. В то же время на оценку генотипа не могут влиять факторы окружающей среды, чего нельзя избежать при отборе в полевых условиях по фенотипу [13]. Для развития селекции картофеля большое значение имеет скрининг сортов и исходных родительских форм на наличие генов устойчивости к болезням и вредителям [2, 14].

Цель исследования – скрининг сортов картофеля селекции ВНИЦ РАН с использованием молекулярных маркеров на наличие генов устойчивости к золотистой (*Globodera rostochiensis* Woll) и бледной (*Globodera pallida* (Stone) Behrens) нематодам, X- (ХВК) и Y- (УВК) вирусам картофеля.

Методика исследований. Материалом исследований служили 20 сортов картофеля из коллекционного питомника Владикавказского научного центра РАН. В работе использовали ДНК-маркеры, показывающие наиболее высокий уровень корреляции наличия амплифицированного фрагмента и устойчивости к патогену. Для молекулярного скрининга образцов картофеля применяли ДНК-маркеры генов устойчивости:

1) к Y вирусу картофеля (YBK) – STS маркер YES3-3A, тесно сцепленный с геном *Rysto*, и SCAR маркер RYSC3 гена *Ryadg*, STS маркер Ry186 гена *Rychc* [16, 17];

2) к золотистой картофельной нематоде *G. rostochiensis* – SCAR маркеры гена *H1* – TG 689, 57 R, N 195, STS маркер Gro1-4-1 гена *Gro1-4* [17, 18];

3) к бледной картофельной нематоде *Globodera pallida* – STS маркер Gpa2-2 гена *Gpa2* [19];

4) к X вирусу картофеля (ХВК) – STS маркер PVX гена *Rxl* [17].

Исследования выполняли на базе лаборатории молекулярно-генетических исследований ВНИЦ РАН с использованием приборно-аппаратной линии для проведения ПЦР-анализа. Селекционный материал предварительно оценивали в лабораторно-полевых условиях по основным хозяйственно ценным признакам в соответствии с «Методическими рекомендациями по технологии селекционного процесса картофеля».

Молекулярно-генетический анализ. ДНК выделяли из листьев сортов картофеля с использованием набора реагентов «ДНК-Экстрен-3» (компания ООО «Синтол»).

Амплификацию ДНК проводили в термоциклере PTC-100 (MJ Research). Стандартная реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 10X буфер для Taq ДНК-полимеразы (Синтол), 2,5 мМ смесь dNTP (Хеликон), 25 мМ водный раствор хлорида магния (Fermentas), 5–10 пкмоль каждого праймера (Синтол), 0,5 е.а. Taq ДНК-полимеразы (Синтол), 20 нг пробы ДНК и 13–10 мкл автоклавированной бидистиллированной воды. Чтобы повысить производительность анализа, в одну мультиплексную реакцию объединили четыре маркера (*Ry186*, N 195, N 195, *Gpa2-2*). GBSS-маркер *waxy* (GBSSI) гена, контролирующего содержание амилопектина в крахмале, использовали как внутренний, положительный контроль, свидетельствующий о качестве матрицы ДНК и правильности проведения ПЦР.

Реакцию амплификации 8 маркеров мультиплексной ПЦР выполняли по следующей программе: 10 мин по 94 °C (1 цикл); 30 с при 94 °C, 30 с при 68 °C, 1 мин при 72 °C (5 циклов); 30 с при 94 °C, 30 с при 58 °C, 1 мин при 72 °C (35 циклов); 30 с при 94 °C, 5 мин при 72 °C (1 цикл).

Присутствие специфического фрагмента детектировали электрофоретическим разделением продуктов амплификации в 1,5%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Нуклеотидная последовательность праймеров и условия ПЦР взяты из литературных источников (табл. 1).

Для выявления первоисточников и анализа интрогрессии генетических маркеров результаты молекулярного скринирования сопоставлялись с происхождением родительских форм и гибридов.

Таблица 1

ДНК-маркеры генов устойчивости к болезням, используемые в работе

Ген	Маркер	Тип	Размер фрагмента, п.н.	Температура отжига праймеров, °C
ДНК-маркеры устойчивости к вирусу Y				
<i>Ry_{adg}</i>	RYSC3	SCAR	321	60
<i>Ry_{chc}</i>	Ry186	STS	587	55
<i>Ry_{sto}</i>	YES3-3A	STS	341	55
ДНК-маркеры устойчивости к <i>Globodera rostochiensis</i>				
<i>H1</i>	TG 689	SCAR	141	55
	N 195	SCAR	337	55
	N 146	SCAR	506	55
	57 R	SCAR	450	63
<i>Gro1-4</i>	Gro 1-4	STS	602	60
ДНК-маркеры устойчивости к <i>Globodera pallida</i>				
<i>Gpa2</i>	Gpa2-2	STS	452	60
ДНК-маркер устойчивости к вирусу X				
<i>Rxl</i>	PVX	STS	1230	58



Результаты исследований. Исследования, проведенные с помощью молекулярно-генетического анализа, на наличие генов устойчивости среди исходных родительских форм и гибридов картофеля показали, что использование ДНК-маркеров может существенно повысить эффективность и точность отбора и облегчить работу селекционера. Данные молекулярно-генетического анализа являются информативными, их можно рассматривать в качестве одного из основных критериев при составлении программ по гибридизации картофеля.

Установлено, что в селекции картофеля на устойчивость к болезням и вредителям в настоящее время используются близкородственные родительские формы, в родословной которых участвует один и тот же генетический источник, и имеются достаточно большие перспективы для расширения существующего генофонда. Для оценки устойчивости к нематоде наиболее эффективным считается применение маркеров генов *H1*, *Gro1-4-1* и *Gpa 2-2*. Проведен скрининг образцов картофеля на присутствие генов устойчивости к патотипу Ro1, золотистой картофельной нематоде, с использованием маркеров генов *H1* и *Gro1-4*. Диагностический фрагмент 452 п.н. маркера 57R и маркера TG 689 141 п.н. гена *H1* выявлен у большинства генотипов сортов картофеля (табл. 2). Доминирующие маркеры гена *Gpa 2*, который контролирует устойчивость к бледной нематоде картофеля, выявлен в сортах Вымпел, Голубка, Метеор, El Mundo, Labadia. Доминантный ген *Gro1-4*, который контролирует устойчивость к пяти патотипам (Ro1-Ro5) *G. rostochiensis* и связан с маркером Gro 1-4-1, отмечен у сорта Roko, родословной которого указан *S. spagazzinii Bitter*. Он является источником гена *Gro1-4*. Сорт картофеля, устойчивый к различным популяциям нематоды, представляет особую селекционную ценность.

Обычно маркер PVX гена *Rx1*, определяющий устойчивость к вирусу X картофеля, встречается у сортов с наличием гена *Gpa 2*. Это объясняется близким расположением генов устойчивости к вирусам и нематоде. Сочетание маркеров Gpa2-2 и PVX обнаружено у 5 образцов: Голубка, Вымпел, Метеор, El Mundo, Labadia. Образцы с геном *Gpa 2* имели также ген *Rx1*.

STS-маркер YES3-3A гена *Ry_{sto}* устойчивости к У вирусу обнаружен в отечественном сорте Метеор и Roko (Голландия). Ген устойчивости *Ry_{chc}* к У вирусу картофеля, сцепленный с маркером Ry186, не был обнаружен в исследуемых образцах. При этом у сорта Киви обнаружен в гене *RY_{adg}* с помощью маркера RYSC3. Эти гены определяют устойчивость картофеля к У вирусу. Маркеры гена *Gro1-4* и генов *Ry_{adg}*, *Ry_{sto}* встречаются реже, хотя имеют наибольшую селекционную ценность, поскольку обеспечивают оптимальную защиту картофеля ко всем пяти патотипам Ro1-Ro5 ЗКН и штаммам У вируса картофеля соответственно.

Таблица 2

Результаты исследований селекционных образцов с помощью ДНК-маркеров

№	Сорт	Наличие ДНК-маркеров									
		TG 689	57R	N 195/N146	Gro1-4	Gpa 2-2	YES3-3A	RYSC3	Ry186	PVX	5Rx1
		устойчивость к ЗКН					устойчивость к УВК и ХВК				
1	Гала	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
2	Вымпел	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1
3	Голубка	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1
4	Киви	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
5	Метеор	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1
6	Фрителла	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
7	Краса Мещеры	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
8	Невский	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	El Mundo (Голландия)	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1
10	Армада	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
11	Romano (Голландия)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	Innovator (Голландия)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Labadia (Голландия)	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1
14	Крепыш	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
15	Red Scarlett (Голландия)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
16	Рокко (Roko)	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0
17	Nixe (Германия)	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
18	Ариэль	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
19	Бриз (Белоруссия)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
20	Lady Claire (Голландия)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Примечание: 1 – маркер присутствует; 0 – маркер отсутствует. ЗКН – золотистая картофельная нематода; УВК – У вирус / ХВК – Х вирус картофеля.

Молекулярный генетический анализ образцов картофеля коллекции ВНИЦ РАН позволил выявить сорта с семью и шестью генами устойчивости к золотистой и бледной картофельным нематодам, вирусам У и Х (Метеор, Вымпел, Голубка, El Mundo, Labadia), которые можно использовать в качестве исходного ценного материала при гибридизации.

Применение молекулярных маркеров повышает эффективность отбора ценных генотипов, способствует ускорению создания новых сортов и гибридов с комплексом хозяйственно ценных признаков.

Заключение. Молекулярный скрининг на основе ДНК-маркеров позволил выделить генотипы с комбинацией различных R-генов, контролирующих устойчивость к картофельной цистообразующей нематоде и вирусам Х и У. Наличие таких форм позволяет обеспечить оптимальную защиту картофеля, а также ограничить распространение патогенов и предотвратить появление более агрессивных патотипов (расс и штаммов). Результаты молекулярного анализа на наличие маркеров генов устойчивости к патогенам можно рассматривать в качестве одного из основных критериев при составлении программ по гибридизации картофеля.

Таким образом, использование молекулярных маркеров позволяет определить наличие генов устойчивости и оценить перспективность образца за короткий промежуток времени для дальнейшей гибридизации.

1. Применение молекулярных маркеров в селекции на устойчивость к картофельной цистообразующей нематоды / В. А. Бирюкова [и др.] // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2017. Т. 178(1). С. 92–103.
2. Молекулярные маркеры генов экстремальной устойчивости к Y вирусу картофеля в сортах и гибридах *Solanum Tuberosum* L. // В. А. Бирюкова [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. 2019. № 5. С. 17–22.
3. Молекулярный скрининг сортов картофеля Фаленской селекционной станции на устойчивость к фитопатогенам / А. В. Бакулина [и др.] // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2021. Т. 22(3). С. 340–350.
4. Поиск источников устойчивости к *Globodera pallida* и к PVX в коллекции отечественных сортов картофеля с использованием молекулярных маркеров / Н. С. Клименко [и др.] // Биотехнология и селекция растений. 2019. Т. 2(1). С. 42–48.
5. Межвидовые гибриды картофеля, устойчивые к возбудителям болезней / Е. Рогозина [и др.] // Каталог мировой коллекции ВИР. СПб., 2018. Вып. 866. С. 26–31.
6. Идентификация родительских форм для селекции картофеля, устойчивого к болезням и вредителям методом мультиплексного ПЦР-анализа / Е. Рогозина [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54(1). С. 19–30.
7. Исследование коллекционных образцов картофеля на наличие генетических маркеров устойчивости к фитопатогенам / А. Б. Сайнакова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22(1). С. 18–24.
8. Хлесткина Е. К., Шумный В. К., Колчанов Н. А. Маркер-ориентированная селекция и примеры ее использования в мировом картофелеводстве // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30(10). С. 5–8.
9. Устойчивость картофеля к карантинным болезням / А. В. Хютти [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21(1). С. 51–61.
10. Álvarez D., Gutiérrez P., Marín M. Secuenciación del genoma del *Potato yellow vein virus* (PYVV) y desarrollo de una prueba molecular para su detección // Bioagro. 2017. Vol. 29(1). P. 3–14.
11. Cárdenas H. M., Sánchez P. G., Montoya M. M. Detection and sequencing of Potato virus Y (PVY) and Potato leafroll virus (PLRV) in a volunteer plant of *Solanum tuberosum* L. cv. Diacol-Capiro. Acta Agron. 2017. Vol. 66 (4). P. 625–632.
12. Gerieva F., Biryukova V., Gazdanova I. Comprehensive Assessment of Promising Potato Hybrids of Breeding VSC RAS / KnE Life Sciences. 2021. Vol. 6(3). P. 826–836.
13. Genome Enhanced Marker Improvement for Potato Virus Y Disease Resistance in Potato / B. M. Caruana et al. // Agronomy. 2021. Vol. 11. 832 p.
14. Detection of molecular markers linked to Ry genes in potato germplasm for marker-assisted selection for extreme resistance to PVY in AAFCs potato breeding program / X. Nie et al. // Can. J. Plant Sci. 2016. Vol. 96(5). P. 737–742.
15. Anticipatory breeding: molecular markers as a tool in developing donors of potato (*Solanum tuberosum* L.) late blight resistance from complex interspecific hybrids / O. Fadina et al. // Agricultural Biology. 2017. Vol. 52 (1). P. 84–94.
16. Kasai K., Morikawa Y., Sorri V. A., Valkonen J. P. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ryadg based on a common feature of plant disease resistance genes // Genome. 2000. No. 43. P. 1–8.
17. Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Nakao T. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato // Euphytica. 2011. No. 180. P. 347–55.
18. Galek R., Rurek M., De Jong W. S., Pietkiewicz G. Application of DNA markers linked to the potato H1 gene conferring resistance to pathotype Ro1 of *Globodera rostochiensis* // J. Appl. Genet. 2011. No. 52. P. 407–411.
19. Asano K., Tamiya S. Development of rapid estimation method for allele number of H1 and selection of multiplex lines in potato // Ikushugaku kenkyu (*Breed. Res.*). 2013. No. 15. 53 p.

REFERENCES

1. Primenenie molekulyarnykh markerov v seleksii naustoychivost' k kartofel'noy tsistoobrazuyushchey nematode / V. A. Biryukova et al. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2017;178(1):92–103. (In Russ.).
2. Molecular markers of genes for extreme resistance to potato virus y in varieties and hybrids of *Solanum Tuberosum* L. / V. A. Biryukova et al. *Russian agricultural science*. 2019;(5):17–22. (In Russ.).
3. Molecular screening of potato varieties bred by Falenki Breeding station for resistance to phytopathogens / A. V. Bakulina et al. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2021;22(3):340–350. (In Russ.).
4. Search for resistance sources to *Globodera pallida* and potato virus X in the collection of potato varieties using molecular markers / N. S. Klimenko et al. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(1):42–48. (In Russ.).
5. Interspecific potato hybrids resistant to pathogens / E. Rogozina et al. World catalog collection VIR. SPb, 2018;866:26–31. (In Russ.).
6. Identifikatsiya roditel'skikh form dlya seleksii kartofelya, ustoychivogo k boleznyam i vreditelyam, metodom mul'tipleksnogo PTCR-analiza / E. Rogozina et al. *Agricultural Biology*. 2019;54(1):19–30. (In Russ.).
7. Study of potato collection samples for the presence of genetic markers of resistance to phytopathogens / A. B. Sainakova et al. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(1):18–24. (In Russ.).
8. Khlestkina E. K., Shumny V. K., Kolchanov N. A. Marker-based breeding and examples of its use in world potato production. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2016;30(10):5–8. (In Russ.).
9. Potato resistance to quarantine diseases / A. V. Hyutti et al. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):51–61. (In Russ.).
10. Álvarez D., Gutiérrez P., Marín M. Secuenciación del genoma del *Potato yellow vein virus* (PYVV) y desarrollo de una prueba molecular para su detección. *Bioagro*. 2017;29(1):3–14.
11. Cárdenas H. M., Sánchez P. G., Montoya M. M. Detection and sequencing of Potato virus Y (PVY) and Potato leafroll virus (PLRV) in a volunteer plant of *Solanum tuberosum* L. cv. Diacol-Capiro. Acta Agron. 2017; 66(4):625–632.
12. Gerieva F., Biryukova V., Gazdanova I. Comprehensive Assessment of Promising Potato Hybrids of Breeding VSC RAS / KnE Life Sciences. 2021;6(3): 826–836.
13. Genome Enhanced Marker Improvement for Potato Virus Y Disease Resistance in Potato / B. M. Caruana et al. *Agronomy*. 2021;(11):832.
14. Detection of molecular markers linked to Ry genes in potato germplasm for marker-assisted selection for extreme resistance to PVY in AAFCs potato breeding program / X. Nie et al. *Can. J. Plant Sci*. 2016;96(5):737–742.
15. Anticipatory breeding: molecular markers as a tool in developing donors of potato (*Solanum tuberosum* L.) late blight resistance from complex interspecific hybrids / O. Fadina et al. *Agricultural Biology*. 2017;52(1):84–94.
16. Kasai K., Morikawa Y., Sorri V. A., Valkonen J. P. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ryadg based on a common feature of plant disease resistance genes *Genome*.2000;(43):1–8.
17. Mori K., Sakamoto Y., Mukojima N., Tamiya S., Nakao T. 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):347–55.
18. Galek R., Rurek M., De Jong W. S., Pietkiewicz G. Application of DNA markers linked to the potato H1 gene conferring resistance to pathotype Ro1 of *Globodera rostochiensis*. *J. Appl. Genet*. 2011;(52):407–411.
19. Asano K., Tamiya S. Development of rapid estimation method for allele number of H1 and selection of multiplex lines in potato. *Ikushugaku kenkyu (Breed. Res.)*. 2013;(15):53.

Статья поступила в редакцию 01.12.2021; одобрена после рецензирования 16.12.2021; принята к публикации 22.12.2021.
The article was submitted 01.12.2021; approved after reviewing 16.12.2021; accepted for publication 22.12.2021.

