



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.02.04

(21) Номер заявки
201391414

(22) Дата подачи заявки
2012.04.20

(51) Int. Cl. **C12N 15/82** (2006.01)
A01H 1/04 (2006.01)
A01H 4/00 (2006.01)
A01H 5/04 (2006.01)

(54) ВЫВЕДЕНИЕ ГИБРИДНОГО СЕМЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

(31) 11163560.3

(32) 2011.04.21

(33) EP

(43) 2014.04.30

(86) PCT/NL2012/050269

(87) WO 2012/144902 2012.10.26

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АГВЕНТУРЕ Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
**Линдхаут Виллем Хендрик, Шотте
Тёнис Филиппус, Виссер Ричард
Герардус Франсискус, Ван Экк Герман
Йоханнес, Хуттен Рональдус Корнелис
Бернардус (NL)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) CHALERMPOLE PHUMICHA ET AL.: "Cryptic improvement for fertility by continuous selfing of diploid potatoes using Sli gene", EUPHYTICA, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 149, no. 1-2, 2 June 2006 (2006-06-02), pages 251-258, XP019395452, ISSN: 1573-5060, DOI: 10.1007/S10681-005-9072-5 abstract, page 251, right-hand column, line 8 - page 252, left-hand column, line 2 figure 1, Plant material; page 252, right-hand column

CHALERMPOLE PHUMICHA ET AL.: "Expression of S-locus inhibitor gene (Sli) in various diploid potatoes", EUPHYTICA, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 148, no.

3, 28 April 2006 (2006-04-28), pages 227-234, XP019395412, ISSN: 1573-5060, DOI: 10.1007/S10681-005-9004-4 abstract, page 227, left-hand column, line 4 - page 228, left-hand column, line 3 Plant material; page 228 figure 1 table 1 page 233, left-hand column, line 26 - line 36

PHUMICHA ET AL.: "Toward the development of highly homozygous diploid potato lines using the self-compatibility controlling Sli gene", GENOME, OTTAWA, CA, vol. 48, no. 6, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 977-984, XP002577501, ISSN: 0831-2796, DOI: 10.1139/G05-066 abstract page 978, left-hand column, line 39 - right-hand column, line 7 Plant material; page 978 figure 1 tables 1, 2 page 982, left-hand column, line 1 - line 21

MARIS B: "COMPARISON OF DIPLOID AND TETRAPLOID POTATO FAMILIES DERIVED FROM SOLANUM-PHUREJA X DIAPLOID SOLANUM-TUBEROSUM HYBRIDS AND THEIR VEGETATIVELY DOUBLED COUNTERPARTS", EUPHYTICA, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, NL, vol. 46, no. 1, 1 March 1990 (1990-03-01), pages 15-33, XP008132658, ISSN: 0014-2336, DOI: 10.1007/BF00057615 page 16 - page 17

SHELLEY HERMUNDSTAD ET AL.: "Tuber yield and tuber traits of haploid-wild species F1 hybrids", POTATO RESEARCH, ASSOCIATION FOR POTATO RESEARCH, WAGENINGEN, NL, vol. 29, 1 September 1986 (1986-09-01), pages 289-297, XP008132723, ISSN: 0014-3065, DOI: 10.1007/BF02359958 Material and methods; page 290 Results; page 290 figure 1

(57) Изобретение относится к диплоидным, фертильным, самоопыляемым и по существу гомозиготным линиям картофеля, при этом указанные линии имеют признак, желательный с агрономической точки зрения, такой как агрономически значимая урожайность клубней. Настоящее изобретение также относится к способам получения таких растений и к гибридным семенам, получаемым с помощью возвратного скрещивания таких гомозиготных линий картофеля, и к растениям картофеля, выращиваемым из указанных семян.

Область техники

Изобретение относится к области сельского хозяйства, в частности к новым растениям и способам их получения. Также настоящее изобретение относится к способам улучшения генетического состава культур растений и к растениям, полученным таким образом. Также настоящее изобретение относится к способу получения гибридных семян и к гибридным семенам, полученным таким способом, и к способам получения урожая с использованием гибридных семян согласно настоящему изобретению.

Уровень техники

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является составной частью общемировой продовольственной системы. Он занимает первое место в мире среди незерновых продуктов питания, а уровень его производства в 2007 году достиг рекордных 325 млн т.

В отличие от других основных сельскохозяйственных культур, картофель размножается вегетативно от других растений картофеля. Таким образом, каждый год часть урожая - от 5 до 15% в зависимости от качества выросших клубней откладывают для повторного использования в следующем посевном сезоне. Большинство фермеров в развивающихся странах отбирают и хранят семенные клубни, выращенные на своих участках. В развитых странах фермеры скорее приобретают здоровые "сертифицированные семена" у надежных поставщиков.

Семенной картофель труднее производить и поставлять, чем зерна или семена зернобобовых культур. Соотношение семя:урожай, равное 1:20, для картофеля считается хорошим, по сравнению с 1:400 для кукурузы или 1:10000 для помидоров. Таким образом, для одного гектара может потребоваться две тонны семенного материала, чтобы максимизировать выход собираемой продукции, по сравнению с 18 кг для кукурузы. Для того, чтобы прервать стадию покоя, семенной картофель необходимо хранить в течение нескольких недель, прежде чем его можно будет высаживать. Благоприятные условия в процессе хранения, такие как количество света, температура и влажность имеют решающее значение для обеспечения хорошего качества "семян".

Кроме неудовлетворительного соотношения семя:урожай, семенной картофель привлекает и переносит вредителей и заболевания. Они включают (среди прочих) картофельную гниль, Андийских картофельных долгоносиков, нематод, клубневую моль и вирусы. Последние заносятся на поле тлей, а затем распространяются из поколения в поколение через семена. Такая вирусная инфекция может снизить урожай на величину вплоть до 20%.

Для семенного картофеля требуются высокие транспортные расходы из-за больших расстояний между основными территориями производства семян и главными зонами потребления и производства, при том что отдельные клубни семенного картофеля имеют относительно большую массу.

Чтобы прокормить растущее население планеты сейчас и в будущем, картофельная промышленность должна продолжать расти, чтобы удовлетворять потребности потребителей. В научных исследованиях и разработках приложены значительные усилия, направленные на модернизацию посева, сбора урожая с полей и переработки картофеля, а также на получение экономически выгодных разновидностей картофеля. Благодаря скрещиванию картофеля, исследователи надеются получить картофель с желательными характеристиками хорошей переработки, как для потребления в свежем виде, так и в промышленных целях, с высоким содержанием растворимых сухих веществ, высокой урожайностью, устойчивостью к заболеваниям и вредителям и приспособляемостью к различным районам и условиям выращивания.

Исследования, приводящие к получению разнообразных разновидностей картофеля, которые сочетают выгодные характеристики, указанные выше, являются в значительной степени эмпирическими. Данные исследования требуют больших затрат времени, являются трудоемкими и дорогостоящими. Выведение сорта картофеля часто может занимать до восьми или более лет с последующим размножением в течение по меньшей мере пяти лет для получения количеств, достаточных для коммерческого использования. Выведение начинается с тщательного отбора высших родителей для включения наиболее важных характеристик в потомство. Так как все желательные признаки, как правило, не появляются в одном потомстве, выведение представляет собой непрерывный процесс отбора лучших рекомбинантов, сочетающих предпочтительные признаки своих предков.

Трудность задачи создания новой разновидности картофеля можно понять лучше всего, зная генетику картофеля. Коммерческие сорта картофеля имеют тетраплоидный геном. Диплоидные клубни, как правило, слишком малы для необходимого коммерческого применения. Кроме того, тетраплоидный геном является в высшей степени гетерозиготным, часто несущим несколько аллелей в локусе. Считается, что невозможность самоопыления, которая в первую очередь встречается на диплоидном уровне, и инбредная депрессия являются причиной поддержания высокой генетической изменчивости, встречающейся у картофеля, а сверхдоминирование гетерозиготных аллелей (гетерозис) приводит к появлению сильных растений. В типичном потомстве картофеля, полученном в результате скрещивания двух неродственных родительских линий, вредные аллели, таким образом, могут способствовать либо снижению приспособляемости в случае гомозиготности, либо увеличению силы в случае гетерозиготности. Ясно, что селекционер нуждается в крупных популяциях для максимизации шансов обнаружения растений, которые несут относительно большое число гетерозиготных локусов и небольшое количество гомозиготных локусов, а также проявляющих полезные комбинации признаков, желательных с агрономической точки

зрения.

Современные способы выведения картофеля основаны на контролируемых скрещиваниях родительских клонов, которые сами являются результатом сложного предварительного выведения, в ходе которого используются, среди прочих специальных методов, такие методы как удвоение хромосом, спасение зародыша и соматическое слияние, для того чтобы ввести в эти клоны полезные характеристики от, например, диких и примитивных видов *Solanum*. Затем родительский материал, который считают подходящим для дальнейшей селекции, после процедуры фенотипического отбора взаимно скрещивают и полученные неоднородные гибридные семена высевают в больших количествах в парники. Из десятков тысяч индивидуальных F1 получают клубни для саженцев и хранят для посадки на следующий год. На следующий год высаживают в поле отдельный "семенной" клубень из каждого полученного саженца. Следует соблюдать предельную осторожность, чтобы избежать попадания вирусов и возникновения заболеваний, так как материал размножается только клонально (вегетативно) до продажи отдельным потребителям спустя годы. После второго года получают образцы клубней для измерения плотности и предварительных тестов на обжарку, чтобы определить пригодность материала для коммерческого использования. Множество клубней растений, которые выжили в процессе отбора до этого момента, затем высевают на третий год для проведения более сложной серии тестов на обжарку и для определения плотности. На четвертый год выведения уменьшенное число растений, прошедших отбор, выращивают в непрерывно возрастающих количествах и подвергают полевым испытаниям в несколько этапов, чтобы определить их приспособляемость к различным условиям выращивания. В конце концов, разновидности, имеющие превосходные агрономические свойства, передают другим хозяйствам, и количество "семян" (в виде клубней) увеличивают до промышленных масштабов. Поскольку один "семенной" клубень может давать от 6 до 20 клубней урожая, этот процесс увеличения масштабов может длиться годами, прежде чем получают достаточное количество "семян". Как правило, к этому времени восемь или более лет посадки, уборки урожая и проведения тестов оказываются вложенными в попытки разработать новые и улучшенные сорта картофеля.

Чтобы снизить инбредную депрессию, селекционер может ввести новые гены от генетически более отдаленных родителей, например, от диких и примитивных видов с уровнем пloidности от диплоидного до гексаплоидного. Однако когда скрещивают два генетически неродственных растения картофеля, уровень гетерозиготности может быть увеличен, но одновременно также привносятся и более вредоносные гены. В результате селекционер, как правило, выполняет дополнительные скрещивания с более коммерческой зародышевой плазмой для обогащения популяции благоприятными аллелями. Всего такая программа выведения с использованием многочисленных скрещиваний может занять десятки лет, так как отбор благоприятного генотипа в каждом поколении уже может занимать пять лет. Таким образом, выведение картофеля в настоящее время является преимущественно эмпирической задачей, строго характеризующейся пробами и ошибками.

Картофель и родственные ему дикие виды (клубнеобразующие виды *Solanum*) в большинстве случаев размножаются путем аутбридинга, потому что самооплодотворению препятствует гаметофитная система неспособности к самоопылению. Неспособность к самоопылению (SI, self-incompatibility) представляет собой общее название нескольких генетических механизмов для покрытосеменных, препятствующих самоопылению и инбридингу. У растений с SI, когда пыльцевое зерно, выработанное растением, попадает на рыльце того же растения или другого растения с аналогичным генотипом, процесс прорастания пыльцы, роста пыльцевой трубки, оплодотворения семязпочки и развития зародыша останавливается на одном из этапов, и, следовательно, семена не вырабатываются. У тетраплоидного картофеля неспособность к самоопылению не обнаружена.

Обеспечение таких самоопыляемых клонов может способствовать получению потомков самоопыленного картофеля, и, следовательно, получению (высоко) гомозиготных линий картофеля. Это могло бы обеспечить большую возможность получения гомозиготных элитных селекционных линий картофеля. Тем не менее, на сегодняшний день не удалось получить гомозиготные элитные линии с генетически закрепленными признаками, желательными с агрономической точки зрения, которые позволили бы получать генетически единообразные гибридные семена картофеля.

Обеспечению гомозиготных элитных линий препятствуют неизвестные причины. Самоопыление от случайного самоопыляемого клона приводит к более медленному снижению гетерозиготности, чем ожидалось теоретически. Более медленное снижение гетерозиготности может быть результатом непреднамеренного, но неизбежного отбора во время самоопыления у гетерозиготных растений в потомстве, которые обладают повышенными силой, фертильностью и прорастанием семян. Подразумевается, что, так как гетерозиготность снижается при самоопылении, фертильность и сила также снижаются, и растения могут стать слабыми и совершенно стерильными. Ситуация ухудшается, возможно, из-за закрепления гомозиготных конфигураций рецессивных вредоносных генов. Это явление, которое обычно обозначают термином "инбредная депрессия", значительно затрудняло получение гомозиготных линий картофеля и, следовательно, получение единообразных гибридных семян картофеля.

Существует широко распространенное предубеждение против получения гомозиготных селекционных линий картофеля в связи с инбредной депрессией. В публикации Uijtewaal et al. (*Euphytica* 36 (1987)

745-753) показано, что из-за стерильности гомозиготные клоны картофеля не будут иметь большого значения для практической селекции. Предполагалось получение гомозиготных инбредных линий, но это оказалось невозможным для картофеля (Umaerus, 1987, Proceeding of the 10th Triennial Conference of the European Association of Potato Research, Aalborg, Denmark, pp 72-103, о чем говорится в публикации Almekinders et al. 2009 Potato Research 52:275-293). Долгое время считалось перспективным использовать подходы, включающие удвоение гаплоидов. Тем не менее, до сегодняшнего дня преобладает мнение, что инбредная депрессия у диплоидного картофеля слишком сильна, чтобы когда-нибудь привести к получению сильных гомозиготных растений.

В публикации Bihman and Hosaka (Genome 43:495-502 (2000)) была предложена возможность использования гена *Sli*, полученного из *S. chacoense*, для получения линий истинного высокогомозиготного семенного картофеля (TPS) и гетерозисной селекции картофеля. Тем не менее, на сегодняшний день не было сообщений о получении с использованием предложенного направления исследований гомозиготных линий с хорошими агрономическими признаками, такими как хорошая урожайность клубней. Наоборот, указанные гомозиготы, которые были получены, не проявляют какой-либо видимой агрономически значимой урожайности клубней.

Rommens в 2010 (Genetic modification of Plants, Kempen & Jung, eds, B: Biotechnology in Agriculture and Forestry 64(1): 61-77 (2010)) был сторонником способа генетической трансформации в связи с тем, что усилиям по улучшению урожайности и качества этой культуры препятствует инбредная депрессия.

В общих чертах, получение истинных селекционных линий картофеля считается невозможным. По этой причине при селекции картофеля нельзя обойтись без традиционных схем, основанных на скрещивании тетраплоидных гетерозигот. В результате комбинирование различных признаков использования (относящихся к использованию в свежем и обработанном виде), устойчивости к патогенам и вредителям и многих других важных с агрономической точки зрения признаков с улучшением урожайности коммерчески приемлемого сорта является непростой задачей (Douches et al. 1999, Crop Science 36(6): 1544-1552).

Задачей настоящего изобретения является предложение средств и способов получения элитных селекционных линий картофеля и получения единообразного гибридного семенного картофеля, из которого можно вырастить растения, демонстрирующие агрономически значимую урожайность клубней.

Краткое описание изобретения

Авторами настоящего изобретения были предприняты попытки получения гомозиготных родительских селекционных линий для генеративного размножения картофеля различными путями, но ни одна из них не была успешной. Эти неудачные пути включали андрогенез, гиногенез, удвоение гаплоидов и продолженное самоопыление. Только благодаря повторяемому самоопылению самоопыляемого растения, несущего ген *Sli*, полученный из *S. chacoense*, и его применению, авторам изобретения удалось получить продукт согласно настоящему изобретению.

Согласно настоящему изобретению ниже предложены способы и растения, перечисленные в пунктах прилагаемой формулы изобретения.

Согласно первому аспекту изобретения предложена диплоидная фертильная самоопыляемая и по существу гомозиготная линия картофеля, включающая растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение. Растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение, в настоящем описании в общем случае также считаются сильными.

Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения, помимо указанной урожайности клубней, указанная линия имеет по меньшей мере один, более предпочтительно по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 (дополнительных) признаков, желательных с агрономической точки зрения. Предпочтительно, указанные признаки, желательные с агрономической точки зрения, выбраны из группы, состоящей из устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к заболеваниям (включая, но не ограничиваясь перечисленными, устойчивости к парше, вызванной *Streptomyces* spp, порошистой парше, *Rhizoctonia*, серебристой парше, *Phytophthora infestans*), устойчивости к гербицидам, холодостойкости, устойчивости к засухе, устойчивости к влажности, устойчивости к сухой и мокрой гнили, устойчивости к засолению и устойчивости к образованию сахара на холоде.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанной линии картофеля согласно настоящему изобретению, растения указанной линии при созревании приобретают среднюю массу свежих листьев и побегов по меньшей мере 500 г на растение. Растения, приобретающие среднюю массу свежих листьев и побегов по меньшей мере 500 г на растение, в настоящем описании в общем случае также считаются сильными.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено растение линии в соответствии с настоящим изобретением согласно описанию выше. Предпочтительно, указанное растение является диплоидным, фертильным, самоопыляемым и по существу гомозиготным и имеет среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено семя растения согласно описанию выше. Указанное семя может быть гомозиготным (т.е. представлять собой самоопыленное семя), но также может быть гетерозиготным по аллелям, по которым различаются родители. Согласно одному вари-

анту реализации, указанное семя предпочтительно представляет собой семя единообразного гибридного картофеля. Такое семя единообразного гибридного картофеля является результатом скрещивания двух гомозиготных, способных к самоопылению, фертильных и сильных растений линии в соответствии с настоящим изобретением, согласно описанию выше, предпочтительно двух различных линий, при этом линии содержат по меньшей мере 20% контрастирующих гомозиготных локусов по результатам анализа молекулярных маркеров.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, включающей растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 граммов на растение, включающий:

(а) обеспечение первого растения картофеля, которое представляет собой растение первой диплоидной, самоопыляемой, фертильной и по существу гомозиготной линии картофеля;

(b) обеспечение второго растения картофеля, причем, указанное второе растение картофеля представляет собой растение диплоидной или тетраплоидной линии картофеля, которая может иметь любой уровень гомозиготности, при этом указанная линия второго растения картофеля включает растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение;

(с) перекрестное опыление указанного первого и второго растения картофеля с получением семян и сбор указанных семян для получения, таким образом, поколения потомства в форме семян гибридного потомства;

(d) выращивание указанного семени гибридного потомства в популяцию растений картофеля гибридного потомства и отбор из указанной популяции растений, дающих клубни с урожайностью, выраженной в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение, и

(е) самоопыление указанного растения картофеля гибридного потомства или возвратное скрещивание указанного растения картофеля гибридного потомства с растением картофеля указанной линии указанного первого растения картофеля в течение 1-8 самоопылений или возвратных скрещиваний с получением, таким образом, селекционной линии диплоидного, самоопыляемого и по существу гомозиготного картофеля, включающей растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение.

Первое растение картофеля согласно способу, описанному в настоящей заявке, предпочтительно представляет собой растение первой диплоидной, самоопыляемой, фертильной и по существу гомозиготной линии картофеля, при этом способность к самоопылению обусловлена присутствием доминантного аллеля гена ингибитора (Sli) локуса S (локуса самоопыляемости), который не является аллельным локусу S согласно описанию в публикации Hosaka and Hanneman 1998 *Euphytica*, 99: 191-197.

Вышеуказанный способ, при реализации в достаточно большом масштабе (по меньшей мере более 10000 растений) и с использованием подходящего второго растения картофеля, которое предпочтительно представляет собой диплоидный клон картофеля, который не является по существу гомозиготным, причем, указанная линия указанного второго растения картофеля включает растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение, предпочтительно линия, такая как IVPAA-096-18 (D2) согласно описанию в разделе примеры ниже, приводит к получению по существу гомозиготной, фертильной, сильной и самоопыляемой селекционной линии, при этом указанная сила в частности представлена средней урожайностью клубней, выраженной в граммах сырой массы, и составляет по меньшей мере 200 г на растение. Обеспечение такой селекционной линии является ключевым этапом обеспечения генетически гомозиготного истинного семени картофеля (TPS, true potato seed).

Первую и вторую селекционные линии затем можно использовать для получения TPS, если как первая, так и вторая селекционная линия имеют характеристики, желательные с агрономической точки зрения, обладают хорошей общей способностью к скрещиванию и предпочтительно имеют по меньшей мере 20% контрастирующих гомозиготных локусов, определяемых посредством анализа молекулярных маркеров.

Согласно предпочтительному варианту реализации указанного способа получения диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля в соответствии с настоящим изобретением, указанные этапы а)-е) повторяют, при этом этап b) включает обеспечение третьего (или следующего) растения картофеля, при этом указанное третье растение картофеля представляет собой растение диплоидной или тетраплоидной линии картофеля, которая может иметь любой уровень гомозиготности, при этом указанное третье растение картофеля является донором для дополнительного признака, желательного с агрономической точки зрения. Предпочтительно, указанный признак выбирают из группы, состоящей из устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к заболеваниям (включая, но не ограничиваясь перечисленными, устойчивость к парше, вызванной *Streptomyces spp*, порошистой парше, *Rhizoctonia*, серебристой парше, *Phytophthora infestans*), устойчивости к гербицидам, холодоустойчивости, устойчивости к засухе, устойчивости к влажности, устойчивости к сухой и влажной гнили, устойчивости к засолению и устойчивости к образованию сахара на холоде или любого

другого признака, желательного с агрономической точки зрения, или желательной характеристики согласно определению в настоящем описании.

Второе или третье растение картофеля согласно описанию выше может соответственно представлять собой диплоидный клон картофеля, выбранный из растений D1-D21, перечисленных ниже в табл. 6 примера 3. Специалисту в данной области техники будет понятно, что также можно использовать другие диплоидные клоны картофеля. Наиболее предпочтительно использовать клон картофеля IVPAA-096-18 (D2), который доступен в Лаборатории селекции картофеля (IVP) (Dr. Ir Ronald B.C. Hutten), Университет Вагенингена, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Вагенинген, Нидерланды.

Подходящие (коммерческие) источники тетраплоидных сортов можно получить через базы данных European Cultivated Potato Database (ECPD) по адресу <http://www.europotato.org/menu.php> и/или Potato Pedigree Database of the expertise group Plant Breeding (сотрудничество Лаборатории селекции растений, Laboratory of Plant breeding, Wageningen UR, Нидерланды) и с филиалом Biodiversity and breeding of Plant Research International (PRI), Вагенинген, Нидерланды по адресу <http://www.plantbreeding.wur.nl/potatopedigree/>.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанного способа, указанное первое растение картофеля представляет собой растение картофеля линии NCIMB 41663, NCIMB 41664, NCIMB 41665 или NCIMB 41765; образцы семян указанных линий депонированы в NCIMB, Абердин, Шотландия.

Согласно еще одному предпочтительному варианту реализации указанного способа, указанное второе растение картофеля представляет собой растение второй диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля.

Согласно еще одному предпочтительному варианту реализации указанного способа, указанное второе растение картофеля представляет собой растение второй диплоидной, фертильной, несамоопыляемой линии картофеля.

Способ получения диплоидной селекционной линии картофеля также может включать этапы усиления селекционной ценности селекционной линии диплоидного картофеля посредством перекрестного опыления, самоопыления и возвратного скрещивания при постоянном отборе по наличию признаков, желательных с агрономической точки зрения. Проводятся экспериментальные скрещивания для оценки общей скрещиваемости (способности к перекрестному опылению).

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложена диплоидная селекционная линия картофеля, более предпочтительно элитная линия, получаемая в соответствии со способом согласно настоящему изобретению согласно описанию выше.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено гибридное семя картофеля, получаемое посредством скрещивания растений первой и второй диплоидной селекционной линии картофеля согласно настоящему изобретению, как описано выше, при этом указанные растения указанной первой и второй селекционной линии диплоидного картофеля содержат по меньшей мере 20% контрастирующих гомозиготных локусов, что можно определить с помощью анализа молекулярных маркеров.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения единообразного гибридного семени картофеля, включающий:

(a) обеспечение первого растения картофеля, при этом первое растение картофеля представляет собой растение первой диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля,

(b) обеспечение второго растения картофеля, при этом указанное второе растение картофеля представляет собой растение второй диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, при этом указанные первое и второе растения содержат по меньшей мере 20% контрастирующих гомозиготных локусов, определяемых посредством анализа молекулярных маркеров, и

(c) перекрестное опыление указанного первого и второго растения картофеля, обеспечение образования одним из указанных родительских растений ягод с семенами и сбор указанных семян из указанных ягод с получением поколения потомства в форме семян гибридного потомства.

Согласно предпочтительному варианту реализации способа получения гибридного семени указанные первое и второе растения картофеля происходят от линий картофеля, включающих растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 граммов на растение, предпочтительно, при этом указанные первое и второе растения картофеля представляют собой растения, имеющие урожайность клубней по меньшей мере 200 граммов сырой массы на растение.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанного способа получения гибридного семени по меньшей мере одно из указанных первого и второго растений картофеля имеет по меньшей мере один признак, желательный с агрономической точки зрения, предпочтительно выбранный из группы, состоящей из устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к заболеваниям (включая, но не ограничиваясь перечисленными, устойчивость к парше, вызванной *Streptomyces* spp, порошистой парше, *Rhizoctonia*, серебристой парше, *Phytophthora infestans*), устойчивости к гербицидам, холодоустойчивости, устойчивости к засухе, устойчивости к влажности, устойчивости к сухой и мокрой гнили, устойчивости к засолению и устойчивости к образованию сахара на холоде.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации способа получения гибридного семени согласно настоящему изобретению указанная первая линия картофеля представляет собой диплоидное, самоопыляемое и по существу гомозиготное растение картофеля потомства, содержащее ген *Sli*, предпочтительно, при этом указанное первое растение картофеля представляет собой растение линий картофеля NCIMB 41663, NCIMB 41664, NCIMB 41665 или NCIMB 41765, образцы семян которых депонированы в NCIMB, Абердин, Шотландия, или растение картофеля их диплоидного, самоопыляемого и по существу гомозиготного потомства.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации способа получения гибридного семени согласно настоящему изобретению указанное второе растение картофеля представляет собой растение второй диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, предпочтительно имеющей по меньшей мере два признака, желательных с агрономической точки зрения, выбранных из группы, состоящей из устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к заболеваниям (включая, но не ограничиваясь перечисленными, устойчивость к парше, вызванной *Streptomyces spp*, порошистой парше, *Rhizoctonia*, серебристой парше, *Phytophthora infestans*), устойчивости к гербицидам, холодоустойчивости, устойчивости к засухе, устойчивости к влажности, устойчивости к сухой и мокрой гнили, устойчивости к засолению и устойчивости к образованию сахара на холоде.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено семя линий картофеля NCIMB 41663, NCIMB 41664, NCIMB 41665 или NCIMB 41765, при этом образцы семян указанной линии депонированы в NCIMB, Абердин, Шотландия.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено семя, получаемое указанным способом получения единообразного гибридного семени картофеля согласно настоящему описанию.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено растение гибридного картофеля или его часть, полученные в результате выращивания указанного семени согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложены пыльца или семяпочка растения гибридного картофеля или их часть согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен клубень растения гибридного картофеля согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено растение картофеля, имеющее все физиологические и морфологические характеристики растения гибридного картофеля, полученного в результате выращивания семени согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложена культура ткани растений гибридного картофеля согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено растение картофеля, регенерированное из культуры ткани согласно настоящему изобретению, при этом указанное регенерированное растение картофеля имеет все физиологические и морфологические характеристики растения гибридного картофеля, полученного в результате выращивания семени согласно настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения гибридного семени картофеля, при этом указанный способ включает скрещивание первого растения картофеля со вторым растением картофеля и сбор полученного гибридного семени картофеля, при этом указанное первое и/или второе родительское растение картофеля представляет собой диплоидное, фертильное, самоопыляемое и по существу гомозиготное растение согласно настоящему изобретению, которое имеет среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 граммов на растение.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения растения гибридного картофеля, включающий получение семени в соответствии со способом согласно настоящему изобретению и выращивание из указанного семени растения картофеля.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено растение картофеля, полученное способом согласно настоящему изобретению, или его клубень.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ, включающий набор из по меньшей мере 4 способных к перекрестному скрещиванию диплоидных, фертильных, самоопыляемых и по существу гомозиготных линий картофеля, включающих растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение согласно настоящему изобретению, при этом каждая из указанных линий отличается от другой линии в указанном наборе по меньшей мере на 20% контрастирующих гомозиготных локусов, что можно определить с помощью анализа молекулярных генетических маркеров.

Согласно настоящему изобретению также предложен вариант реализации способов в соответствии с настоящим изобретением, описанных выше, включающий этапы:

(а) обеспечения первого растения картофеля, при этом первое растение картофеля представляет собой растение первой диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, несущей хромосомы с аллелями признаков, желательных с агрономической точки зрения, которые будут проявляться в поколениях потомства,

(b) обеспечения второго растения картофеля, при этом указанное второе растение картофеля представляет собой растение второй диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, несущей хромосомы с аллелями признаков, желательных с агрономической точки зрения, которые будут проявляться в поколениях потомства, и которые могут отличаться от признаков указанного первого растения, и

(с) перекрестного опыления указанного первого и второго растения картофеля таким образом, что одно из указанных родительских растений образует ягоды с семенами, и сбора указанных семян из указанных ягод с получением поколения потомства в форме семян гибридного потомства, несущих набор хромосом с указанными аллелями.

Таким образом, согласно альтернативному варианту реализации растение первой линии картофеля может нести хромосомы с аллелями признаков, желательных с агрономической точки зрения, которые будут проявляться в поколениях потомства, в таком случае признак растения второй линии картофеля, желательный с агрономической точки зрения, может отличаться от признаков указанного первого растения.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ получения растения картофеля, устойчивого к гербицидам, устойчивого к нематодам, устойчивого к насекомым и/или устойчивого к заболеваниям, при этом указанный способ включает получение семени согласно способу, предложенному в настоящем изобретении, описанному выше, посредством скрещивания родительских линий, которые являются устойчивыми к гербицидам, устойчивыми к нематодам, устойчивыми к насекомым и/или устойчивыми к заболеваниям, и выращивание растения из указанного семени.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено растение картофеля, устойчивое к гербицидам, устойчивое к нематодам, устойчивое к насекомым и/или устойчивое к заболеваниям, полученное способом согласно настоящему изобретению, описанным выше.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен способ предотвращения передачи вирусных инфекций между поколениями картофеля, включающий:

(a) обеспечение первого растения картофеля, которое представляет собой растение первой диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля,

(b) обеспечение второго растения картофеля, при этом указанное второе растение картофеля представляет собой растение линии картофеля, которое может иметь любой уровень пloidности и/или любой уровень гомозиготности, причем, указанное второе растение картофеля несет хромосому с аллелем признака, желательного с агрономической точки зрения, который будет проявляться в поколении потомства;

(с) перекрестное опыление указанного первого и второго растения картофеля таким образом, что одно из указанных родительских растений образует ягоды с семенами, и сбор указанных семян из указанных ягод с получением поколения потомства в форме семян гибридного потомства, несущих хромосому с указанным аллелем;

(d) выращивание из семени указанного гибридного поколения растения картофеля гибридного поколения, несущего хромосому с указанным аллелем, и

(e1) сбор клубней указанного растения картофеля гибридного поколения с получением клубней, проявляющих указанный признак, или

(e2) самоопыление указанного растения картофеля гибридного потомства или возвратное скрещивание указанного растения картофеля гибридного потомства с растением картофеля указанной линии указанного первого растения картофеля, с получением, таким образом, растений дальнейшего потомства, несущих хромосому с указанным аллелем, и при этом с каждым этапом возвратного скрещивания или самоопыления у указанных растений потомства увеличивается гомозиготность.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложена диплоидная, фертильная, самоопыляемая и по существу гомозиготная линия картофеля, включающая растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение, при этом указанное растение получают посредством:

(a) обеспечения первого растения картофеля, при этом первое растение картофеля представляет собой растение первой диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля,

(b) обеспечения второго растения картофеля, при этом указанное второе растение картофеля представляет собой растение диплоидной линии картофеля, имеющее среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение,

(с) перекрестного опыления указанного первого и второго растения картофеля, обеспечения образования одним из указанных родительских растений ягод с семенами и сбора указанных семян из указанных ягод с получением поколения потомства в форме семян гибридного потомства,

(d) выращивания из семени указанного гибридного потомства растения картофеля гибридного потомства,

(е) возвратного скрещивания указанного растения картофеля гибридного потомства с растением картофеля указанной линии указанного первого растения картофеля и отбора из растений потомства, полученных таким образом, растения, которое является диплоидным, самоопыляемым и сильным, что

выражается в том, что оно дает клубни с урожайностью, выраженной в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 граммов на растение, и

(f) самоопыления указанного диплоидного, самоопыляемого и сильного растения в течение 1-8 поколений при осуществлении отбора по самоопыляемости и силе, согласно определению в пункте (е).

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено семя гибридного картофеля, которое при посеве дает диплоидное, фертильное, самоопыляемое и по существу гетерозиготное растение картофеля, имеющее среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 граммов на растение, при этом указанное растение получают посредством:

(а) обеспечения первой диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, включающей растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение,

(b) обеспечения второй диплоидной, фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, включающей растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение, при этом указанные первое и второе растения содержат по меньшей мере 20% контрастирующих гомозиготных локусов, что можно определить с помощью анализа молекулярных маркеров, и

(с) перекрестного опыления указанного первого и второго растения картофеля, обеспечения образования по меньшей мере одним из указанных родительских растений ягод с семенами и сбора указанных семян из указанных ягод с получением поколения потомства в форме семян гибридного потомства.

Этапы отбора или обеспечения растений, которые являются гомозиготными, или этап отбора или обеспечения растений, имеющих по меньшей мере 20% контрастирующих локусов, как описано выше, могут включать отбор по маркерам с использованием молекулярно-генетических маркеров согласно настоящему описанию.

Описание чертежей

На фиг. 1 представлена схема получения гибридных видов картофеля с использованием способов и растений согласно настоящему изобретению, при этом указаны различные этапы получения коммерческих гибридов картофеля:

0. Зародышевая плазма картофеля: указанный источник включает по существу все генотипы картофеля в пределах известных культивируемых видов картофеля (*Solanum tuberosum*) и родственных скрещиваемых видов;

1. Самоопыляемый диплоидный картофель: культурный картофель (*Solanum tuberosum*) обычно не является самоопыляемым. Самоопыляемость вносят от родственных видов (см., например, Hermesen, J.G.Th. 1978, *Euphytica* 27, 1-11);

2. Гомозиготный, фертильный, самоопыляемый диплоидный картофель: гомозиготные диплоиды могут быть получены посредством удвоения гаплоидов (Uijtewaal et al, 1987, *Theor. Appl. Genet.* 73, 751-78), с помощью культуры пыльников (Jacobsen and Sopory, 1977, *Theor. Appl. Genet.* 52, 119-123), культуры семяночек или методом повторяемых самоопылений (Phumichai & Hosaka, 2006, *Euphytica* 149, 251-258). Пример последнего представлен ниже;

3. Сильный, фертильный, гомозиготный, самоопыляемый диплоидный картофель: сила увеличивается при скрещивании с другим диплоидным картофелем, самоопылении и возвратном скрещивании при отборе по увеличенной силе;

4. Селекционные линии диплоидного картофеля: признаки, желательные с агрономической точки зрения, вносят посредством скрещивания с другим диплоидным картофелем, самоопыления и возвратного скрещивания при отборе по указанным признакам;

5. Элитные селекционные линии диплоидного картофеля: селекционная ценность также увеличивается при перекрестном опылении, самоопылении и возвратном скрещивании при постоянном отборе по признакам, желательным с агрономической точки зрения. Осуществляют экспериментальные скрещивания для оценки общей скрещиваемости;

6. Гибридные сорта картофеля: скрещивают хорошо скрещиваемые селекционные линии. Полученные семена представляют собой истинные семена гибридного картофеля, которые являются единообразными.

На фиг. 2 показаны схематические родословные популяций, депозитов и растений согласно описанию в разделе примеры, начиная со скрещивания диплоидного, по существу гомозиготного и самоопыляемого растения картофеля ("Н") с тремя различными диплоидными клонами (D1, D2, и D3), которые не являются по существу гомозиготными и самоопыляемыми и служат донорскими линиями одного или более признаков, желательных с агрономической точки зрения. Получение ряда по существу гомозиготных линий в результате возвратного скрещивания линий с полностью самоопыленными клонами, каждый из которых имеет один или несколько желаемых признаков, полученных от донорских линий, обеспечивает набор элитных селекционных линий для получения ряда гибридных сортов картофеля в форме гибридного семени. Символ $\otimes$ обозначает самоопыление. Как следует и подробно описано в разделе примеры, только донорская линия D2 приводила к получению большого числа самоопыляемых растений, которые проявляли силу согласно настоящему описанию. Также можно получить сильные растения от

других скрещиваний, хотя и с существенно меньшей частотой (0,1-1%).

На фиг. 3 показана сверхплотная карта сцепления генома диплоидного селекционного клона RH89-039-16. Число с левой стороны группы сцепления указывает совокупное количество событий рекомбинации, подсчитанное сверху вниз. Количество маркеров AFLP в каждом столбике диаграммы выражено оттенком серого согласно легенде фигуры. Предполагаемые положения центромер отмечены символом "Cen" вдоль хромосомы (van Os et al., 2006 Genetics 173(2):1075-1087). Числа с правой стороны от группы сцепления указывают приблизительное расположение соответствующего маркера PotSNP согласно настоящему описанию, при этом приводится ссылка на аннотации маркеров на табл. 5B в примере 3 ниже. Фигура четко отображает распределение информативных маркеров в геноме картофеля данного клона. Похожее распределение данных маркеров наблюдали для другого клона, использованного в настоящем описании, клона SH83-92-488.

На фиг. 4 показаны данные 100 маркеров 20 различных генотипов диплоидного картофеля, представляющих зародышевую плазму диплоидного картофеля (пример 2).

На фиг. 5 показан результат анализа маркера SNP согласно описанию в примере 3 в наборе из шести популяций F3 и их соответствующих родителей.

Подробное описание настоящего изобретения

Определения

Термин "картофель" в настоящем описании обозначает материал, который по существу относится к видам *Solanum tuberosum*, но может включать внесенные сегменты других клубнеобразующих видов *Solanum*, таких как *Solanum chacoense*, *Solanum phureja*, *Solanum andigena*, *Solanum demissum*.

Термин "растение картофеля" в настоящем описании обозначает саженец или взрослое растение, выращенное из культуры клеток или семени. Специалистам в данной области техники будет понятно, что при использовании в контексте термин "растение картофеля" согласно настоящему изобретению также включает производные разновидности, которые сохраняют существенные отличительные характеристики например, видов картофеля, которые являются предметами настоящего изобретения, таких как растение, полученное в результате конверсии одного гена указанного вида, или трансгенное производное, имеющее один или более несущих дополнительную ценность генов, встроенных в него (такие как ген устойчивости к гербицидам или вредителям). Согласно настоящему изобретению можно использовать методы возвратного скрещивания для улучшения или введения характеристики в разновидность.

Термин "скрещивание" согласно настоящему описанию обозначает оплодотворение растений женского пола (или гамет) растениями мужского пола (или гаметами). Термин "гаметы" обозначает гаплоидную репродуктивную клетку (яйцеклетку или спермий), выработанную растением в процессе митоза из гаметофита и участвующую в половом размножении, в процессе которого две гаметы противоположного пола сливаются с образованием диплоидной зиготы. Обычно термин включает пыльцу (включая сперматогоний) и семяпочку (включая яйцеклетку). Таким образом, термин "скрещивание" обычно обозначает оплодотворение семяпочек одного растения пыльцой другого растения, при этом "самоопыление" обозначает оплодотворение семяпочек пыльцой того же растения. Скрещивание широко используется для выведения растений и приводит к смешиванию генетической информации двух скрещиваемых растений, одна хромосома от матери и одна хромосома от отца. Это дает новую комбинацию генетически наследуемых признаков. Обычно потомство скрещивания обозначается "F1". Если F1 является единообразным (сегрегирует), оно обычно обозначают термином "популяция F1". "Самоопыление" гомозиготного растения обычно дает генетически идентичное растение, т.к. при этом отсутствует генетическое разнообразие. "Самоопыление" F1 приводит к появлению потомства, которое сочетает все признаки, которые имеют гетерозиготные локусы в F1. Такое потомство обозначают терминами "F2" или "популяция F2".

При употреблении термина "скрещивание" в контексте достижения интрогрессии части или сегмента генома, специалисту в данной области будет понятно, что для достижения интрогрессии только части хромосомы одного растения в хромосому другого растения необходима случайная рекомбинация частей геномов обеих родительских линий во время скрещивания благодаря кроссинговеру при выработке гамет в родительских линиях. Таким образом, геномы обоих родителей должны быть скомбинированы в одной клетке с помощью скрещивания, что приведет к интрогрессии после выработки гамет указанной клеткой и их слияния при оплодотворении.

Термин "способные к перекрестному опылению" в настоящем описании обозначает способность давать растения потомства после осуществления скрещиваний родительских растений.

В настоящем описании термины "интрогрессия", "интрогрессировать" и "интрогрессированный" означают как естественный, так и искусственный процесс, при котором отдельные гены или целые хромосомы переходят от одного растения, вида, разновидности или сорта в геном другого растения, вида, разновидности или сорта при скрещивании указанных растений, видов, разновидностей или сортов. При выведении растений указанный процесс обычно включает самоопыление или возвратное скрещивание с рекуррентным родителем с получением растения с повышающейся гомозиготностью, имеющего все характеристики рекуррентного родителя кроме интрогрессированного гена или признака.

Термин "интрогрессия" обозначает результат события интрогрессии.

Термин "возвратное скрещивание" обозначает результат процесса возвратного скрещивания, при

котором растение, полученное в результате скрещивания двух родительских линий, скрещивают (повторно) с одной из его родительских линий, при этом родительскую линию, использованную для возвратного скрещивания, обозначают термином "рекуррентный родитель". Повторяемое возвратное скрещивание приводит к замещению фрагментов генома донорского родителя фрагментами рекуррентного родителя. Потомство возвратного скрещивания обозначают "BCx" или "популяция BCx", при этом "x" обозначает количество возвратных скрещиваний.

Термин "возвратное скрещивание" согласно настоящему описанию обозначает повторное скрещивание гибридного потомства обратно с рекуррентными родителями. Родительское растение картофеля, которое вносит ген для желаемых характеристик, обозначается термином нерекуррентный или донорский родитель. Эта терминология обозначает, что нерекуррентный родитель используется один раз в протоколе возвратного скрещивания и таким образом, не встречается повторно. Родительское растение картофеля, которому переносят ген или гены нерекуррентного родителя, обозначают термином рекуррентный родитель, т.к. его используют для нескольких этапов в протоколе возвратного скрещивания. Согласно обычному протоколу возвратного скрещивания, исходную интересующую разновидность (рекуррентный родитель) скрещивают со второй разновидностью (нерекуррентным родителем), который несет отдельный ген, интересный для переноса. Полученное потомство от этого скрещивания затем повторно скрещивают с рекуррентным родителем и процесс повторяют до тех пор, пока не получают растение картофеля, в котором проявляются по существу все морфологические и физиологические признаки рекуррентного родителя, помимо отдельного гена или ограниченного количества генов, перенесенных от нерекуррентного родителя.

Отбор подходящего рекуррентного родителя является важным этапом для успешного возвратного скрещивания. Целью методики возвратного скрещивания является изменение или замещение отдельного признака или характеристики в исходном сорте. Для этого отдельный ген рекуррентного сорта модифицируют, замещают или добавляют желаемый ген нерекуррентного родителя при сохранении всех желаемых генов и, таким образом, желаемых физиологических и морфологических признаков исходного сорта. Выбор определенного нерекуррентного родителя зависит от цели возвратного скрещивания. Одной из главных целей является добавление некоторых коммерчески желательных, важных с агрономической точки зрения признаков рекуррентному родителю. Конкретный протокол возвратного скрещивания для исследования зависит от характеристики или признака, который меняют или добавляют. Хотя методы возвратного скрещивания упрощаются, если передаваемой характеристикой является доминантный аллель, также можно переносить рецессивный аллель. В таком случае может потребоваться введение анализа потомства для определения того, были ли перенесены желательные характеристики. Предпочтительно, такие гены контролируют по диагностическим молекулярным маркерам.

Аналогично, трансгены можно ввести в растение с использованием любого из большого количества традиционных методов рекомбинации, известных специалистам в данной области техники.

Было идентифицировано большое количество признаков, определяемых одним геном, которые не всегда отбирают при получении нового сорта, но которые можно улучшить с помощью методов возвратного скрещивания и геной инженерии. Признаки, определяемые одним геном, могут быть или не быть трансгенными, примеры таких признаков включают, но не ограничиваются ими: устойчивость к гербицидам, устойчивость к бактериальным, грибным или вирусным заболеваниям, устойчивость к насекомым, однородность или повышение концентрации крахмала или других углеводов; повышенную питательную ценность; снижение склонности клубней к смятию и снижение степени превращения крахмала в сахара.

Термин "самоопыление" обозначает процесс самооплодотворения, при котором растение опыляется или оплодотворяется его собственной пыльцой. Повторяемое самоопыление в конечном итоге дает гомозиготное потомство.

Термин "линия" в настоящем описании обозначает популяцию растений, полученных при однократном скрещивании, возвратном скрещивании или самоопылении. Отдельные растения потомства не обязательно идентичны друг другу. Отдельные растения потомства могут не быть сильными, фертильными или самоопыляемыми из-за природной изменчивости. Однако предполагается, что приемлемые растения, которые являются сильными, фертильными и самоопыляемыми, можно с легкостью определить в линии и использовать для дополнительных целей разведения.

В настоящем описании термин "аллель" ("аллели") обозначает любую из одной или более альтернативных форм гена, все аллели которого относятся по меньшей мере к одному признаку или свойству. В диплоидной клетке или организме две копии гена занимают соответствующие локусы на паре гомологичных хромосом. Каждая копия может быть отличной от другого аллеля.

Термин "ген" в настоящем описании является единицей наследственности (часто определяется последовательностью ДНК), которая расположена в определенном месте на хромосоме и несет генетическую инструкцию для вклада в возможную фенотипическую характеристику или признак растения.

Термин "локус" в настоящем описании обозначает положение, которое занимает данный ген на хромосоме данных видов растений.

В настоящем описании термин "гомозиготный" обозначает состояние гена, когда в соответствующую

щих локусах гомологичных хромосом находятся одинаковые аллели.

Термин "по существу гомозиготный" обозначает уровень гомозиготности по меньшей мере 25%, предпочтительно по меньшей мере 50%, более предпочтительно по меньшей мере 75%, еще более предпочтительно по меньшей мере 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% гомозиготности при исследовании 100, предпочтительно 1000, более предпочтительно по меньшей мере 10000 локусов. Специалисту в данной области техники будет понятно, что уровень гомозиготности растения является по определению уровнем гомозиготности, показанным в целом по геному растения, и что такое исследование 100, предпочтительно 1000, более предпочтительно по меньшей мере 10000 локусов отражает уровень гомозиготности в целом по геному растения, такой как, например, полученный путем случайного выбора локусов, но это может зависеть от применяемых маркеров.

Уровни гомозиготности представляют собой средние значения в популяции и предпочтительно относятся к тем локусам, по которым различаются родители.

В настоящем описании термин "гетерозиготный" обозначает состояние гена, когда в соответствующих локусах гомологичных хромосом находятся различные аллели.

Термин "рекомбинация" или "рекомбинировать" обозначает обмен информацией между двумя гомологичными хромосомами в процессе мейоза. В рекомбинантном растении ДНК, которая изначально находится в определенном месте на хромосоме, например, связана с геном/локусом, обменивается на ДНК другого растения (т.е. материнская на отцовскую или наоборот). Для обмена только необходимым материалом и сохранения ценной исходной информации на хромосоме насколько возможно обычно необходимы два концевых события кроссинговера или рекомбинации. При двойной рекомбинации этот обмен происходит с обеих сторон гена/локуса. Одним из способов обнаружения такого двойного рекомбинанта является исследование популяции растений F₂. Указанная популяция должна быть большой, т.к. двойная рекомбинация происходит только с ограниченной частотой. В другом случае двойные рекомбинанты в пределах генетической единицы могут быть результатом последующего возвратного скрещивания. Частота двойной рекомбинации является произведением частот отдельных рекомбинантов. (Например, рекомбинанты на площади 10 сМ можно встретить с частотой 10%, двойные рекомбинанты встречаются с частотой $10\% \times 10\% = 1\%$).

В настоящем описании термин "потомство" обозначает генетических потомков или потомство.

В настоящем описании термин "популяция" обозначает генетически гетерогенную коллекцию растений, имеющих общее генетическое происхождение.

Термин "событие рекомбинации" обозначает событие митотического или мейотического кроссинговера, включая событие GМО.

В настоящем описании термин "гибрид" обозначает любое потомство скрещивания генетически непохожих растений, более предпочтительно термин обозначает потомство скрещивания двух селекционных линий (элитных или инбредных), которое не является копией родительского растения при выращивании из семян.

Термин "сегрегировать" в настоящем описании обозначает разделение спаренных аллелей во время мейоза таким образом, что члены каждой пары аллелей встречаются в разных гаметах. Термин включает ссылку на результат данного генетического феномена, при котором популяция потомства скрещивания, в котором по меньшей мере один из родителей является гетерозиготным по аллельному гену, не является единообразной по фенотипическому признаку, определяемому указанным геном.

Термин "селекционная линия" в настоящем описании обозначает линию культивированного картофеля, обладающего коммерчески ценными или желательными с агрономической точки зрения характеристиками в отличие от диких разновидностей или местных сортов. Термин включает ссылку на элитную селекционную линию или элитную линию, которая представляет собой по существу гомозиготную, обычно инбредную линию растений, используемую для получения коммерческих гибридов F₁. Элитную селекционную линию получают посредством селекции и отбора по превосходным агрономическим показателям, включающим множество признаков, желательных с агрономической точки зрения. Элитное растение представляет собой любое растение элитной линии. Превосходные агрономические показатели относятся к желательной комбинации признаков, желательных с агрономической точки зрения, согласно настоящему определению, при этом желательно, чтобы большинство, предпочтительно все признаки, желательные с агрономической точки зрения, были улучшены в элитной селекционной линии по сравнению с не элитной селекционной линией. Элитные селекционные линии являются по существу гомозиготными и предпочтительно инбредными линиями.

Термин "элитная линия" в настоящем описании обозначает любую линию, которую получают в результате разведения и отбора по превосходным агрономическим показателям. Элитная линия предпочтительно представляет собой линию, которая имеет множество, предпочтительно по меньшей мере 3, 4, 5, 6 или более (генов для) признаков, желательных с агрономической точки зрения, согласно настоящему описанию.

Термины "сорт" или "разновидность" в настоящем описании употребляются взаимозаменяемо и обозначают растение, полученное намеренно посредством разведения, скрещивания и отбора с целью

коммерциализации, используемое фермерами и садоводами для получения продуктов сельского хозяйства для собственного потребления или коммерциализации (потребления в свежем виде, обработка, корм и т.д.). Термин "зародышевая плазма для выведения" обозначает растение, имеющее биологический статус другого, не "дикого" типа, при этом "дикий" статус означает исходное не культивируемое или природное состояние растения или введения.

Термин "зародышевая плазма для выведения" включает, но не ограничивается ими, полудикие, полуприродные, сорные, традиционные сорта, местные сорта, племенной материал, исследовательский материал, селекционные линии, синтетические популяции, гибриды, генетический фонд/основную популяцию, инбредную линию (родитель гибридного сорта), сегрегирующие популяции, мутантный/генетический фонд, рыночные класс и улучшенный/усовершенствованный сорт. Примеры сортов включают такие культивируемые сорта как Bintje, Russet Burbank, Eigenheimer и Nicola.

В настоящем описании термины "чистопородный", "чисто инбредный" или "инбредный" употребляются взаимозаменяемо и обозначают существенно гомозиготное растение или растение, полученное в результате повторных самоопылений и/или возвратных скрещиваний.

В настоящем описании термин "молекулярно-генетический маркер" или просто "маркер" обозначает показатель, который используют в методах визуализации различий в характеристиках последовательностей нуклеиновых кислот. Примерами таких показателей являются маркеры полиморфизма длин фрагментов рестрикции (RFLP), маркеры полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP), однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), мутации вставка/делеция (INDEL), микросателлитные маркеры (SSR), охарактеризованная последовательность амплифицированных участков (SCAR), маркеры полиморфизма амплифицированных рестрикционных последовательностей (CAPS) или маркеры изозимов или комбинации маркеров согласно настоящему описанию, которые определяют конкретное генетическое или хромосомное положение.

В настоящем описании термин "часть растения" обозначает часть растения картофеля, включая органеллы, отдельные клетки и ткани, такие как клетки растения, которые являются интактными в растениях, группы клеток и культуры тканей, из которых растения картофеля могут быть регенерированы. Примеры частей растений включают, но не ограничиваются перечисленными, отдельные клетки и ткани из пыльцы, семян, листьев, зародышей, корней, кончиков корней, клубней, пыльников, цветков, плодов, стеблей, побегов и семян; а также пыльцу, семяпочки, листья, зародыши, корни, кончики корней, пыльники, цветки, плоды, стебли, побеги, черенки, корневища, семена, клубни, протопласты, каллус и т.п.

Если не указано иначе, термин "семя" при использовании в тексте настоящего описания обозначает орган, из которого развивается новое растение (или зерно у некоторых растений), содержащий небольшое эмбриональное растение, заключенное в покрытие оболочки семени обычно вместе с некоторыми запасными веществами. Это семя, которое считают ботаническим или "настоящим" семенем, является продуктом спелой семяпочки голосеменных и покрытосеменных растений, который образуется после оплодотворения и некоторого роста в материнском растении.

В настоящем описании термины "сила" и "сильный" обозначают относительные количества надземных или подземных тканей растения, которые могут быть более или менее независимыми друг от друга.

Относительное количество надземных тканей может выражаться в количестве листовой при зрительном наблюдении в пересчете на высоту растения, числа стеблей, количества листьев по порядковой шкале и/или в пересчете на сырую массу или сухое вещество. Этот признак имеет значение во время первого периода цикла роста растения со средней продолжительностью культивирования 100 суток (в пределах 75-130 суток) при нормальных условиях роста, которые преобладают в Северо-Западной Европе с мая по август. При этих условиях растения согласно настоящему изобретению набирают массу за счет листовой и побегов (надземная часть растения) в граммах сырой или сухой массы, которая составляет по меньшей мере 50%, более предпочтительно по меньшей мере 60, 70, 80, 90% или более (по существу гетерозиготного) диплоидного клона разведения RH89-039-16, который в свою очередь имеет 68% (в пределах 44-86%) урожайности клубней тетраплоидных разновидностей картофеля, рассчитанной за 9 лет полевых исследований. Клон RH89-039-16 можно получить для сравнения у доктора Ir Ronald B.C. Hutten, Лаборатория селекции растений, Университет Вагенингена, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Вагенинген, Нидерланды.

В другом случае или дополнительно термин "сила" может обозначать определенную минимальную урожайность клубней. Термин "урожайность клубней" в настоящем описании обычно обозначает урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, которая при сборе урожая растений согласно настоящему изобретению составляет по меньшей мере 30-50%, более предпочтительно по меньшей мере 60, 70, 80, 90 или более (по существу гетерозиготного) урожайности диплоидного селекционного клона RH89-039-16, который в свою очередь имеет 68% (в пределах 44-86%) урожайности клубней тетраплоидных разновидностей картофеля, рассчитанной за 9 лет полевых исследований при культивировании в течение 100 суток при нормальных условиях роста, которые преобладают в Северо-Западной Европе с мая по август. Как указано выше клон RH89-039-16 можно получить для сравнения у доктора Ir Ronald

В.С. Hutten, Лаборатория разведения растений, Университет Вагенингена.

Если не указано иначе, урожайность клубней оценивают по клубням, образованным саженцем, в отличие от клубней, образованных растением, выращенным из клубней, урожайность которого может быть на 50-200% больше, чем урожайность саженца.

В другом случае или дополнительно термин "сила" может обозначать урожайность клубней, выраженную в граммах сырого или сухой массы, которая при сборе урожая составляет по меньшей мере 30-50%, более предпочтительно по меньшей мере 60, 70, 80, 90% или более диплоидного клона разведения RH89-039-16. Это означает, что урожайность клубней, выраженная в граммах сырой массы, может (у растений согласно настоящему изобретению) достигать уровней по меньшей мере 200, более предпочтительно по меньшей мере 300, 400 или 500 граммов на растение, выращенное из семени в глинистой почве при нормальных условиях лета Северо-Запада Европы, и даже 400, 500, 600, 700, 800 или более, например, 900 или 1000 граммов сырой массы клубней или более на растение, если указанное растение выращивают из клубней и в почве при нормальных условиях лета Северо-Запада Европы.

Следует понимать, что термин "линия, содержащая растения", если при этом указано, что указанные растения имеют определенные характеристики, такие как урожайность клубней, предпочтительно обозначает линию, по существу состоящую из растений, имеющих указанный признак, при допущении некоторых биологических вариаций.

Термин "диплоидный" согласно настоящему описанию обозначает растение, у которого каждая вегетативная клетка содержит два набора хромосом ($2x=2n$, где n представляет собой число хромосом). Один набор хромосом получен от одного родителя.

Термин "тетраплоидный" согласно настоящему описанию обозначает растение, каждая вегетативная клетка которого содержит четыре набора хромосом ($2x=2n$).

Термин "устойчивость к нематодам" согласно настоящему описанию обозначает растение, в которое был внесен ген функции устойчивости, который предотвращает размножение по меньшей мере одной популяции или изолята нематод.

Термин "устойчивость к заболеваниям" согласно настоящему описанию обозначает способность проявлять уменьшение площади зоны поражения листа или объема клубня или снижение размножения насекомого или патогенных микроорганизмов, включая но не ограничиваясь ими, *Streptomyces* spp, *Rhizoctonia*, серебристую паршу и *Phytophthora infestans*, более чем на 50%.

Термин "устойчивость к гербицидам" согласно настоящему описанию обозначает растение, у которого наблюдается разрушение листьев менее чем на 50%, по сравнению с обычным разрушением после применения определенной дозы гербицидов.

Термин "холодоустойчивость" согласно настоящему описанию обозначает среднее количество площади листьев растения, которые проявляют разрушение под действием холода, которое у устойчивых к холоду растений меньше, чем среднее разрушение, наблюдаемое при температуре минус 3°C у контрольных сортов, которые являются относительно чувствительными к холоду, таких как Caribe и/или Kennebec.

Термином "устойчивость к засухе" согласно настоящему описанию обозначают растение, которое проявляет разрушение ниже среднего в условиях недостатка воды по сравнению с контрольными чувствительными к засухе сортами Caribe и/или Carlton.

Термином "устойчивость к затоплению" согласно настоящему описанию обозначают, что долю испорченных клубней меньше на 50% (анаэробное разложение) по сравнению с растением, которое проявляет среднее разрушение при затоплении.

Термин "устойчивость к сырой гнили" согласно настоящему описанию обозначает растение с наименьшим уровнем устойчивости к видам *Erwinia* (сейчас обозначается *Pectobacterium* spp.).

Термин "устойчивость к сухой гнили" согласно настоящему описанию обозначает растение с наименьшим уровнем устойчивости к видам *Fusarium*.

Термин "устойчивость к засолению" согласно настоящему описанию обозначает растение, которое проявляет разрушение ниже среднего в условиях засоления.

Термин "скорость роста" согласно настоящему описанию обозначает увеличение биомассы растения за единицу времени.

Термин "дефекты созревания клубней" (например, деформированные или разрушенные клубни) согласно настоящему описанию обозначает растение, которое проявляет как видимую, так и внутреннюю недоразвитость клубней во время развития растения и/или сбора клубней.

Термин "урожайность клубней" согласно настоящему описанию обозначает общую массу клубней растения или популяции растений, обычно выражаемую в граммах сырой массы.

Термин "размер клубней" согласно настоящему описанию обозначает абсолютную ширину, высоту и длину клубня. Благоприятные размеры клубней включают средние размеры клубней приблизительно 80-160 граммов на клубень. Среднее число клубней коммерчески значимых растений составляет приблизительно 8-12 клубней на растение.

Термин "цвет кожуры клубней" согласно настоящему описанию обозначает цвет кожуры клубней после сбора урожая в результате отложения антоциана в ткани кожуры клубня.

Термин "глубина глазка" согласно настоящему описанию обозначает относительное расстояние между поверхностью кожуры и зачатком побега клубня.

Термин "форма клубня" согласно настоящему описанию обозначает соотношение длина/ширина для обозначения непрерывной изменчивости от круглого, овального до продолговатого, а также соотношение высота/ширина для обозначения непрерывной изменчивости от цилиндрического до величины утолщенности клубня.

Термин "цвет мякоти клубня" согласно настоящему описанию обозначает цвет внутренней части мякоти клубня после сбора в результате отсутствия или наличия каротиноидов, придающих мякоти белый или желтый цвет, соответственно, а также отсутствия антоцианов, придающих красноватые, голубоватые, фиолетовые оттенки цвету мякоти, независимо от полного или частичного окрашивания.

Термин "вкус клубней" согласно настоящему описанию обозначает восприятие потребителями при употреблении приготовленного клубня картофеля.

Термины "срок годности клубня" и "возможность хранения клубня" в настоящем описании являются синонимичными и обозначают отсутствие изменений во внешнем виде клубней при хранении.

Термин "период покоя клубней" согласно настоящему описанию обозначает время между посевом и прорастанием клубня при посеве при нормальных условиях.

Термин "устойчивость к обезвоживанию клубней" согласно настоящему описанию обозначает растение, которое проявляет меньшее обезвоживание клубней, чем среднее в условиях низкой влажности (смотрите "срок годности").

Термин "содержание крахмала в клубнях" согласно настоящему описанию обозначает массу крахмала в общей сырой массе клубня.

Термин "содержание сухого вещества в клубне" согласно настоящему описанию обозначает массу сухого вещества картофеля, разделенную на общую сырую массу.

Термин "кулинарное качество клубня" согласно настоящему описанию обозначает непрерывную изменчивость от твердости до рассыпчатости клубня после приготовления.

Термин "качество обжарки клубней" согласно настоящему описанию обозначает восприятие потребителями клубня после обжаривания.

Термин "качество приготовления чипсов из клубней" согласно настоящему описанию обозначает восприятие потребителями клубня после приготовления чипсов.

Термин "единообразие клубней" согласно настоящему описанию обозначает стандартное отклонение признаков клубня, при этом малое стандартное отклонение означает высокое единообразие, и наоборот.

Термин "устойчивость к образованию сахара на холоде" согласно настоящему описанию обозначает устойчивость клубня к синтезу глюкозы и/или фруктозы при хранении при температуре ниже 8°C.

Термин "тетраплоидный" согласно настоящему описанию обозначает растение, каждая вегетативная клетка которого содержит четыре набора хромосом (4n). Термины "фертильный" и "фертильность" в широком смысле обозначают способность к воспроизведению, т.е. к оплодотворению, и производству потомства, предпочтительно фертильного потомства. Таким образом, термин фертильность обозначает растения, которые можно скрещивать для получения фертильного потомства, когда из цветков при оплодотворении получают ягоды, которые содержат семена, которые при посеве дают растение, которое само несет фертильные цветки, и т.д.

Термин "фертильное потомство" или "фертильное семя" в настоящем описании обозначает семя, которое способно прорасти в картофель, несущий цветки, при этом цветки являются фертильными женскими и мужскими цветками. Таким образом, термин предпочтительно обозначает растение или семя, которое при прорастании в растение способно давать потомство как мужской и как женский родитель в силу наличия фертильных семязачатков и пыльцы (т.е. как мужские, так и женские цветки являются фертильными).

Термин "фертильное растение" согласно настоящему описанию означает растение, способное образовывать фертильные ягоды, несущие семена. Предпочтительно каждая указанная ягода несет по меньшей мере 5, более предпочтительно по меньшей мере 15-20, более предпочтительно по меньшей мере 50 фертильных семян, еще более предпочтительно от 50 до 500 семян. В другом случае считается, что растение является плодородным, если количество семян в ягоде составляет по меньшей мере 10%, более предпочтительно по меньшей мере 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200% или более от количества семян ягод диплоидного клона разведения RH89-039-16. Также или в другом случае термин обозначает линии растения, имеющие более 25%, предпочтительно более 90% фертильных растений.

Термин "самоопыляемый" обозначает способность ягод образовывать семена, которые являются результатом самоопыления, самооплодотворения, и дают фертильное потомство.

Термин "способный к возвратному скрещиванию/самоопылению/скрещиванию и дающий (само) фертильное и самоопыляемое потомство" обозначает способность давать одну или более ягод с семенами в результате возвратного скрещивания, самоопыления или скрещивания, и при этом более 60%, предпочтительно более 70, 80, 85, 90% или больше указанных семян в указанной одной или нескольких ягодах способны развиваться в растения, которые являются (само)фертильными и самоопыляемыми.

Для других терминов в настоящем описании приводится ссылка на публикацию Allard, R. W. Principles of Plant Breeding, 2nd Edition, Wiley New York, 1999 и в частности на глоссарий в настоящем описании.

Описание предпочтительных вариантов реализации

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что можно с успехом получать элитные селекционные линии картофеля. Скрещивание двух элитных селекционных линий обеспечивает семена гибридов F1, которые при выращивании в растение дают растения с превосходными агрономическими показателями. Более важно, что все семена являются по существу генетически идентичными, и при отсутствии случайных кроссинговеров или мутаций все семена являются единообразными.

Авторы настоящего изобретения разработали способ, который позволяет получать элитные селекционные линии картофеля, которые при взаимном скрещивании дают единообразные семена картофеля гибридов F1, которые при выращивании в растение дают растения с превосходными агрономическими показателями. Элитные селекционные линии картофеля могут иметь комплементарные признаки и в результате их гомозиготности растения F1, полученные из семян гибридов F1, являются единообразными, и если эти растения F1 затем подвергнуть самоопылению или перекрестному опылению, то полученные растения F2 разделятся по различным признакам.

Таким образом, в отличие от доступных в настоящее время истинных семян картофеля (TPS), полученных традиционными способами, известными в данной области, и собранные из ягод, в которых каждое отдельное семя отличается от других семян по генотипу, семена, полученные в результате скрещивания линий картофеля и элитных селекционных линий картофеля согласно аспектам настоящего изобретения, являются генетически существенно идентичными.

Разновидности TPS согласно предшествующему уровню техники получают в результате скрещивания отобранных, но гетерозиготных родителей, и поэтому ожидается разнообразие растений и клубней. Согласно настоящему изобретению разведение гибридного картофеля отличается от традиционного получения TPS тем, что настоящие TPS являются результатом скрещивания двух чистых селекционных линий, дающих единообразные сорта, тогда как разновидности TPS согласно предшествующему уровню техники получают в результате открытого опыления или скрещивания двух генетически не гомозиготных и зачастую тетраплоидных селекционных линий, что приводит к не единообразным сортам.

Представленные в настоящее время растения не только являются новыми, поскольку они сочетают ряд свойств, которые до настоящего времени никогда не встречались вместе в одной линии картофеля, но также они обеспечивают новые и очень выгодные способы выведения. Таким образом, растения согласно настоящему изобретению являются промежуточным звеном получения новых сортов картофеля, которые можно получить с помощью способов согласно настоящему описанию. Выгодные способы выведения способствуют устранению многих недостатков традиционного выведения картофеля, как указано выше, включая устранение трудоемкой селекции клонов для получения нового сорта картофеля и возможности обеспечения единообразного семени гибридного картофеля. Кроме того, новые растения и способы также обеспечивают устранение недостатков, связанных с клональным размножением и получением, включая возможность устранить высокие расходы на транспортировку и сохранение вредителей и заболеваний у клонов.

Новые растения картофеля

Родительские селекционные линии.

Согласно настоящему изобретению предложены растения картофеля, которые являются существенно гомозиготными, диплоидными, сильными, фертильными и самоопыляемыми.

Предпочтительно растения согласно настоящему изобретению закрепили в своем геноме последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие гены, которые придают растению признак, желательный с агрономической точки зрения. Такие последовательности нуклеиновых кислот могут быть интрогрессиями или трансгенами, полученными от зародышевой плазмы картофеля с признаками, желательными с агрономической точки зрения, предпочтительно от диплоидной зародышевой плазмы.

По существу гомозиготные.

При выведении растения воспроизводят с помощью полового размножения, обычно посредством скрещивания отобранных родителей с желательными признаками для получения улучшенного потомства. Потомство наследует гены как желательных признаков, так и не желательных признаков от обоих родителей. Повторный отбор подходящих особей из каждого поколения, которые будут служить родителями для следующих, сохранит желательные характеристики и устранил нежелательные. Конечный родитель при разведении растений является чистокровной высоко гомозиготной линией, которая при использовании для скрещиваний с другими чистокровными линиями дает потомство, которое единообразно как фенотипически, так и генотипически в пределах одного поколения и в последующих поколениях, полученных от скрещивания с теми же родителями. Чистокровные или чисто инбредные особи могут быть получены в результате нескольких поколений самоопыления или инбридинга (скрещивания близко родственных растений, таких, как брат с сестрой или потомство с родителями (возвратное скрещивание)), каждое последующее поколение имеет повышенную степень генетической однородности, или гомозиготности. Использование гомозиготных инбредных растений в качестве родителей для выведения

дает потомство, которое является идентичным, как фенотипически и генотипически в пределах одного поколения и последующих поколениях, полученных при других скрещиваниях этих родителей. Таким образом, чистых инбредных особей можно использовать повторно для получения такого же потомства растений.

У картофеля самоопыление и инбридинг приводят к тяжелой инбредной депрессии или экспрессии вредных рецессивных генов, экспрессия которых проявляется в виде потери силы или фертильности. Таким образом, до сих пор было невозможно получить гомозиготные чистопородные инбредные растения картофеля, так как до настоящего изобретения было невозможно достигнуть высокого уровня гомозиготности картофеля с достаточной силой. Настоящее изобретение впервые обеспечивает растения, имеющие уровень гомозиготности выше 25% и предпочтительно выше 75%, и который сочетается с фертильностью, самоопыляемостью и силой растения.

Диплоиды.

Растения согласно настоящему изобретению являются диплоидными растениями, в отличие от коммерческих сортов картофеля, которые являются тетраплоидными. Следует отметить, что у растений согласно настоящему изобретению непосредственно предполагаются более высокие уровни плоидности, так как диплоидная стадия в основном используется при выведении селекционных линий. Как только получают чистокровные растения, линии можно превратить в тетраплоидные линии. Таким образом, растения согласно настоящему изобретению также могут быть тетраплоидными. Тетраплоидные растения можно получать из тетраплоидных клеток или тканевых культур, которые, в свою очередь, можно получать путем дупликации генома диплоидных клеток или тканей культур известными способами, например с использованием оризалина согласно описанию в публикации Barandalla et al. (Barandalla et al. *Potato Research* (2006) 49:143-154). Преимуществом тетраплоидных растений может являться повышенная урожайность.

Сильные.

Хотя коммерческие тетраплоидные сорта картофеля являются фертильными и самоопыляемыми, и сильными, что проявляется в том, что они хорошо растут, не дают деформированные растения или плоды, но выглядят здоровыми растениями с высокой урожайностью клубней, их потомство, полученное в результате самоопыления, проявляет серьезную инбредную депрессию, то есть дает плохо растущие и низко урожайные растения с деформированными клубнями. Диплоидные и по существу гомозиготные линии предшествующего уровня техники, такие как описанные Phumichai et al., ссылка на публикацию которого приводится в этом документе, также растут очень плохо и проявляются в виде очень слабых и мелких растений, которые имеют скудный набор семян. На самом деле, диплоидные растения картофеля, полученные в результате инбридинга и достигающие гомозиготности по меньшей мере 25 или 50% аллелей, неизменно являются слабыми растениями.

Растения согласно настоящему изобретению не являются слабыми и хрупкими, и хотя они не обязательно должны быть такими же сильными, как современные коммерческие тетраплоидные сорта, они не проявляют инбредную депрессию. Таким образом, в контексте согласно настоящему изобретению, они являются сильными. Клубнеобразование является примером силы растений согласно настоящему изобретению. Хотя все коммерческие (тетраплоидные и полученные от семенного клубня) сорта картофеля дают большие клубни или по меньшей мере клубни достаточного размера, диплоидные линии предшествующего уровня техники и по сути гомозиготные растения дают лишь небольшие клубни, которые, например, не имеет смысла использовать для производства чипсов и картофеля фри. Диплоидные линии предшествующего уровня техники и по сути гомозиготные растения дают очень мало клубней, таким образом что урожай клубней на растение получается по меньшей мере в десять раз ниже, чем у гетерозиготных диплоидных растений и коммерческих тетраплоидных сортов картофеля. В отличие от них растения согласно настоящему изобретению проявляют выгодные характеристики клубнеобразования, включая клубни с профилем полезного размера и урожайность клубней, которая может составлять по меньшей мере 50% по сравнению с диплоидными гетерозиготными растениями, используемыми в качестве доноров в примерах согласно настоящему описанию (D1, D2 и/или D3).

Как было обнаружено здесь, урожайность клубней диплоидного F1 в среднем составляла 443 грамма на растения с максимальными значениями от 600 до 634 г.

Возвратное скрещивание с F1: "IVP08-06" давало в среднем 155 и 209 г, тогда как возвратное скрещивание с F1: "IVP08-07" давало в среднем 209 и 259 г.

"Псевдо F2" имело урожайность в среднем 172 и 332 г на растение и в некоторых случаях давало больше, чем диплоидное F1.

Урожайность F2 в среднем составляла 69 и 252 граммов на растение. Несколько растений перекрывались с урожайностью растений диплоидного F1.

Фертильные.

Растения согласно настоящему изобретению - хотя по существу гомозиготные -также являются фертильными. Это означает, что их можно использовать в программах выведения, т.к. их потомство также будет фертильным.

Самоопыляемые.

Растения согласно настоящему изобретению являются самоопыляемыми. Эту особенность вводят для того, чтобы допускать самооплодотворение растений и получение гомозиготных линий. Предпочтительно основой самоопыляемости является ингибиторный ген доминантного локуса S (Sli) (Hosaka и Hanneman, 1998, *Euphytica*, 99: 191-197).

По существу гомозиготные растения картофеля согласно настоящему изобретению обладают тем преимуществом, что их можно скрещивать с другими по существу гомозиготными растениями картофеля, при этом гибридное потомство указанного скрещивания будет по существу генетически единообразным и не будет сегрегировать.

Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения обеспечиваются по существу гомозиготные, диплоидные, сильные, плодородные и самоопыляемые растения картофеля, имеющие признаки, желательные с агрономической точки зрения.

Новые растения картофеля согласно настоящему изобретению способны: к возвратному скрещиванию с по существу гомозиготным рекуррентным родителем и давать (само)фертильное и самоопыляемое потомство; самоопыляться (самооплодотворение растений 1 поколения) и давать (само)фертильное и самоопыляемое потомство; взаимно скрещиваться (оплодотворение двух растений потомства) и давать и давать (само)фертильное и самоопыляемое потомство.

Растения согласно настоящему изобретению включают линию с селекционным номером AGVD1, образцы семян которой депонированы 23 октября 2009 в NCIMB, Абердин, Шотландия под номером доступа NCIMB 41663, и селекционным номером AGVD1, растения которого представляют собой F2, полученное с помощью скрещивания растения родителя IVP07-1001/4 (см. пример 1), которое является по существу гомозиготной, диплоидной, фертильной и самоопыляемой, но не сильной линией картофеля, с растением родителя D1, которое представляет собой элитный диплоидный клон, который является по существу не гомозиготным, и не является самоопыляемым, но имеет желательный с агрономической точки зрения признак желтого цвета мякоти и проявляет хорошие пищевые качества, проявляющиеся в виде того, что мякоть не приобретает серый оттенок после приготовления, и самоопыления полученных растений потомства F1. По оценкам, AGVD1 гомозиготно приблизительно на 50%, что означает, что приблизительно 50% локусов, по которым различаются родители, являются гомозиготными.

Растения согласно настоящему изобретению также включают линию с селекционным номером AGVD2, образцы семян которой депонированы 23 октября 2009 в NCIMB, Абердин, Шотландия под номером доступа NCIMB 41664, и селекционным номером AGVD2, которая представляет собой линию (F1 × F1) (или псевдо F2), полученную в результате скрещивания родительского растения IVP07-1001/4, как указано выше, с растением родителя D1, как указано выше, и возвратного скрещивания растений потомства F1, которые имеют одного родителя IVP07-1001/4, но отличаются по родителю D1. По оценкам AGVD2 гомозиготно приблизительно на 25% в локусах, по которым различаются родители.

Растения согласно настоящему изобретению также включают линию с селекционным номером AGVD3, образцы семян которой депонированы 23 октября 2009 в NCIMB, Абердин, Шотландия под номером доступа NCIMB 41665, и под селекционным номером AGVD3, которая представляет популяцию BC1, полученную при скрещивании родительского растения IVP07-1001/4, как указано выше, с родительским растением D1, как указано выше, и возвратного скрещивания полученных растений потомства F1 с родителем IVP07-1001/4. По оценкам, AGVD3 гомозиготно приблизительно на 75% в локусах, по которым различаются родители.

Растения согласно настоящему изобретению также включают линию с селекционным номером AGVD17, образцы семян которой депонированы 23 октября 2009 в NCIMB, Абердин, Шотландия под номером доступа NCIMB 41765, и под селекционным номером AGVD17, которая представляет собой популяцию F3, полученную при скрещивании родительского растения IVP07-1001/4, как указано выше, с родительским растением D2, как указано выше, и возвратного скрещивания полученных растений потомства F1 с родителем IVP07-1001/4, с последующими двумя этапами самоопыления. По оценкам, AGVD17 гомозиготно более чем на 80% в локусах, по которым различаются родители.

Растение согласно настоящему изобретению можно с легкостью использовать в качестве рекуррентного родителя, при этом дополнительные признаки, желательные с агрономической точки зрения, вводят с помощью скрещивания или вводят другими способами, например, с помощью трансгенов. Когда несколько признаков, желательных с агрономической точки зрения, комбинируются в по существу гомозиготное, сильное, диплоидное, фертильное и самоопыляемое растение согласно настоящему изобретению, это растение можно использовать в качестве элитной селекционной линии для получения коммерческого семени картофеля гибридов F₁. Аналогично можно получить вторую элитную селекционную линию, которая служит родителем противоположного пола, таким образом, что оба растения можно скрещивать для получения коммерческого семени F₁ нового сорта картофеля.

Выведение единообразного гибридного семени по-прежнему зависит от нескольких технических условий. Предпосылками для получения единообразных гибридных семян являются то, что 1) можно произвести исходное скрещивание интрогрессии по существу гомозиготного, диплоидного, фертильного и самоопыляемого растения и растения, которое служит донором для признака, желательного с агрономической точки зрения, 2) можно произвести возвратное скрещивание потомства указанного исходного

скрещивания и по существу гомозиготного, диплоидного, фертильного и самоопыляемого растения, и 3) их потомство способно к самоопылению. Линии картофеля AGVD1, AGVD2 и AGVD3 проявляют указанные свойства, и отдельные растения указанных линий можно использовать при дополнительных скрещиваниях интрогрессии, возвратных скрещиваниях и самоопылениях для получения элитных селекционных линий, подходящих для использования в качестве родителей коммерческого семени гибридов F1, из которого можно вырастить гибридное растение картофеля нового сорта картофеля.

Высоко предпочтительным растением согласно настоящему изобретению является растение линии AGVD2 или растение его потомства, имеющее все физиологические и морфологические особенности растения линии AGVD2.

Другой линией, депонированной в качестве примера вариантов реализации настоящего изобретения, является AGVD17 (NCIMB 41765, депонированная 5 октября 2010). Преимущество AGVD17 состоит в том, что она является высоко гомозиготной линией (>80% гомозиготной), сочетающей силу и фертильность с урожайностью клубней в среднем 300 г (масса мякоти) на растение. Отдельные растения родственных популяций имели урожайность до 500 г на растение. Указанные данные получены на растениях, выращенных в поле, которые получены из саженцев. Растения картофеля, полученные от клонов, обычно достигают массы клубней, которая на 50-100% больше, чем у растений, выращенных из рассады. Таким образом, ожидается, что урожайность клубней, выраженная в граммах сырой массы растений согласно настоящему описанию в условиях клонального размножения и полученных от клубней и выращенных в глинистой почве при нормальных условиях лета Северо-Западной Европы - достигнет уровней по меньшей мере приблизительно 1000 г сырой массы на растение.

Таким образом, линия AGVD17 проявляет в частности возможность перекрестного опыления отдельных элитных линий согласно настоящему изобретению (т.е. которые являются самоопыляемыми, фертильными и по существу гомозиготными) для получения гибридного семени, которое является задачей настоящего изобретения. Таким образом, другим весьма предпочтительным растением согласно настоящему изобретению является растение линии AGVD17 или растение его потомства, имеющее все физиологические и морфологические свойства растения линии AGVD17.

Гибриды.

Гибридные растения согласно настоящему изобретению получают способом согласно настоящему изобретению, пример которого приведен на фиг. 1. Гибридные растения согласно настоящему изобретению получают с помощью скрещивания двух по существу гомозиготных элитных родительских селекционных линий картофеля, сочетающих в себе несколько признаков, желательных с агрономической точки зрения и выбранных из группы, состоящей из устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к заболеваниям (включая, но не ограничиваясь ею, устойчивость к парше, вызванной *Streptomyces* spp, Порошистой парше, *Rhizoctonia*, Серебристой парше, *Phytophthora infestans*), устойчивости к гербицидам, холодоустойчивости, устойчивости к засухе, устойчивости к влажности, устойчивости к сухой и влажной гнили, устойчивости к засолению, устойчивости к образованию сахара на холоде и устойчивости к обезвоживанию клубней. Кроме этих признаков, желательных с агрономической точки зрения, родительские селекционные линии могут проявлять свойства, желательные для рынков определенного использования, такие как желаемый цвет кожуры клубня, желаемая форма клубней, желаемый цвет мякоти клубней, желаемый вкус клубней, желаемое содержание крахмала в клубнях, желаемое содержание сухого вещества в клубнях, желаемое качество приготовления клубней или желаемое качество обжаривания клубня, кроме таких специфических для рынка особенностей родительские селекционные линии при скрещивании предпочтительно дают гибриды, которые обладают такими полезными качествами, как полезная скорость роста, полезная урожайность клубней, полезный размер клубней, полезные возможности хранения клубней, полезный период покоя клубней, полезный срок хранения клубней, полезное качество приготовления чипсов из клубней и полезная однородность клубней.

Настоящее изобретение настоящим обеспечивает набор растений картофеля или набор линий растений картофеля, которые являются: диплоидными (2n); по существу гомозиготными (предпочтительно более 60% по всем аллелям); самоопыляемыми; фертильными и сильными. До сих пор считалось, что невозможно добиться сочетания всех указанных черт в одной линии растений картофеля. Набор растений картофеля согласно настоящему изобретению можно использовать для получения новых сортов.

В частности настоящее изобретение относится к набору из по меньшей мере 2 диплоидных (2n), по существу гомозиготных (предпочтительно более 60% по всем аллелям), самоопыляемых, фертильных и сильных растений, которые можно скрещивать для получения гибридных сортов согласно настоящему изобретению.

Новый способ выведения семян картофеля

Создание новых растений картофеля в настоящее время обеспечивает первый прорыв в способах согласно настоящему изобретению.

Авторы настоящего изобретения получили растения картофеля, которые являются по существу гомозиготными, диплоидными, сильными, фертильными и самоопыляемыми и закрепили в их геноме последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие гены, придающие растению желательные с агрономической точки зрения признаки, полученные от подходящих диплоидных донорских линий. Указанные

последовательности нуклеиновых кислот появляются в результате интрогрессий от зародышевой плазмы картофеля, обладающей признаками, желательными с агрономической точки зрения. Традиционно по меньшей мере у большинства других видов, кроме картофеля, по существу гомозиготные растения можно было получить всего лишь через два поколения с помощью удвоения моногаплоидов, полученных из неоплодотворенных половых клеток, например, яйцеклетки или пыльцевых клеток, с помощью способов, известных как технология двойных гаплоидов (DH). Это не подходит для картофеля, т.к. до настоящего времени было показано, что получаемые растения являются нефертильными из-за, как считается, экспрессии рецессивных вредных генов. Метод DH широко исследован авторами настоящего изобретения, но все равно был признан неудачным.

Авторы настоящего изобретения использовали стратегию повторного самоопыления, возвратного скрещивания и скрещивания зародышевой плазмы картофеля одной самоопыляемой линией картофеля с одной или несколькими не самоопыляемыми линиями картофеля, несущими агрономические признаки. Гомозиготные растения согласно настоящему изобретению были получены путем непрерывного самоопыления диплоидных растений картофеля и отбора фертильного потомства (помимо природного отбора по самоопыляемости). Это совершенно новый подход, так как в известных способах предшествующего уровня техники растения получают с помощью отбора по агрономическим признакам, таким как образование клубней или общие характеристики роста потомства растений, а не с помощью отбора по фертильному потомству самоопылений. Более того, в отличие от известных способов процедуры проводятся с использованием линий диплоидных растений вместо тетраплоидных растений. Неожиданно, это принципиально новый подход оказался успешным для получения более гомозиготных, диплоидных растений потомства, которые были самоопыляемыми и фертильными. Кроме того, при скрещивании с растениями диплоидных линий, несущих полезные признаки, такие как устойчивость или белый цвет клубней, эти признаки могут быть введены в по существу гомозиготную зародышевую плазму без утраты самоопыляемости и фертильности.

В сущности, способ получения растений заключается в следующем: Отправной точкой является диплоидная самоопыляемая линия картофеля (примеры подходящих линий были депонированы под номерами AGVD 1 AGDV 2, 3 и AGDV AGVD17). В целом линия, являющаяся самоопыляемой благодаря наличию гена *Sli*, может быть использована в качестве отправной точки. Растения этой диплоидной самоопыляемой линии самоопыляются, и семена, полученные из ягод, несущих семена, высевают и выращивают в растения потомства. Растения потомства, несущие цветки, снова самоопыляются, и семена, полученные из ягод, несущих семена, снова высевают и выращивают в растения потомства. Агрономическим признакам растений на данном этапе уделяется мало внимания, или не уделяется внимания вообще. Они могут выглядеть увядшими и хрупкими, несущими лишь несколько цветков. Тем не менее, самоопыление повторяют по меньшей мере три раза, но предпочтительно 4 или 5, или даже 6-8 раз. Таким образом, получают линию по существу гомозиготных, фертильных, самоопыляемых и диплоидных растений картофеля в основном с помощью самоопыления и отбора растений, которые дают фертильное потомство.

Далее, к по существу гомозиготному, фертильному, самоопыляемому диплоидному генотипу добавляют признак, желательный с агрономической точки зрения, путем скрещивания растения линии с растением неродственной по существу гетерозиготной диплоидной линии картофеля, предпочтительно линии, имеющей признаки, желательные с агрономической точки зрения. Эта по существу гетерозиготная линия (термин, который отражает только то, что линия не является по существу гомозиготной линией в настоящем описании) выступает в качестве донора признака, желательного с агрономической точки зрения, в данном случае силы.

Для полученного гибрида проводят самоопыление и/или возвратное скрещивание с самоопыляемой линией при отборе по большей силе. Таким образом, сила существенно гомозиготной, фертильной, самоопыляемой, диплоидной линии картофеля повышается, и одновременно линия становится агрономически улучшенной. Эти этапы, таким образом, позволяют получить сильный фертильный гомозиготный самоопыляемый диплоидный картофель: силу также можно увеличить с помощью скрещивания с другими по существу гетерозиготными диплоидными линиями картофеля, которые служат донорами дополнительных признаков, желательных с агрономической точки зрения, с последующим самоопылением и/или возвратным скрещиванием с самоопыляемыми линиями при отборе по этим дополнительным признакам, которые приведут к получению диплоидных селекционных линий картофеля.

Для получения элитных диплоидных селекционных линий картофеля, селекционную ценность указанных селекционных линий еще более усиливают с помощью перекрестного опыления, самоопыления и возвратного скрещивания при непрерывном отборе по признакам, желательным с агрономической точки зрения, приданным селекционной линии, а также путем создания линий, которые имеют хорошую скрещиваемость с другими линиями. Такую скрещиваемость оценивают с помощью экспериментальных скрещиваний.

Наконец, гибридные сорта картофеля могут быть получены путем скрещивания отдельных элитных диплоидных селекционных линий картофеля, которые проявляют хорошую скрещиваемость. Семена, получаемые в результате такого скрещивания гомозиготных родителей, являются настоящими семенами.

ми гибридного картофеля, которые являются единообразными.

При использовании способов согласно настоящему изобретению, как правило, примерно от 7 до 8 циклов самоопыления приведут к появлению по существу гомозиготных растений, но специалисту будет понятно, что также можно использовать большее количество поколений самоопыления. Также меньшее количество поколений, например, шесть поколений, может быть использовано для обеспечения по существу гомозиготных растений согласно настоящему изобретению. Количество поколений возвратного скрещивания может даже быть снижено до трех для достижения более 95% гомозиготности при применении молекулярно-генетических маркеров.

Главным образом, новый способ получения гибридных сортов картофеля предусматривает возможность выведения нового сорта картофеля в течение приблизительно 5 лет. Подробный процесс получения гибридного картофеля, начиная с AGVD17 (линия F3), описан в примере 5. Эта линия более чем на 80% гомозиготна, поэтому для получения гомозиготного на 95-100% растения требуется очень малое число самоопылений. Кроме того, AGVD17 уже является сильной, как это определено в настоящем документе.

Согласно настоящему изобретению предложен способ получения генетически однородного или единообразного истинного семени картофеля (TPS). Этот способ, в частности, является подходящим способом не только профилактики распространения вирусных инфекций картофеля между поколениями, но и решения многих других проблем, характерных для классической селекции картофеля, получения "семян" картофеля и транспортировки и культивирования. Кроме того, в настоящее время родительский материал для производства гибридных семян можно хранить в форме семян, а не в форме растительного материала, как того требует традиционное получение TPS.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ получения гибридного сорта картофеля, включающий применение депонированного растительного материала согласно настоящему описанию в качестве исходного материала.

В альтернативном случае можно получать другие по существу гомозиготные, диплоидные, фертильные, сильные и самоопыляемые селекционные линии растений, отличные от депозитов, упомянутые здесь, и производство гибридных сортов картофеля может начаться с этой ранней стадии на основе идеи настоящего изобретения, т.к. авторы настоящего изобретения показали, что этот путь, несмотря на трудоемкость, является успешным. Такой вариант селекционного материала также является сильным, по существу гомозиготным, диплоидным, фертильным и самоопыляемым.

В качестве первого шага развитие такой ранней стадии может включать обеспечение растения первых культурных видов картофеля (*Solanum tuberosum*) или родственных ему скрещиваемых видов (как правило, клубнеобразующих видов *Solanum*).

Затем из указанного растения можно получить линию самоопыляемых диплоидных растений картофеля, предпочтительно *Solanum tuberosum*. Диплоидный картофель, как правило, не является самоопыляемым. Самоопыляемость можно ввести из соответствующих родственных видов (см., например, публикацию Hermesen, J.G.Th. 1978, *Euphytica* 27, 1-11).

Затем из полученной линии самоопыляемых, диплоидных растений картофеля получают гомозиготную, фертильную, диплоидную линию картофеля. Гомозиготных диплоидов можно получать с помощью удвоения гаплоидов (Uijtewaal et al., 1987, *Theor. Appl. Genet.* 73, 751-78), методом культивирования пыльников (Jacobsen and Sopory, 1977, *Theor. Appl. Genet.* 52, 119-123) или семянчиков или с помощью повторного самоопыления (Phumichai & Hosaka, 2006, *Euphytica* 149, 251-258). Последний способ использовали для получения гомозиготной, фертильной, самоопыляемой линии картофеля, которая создала основу для сильных растений согласно настоящему описанию.

Далее из гомозиготной фертильной самоопыляемой диплоидной линии картофеля получают сильную фертильную гомозиготную самоопыляемую диплоидную линию картофеля. Сила может быть повышена путем скрещивания с другими диплоидными растениями картофеля, самоопыления и возвратного скрещивания при отборе по увеличенной силе. Следует отметить, что необходима большая популяция, и что даже для некоторых неродственных по существу гетерозиготных диплоидных линий картофеля, которые используются в качестве донора признака, желательного с агрономической точки зрения, в популяции из 1000 растений можно подобрать очень мало самоопыляемых растений. Как правило, такие попытки заканчиваются, и только тогда, когда около 10-50% растений потомства являются самоопыляемыми (например, в случае D2 в примере 2 ниже), донорская линия проявляет такую хорошую общую скрещиваемость, что можно ожидать успешного внедрения агрономического признака в самоопыляемую линию.

Затем из сильной, фертильной, гомозиготной, самоопыляемой диплоидной линии картофеля получают диплоидную селекционную линию картофеля. Наиболее предпочтительно получают по меньшей мере две отдельные сильные фертильные гомозиготные самоопыляемые диплоидные линии картофеля и получают по меньшей мере две различные диплоидные селекционные линии картофеля. Такие селекционные линии имеют большое количество признаков, желательных с агрономической точки зрения. Признаки, желательные с агрономической точки зрения, вводят путем скрещивания с другими диплоидными растениями картофеля, самоопыления и возвратного скрещивания при отборе по этим признакам. Эта программа разведения может включать в себя анализ на наличие заболеваний, например, являются ли

побеги или клубни здоровыми, или же они устойчивы к заболеванию.

Затем из диплоидной селекционной линии картофеля получают элитные диплоидные селекционные линии картофеля. Это достигается за счет повышения племенной ценности с помощью перекрестного опыления, самоопыления и возвратного скрещивания при постоянном отборе по признакам, желательным с агрономической точки зрения. На этом этапе выполняют экспериментальные скрещивания, чтобы оценить общую скрещиваемость. Также теперь из диплоидных элитных селекционных линий можно получить тетраплоидные (4×) элитные линии известными способами, например, путем химической обработки, например, колхицином или путем "спонтанного" удвоения генома с использованием культуры тканей.

В конечном итоге из указанных элитных, диплоидных или тетраплоидных селекционных линий картофеля посредством скрещивания хорошо скрещивающихся селекционных линий получают гибридные сорта картофеля. Полученные семена являются истинными гибридными семенами картофеля, которые являются единообразными.

Способ получения гибридного сорта картофеля согласно настоящему изобретению включает этапы получения диплоидной селекционной линии картофеля. Указанный способ включает этапы:

а) обеспечения первого растения картофеля, при этом указанное первое растение картофеля представляет собой растение диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, предпочтительно растение сильной фертильной гомозиготной самоопыляемой диплоидной линии картофеля, более предпочтительно диплоидной селекционной линии картофеля;

б) обеспечения второго растения картофеля линии картофеля, которая может иметь пloidность любого уровня, предпочтительно диплоидную, и/или гомозиготность любого уровня, при этом указанное второе растение картофеля служит донором признака, желательного с агрономической точки зрения, который необходимо ввести в указанную по существу гомозиготную линию указанного первого растения картофеля или по меньшей мере в растение потомства, полученного в результате скрещивания указанного первого и второго растения, при этом указанный признак выбирают из группы, состоящей из устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к заболеваниям (включая, но не ограничиваясь ею, устойчивость к парше, вызванной *Streptomyces* spp, порошистой парше, *Rhizoctonia*, серебристой парше, *Phytophthora infestans*), устойчивости к гербицидам, укореняемости, холодостойкости, устойчивости к засухе, устойчивости к влажности, устойчивости к влажной и сухой гнили, устойчивости к засолению, скорости роста, развития дефектов клубней (например, неправильной формы или нарушенные клубни), урожайности клубней, размера клубней, цвета кожуры клубней, глубины глазков, формы клубней, цвета мякоти клубней, вкуса клубней, способности клубней к хранению, периода покоя клубней, срока хранения клубней, устойчивости к обезвоживанию клубней, содержания крахмала в клубнях, содержания сухого вещества в клубнях, кулинарные свойства клубней, качества обжарки клубней, качества приготовления чипсов, единообразия клубней и устойчивости к образованию сахара на холоде.

После получения указанных двух растений, способ включает этап:

с) перекрестного опыления указанного первого и второго растения картофеля таким образом, что одно из указанных родительских растений дает плоды, несущие семена (ягоды), и сбора указанных семян из указанных плодов для получения семени гибридного потомства.

Затем из семян выращивают растения и отбирают растения, которые имеют признак, желательный с агрономической точки зрения, от донора, непосредственно или после дополнительных этапов самоопыления и возвратного скрещивания, хорошо известных в области разведения растений. В указанных методах можно использовать маркеры для помощи в процессе выведения.

Из семени гибридного потомства предпочтительно выращивают растение, которое затем возвратно скрещивают с растением линии рекуррентного родителя.

Следующие этапы не являются обязательными ни для одного из указанных выше способов. Однако эти дополнительные этапы могут обеспечивать продукцию клубней для потребления посредством выращивания семян согласно настоящему изобретению и/или могут обеспечивать получение новых гомозиготных, самоопыляемых, диплоидных элитных селекционных линий, которые могут служить родителями, для включения дополнительных признаков в поколение потомства. Растения согласно настоящему изобретению являются фертильными и сильными. Дополнительные преимущества достигаются с помощью следующих этапов:

d) выращивания указанного семени потомства в растение картофеля гибридного потомства, и

e1) сбора урожая клубней указанного растения картофеля гибридного потомства для получения клубней, имеющих указанный признак, или

e2) самоопыления указанного растения картофеля гибридного потомства или возвратного скрещивания указанного растения картофеля гибридного потомства с растением картофеля указанной линии указанного первого растения картофеля для получения дополнительных растений потомства, несущих указанный признак, и при этом у указанных растений потомства повышается уровень гомозиготности после каждого этапа возвратного скрещивания или самоопыления.

Предпочтительно указанное растение картофеля, используемое в способах согласно описанию выше, представляет собой растение картофеля гибридного поколения, как определено выше на этапе (d),

полученное способом согласно описанию выше. Более предпочтительно указанное второе растение картофеля, используемое в способах согласно описанию выше, представляет собой растение картофеля гибридного поколения, как определено на этапе (e2), и полученное способом согласно описанию выше.

Предпочтительно указанный этап (e2) включает от 2 до 7 возвратных скрещиваний с использованием растения линий AGVD1, AGVD2, AGVD3 или AGVD17 в качестве рекуррентного родителя и анализ растений потомства на наличие указанного признака (например, в виде гомозиготного или гетерозиготного состояния аллелей, ответственных за признак), с последующими одним или двумя (или более) скрещиваниями для обеспечения гомозиготного растения, которое является генетически равным растению популяции AGVD1, AGVD2, AGVD3 или AGVD17, но в которых аллели, ответственные за признак, являются гетерозиготными или предпочтительно гомозиготными. Указанное растение имеет по меньшей мере один дополнительный аллель, который не встречается в популяции AGVD1, AGVD2, AGVD3 или AGVD17.

Указанный выше способ обеспечивает процесс селекции для получения гомозиготных селекционных линий или элитных селекционных линий, основанных на популяциях AGVD1, AGVD2, AGVD3 или AGVD17, к основе которых успешно добавлены дополнительные аллели, благодаря чему получают элитные селекционные линии, в которых объединены желаемые признаки.

Способ согласно настоящему изобретению в настоящий момент впервые обеспечивает способ профилактики распространения вирусных инфекций между поколениями картофеля, при этом также разрешает множество других проблем предыдущего уровня техники, связанные с выведением новых сортов картофеля и коммерческого получения картофеля для потребления. Это стало возможным благодаря обеспечению настоящего семени картофеля, т.е. ботанического семени, из которого можно вырастить растение картофеля, которое дает клубни для потребления, и семена которого получают от скрещивания, в котором по меньшей мере один из родителей представляет собой растение диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, предпочтительно указанные семена получают от скрещивания, в котором оба родителя представляют собой растения диплоидной, самоопыляемой и по существу гомозиготной селекционной линии картофеля.

Важным преимуществом указанного нового способа является то, что, таким образом, можно эффективно предотвратить передачу вирусной инфекции, который не передается через гаметы, семена.

В настоящее время авторы настоящего изобретения обеспечивают способ дальнейшего селекции гомозиготных линий, которые просты в обращении, и которые проявляют улучшенную фертильность и силу растения по сравнению с инбредными растениями предшествующего уровня техники, сохраняя при этом самоопыляемость и высокий уровень гомозиготности. Следует иметь в виду, что, как и в случае помидоров, для обеспечения эффективной программы выведения не всегда необходима 100% гомозиготность. Это не является проблемой, если сохраняется самоопыляемость.

Впервые был успешно показан генетический перенос желательных или полезных с агрономической точки зрения признаков в гомозиготную линию картофеля.

На основе средств и способов, предусмотренных в настоящем описании, специалист в данной области сможет успешно получать гомозиготные селекционные линии картофеля на основе имеющегося у него зародышевой плазмы. Кроме того, специалистам будет понятно, что предложены средства и способы, с помощью которых он сможет, например, вводить дополнительные признаки в представленные в настоящем изобретении самоопыляемые и по существу гомозиготные линии с целью создания популяции линий, которые обогащены признаками, желательными с агрономической точки зрения, и которые сами по себе могут служить зародышевой плазмой для коммерческого выведения.

Примеры

Пример 1. Общее описание процедуры селекции и селекционного материала.

Было предпринято множество безуспешных попыток получения гомозиготных, фертильных, самоопыляемых, диплоидных генотипов картофеля. Эти попытки включали образование двойных гаплоидов и последующий скрининг фертильных цветков. Использовали несколько методов, такие как культура пыльников, для регенерации гаплоидных и в конечном итоге двойных гаплоидных гомозиготных растений, метод повторных самоопылений для постепенного повышения уровня гомозиготности в существующей диплоидной зародышевой плазме, и искусственное опыление пыльцой с использованием *S.phureja* в качестве донора пыльцы для индукции образования зародыша из неоплодотворенных яйцеклеток. Особенно последний способ осуществляли в больших масштабах на основе анализа более двух миллионов потомков, но без желаемого успеха. Ни один из этих тестов не привел к получению сильных самоопыляемых растений.

Получили по существу гомозиготную линию картофеля посредством множественного самоопыления растений линии, полученной из находящейся в открытом доступе зародышевой плазмы, которые несли ген *Sli*, контролирующий самоопыление (Phumichai et al. *Euphytica* (2006) 148: 227-234). Указанные растения, обозначаемые в настоящем описании как "H" или IVP07-1001/4, росли очень плохо, имели мало цветков, и в каждой ягоде было мало семян. Более того, растения были очень низкими (максимум 60 см). Растения почти не давали клубней, а образованные клубни были очень мелкими (средняя масса клубней приблизительно 5 г/клубень). В общем случае, растения не представляли ценности для коммер-

ческого выведения картофеля, т.к. они имели массу растений и урожайность клубней, которая составляла 20% от данных величин диплоидного клона выведения RH89-039-16. Указанные растения только несли гомозиготные аллели во многих локусах в геноме, были самоопыляемыми и диплоидными.

Летом 2008 растения указанной линии IVP07-1001/4 скрещивали с различными линиями диплоидных доноров (D1, D2 и D3, для полного селекционного материала смотрите на фиг. 2). D1 является ранним, имеет удлиненные овальные клубни, желтоватую мякоть, хорошие качества обжарки и приготовления, и его использовали в качестве родителя мужского пола (табл. 6). Полученное потомство обозначали F1(D1) в данном примере. Другие растения потомства F1 получали похожим образом, но с использованием донора D2 в качестве родителя женского пола. D2 представляет собой элитный диплоидный клон выведения, который является по существу не гомозиготным и не самоопыляемым, но имеет признак, желательный с агрономической точки зрения, в виде раннего приготовления, овальные клубни, желтую мякоть и хорошее качество приготовления чипсов). Это привело к получению линий, обозначенных как F1(D2).

Указанные выше F1(D1) подвергали самоопылению с получением F2(D1). Эту линию депонировали под селекционным номером AGVD1. Определили, что AGVD1 является приблизительно на 50% гомозиготной, что означает, что приблизительно 50% локусов, по которым различаются родители, являются гомозиготными.

F1(D1) скрещивали с F1(D2) с получением псевдо F2. Указанную линию (F2(D1/2)) депонировали под селекционным номером AGVD2. Определили, что AGVD2 содержит приблизительно 25% гомозиготных аллелей, происходящих от IVP07-1001/4.

F1(D1) повторно скрещивали с IVP07-1001/4 с получением линии BC1.

Указанную линию (BC1(D1) и BC1(D2)) депонировали под селекционным номером AGVD3. Определили, что AGVD3 является приблизительно на 75% гомозиготной в локусах, по которым различаются родители.

Другие растения потомства F1 получали похожим образом с использованием донора D3 в качестве родителя женского пола. D3 представляет собой диплоидный клон выведения с желтой мякотью и генами устойчивости R3, H1, Gra2, RXadg. Это привело к получению линии, обозначенной как F1(D3).

Аналогично описанию выше, F1(D3) подвергали самоопылению для получения F2(D3) и возвратному скрещиванию с донором гена Sli с получением потомства BC1(D3).

F1(D1) скрещивали с F1(D2) для получения псевдо F2. Указанную линию (F2(D1/2)) депонировали под селекционным номером AGVD2. Оценили, что AGVD2 является на 25% гомозиготной по локусам, по которым отличаются родители.

F1(D1) также подвергали возвратному скрещиванию с IVP07-1001/4 для получения линии BC1. Указанную линию (BC1(D1)) депонировали под селекционным номером AGVD3. Оценили, что AGVD3 является приблизительно на 75% гомозиготной в локусах, по которым отличались родители.

BC1 подвергали самоопылению в зимнем питомнике для получения популяций BC1S1. Следующим летом (2010) F2, псевдо F2 и BC1S1 выращивали в рассадной грядке в теплице и пересаживали в мелкие торфяные горшочки. В июне 2010 саженцы пересаживали на поле в глинистую и песчаную почву в Нидерландах. Всего из саженцев вырастили и отобрали по самоопыляемости и хорошему качеству клубней и урожайности более 1500 растений. Большая часть популяций F2 и BC1S1 продемонстрировали очень низкую частоту самоопыляемости. Редкие растения с разумным набором ягод и семян для анализа потомства без дальнейших агрономических оценок. Только две популяции F2, полученные при скрещивании D2×H, показали самоопыляемость приблизительно 25%. Из каждой наиболее самоопыляемой популяции было отобрано самое большее по 15 растений с наилучшим качеством и количеством клубней для проведения анализа потомства.

Растения псевдо-F2 проявляли гораздо большую силу по сравнению с другими популяциями, вероятно из-за того, что указанные растения не несут локусы с гомозиготными аллелями родителей доноров. Одна из указанных популяций показала более чем 50% самоопыляемости. Аналогично согласно описанию выше также из наиболее самоопыляемых популяций было отобрано максимальное число 15 растений для анализа потомства.

Кроме этого, проводили скрещивания с самоопыляемыми растениями из поля в качестве доноров пыльцы на 2-12 растений доноров D1-D19 (пример 3). После оценки качества и количества клубней для анализа потомства отбирали только скрещивания с отобранными растениями или их полными сибсами в случае недостаточного количества скрещиваний.

Таким образом, в каждом поколении отбирали растения по самоопыляемости и хорошим агрономическим показателям. Затем собирали семена самооплодотворенных ягод указанных отобранных растений для проведения дополнительных анализов для получения гомозиготных линий. Кроме этого, проводили скрещивания отобранных растений с другими диплоидными донорами или другими селекционными линиями для повышения генетической изменчивости. Указанные семена F1 являются гетерозиготными и необходимо провести несколько циклов инбридинга для получения гомозиготного потомства с желательными признаками.

Таким образом, в год можно провести два поколения отбора, самоопыления и скрещивания. Этому

процессу также способствует выведение с помощью маркеров посредством использования диагностических маркеров специфических признаков и случайных маркеров для отбора по геному рекуррентного родителя. Когда получают элитных родителей, можно получить производные этих линий посредством двух-трех поколений возвратного скрещивания и двух поколений самоопыления.

Пример 2. Выведение самоопыляемого диплоидного картофеля.

1. Введение.

Общим свойством диплоидного картофеля является несамоопыляемость; при самоопылении не получается жизнеспособное потомство. Было описано, что ген ингибитора S-локуса (SLI) от *Solanum chacoense* (99,191-197 Euphytica, 1998) подавляет указанную несамоопыляемость и придает диплоидному картофелю самоопыляемость (SC). После повторных самоопылений были получены клоны картофеля, близкие к гомозиготным самоопыляемым диплоидным клоном (Genome 48, 977-984, 2005). Однако сельскохозяйственная ценность указанных клонов была очень низкой, что выражалось в плохом прорастании, росте растения, качестве и урожайности клубней.

2. Эксперименты.

2.1 Материалы.

Для получения самоопыляемых клонов картофеля с гораздо большим уровнем сельскохозяйственных признаков скрещивали донора гена *Sli* с различными клонами картофеля, обозначенными как IVP97-079-9, IVPAA-096-18 и SH83-92-488. Перечисленные клоны можно получить у доктора R.C.B. Hutten, Лаборатория селекции растений, Университет Вагенингена, Нидерланды. В настоящем описании перечисленные клоны обозначают как клоны D1, D2 и D3, соответственно. Потомство (F1) подвергали самоопылению и возвратному скрещиванию с донором гена *Sli*, что приводило к получению популяций F2 и BC1, соответственно. BC1 подвергали самоопылению для получения популяций BC1S1. Все указанные скрещивания и самоопыления проводили с отбором только по самоопыляемости растений без какой-либо другой селекции.

2.2 Оценка потомства в зимнем исследовании.

В пилотных исследованиях несколько случайно выбранных потомков BC1 и F2 выращивали в обогреваемом парнике с искусственным освещением в течение 16 часов, тогда как температуры снаружи были ниже нуля в течение по меньшей мере трех месяцев. Определяли % самоопыляемых растений как количество растений с ягодами после ручного опыления, а урожайность как массу клубней на растение (табл. 2).

Результаты.

Донор *Sli* является самоопыляемым (SC), и большая часть растений F1 и BC1 также была самоопыляемой притом, что небольшое количество растений F2 были самоопыляемыми. Донор *Sli* показал крайне низкую урожайность притом, что BC1 и один из F2 имел урожайность, равную приблизительно 50% от урожайности клубней F1. Урожайность клубней некоторых растений BC1 была близка к урожайности растений F1, и урожайность некоторых (неотобранных) растений F2 была лучше, чем у самых слабых растений F1.

Таблица 2. Некоторые свойства озимых растений программы разведения диплоидного картофеля для введения гена *Sli*

	Число растений	Совместимость	Урожайность (граммов на растение SC)	
		Частота (%)	Среднее	Вариация
Донор <i>Sli</i>	2	100	22*	0 – 43
F1 (HxD3)	9	89	443**	258 – 634
BC1 (Hx(HxD1))	49	81	206**	0 – 524
BC1 (Hx(HxD2))	64	72	237**	28 – 543
Самоопыленное F2 (HxD1)	23	22	252**	131 – 376
Самоопыленное F2 (HxD2)	20	25	69**	0 – 201

* от клубней

** от саженцев

2.3 Оценки потомства в поле.

Летом 2010 растения потомства популяций F2 и BC1S1 исследовали в поле для отбора самоопыляемых растений потомства с хорошими сельскохозяйственными показателями (табл. 3).

Таблица 3. Схема выведения для введения самоопыляемости (SC) в диплоидный картофель.

Жирным шрифтом выделены наиболее перспективные материалы

F	F1 (HxD)	F2: самоопыленные (HxD)				BC1S1: самоопыленные (Hx(HxD))			
Родители	Растения (DxH)	Исследуемые популяции	Растения в поле	Самоопыляемые растения	Отобранные растения*	Исследуемые популяции	Растения в поле	Самоопыляемые растения	Отобранные растения
	№	№	№	№	№	№	№	№	№
H = донор <i>Sli</i>									
D1	33	15	2460	± 50	7	38	2521	< 10	1
D2	45	29	5598	> 500	52	24	1380	< 10	1
D3	8	8	1602	± 10	7				

* достаточный набор семян

Результаты.

Исследовали 52 популяции F2, содержавшие от 30 до 840 растений, и 62 популяции BC1S1, содержавшие от 1 до 390 растений, в общем 9660 растений F2 и 3901 растение BC1S1, соответственно. Большая часть популяций проявляла слабый рост растений и низкую частоту самоопыляемости. Только две популяции F2, полученные от родителя D2, содержали приблизительно 25% самоопыляемых растений. Лучшие растения указанных популяций отбирали по урожайности и качеству клубней.

Выводы.

Только две из 52 популяций F2 и ни одна из популяций BC1S1 продемонстрировали приемлемый уровень самоопыляемости. Тем не менее, неожиданно оказалось, что можно получить желаемые растения, начиная с материала, который был бы отбракован селекционерами. Основные отличия растений согласно настоящему изобретению от растений предшествующего уровня техники представлены в табл. 4 ниже.

Таблица 4. Характеристики родительских линий картофеля согласно настоящему изобретению, предложенных для получения (истинного) семени гибридного картофеля

	Сила	Плоидность	Урожайность клубней	Фертильность	Само-опыляемость
Донор гена <i>Sli</i> (Phumichai et al. Euphytica (2006) 148: 227–234).	Низкая	2n	Низкая	Низкая/средняя	Высокая
Диплоидный донор признака (например, D1)	Средняя	2n	Средняя	Средняя	Низкая
Коммерческий сорт	Высокая	4n	Высокая	Высокая	Низкая
Линии согласно настоящему изобретению	Средняя/высокая	2n	Средняя/высокая	Низкая/средняя	Высокая

Пример 3. Создание платформы молекулярного маркера.

Введение.

Для выполнения генетических исследований доступно множество систем маркеров. В целях настоящего изобретения была разработана и использована платформа молекулярных маркеров для оценки уровня гомозиготности относительно гетерозиготности у диплоидного картофеля.

Отбор наиболее информативных последовательностей для анализов SNP.

Ранее для того, чтобы провести анализ SNP у картофеля, использовали стандартный протокол Illumina GoldenGate (Shen et al. 2005. Mutation Research 573:70-82) (Anithakumari et al. 2010. Mol. Breeding,

26:65-75). Указанная платформа содержит 384 SNP, и позже ее дополнили еще 768 SNP. Указанные 384 и 768 SNP были разработаны с использованием последовательностей EST, которые представляют собой мРНК без последовательностей интронов. Поскольку авторы настоящего изобретения имели доступ к первой черновой последовательности генома картофеля (www.potatogenome.net), можно было сравнить мРНК с геномной последовательностью ДНК, включая промежуточные последовательности. Это сравнение с последовательностью генома картофеля проводили с помощью Basic Local Alignment Search Tool (BLAST; Altschul et al. 1990. J. Mol. Biol. 215: 403-410). Это дало 538 и 1681 попаданий, соответственно. Считали, что встречаемость множества попаданий BLAST соответствует паралограмм и последовательностям, покрывающим интроны. Их убрали из начальной коллекции SNP, которую сначала создали для анализа GoldenGate (Anithakumari et al. 2010). Это дало 279 и 453 уникальных попаданий BLAST, отражающих встречаемость только одной копии в последовательности генома картофеля *Solanum tuberosum* Group Phureja DM1-3 516R44 (CIP801092), как было показано ранее (Potato Genome Sequencing Consortium, www.potatogenome.net).

Из общего количества 732 SNP с уникальными попаданиями BLAST только небольшое количество (31 случай, в равной степени распределенные по набору 384 и 768) опускали из-за высоко уровня несоответствия последовательностей (3-6 SNP в пределах 101 п.н.). Ожидалось одно несовпадение, и второй SNP можно было включить в отобранные последовательности, покрывавшие SNP.

Для разработки представленных SNP минимальную длину последовательности принимали за 101 п.н. Поэтому 81 последовательность удалили, т.к. они были короче. Полученные 553 последовательности имели длину по меньшей мере 101 п.н.. В общей сложности 100 последовательностей затем удаляли из-за того, что они имели неполное соответствие только от 35 до 94 нуклеотидов в пределах скаффолда двойного моноплоида (DM-3 516R44; www.potatogenome.net). Также исключали последовательности с введенными пробелами выравнивания и последовательности, имевшие другие возможные трудности несоответствия.

Несмотря на то, что 25 последовательностей не соответствовали указанным выше критериям, их оставляли, поскольку было известно, что они являются высокоинформативными в анализах GoldenGate SNP. Даже допускали различия SNP между пятью классами генотипов, которые встречаются у тетраплоидов (Voortrips et al., EAPR-EUCARPIA, Конгресс "Выведение картофеля после завершения секвенирования ДНК генома картофеля", 27-30 июня 2010, Вагенинген, Нидерланды, публикация в электронном виде <http://edepot.wur.nl/143559>, стр. 42).

В итоге отобрали 515 последовательностей. Конечный отбор 100 последовательностей был основан на известном расположении 237 маркеров (из 515) на генетической карте картофеля (Anithakumari et al., 2010 и Van Os et al. Genetics 173:1075-1087, 2006). Отобранные маркеры были равномерно распределены по 12 хромосомам картофеля, включая самые удаленные теломерные, а также центромерные маркеры и с предпочтением SNP, которые были гетерозиготными в клоне RH (RH89-039-16; www.potatogenome.net), т.к. клон RH является предком материала, использованного в настоящем исследовании. Или, другими словами, аллели клона RH также присутствуют в материале, использованном в настоящем исследовании (см. табл. 2 и фиг. 3).

Анализ маркеров.

100 последовательностей SNP, отобранных согласно описанию выше, использовали в системе генотипирования KASPar SNP (KBioscience Ltd. Hoddesdon, UK; http://www.kbioscience.co.uk/lab%20services/SNP%20Genotyping/genotyping_chemistry.html). Маркеры проверяли на наборе из 20 генотипов диплоидного картофеля (см. фиг. 4), включая трех диплоидных родителей, использованных в настоящем исследовании, а затем на доноре гена Sli, клоне 07-1004-1 (также см. пример 2 выше).

Результаты.

Все последовательности SNP давали полиморфизмы в системе генотипирования KASPar SNP (см. фиг. 4), что соответствовало 100% уровню успеха. В общем, исследовали 100 маркеров × 20 генотипов, включая 2000 точек ввода данных. Мы наблюдали 29 пропущенных данных, что составляет менее 2%. В качестве контроля один генотип анализировали дважды, при этом использовали образцы растений из различных мест (фиг. 4, столбец 4 и 7). Все данные совпадали. Полученные результаты показали, что система генотипирования KASPar SNP является эффективной, надежной и воспроизводимой платформой маркеров для диплоидного картофеля. Это показывает, что система генотипирования KASPar SNP является эффективной, надежной и воспроизводимой для диплоидного картофеля.

Все маркеры проявляли высокую частоту встречаемости в зародышевой плазме диплоидного картофеля, использованной в данном эксперименте (Аппендикс III). Частота гетерозиготности в зародышевой плазме с использованием указанных 100 маркеров находилась в пределах от 26% до 77%, при этом донор гена Sli был на 100% гомозиготным, что соответствовало ожиданиям (Phumichai et al. 2005 Genome 48:977-984).

Число информативных маркеров между донором Sli и тремя родителями, использованными в настоящем исследовании, составило 54, 52 и 62, соответственно. Это указывает, что система генотипирования KASPar SNP также является информативной для диплоидного картофеля.

На основании вышеизложенного заключили, что система генотипирования KASPar SNP согласно настоящему описанию, основанная на маркерах, разработанных в настоящем изобретении, является эффективной, надежной, воспроизводимой и в высшей степени информативной для описания уровня гомозиготности/гетерозиготности у диплоидного картофеля.

Таблица 5А. Последовательность 100 маркеров SNP у картофеля

Идентификационный № SNP	№ SNP	Аллель Y	Аллель X	Последовательность
PotSNP002	11940065	G	C	ACCTGGTGCAGGCCT[C/G]CGTATTGATACGATT
PotSNP011	11940098	C	T	GACTGTGATTTCGAAA[T/C]GTTTACCTATCTCTT
PotSNP021	11940075	C	T	TCGTAGAAATGACAT[T/C]TGGGGTGCTAGAGAT
PotSNP026	11940044	C	T	AGTTTCCAGCTGATG[T/C]TATTCTAGGAGACGA
PotSNP032	11940037	G	A	AGAGGCTCTTGAGGC[A/G]CAGCGAAAAGAGGAA
PotSNP038	11940016	C	T	TGGTGACGTTTCATGT[T/C]GGACGTAATGCTTCT
PotSNP043	11940036	C	A	AGTATCTCCGTCCGA[A/C]TCACAGTCCTACTCT
PotSNP045	11940094	G	A	GGTGCTAAGATTTCGC[A/G]TTGATGATTCACTAG
PotSNP047	11940054	C	T	CCAACACTGGAAAAA[T/C]TATGGAAGCAGAAAG
PotSNP052	11940097	C	T	GCTAGCATTAGAGCT[T/C]GCTAAGCGACTCAAT
PotSNP055	11940021	G	A	GCCTTGGAGTAAGAG[A/G]TTTTCTGTTTTGGGC
PotSNP057	11940040	C	T	GGATGTTTCATCAACG[T/C]CGACTTCGACAAGCT
PotSNP061	11940032	C	T	ACAACCTGCAAGAGC[T/C]TTGCATCTGTTTAGT
PotSNP068	11940023	C	T	TACAATCATGATCCT[T/C]TTGCCTAATTGCCCT
PotSNP072	11940005	G	A	CTGAGCTAGTAGATC[A/G]ATCAAACGGTGCTCC
PotSNP073	11940076	G	T	GACTGTATGGACAGT[T/G]ATTGGGTCAGAGGAC
PotSNP080	11940068	C	T	AAGATGACGTGGAGT[T/C]CGGCACTGCGCCGTT
PotSNP081	11940047	C	T	GCCGCACAAGGTGCT[T/C]GCCGTCGATGTTAGC
PotSNP083	11940033	C	T	AGGTAGTGTTCGAAA[T/C]ACAATTAGAGGGTTG
PotSNP089	11940062	G	A	AAGTACATTTATGAG[A/G]AGATTAACAAGTGTT
PotSNP099	11940092	C	T	ACTGCTGGAAGTGA[T/C]TGAACAATGCTATTA
PotSNP100	11940083	C	T	GAGTGCCGGCAGCGT[T/C]ACAGATCCGACGATG
PotSNP102	11940070	G	A	TATGGCAGAGAAAGA[A/G]ATGGAGTATAGAGTG
PotSNP1026	11940059	G	C	TAAACTCCAACATAT[C/G]AACACAAATTAGTGC
PotSNP1034	11940001	G	A	TTCTACATCCTTCGC[A/G]GGCATTTTTGAGGAG
PotSNP1049	11940051	T	C	TTTGGGGAGGAACAC[C/T]TGTGCTTTAGAACTC
PotSNP1057	11940022	A	C	TGTCATAAGAAAGC[C/A]CAAGAGGCAATGCAG
PotSNP106	11940010	G	T	GCAAGCTACTTGTTT[C/G]AAAGGACCTGCTACT
PotSNP1072	11940027	G	T	AGCGAGTTTGGATGC[T/G]GAGCTTTTGCAGTTA
PotSNP1083	11940019	C	T	TACAAAGTTCACTGC[T/C]GAGGAGGTCATGCAG
PotSNP1105	11940041	A	C	GATGAGGAAAGGCAC[C/A]GGCGGAGGTGTTGGA
PotSNP1115	11940071	T	C	CACCACCGTCCAAAC[C/T]GGTTTTGCCAATCGC
PotSNP1122	11940060	T	C	GGTCCCTGAGCAAGG[C/T]AATCAACGAATTAGG
PotSNP1139	11940004	G	A	AGTCTCTACAAACCC[A/G]TGGTTTCGATCTTGA
PotSNP116	11940058	G	A	TAATGTGGTCGGCAC[A/G]CTGACGCTTGCTGAT
PotSNP118	11940091	G	A	AGATGCATTCTATGC[A/G]GAACCACAAAGATAT
PotSNP120	11940082	G	A	TTCGTGTTGCACTCA[A/G]CGATTCAAGTTGGATG
PotSNP121	11940099	C	T	AGCTTGTGCTAATAG[T/C]TGTGCTGATTTCTC
PotSNP122	11940078	G	A	TATGCAATCCCAGCC[A/G]ACATATCCGATCCAT
PotSNP124	11940055	G	A	TCATACTCACATAT[A/G]TCAGAGTGGTCTGAT
PotSNP130	11940050	C	T	AGAGAAAAAGCTGT[T/C]GTTGTTGATGACGAG
PotSNP134	11940080	C	T	CGCGTATTTCCCTTA[T/C]TATAACTCGTTCTCT
PotSNP138	11940052	C	T	TTACATATGCAATAG[T/C]GGTGGTGATCTTTAT

PotSNP152	11940077	C	T	GAAGTTGTCTTACAT[T/C]GCTCTTGACTATGAA
PotSNP162	11940074	C	T	CTATGATGCATTTAG[T/C]TCATGGAGCAAACCTT
PotSNP165	11940009	G	A	AGTTCCTTTTTCTCC[A/G]AGTTCTCAGACTCCG
PotSNP178	11940026	G	T	GAGGAATTGATGCGT[T/G]CTGAAGTGGCACAGT
PotSNP182	11940095	G	A	ATACACAGGAAGGGT[A/G]AAGTGCTTCAAATTG
PotSNP184	11940038	G	A	TTTGACCATTCTTTC[A/G]GTCCTAGCTAACCAC
PotSNP185	11940002	C	T	AAGATAAGAAGAAAG[T/C]TAAGAGAACCAAGAT
PotSNP194	11940064	C	T	GGCCCACTTTCCACA[T/C]ATTCAATTTGGTCTC
PotSNP205	11940042	G	A	TCAACTCACCCTGG[A/G]TTTTACTCAAATCA
PotSNP213	11940096	G	A	TAATATGTTGTGTCT[A/G]TAATTTTTGGGTCAT
PotSNP220	11940013	C	T	CATTAACCAAGGTTG[T/C]ATCGTTCGAGAGATC
PotSNP229	11940056	C	T	TCCTTTGTCTATTGTA[T/C]GCCATGGAAGAAGCA
PotSNP392	11940003	T	A	GCTTTGTTAAGAAC[A/T]GCCAGAAGAAGTTGC
PotSNP401	11940012	G	A	GCCTACGCGGCATGA[A/G]GATGTGGATATTGTT
PotSNP402	11940072	T	C	AAAGCTCAAATTTAA[C/T]GACGATGTTCTAGGAA
PotSNP423	11940020	A	G	GGCCAACCAATTCCA[G/A]CGTCTTCTCCAGAC
PotSNP446	11940081	C	T	AAAACCATTTGGTCT[T/C]GTTGATAATTCTGAG
PotSNP458	11940069	A	G	TACATAGCTCTACAA[G/A]CTTGGAACATGTCA
PotSNP470	11940043	T	A	GACACAAAATTCATA[A/T]TGGCTGATACTTTGT
PotSNP543	11940049	T	A	GCAACTTGTCGTCGG[A/T]AAACTCGACTAGATT
PotSNP567	11940014	A	C	CTAGAAACAAAATCA[C/A]AATATAAGTTACATA
PotSNP569	11940028	G	A	GTTGTTTGCTTTGTT[A/G]TGCTGACTTATTGTA
PotSNP573	11940034	C	T	ATGCTTCTTGGTTGC[T/C]GTTTGTGTTAGGCTCT
PotSNP580	11940087	T	C	AAATATGTTGTTCCA[C/T]TAGAAAAAGAGTAA
PotSNP586	11940088	C	T	GTGAATACTGGTATC[T/C]TTCCAATTGAAGTCA
PotSNP587	11940067	C	T	AATATTCTTGTAGTA[T/C]ATATTGTCTAAAATC
PotSNP607	11940084	T	C	CAACGATATCGAGAA[C/T]TATTGTTCTAAGGGA
PotSNP626	11940045	G	A	GCTGAAAGTAAAGAC[A/G]GTGTTCAACATCTTG
PotSNP645	11940007	T	G	CATGCAATTGTAATA[G/T]TATCAATGTTTGTG
PotSNP652	11940024	T	C	TGCTCAAGCTGCCAA[C/T]GCTAATCCGCTTTAC
PotSNP700	11940061	G	A	CAAGATATATGCAGC[A/G]GAGTCCCTTCGAGCA
PotSNP702	11940039	A	T	TTATGGTTATGGTGG[T/A]GGAGGTTGGATTAAT
PotSNP712	11940057	C	G	GGGAGGGTGAAAATA[G/C]TCGAAAACGGGCAAC
PotSNP713	11940073	G	A	GATTGTTATCCTTCC[A/G]CCACCTCCAACAGAT
PotSNP731	11940035	A	G	CAACTTCCAGTCGTG[G/A]GAGTGGGGTTAACGG
PotSNP753	11940046	G	A	ATGGTGTCTCCAAGG[A/G]ACTATTACAGTCACT
PotSNP759	11940090	C	T	AACATCGATAGGACT[T/C]TGAAGGCCGCGGATG
PotSNP766	11940089	T	C	CTGCCACTGCGGCTG[C/T]AGGTTCTGCAGCTGC
PotSNP775	11940079	G	A	TGAAATGATTGGATT[A/G]TGACCCATAGTTTAG
PotSNP796	11940025	C	A	ATCTCTAAGTTGGGG[A/C]AACCCATAATTCTA
PotSNP827	11940053	T	A	CGCTTGGAAGAACC[A/T]TCGGTCCAGTTTGTG
PotSNP834	11940006	T	C	CCAATTCCGACGGCC[C/T]TCGTCGTTTCACCGC
PotSNP853	11940066	A	C	GGTCGACCATTGGGG[C/A]CCCGTAGAGGGTATA
PotSNP866	11940048	G	T	AAGGCGAATTCCGGT[T/G]CCCGAAATGGATCTC
PotSNP893	11940011	A	G	TCATTACATCAAAAT[G/A]TTTTATCAATGCCCA
PotSNP908	11940100	T	A	TGATCCATTTGGTCT[A/T]GACCAGTCTTGACA
PotSNP910	11940017	T	A	TGCTGTGCTCCTTCT[A/T]TCCTCATCTCTCAC
PotSNP928	11940030	A	T	TCATTCTCACTCTCC[T/A]GCTGAACAAGCCATT
PotSNP947	11940015	T	G	AAAAGACAAGAATCT[G/T]GTTTCAGATTCTCCAG
PotSNP948	11940063	T	A	TGGGGAAAACCTTAAT[A/T]TGACAGCCAAGGCGT
PotSNP960	11940031	C	T	GGTTTTGTGGACTGC[T/C]AACACTGAAAGATAC
PotSNP964	11940029	A	T	TTATTTCAATGAAGC[T/A]TCTGGTGGACGTTAT
PotSNP982	11940085	C	T	TCTGTGGTTTTTCA[T/C]CACCTCCATCTTCAA
PotSNP983	11940086	G	A	TAAGATTAGTTCTAA[A/G]CTTAGCGCAGAAGAC
PotSNP985	11940018	A	G	GAGCTCTATAAGTGC[G/A]CCTGTTACTCCACCT
PotSNP987	11940008	C	A	GGGCTATGGTTGGTT[A/C]GGAAAAAAGGTGCAA
PotSNP996	11940093	C	T	GGATATTGGGTTCTG[T/C]CCATGATTCTGTTGCA

Таблица 5В: Список маркеров PotSNP и их определенная аннотация для положений на карте SH и RH фиг. 3

Маркер	Аннотация	Маркер	Аннотация	Маркер	Аннотация
PotSNP072	1.1	PotSNP573	5.1	PotSNP102	9.1
PotSNP834	1.2	PotSNP184	5.2	PotSNP587	9.2
PotSNP645	1.3	PotSNP702	5.3	PotSNP1115	9.3
PotSNP1034	1.4	PotSNP731	5.4	PotSNP402	9.4
PotSNP987	1.5	PotSNP043	5.5	PotSNP713	9.5
PotSNP185	1.6	PotSNP057	5.6	PotSNP080	9.6
PotSNP392	1.7	PotSNP1105	5.7	PotSNP458	9.7
PotSNP165	1.8	PotSNP032	5.8	PotSNP162	9.8
PotSNP1139	1.9	PotSNP205	6.1	PotSNP021	10.1
PotSNP038	2.1	PotSNP753	6.2	PotSNP073	10.2
PotSNP910	2.2	PotSNP470	6.3	PotSNP152	10.3
PotSNP106	2.3	PotSNP026	6.4	PotSNP122	10.4
PotSNP893	2.4	PotSNP626	6.5	PotSNP775	10.5
PotSNP401	2.5	PotSNP081	6.6	PotSNP134	10.6
PotSNP220	2.6	PotSNP866	6.7	PotSNP446	10.7
PotSNP567	2.7	PotSNP124	7.1	PotSNP120	10.8
PotSNP947	2.8	PotSNP047	7.2	PotSNP586	11.1
PotSNP055	3.1	PotSNP543	7.3	PotSNP100	11.2
PotSNP985	3.2	PotSNP130	7.4	PotSNP607	11.3
PotSNP1083	3.3	PotSNP1049	7.5	PotSNP766	11.4
PotSNP423	3.4	PotSNP229	7.6	PotSNP759	11.5
PotSNP1057	3.5	PotSNP712	7.7	PotSNP118	11.6
PotSNP068	3.6	PotSNP138	7.8	PotSNP982	11.7
PotSNP652	3.7	PotSNP827	7.9	PotSNP983	11.8
PotSNP796	3.8	PotSNP1026	8.1	PotSNP580	11.9
PotSNP178	4.1	PotSNP1122	8.2	PotSNP099	12.1
PotSNP1072	4.2	PotSNP700	8.3	PotSNP011	12.2
PotSNP960	4.3	PotSNP853	8.4	PotSNP996	12.3
PotSNP061	4.4	PotSNP089	8.5	PotSNP045	12.4
PotSNP569	4.5	PotSNP948	8.6	PotSNP121	12.5
PotSNP083	4.6	PotSNP194	8.7	PotSNP908	12.6
PotSNP964	4.7	PotSNP116	8.8	PotSNP182	12.7
PotSNP928	4.8	PotSNP002	8.9	PotSNP213	12.8
				PotSNP052	12.9

Таблица 6. Генотипы диплоидного картофеля, использованные для разработки маркеров SNP и анализа

№	Аббр.	Код	Краткое описание	Ссылка
1	H	07-1004-1	Донор гена <i>Sli</i>	07-1004-1 представляет собой потомство F1-1 донора <i>Sli</i> согласно описанию в публикациях Phumichai et al. (2005) Genome Vol. 48:977-984, Phumichai and Hosaka (2006) Euphytica 149:251-258 и Phumichai et al. (2006) Euphytica 148: 227-234.
2	D1	IVP97-079-9	Родитель 1, использованный в данном исследовании, ранний, длинный, Y (желтая мякоть), Qcook	Примеры 1, 2 и 4 в настоящем описании; можно получить у Ronald Hutten, Лаборатория селекции растений, Университет Вагенингена.
3	D2	IVPAA-096-18	Родитель 2, использованный в данном исследовании, ранний, Y, Qcook	Примеры 1, 2 и 4 в настоящем описании; можно получить у Ronald Hutten, Лаборатория селекции растений, Университет Вагенингена.
4	D3	SH83-92-488	Родитель 3, использованный в данном исследовании, R3, H1, Gpa2, RXadg, Y	Примеры 2 и 4 в настоящем описании; можно получить у Ronald Hutten, Лаборатория селекции растений, Университет Вагенингена.
5	D4	Родитель C	Родитель популяции CxE	Anithakumari A.M. et al. (2010) Molecular Breeding 26(1):65-75
6	D5	Родитель E	Родитель популяции CxE	Anithakumari A.M. et al. (2010) Molecular Breeding 26(1):65-75
7	D3	SH83-92-488	Независимый диплоид № 3	Van Os, H. et al. (2006) Genetics 173(2):1075-1087
8	D6	RH89-039-16	Использован для секвенирования генома	Van Os, H. et al. (2006) Genetics 173(2):1075-1087; можно получить у Ronald Hutten, Лаборатория селекции растений, Университет Вагенингена.
9	D7	3778-16	<i>Grp1</i> , ранний, длинный (форма), <i>Ro1</i>	Roupe van der Voort et al. (1997) Mol Gen Genetics 255(4):438-447
10	D8	IVP92-057-3	Ранний, длинный, Y, Qfry	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
11	D9	IVP98-082-14	Длинный, Y, Qfry, H1, Qcook	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
12	D10	IVP02-089-5	Ранний, длинный, Y, H1, Qcook, Zep (оранжевая мякоть)	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
13	D11	IVP05-113-1	Ранний, у (белая мякоть)	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
14	D12	IVP05-122-24	Qstarch, Y	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
15	D13	IVP06-142-12	Гибрид диких видов: Phyt avl	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
16	D14	IVP06-145-2	Гибрид диких видов: Phyt rch	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
17	D15	IVP06-148-13	Круглый (форма), Qcook, Qfry	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
18	D16	IVP06-149-12	Ранний, круглый, Zep, Y, очковый, Qcook, синие антоцианы	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
19	D17	IVP06-155-9	Гибрид диких видов: Phyt tar	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
20	D18	IVP06-161-16	Ранний, Phyt vnt1, круглый, Y, H1	Использовали для разработки маркеров в Примере 3
21	D19	IVPAA-134-16	Ранний, круглый, у (белая мякоть)	Использовали для разработки маркеров в Примере 3

Ранний: раноцветущий (короткий цикл); Qcook: хорошие кулинарные качества; Qfry: хорошие качества жарки; Phyt обозначает гены устойчивости к Phytophthora.

Пример 4. Создание растений гомозиготного диплоидного картофеля и получение гетерозиготного потомства гибридов F1.

Введение.

Задачами данного примера являлась разработка линий гомозиготного, диплоидного картофеля, которые являются самоопыляемыми (CS) и обладают хорошими агрономическими показателями. Программа выведения для комбинации самоопыляемости и хороших агрономических показателей описана выше в примере 2. Целью данного эксперимента являлось доказательство того, что генотипы гомозиготного, диплоидного, самоопыляемого картофеля можно получать с помощью инбридинга, и растения диплоидного картофеля, несущие контрастирующие гомозиготные локусы, распределенные по всему геному картофеля, можно скрещивать (они являются перекрестно опыляемыми) для получения гетерозиготного потомства гибридов F1.

Материалы и методы.

Генотип самоопыляемого диплоидного гомозиготного картофеля, который несет ген *Sli* согласно описанию в примерах выше, скрещивали с двумя клонами картофеля, обозначенными как D1 и D2 (см. примеры 1 и 2). Потомство F1 подвергали самоопылению и получили двух потомков F2 от двух случайно выбранных самоопыляемых растений F1. Случайные самоопыляемые растения двух указанных популяций F2 подвергали самоопылению и на каждую популяцию F2 проверяли по три популяции F3 по уровню гомозиготности и сегрегации маркеров SNP.

У 6 растений F2 определяли уровень пloidности (флуоресцентным методом количественного определения ДНК) и оказалось, что все они диплоидны.

Набор из 36 маркеров использовали для 265 отдельных растений F3 с применением системы генотипирования KASPar SNP (см. пример 3), покрывающей все плечи 24 хромосом растений (см. фиг. 5).

Результаты.

Подгруппы из 35-56 растений шести популяций F3, в общем 265 растений, исследовали с помощью по меньшей мере 24 информативных маркеров на пару родителей. В общем, использовали 36 маркеров (см. фиг. 5). Для расположения маркеров в геноме картофеля см. пример 3 выше. Донор гена *Sli* был на 100% гомозиготным по указанным маркерам, тогда как родители D1 и D2 содержали 20 и 19 локусов, соответственно, которые были гетерозиготными, из 24 исследованных информативных маркеров на пару родителей, тогда как другие 5 и 6 локусов, соответственно, содержали гомозиготные аллели, полученные от донорского родителя (D1 или D2).

Шесть гомозиготных растений F3.

Как и ожидалось, популяции F3 разделились по маркерам, которые были гетерозиготны в F2, и не разделились по маркерам, которые были закреплены в F2 (фиг. 5). Средний уровень гетерозиготности находился в пределах от 84 до 95%, тогда как значение для отдельных растений менялось от 71 до 100% (табл. 7).

Таблица 7. Частоты гомозигот (%) шести популяций F3.

Популяция F3	Родитель-донор	Среднее	Диапазон
126	D1	85	74-96
126B	D1	88	74-100
127	D1	84	71-96
121	D2	85	71-96
122	D2	89	79-100
123	D2	94	88-100

Выбранный набор растений F2, F3 и F4 из программы селекции (см. пример 5) был фенотипирован и генотипирован с применением более чем 100 информативных маркеров. Эти растения были выбраны за их самоопыляемость, хорошую производительность (силу) и высокие качество и урожайность клубней. Генотипирование выполняли с применением системы генотипирования KasPar, как описано выше (см.: Выбор наиболее информативных последовательностей для анализов SNP; табл. 5). Более 100 маркеров были равномерно распределены по двенадцати хромосомам картофеля. Это обеспечило еще лучший охват, чем с 24 маркерами, описанными выше.

В исследовании с повторностями урожай растений F2 составлял от 50 до 2500 г/растение, в то время как некоторые другие диплоидные скрещивания давали вплоть до 3100 г на растение, что превышало среднее значение для контрольных тетраплоидных сортов.

Три популяции F3 скрещивания D1×H и H×D2 исследовали по частоте гомозиготных локусов на основе данных, представленных на фиг. 5, как показано в табл. 9.

Ожидалось, что указанные частоты дадут частоты аллелей родителей. Шесть растений трех популяций уже были 100% гомозиготными. Они несли в основном гомозиготные локусы с аллелями донора *Sli*. Это было ожидаемо, т.к. донор *Sli* несет гомозиготные аллели, тогда как другие родители содержали один общий аллель с донором *Sli* на гетерозиготный маркер. Таким образом, аллели, полученные от донора *Sli*, часто встречались во всех популяциях потомства. Указанные шесть гомозиготных растений F3, обозначенные как 122-34, 123-6, 123-20, 123-23, 123-24 и 126B-17 содержали 2, 5, 4, 3, 5 и 7 локусов со-

ответственно, с гомозиготными аллелями от донорского родителя. Таким образом, уже в двух самоопыляемых поколениях гомозиготность достигала 100% по 24 маркерным локусам, представлявшим 24 плеча хромосом.

Аналогично, данные генотипирования с применением >100 маркеров на выбранных растениях F2, F3 и F4 показали, что процент гомозиготности отдельных растений увеличился от 27-70% для F2 до 58-87% для F3 и до 85-99% для наиболее гомозиготной популяции F4.

Отсутствие абсолютно летального аллеля.

Часто заявляли, что повторные самоопыления диплоидного картофеля приводят к появлению только слабых растений из-за инбредной депрессии. Это должно быть связано с многочисленными вредными аллелями, которые снижают приспособляемость растения, если указанные аллели находятся в гомозиготном состоянии. Поэтому мы исследовали сегрегацию 36 маркеров в шести указанных популяциях F3 (см. фиг. 5).

Указанные маркеры, которые были выбраны, т.к. они являются информативными для родительских пар, использованных в настоящем исследовании, также проверили на частоты в 19 генотипах диплоидного картофеля, которые выбрали в качестве доноров для программы выведения (см. пример 3, фиг. 4 и табл. 9). Если присутствовали летальные аллели, то локусы с гомозиготными аллелями должны были отсутствовать. Действительно, 7 маркеров (обозначенные PotSNP165, PotSNP205, PotSNP753, PotSNP238, PotSNP700, PotSNP100 и PotSNP607) не показали гомозиготных аллелей, которые бы отличались от аллелей донора Sli в указанной диплоидной зародышевой плазме. Большая часть указанных маркеров уже закрепились в F2, большинство из них для аллелей донора Sli, т.к. они наиболее часто встречались у родителей, но также наблюдали примеры, в которых у популяции F3 закрепился аллель родителя, не имевшего Sli (PotSNP753 в популяциях 126B и 127). Три из указанных семи маркеров (PotSNP205, PotSNP753 и PotSNP100) разделялись в популяциях F3, при этом PotSNP753 разделялся нормально, и PotSNP205 и PotSNP100 проявляли искаженную сегрегацию. Это может свидетельствовать о вредных аллелях. Обнаружили только одно растение с гомозиготными аллелями донора PotSNP100. Не желая быть связанными теорией, считается, что это может свидетельствовать об очень вредном аллеле. Поскольку обнаружили только одно растение с гомозиготным аллелем донорского родителя, это не является полным доказательством абсолютно летального аллеля.

Скрещивания F3×F3.

Исследованные 265 растений F3 культивировали в неотапливаемом парнике летом 2010. Кроме этого, дополнительно в поле с глинистой почвой выращивали приблизительно 600 растений F3 (также см. пример 2). Все указанные растения из неотобранных растений F2 культивировали в зимнем питомнике в Нидерландах (см. пример 2). Проводили скрещивания с нанесением пыльцы самоопыляемых растений, выращенных в парнике и поле, на рыльца выращенных в парнике, самоопыляемых растений F3. Скрещивания проводили только между растениями F3 с разными родителями в третьем поколении (растения F3 популяций 121-123, скрещенных с 126-127). Парниковые растения, обозначенные как 126-24, 126-31, 126B-2 и 127-21, с успехом скрещивали в качестве самоопыляемого родителя женского пола с самоопыляемым растением F3 популяции 123 в качестве родителя мужского пола. Женские растения F3 были более чем на 80% гомозиготными, тогда как растения F3 в поле не подвергали анализу, но средний уровень гомозиготности в популяции был равен 94%, в пределах от 88 до 100%.

Родителей скрещивания F3 × F3 сравнивали по локусам, которые уже закрепились в популяциях F3 (см. табл. 8). Обнаружили 10 гомозиготных локусов на девяти хромосомах, которые по меньшей мере отличались у одной из четырех особей женского пола и одного родителя мужского пола, использованных для скрещиваний F3 × F3. Вследствие этого потомство гибридов F1 было гомозиготно по меньшей мере в указанных контрастирующих локусах. Так как каждая отдельная пара родителей имела по меньшей мере пять контрастирующих локусов, каждое отдельное растение потомства имело по меньшей мере пять отличающихся участков хромосом.

Таблица 8. Контрастирующие закрепленные локусы между родителями скрещиваний F3×F3

		Хромосома	126-24	126-31	126B-2	27-21
Уровень гомозиготности	%		86	80	88	88
Контрастирующие гомозиготные локусы в популяции 123 F3	PotSNP392	1	x			
	PotSNP038	2	x	x		x
	PotSNP985	3			x	x
	PotSNP1105	5	x	x	x	x
	PotSNP753	6			x	
	PotSNP124	7				x
	PotSNP162	9	x	x	x	
	PotSNP021	10			x	x
	PotSNP120	10	x	x	x	x
	PotSNP213	12	x	x		
Общее число	10	9	6	5	6	6

Коды 126-24, 126-31, 126В-2 и 127-21 обозначают отдельные растения F3, которые использовали в качестве женских растений в скрещиваниях с одним растением, выращенном в поле, популяции F3, обозначенном "123" (смотрите выше). Уровень гомозиготности рассчитывали как процент гомозиготных локусов от всех исследованных локусов (фиг. 5). "X" обозначает гомозиготные маркеры, которые имели отличающиеся аллели между четырьмя женскими растениями и одним растением популяции 123.

Выводы.

Обнаружили, что после осуществления двух самоопылений были получены гомозиготные диплоидные растения картофеля, включавшие аллели от обоих родителей. Ни один из 36 исследованных маркеров не представил доказательства летального аллеля. Более того, растения, которые имеют 84% гомозиготных локусов, можно с успехом скрещивать с получением гибридных растений, имеющих по меньшей мере пять гетерозиготных участков хромосом. Это означает, что в настоящее время были получены гибридные семена, которые являются по существу единообразными и представляют собой настоящее семя картофеля.

Таблица 9. Частоты аллелей маркеров SNP по всему геному в диплоидной зародышевой плазме и популяциях F3

Маркер SNP	Хромосома	Частоты аллелей												
Код	№	Диплоидная зародышевая плазма				Популяция F3 от скрещивания H X D1				Популяция F3 от скрещивания H X D2				
		HH**	HD	DD	HD	HH	HD	DD	HD	HH	HD	DD	HD	
		№*	№	№	%***	№	№	№	%	№	№	№	%	
PotSNP834	1	4	9	5	50	47	79	17	55	122	0	0	0	
PotSNP392	1	5	11	3	58	9	32	14	58	122	0	0	0	
PotSNP165	1	13	5	0	28	142	0	0	0	не определены				
PotSNP038	2	2	12	5	63	15	48	80	34	122	0	0	0	
PotSNP947	2	8	9	1	50	118	13	12	9	122	0	0	0	
PotSNP985	3	3	8	6	47	62	17	63	12	18	46	58	38	
PotSNP796	3	2	12	5	63	142	0	0	0	122	0	0	0	
PotSNP960	4	6	10	3	53	59	61	20	44	не определены				
PotSNP569	4	13	2	4	11	не определены				121	0	0	0	
PotSNP928	4	5	13	1	68	141	0	0	0	88	19	15	16	
PotSNP184	5	2	7	10	37	61	59	23	41	122	0	0	0	
PotSNP1105	5	2	12	5	63	140	0	0	0	19	40	62	33	
PotSNP205	6	13	6	0	32	не определены				91	27	3	22	
PotSNP753	6	9	10	0	53	28	20	91	14	не определены				
PotSNP626	6	9	8	2	42	не определены				122	0	0	0	
PotSNP081	6	12	6	1	32	142	0	0	0	не определены				
PotSNP124	7	8	9	2	47	85	0	55	0	не определены				
PotSNP229	7	7	11	1	58	56	0	0	0	15	37	69	31	
PotSNP138	7	9	10	0	53	55	0	0	0	121	0	0	0	
PotSNP1026	8	10	6	3	32	не определены				80	0	42	0	
PotSNP700	8	9	9	0	50	140	0	0	0	34	0	0	0	
PotSNP116	8	7	9	3	47	140	0	0	0	не определены				
PotSNP102	9	3	12	2	71	141	0	0	0	122	0	0	0	
PotSNP458	9	11	7	1	37	не определены				122	0	0	0	
PotSNP162	9	14	4	1	21	11	31	98	22	не определены				
PotSNP021	10	0	10	9	53	33	55	53	39	35	0	0	0	
PotSNP152	10	0	8	11	42	141	0	0	0	82	23	17	19	
PotSNP120	10	9	9	1	47	не определены				48	23	51	19	
PotSNP100	11	14	5	0	26	53	89	1	62	не определены				
PotSNP607	11	14	5	0	26	не определены				122	0	0	0	
PotSNP580	11	2	5	12	26	142	0	0	0	43	53	24	44	
PotSNP099	12	1	10	8	53	56	0	0	0	120	0	0	0	
PotSNP996	12	7	8	4	42	142	0	0	0	не определены				
PotSNP182	12	6	10	3	53	не определены				56	43	21	36	
PotSNP213	12	9	8	1	44	22	38	80	27	не определены				
PotSNP052	12	4	8	7	42	142	0	0	0	89	18	14	15	

№: количество растений; HH: гомозиготный локус донора Sli; DD: гомозиготный локус донора; HD: гетерозиготный локус; % - процентная доля гетерозиготных растений, меньшие значения указывают на высокий уровень гомозиготности F3.

Пример 5. Схема выведения коммерческой разновидности картофеля.

Начиная с материалов F3, полученных от скрещиваний донора Sli с другим диплоидным картофелем согласно описанию в примере 2 и 4 выше, схема выведения для получения коммерческих сортов картофеля изложена ниже. Указанная схема состоит из нескольких последовательных этапов, которые в комбинации с идеей настоящего описания, позволят специалисту в данной области техники получить разновидность диплоидного или тетраплоидного гибридного картофеля, который является таким же хорошим или предпочтительно лучшим, чем существующие коммерческие гибриды и количество которого можно увеличить намного быстрее, чем существующие коммерческие сорта в течение пяти лет.

1. Определение сорта продукта.

На основе изобретения согласно настоящему описанию получение нового сорта картофеля, основанного на выведении коммерческих гибридов, не является делом случая, но представляет собой направленный процесс получения, начиная с формирования профиля продукта сорта. В настоящем описании должен быть определен желаемый профиль продукта (профиль целевого продукта) для определенного рынка (картофельные чипсы, производство крахмала, потребление картофеля). Кроме этого, должны быть определены способы оценки важных признаков профиля продукта. Предпочтительно наличие важных признаков оценивают с помощью диагностических маркеров. Такие маркеры хорошо известны в данной области традиционного выведения картофеля.

2. Полевые исследования.

В зависимости от сезона, в который начинают процесс разработки, выбирали подходящее поле для проведения исследования. Если процесс начинали в сентябре или октябре, предпочтительно, чтобы выбирали соответствующее поле для исследований, расположенное в южном полушарии. Полевые исследования можно начинать по меньшей мере с 2, предпочтительно большего числа популяций F3, выбранных из по меньшей мере одного, но более предпочтительно большего числа скрещиваний диплоидного донора Sli и другого генотипа диплоидного картофеля, служащего донором агрономического признака, предпочтительно признака силы, при этом популяции F3 представляли собой диплоидные, фертильные, самоопыляемые, по существу гомозиготные линии картофеля согласно настоящему изобретению в описании примера 2. Кроме указанных популяций F3, потомство F1 отбирали от по меньшей мере двух, предпочтительно большего количества отобранных растений F2 (согласно описанию выше в примере 2), скрещенных по меньшей мере с двумя, предпочтительно большим количеством генотипов диплоидного картофеля, которые отличались от родителей в третьем поколении отобранных растений F2. Затем по меньшей мере 50, предпочтительно большее количество отдельных растений указанных популяций F3 и F1 выращивали на выбранных полях для картофеля и подвергают самооплодотворению.

3. Оценки и отбор.

Во время выращивания в поле определяли частоту самоопыляемых растений, которые давали ягоды в течение 2-6 недель после начала цветения, и отбирали по меньшей мере две, предпочтительно больше популяций F3 и F1 с по меньшей мере 10%, предпочтительно большим количеством самоопыляемых растений. Далее во время периода вегетации оценивали агрономические характеристики согласно профилю продукта самоопыляемых растений в отобранных популяциях. Собирали образцы листьев самоопыляемых растений отобранных популяций для анализа ДНК маркеров.

В конце периода вегетации оценивали качество клубней и количество самоопыляемых растений в отобранных популяциях, и генотипы ДНК маркеров оценивали с использованием диагностических и случайных маркеров. На основе указанной оценки отбирали по меньшей мере пять, предпочтительно более самоопыляемых растений каждой популяции по: 1) комбинации признаков, которая наиболее близка к целевому профилю продукта; 2) наибольшему уровню гомозиготности, и 3) с наибольшим количеством контрастирующих гомозиготных локусов. Отобранные и самооплодотворенные растения F3 и F1 дают потомство F4 и F2, соответственно, в виде семян.

4. Сбор и перемещение клубней и семян.

Клубни отобранных растений F3 и F1, а также семена F2 и F4 в ягодах отобранных растений собирали после цветения в течение по меньшей мере шести недель, предпочтительно больше. Семена F4 собирали для дальнейших полевых исследований, включающих анализ общей комбинационной способности растений F4, полученных из них, и семена F2 дают дополнительный пул генов для выведения, и их собирают для дальнейших полевых исследований. В зависимости от сезона и для экономии времени семена можно было перевозить в северное полушарие для культивирования в парниках при условии, что соблюдены все фитосанитарные нормы стран-участников.

5. Хранение и оценка клубней.

Клубни отобранных растений F1 и F3 предпочтительно хранили в регионе культивирования для избегания нежелательного распространения патогенов или вредителей, и указанные хранимые клубни оценивали по некоторым важным присущим признакам клубней, определенным в профиле продукта.

6. Размножение клубней и оценки через один год.

Клубни отобранных растений F1 и F3 проращивали в следующий сезон, предпочтительно в том же регионе, что и исходное картофельное поле, для избегания распространения нежелательных патогенов или вредителей. Использовали по меньшей мере два, предпочтительно более клубней картофеля на уча-

сток и предпочтительно одну, предпочтительно более копий клона. По меньшей мере один, предпочтительно больше коммерчески значимых сорта включали в качестве контролей. Предпочтительно включали боковые грядки с коммерческими сортами для избегания побочного действия. Оценивали значимые свойства растения, определенные в профиле продукта (например, приготовление, обжарка, приготовление чипсов, содержание крахмала и т.д.). Далее оценивали урожайность клубней на участок, а также присущие важные свойства клубня, как определено в профиле продукта. Такие оценки использовали для семейной характеристики и отбора потомства. Описанные исследования повторяли ежегодно, предпочтительно в обоих полушариях, для непрерывного отбора по свойствам предков растений, выращенных в поле. На поздних стадиях, когда получали гибриды, которые исследовали на предмет внедрения в коммерцию, оценочные испытания распространяли по меньшей мере на два, предпочтительно более копий на участках размером по меньшей мере один, предпочтительно более м² и два, предпочтительно более места, предпочтительно в, но не ограничиваясь ими, целевых рынках.

7. Экспериментальные скрещивания с семенами F4 и полевые исследования.

Вскоре после сбора семян потомства F4 отобранных самоопыленных растений F3, высевали по меньшей мере 50, предпочтительно большее количество семян. При необходимости это осуществляли в отапливаемом парнике. Саженьцы предпочтительно пересаживали в маленькие горшки приблизительно через месяц после посева и затем переносили в поле в подходящее место через несколько недель. Оценку и отбор согласно описанию выше продолжали и проводили экспериментальные скрещивания по меньшей мере двух, предпочтительно больше отобранных растений F4 на популяцию с по меньшей мере двумя, предпочтительно больше другими отобранными растениями потомства F4 двух, предпочтительно больше отобранных родителей с наибольшим числом контрастирующих локусов для получения опытных гибридов (F4 × F4 → гибрид). Дополнительно можно было скрещивать по меньшей мере два, предпочтительно более отобранных растений F4 в популяции с по меньшей мере одним, предпочтительно более диплоидными генотипами с желаемыми характеристиками или признаками, которые отсутствовали в отобранных растениях для повышения генетического разнообразия зародышевой плазмы разведения. Далее можно проводить самоопыление по меньшей мере двух, предпочтительно более отобранных растений F4 в популяции для получения семян F5. Также части растений по меньшей мере двух, предпочтительно более отобранных растений F4 на популяцию можно было стерилизовать, культивировать *in vitro* и обрабатывать соответствующими химическими веществами (колхицином/оризалином) для получения тетраплоидных генотипов F4, и производили экспериментальное скрещивание с тетраплоидными растениями F4 между теми же растениями согласно описанию выше.

Представленную выше схему выведения повторяли каждый год, благодаря чему добивались постепенного увеличения признаков растения, определенных в профиле продукта. Оценки клубней, полученных при опытных скрещиваниях, играли важную роль для определения общей комбинационной способности родителей. Общая комбинационная способность согласно настоящему описанию представляет собой средние показатели линии в серии скрещиваний. Для каждого рынка получали по меньшей мере две, предпочтительно больше, элитных родительских линий, которые давали коммерческие гибридные семена. Ожидалось, что в течение пяти лет возникнет диплоидный или тетраплоидный гибридный сорт, который является таким же хорошим или предпочтительнее лучшим, чем существующие коммерческие гибриды, и который можно размножать гораздо быстрее, чем обычные выведенные сорта.

Пример 6. Введение желаемых признаков.

С целью выведения нового гибридного сорта в соответствии с настоящим изобретением получали по существу гомозиготные селекционные линии, из которых коммерческие гибриды F1 могли быть получены путем скрещивания двух по существу гомозиготных родительских селекционных линий. Эти по существу гомозиготные родительские селекционные линии представляли собой линии, состоящие из единообразных диплоидных, самоопыляемых и сильных растений, которые имели урожайность клубней более 200, предпочтительно 500 граммов сырой массы клубней на растение. Каждая из этих родительских линий несла признаки, которые передавались потомству F1 в зависимости от общей скрещиваемости родителей. Родительские линии являются аспектом настоящего изобретения. Эти растения имеют дополнительные признаки по сравнению с растениями, описанными ранее и в совместно рассматриваемой заявке PCT/NL2010/050716. Эти дополнительные признаки могут включать любой признак, желательный с агрономической точки зрения, предпочтительно выбранный из признаков, представленных в табл. 10. Для получения родительских линий согласно настоящему изобретению могут быть применены следующие способы.

А. Введение признака, желательного с агрономической точки зрения, из известного источника.

В случае, если признак известен, но единственной доступной информацией является знание об образце донора или сорте донора, который может быть использован в качестве источника признака, следующий способ может подходить для получения растения согласно настоящему изобретению.

Обеспечивают (дикий) образец или сорт растения, имеющий желаемый признак, и проводят скрещивание растения донорной линии, несущей указанный признак, и растения из по существу гомозиготной селекционной линии, обозначенного в настоящем описании как растение реципиентной селекционной линии. По существу гомозиготная селекционная линия в соответствии с настоящим изобретением

представляет собой линию, которая является диплоидной, самоопыляемой, сильной, по существу гомозиготной и которая имеет урожайность клубней, эквивалентную сырой массе клубней более чем 200, предпочтительно более чем 500 граммов, и в которую требуется введение дополнительного желаемого признака. Из растений гибридного потомства, полученных посредством описанного скрещивания, отбирают растение, имеющее признак, с помощью фенотипического скрининга на наличие признака, такого как биологический анализ. Повторное возвратное скрещивание с использованием растения по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии в качестве рекуррентного родителя и отбор растений потомства, которые имеют признак - опять же, с помощью фенотипического скрининга - выполняют для контроля успешной передачи генов, ответственных за желаемый признак, от донора признака к реципиентной селекционной линии, при этом этапы возвратного скрещивания применяют с целью сохранения геномного окружения реципиентной селекционной линии. Процесс повторяемого возвратного скрещивания и отбора выполняют таким образом, что нежелательные признаки донорной линии не переносятся, в то время как целевые гены передаются реципиентной селекционной линии. Эти этапы далее обеспечивают получение селекционной линии картофеля, в геном которой внедрен дополнительный ген, ответственный за признак, желательный с агрономической точки зрения. Наконец, растение, полученное в результате этих этапов возвратного скрещивания и отбора, подвергают самоопылению с получением гомозиготной реципиентной селекционной линии, несущей введенный в нее желаемый признак.

В случае если генетическая информация о наследовании признака (доминантный или рецессивный; моногенный или полигенный) известна, этапы возвратного скрещивания и отбора могут быть оптимизированы для передачи признака от донора к по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии. Специалистам в данной области техники хорошо известны различные этапы, необходимые для оптимизации этой передачи. Например, в случае рецессивного признака фенотипический скрининг будет включать дополнительные самоопыления гибридов для того, чтобы определить, содержит ли гибрид аллель для признака в гетерозиготной форме. Растения, содержащие аллель, используют в дальнейших возвратных скрещиваниях.

В случае если образец или разновидность источника, имеющие желаемый признак, не могут быть скрещены с растением из по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии (например, если они являются нескрещиваемыми видами), может быть применен следующий способ спасения зародыша. Пыльцу одного растения используют для оплодотворения семян другого растения, при этом может быть как донором, так и реципиентом), и полученный зародыш спасают путем отделения от семяпочки, в которой зародыш формируется после опыления. Зиготические зародыши могут быть отделены от их семенной кожуры и далее инкапсулированы с адьювантами, что улучшит их рост и жизнеспособность, и затем зародыши выращивают, предпочтительно асептическим способом в контролируемых условиях, с получением межвидового гибрида с применением методов тканевых культур (см., например, M. Monnier, "Culture of Zygotic Embryos", *Frontiers of Plant Tissue Culture*, T. A. Thorpe, ed. The International Association for Plant Tissue Culture, University of Calgary, Alberta, Canada, pp. 277-280, 1978; Ramon and Hanneman, 2002, Introgression of resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) from *Solanum pinnatisectum* into *S. tuberosum* using embryo rescue and double pollination. *Euphytica* 127 (3):421-435).

Альтернативно, ген от донора признака может быть клонирован и внедрен в растение-реципиент посредством методов трансформации, описанных ниже в настоящей заявке.

Предполагают, что могут быть разработаны генетические маркеры для контроля присутствия признака в растениях потомства. Такая разработка маркеров может быть осуществлена путем поиска геномных последовательностей, связанных с признаком, например, путем исследования карт сцепления. Карта сцепления представляет собой генетическую карту вида или экспериментальной популяции, которая показывает положение его известных генов или генетических маркеров друг относительно друга с точки зрения частоты рекомбинации, а не как конкретные физические расстояния вдоль каждой хромосомы. Карта сцепления представляет собой карту, составленную на основании частот рекомбинации между маркерами в процессе кроссинговера гомологичных хромосом. Чем больше частота рекомбинации (сегрегации) между двумя генетическими маркерами, тем дальше друг от друга они предположительно находятся. Наоборот, чем ниже частота рекомбинации между маркерами, тем меньше физическое расстояние между ними. Подтвержденные или предположительные некодирующие последовательности ДНК, такие как микросателлиты или последовательности, образующие маркеры полиморфизма длин фрагментов рестрикции (RFLP), AFLP, SNP, CAPS, RAPD, EST, SSR или ISSR, могут быть применены в качестве маркеров, и несколько соседних маркеров на хромосоме, которые показывают связь с фенотипическим целевым признаком, могут быть коллективно идентифицированы для определения локуса количественного признака (ЛКП) для этого признака. Специалистам в данной области техники хорошо известны данные методы.

В. Интрогрессия посредством скрещивания с применением маркеров.

В случае если образец или разновидность донора, который может быть использован в качестве источника признака, известен и доступны генетические маркеры, которые могут быть полезны в отборе тех растений потомства, которые могут содержать аллель для нового признака, применяют следующий способ.

Обеспечивают растение (дикого) образца или разновидности, имеющее желаемый признак, и проводят скрещивание растения донорной линии, несущей указанный признак, и растения из по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии в соответствии с настоящим изобретением. Из растений гибридного потомства отбирают растение, которое, вероятно, имеет признак, проводя этап отбора с применением маркеров. Для этого, нуклеиновую кислоту (предпочтительно ДНК) потомства (при этом потомство может быть в виде семени, зародыша или растения) проверяют на присутствие маркера, связанного с признаком, так чтобы подтвердить потенциальное присутствие аллеля для признака в указанном потомстве. Маркер может представлять собой микросателлит, маркер RFLP, AFLP, SNP, CAPS, RAPD, EST, SSR или ISSR или любой другой маркер, доступный для специалиста в данной области техники. Далее выполняют повторное возвратное скрещивание с использованием растения по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии в соответствии с настоящим изобретением в качестве рекуррентного родителя и отбор растений потомства, которые, вероятно, содержат аллель для признака, с применением маркеров для контроля успешной передачи фрагментов генома, содержащих ген(ы), ответственный за желаемый признак, от донора признака к реципиентной селекционной линии, при этом этапы возвратного скрещивания применяют с целью сохранения или увеличения геномного окружения или генетического вклада реципиентной селекционной линии в потомстве. Процесс повторяемого возвратного скрещивания и отбора выполняют таким образом, что нежелательные признаки донорной линии не переносятся, в то время как целевые гены передаются реципиентной селекционной линии. Количество поколений, необходимое для существенного покрытия генома рекуррентного родителя, можно уменьшить, выполняя отбор с применением (случайных) маркеров, которые являются специфическими для (генома) рекуррентного родителя. Наконец, с помощью выбора событий рекомбинации, наиболее тесно связанных с желаемым аллелем, можно ограничить генетическое торможение. Эти этапы далее обеспечивают получение селекционной линии картофеля, в геном которой внедрен дополнительный ген, ответственный за признак, желательный с агрономической точки зрения. Наконец, растение, полученное в результате этих этапов возвратного скрещивания и отбора, подвергают самоопылению с получением гомозиготной реципиентной селекционной линии, несущей введенный в нее желаемый признак. Во всех растениях потомства, полученных в результате этапов возвратного скрещивания, и/или предпочтительно в гомозиготной селекционной линии присутствие желаемых признаков может быть подтверждено посредством фенотипических скринингов (например, биологических анализов).

В случае, если генетическая информация о наследовании признака (доминантный или рецессивный; моногенный или полигенный) известна, этапы возвратного скрещивания и отбора могут быть оптимизированы для успешной передачи признака от донора к по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии. Специалистам в данной области техники хорошо известны различные этапы, необходимые для оптимизации этой передачи, описанные ранее.

В случае если образец, имеющий желаемый признак, не может быть скрещен с растением из по существу гомозиготной селекционной линии в соответствии с настоящим изобретением (например, если они являются нескрещиваемыми видами), может быть применен способ спасения зародыша, описанный выше.

Альтернативно, ген от донора признака может быть клонирован и внедрен в растение-реципиент посредством методов трансформации, описанных ниже в настоящей заявке.

Растения, которые могут быть получены в соответствии с этим аспектом изобретения, согласно которому выполняют скрещивание с применением маркеров с известными донорами признаков, включают те растения, имеющие признаки устойчивости к *Phytophthora Infestans* на локусе RPI на хромосоме 7 *Solanum bulbocastanum* между маркерами CT88-CT64, как описано в Van der Vossen et al., (Plant J. 36 (6): 867-882, 2003); устойчивости к *Phytophthora Infestans*, располагающейся на локусе R6-R11 на хромосоме 11 *Solanum demissum*, как описано в El-Kharbotly et al. 1996; Black et al., (1953); и Huang S (2005), и также как показано в табл. 10.

Таким образом, настоящее изобретение относится к гибридным растениям, образующимся в результате скрещивания между двумя по существу гомозиготными родительскими селекционными линиями, по меньшей мере одна из которых содержит внедренный в ее геном, и обеспечивает получение гибрида F1, приобретающего устойчивость к *Phytophthora Infestans* от *Solanum bulbocastanum* или *Solanum demissum*, устойчивость к *G. rostochiensis* Rol от *Solanum Tuberosum* subsp. *andigena* CPC 1690 или 1673, устойчивость к *G. pallida* от *Solanum Tuberosum* subsp. *andigena*, устойчивость к *Globodera rostochiensis* Ro5-22 и *G. pallida* Pa2-D383 от образца *Solanum Tuberosum* 78-3778, устойчивость к *G. pallida* Pa2 и Pa3 VAN WELKE ACCESSIE ????, устойчивость к *G. pallida* Pa3 от образца *Solanum Tuberosum* 3704-76, устойчивость к *M. chitwoodi* от *Solanum bulbocastanum*, устойчивость к *M. chitwoodi*/*M. fallax* от *Solanum fendleri* и *Solanum hougasii*, устойчивость к *M. Napla* от *Solanum chacoense* и *Solanum tarijense*, устойчивость к PVX от *Solanum Tuberosum* сорта Pentland Ivory и устойчивость к PVS от *Solanum Tuberosum* DW 83-3121.

С. Внедрение известного гена в диплоидную, по существу гомозиготную и самоопыляемую селекционную линию.

В случае если образец или разновидность донора, который может быть использован в качестве ис-

точника признака, известен и последовательность гена, ответственного за наличие признака у этого источника, доступна, могут быть применены следующие методы для внедрения данного гена в реципиентную селекционную линию.

Возможна разработка анализа, основанного на детекции нуклеиновых кислот, для определения присутствия гена в части растения, включающего, например, применение праймеров для специфической амплификации последовательности (части) гена, такого как полимеразная цепная реакция (ПЦР). Такой анализ может быть использован в методе скрещивания с применением маркеров, описанном выше, в качестве альтернативы детекции связанного с признаком маркера, основанной на исследованиях карт сцепления. Преимущество детекции гена заключается в том, что наличие гена может быть положительно подтверждено в одном анализе, поскольку последовательность гена может предусматривать диагностический маркер, характеризующийся 100% надежностью.

Таким образом, обеспечивают растение (дикого) образца или разновидности, имеющее желаемый признак, и проводят скрещивание растения донорной линии, несущей указанный признак, и растения из по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии. Из растений потомства отбирают растение, которое содержит ген, проводя этап определения присутствия обуславливающего признак гена в растении потомства. Для этого, нуклеиновую кислоту (предпочтительно ДНК) потомства (при этом потомство может быть в виде семени, зародыша или растения) проверяют на наличие гена, ответственного за признак, с применением методов специфической детекции последовательностей, такой как детекция посредством ПЦР. Далее выполняют повторное возвратное скрещивание с использованием растения по существу гомозиготной селекционной линии в качестве рекуррентного родителя и отбор среди полученного таким образом потомства растения потомства, содержащего ген, с применением анализа для специфической детекции последовательности гена, описанного выше, для контроля успешной передачи генов, ответственных за желаемый признак, от донора признака к по существу гомозиготной селекционной линии, при этом этапы возвратного скрещивания применяют с целью сохранения геномного окружения или увеличения генетического вклада селекционной линии в геном потомства. Эти этапы далее обеспечивают получение селекционной линии картофеля, имеющей все характеристики реципиентной линии применительно к признакам, желательным с агрономической точки зрения, и дополнительно содержащей новый желаемый ген. Наконец, растение, полученное в результате этих этапов возвратного скрещивания и отбора, подвергают самоопылению с получением гомозиготной селекционной линии, несущей желаемый ген, внедренный в нее в гомозиготной форме. Во всех растениях потомства, полученных в результате этапов возвратного скрещивания, и/или предпочтительно в гомозиготной селекционной линии присутствие желаемых признаков может быть подтверждено посредством фенотипических скринингов (например, биологических анализов).

Альтернативно, можно применять методы генетической трансформации, согласно которым ген выделяют из хромосомы образца донора или разновидности донора или получают синтетический ген и согласно которым выделенный или синтетический ген далее вводят в реципиентную линию в соответствии с настоящим изобретением с применением методик для генетической трансформации.

В соответствии с аспектом настоящего изобретения, нуклеотидная последовательность (предпочтительно, ДНК), содержащая один или более генов, определенных в настоящей заявке и в иллюстрирующей вводимые признаки табл. 10 ниже, может быть использована для получения растения селекционной линии картофеля, имеющего дополнительный признак, желательный с агрономической точки зрения. Согласно этому аспекту изобретения предложено применение генов, определенных в настоящей заявке, для введения признаков, желательных с агрономической точки зрения, для получения по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии, определенной в настоящей заявке, при этом указанное применение предполагает введение нуклеотидной последовательности, содержащей указанный ген, в подходящее растение-реципиент указанной по существу гомозиготной реципиентной селекционной линии. Как указано, указанная нуклеотидная последовательность может быть получена из подходящего донорного растения и может быть введена посредством интрогрессии (скрещивания) или посредством трансформации.

При трансгенных способах переноса нуклеотидная последовательность, содержащая желаемый ген, ответственный за признак, желательный с агрономической точки зрения, может быть выделена из указанного донорного растения с применением способов, известных в данной области техники, и выделенная таким образом нуклеотидная последовательность может быть перенесена в реципиентное растение с помощью трансгенных методов трансформации растений, например, посредством вектора, в гамете или в любом другом подходящем переносимом элементе, таких как бомбардировка частицей, покрытой указанной нуклеотидной последовательностью. Трансформация растений как правило предполагает конструирование вектора, содержащего экспрессионную кассету, которая будет функционировать в клетках растений. Согласно настоящему изобретению, такой вектор состоит из нуклеотидной последовательности, которая содержит желаемый ген, при этом указанный вектор может содержать ген, находящийся под контролем или функционально связанный с регуляторным элементом, таким как промотор. Экспрессионный вектор может содержать одну или более таких функционально связанных комбинаций ген/регуляторный элемент при условии, что по меньшей мере один из генов, содержащихся в комбина-

ции, обеспечивает развитие признака, желательного с агрономической точки зрения. Вектор(ы) может быть в форме плазмиды и может быть использован, отдельно или в сочетании с другими плазмидами, для получения трансгенных растений, содержащих ген, с применением способов трансформации, известных в данной области техники, таких как система трансформации на основе *Agrobacterium*.

Также, как форма трансгенного метода, нуклеотидная последовательность, содержащая ген, ответственный за признак, желательный с агрономической точки зрения, может быть выделена из растения-донора, которое является скрещиваемым с культурным картофелем (*S. Tuberosum*). Такую нуклеотидную последовательность обозначают как цис-ген (Jacobsen & Schouten, 2008, *Pot. Res.* 51:75-88). Введение цис-гена в картофель посредством методов трансформации, описанных в настоящей заявке, обозначаемое термином "цис-генезис" или "внутригенный подход", рассматривают в качестве метода трансформации гена, при котором сохранность образованных продуктов сходна с сохранностью для традиционной селекции или мутационной селекции (Rommens et al., 2007, *Plant Science* 12:397-403; Jacobsen and Schouten, 2008, *Pot. Res.* 51:75-88; Rommens, 2010, *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 64, 61-77). В настоящее время, цис-генезис уже применяли на картофеле (Jacobsen and Schouten, 2008, *Pot. Res.* 51:75-88; www.cisgenesis.com).

Экспрессионные векторы могут содержать по меньшей мере один маркерный ген, функционально связанный с регуляторным элементом (таким как промотор), что позволяет обратно получать трансформированные клетки, содержащие маркер, посредством либо негативной селекции (путем ингибирования роста клеток, которые не содержат селектируемый маркерный ген), либо позитивной селекции (путем скрининга на наличие продукта, кодируемого маркерным геном). Многие широко применяемые селектируемые маркерные гены для трансформации растений известны в данной области техники и включают, например, гены, кодирующие ферменты, которые метаболически нейтрализуют селективный химический агент, который может представлять собой антибиотик или гербицид, или гены, кодирующие измененную мишень, которая нечувствительна к действию ингибитора. Несколько методов позитивной селекции известны в данной области техники, такие как селекция по маннозе. Альтернативно, трансформация в отсутствие маркера может быть применена для получения растений без упомянутых маркерных генов, методы которой известны в данной области техники.

Один способ введения экспрессионного вектора в растение основан на природной системе трансформации *Agrobacterium* (см., например, Horsch et al., 1985, *Science* 227:1229-1231). *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes* представляют собой патогенные для растений почвенные бактерии, которые генетически трансформируют клетки растений. Плазмиды Ti и Ri *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes*, соответственно, несут гены, ответственные за генетическую трансформацию растений. Способы введения экспрессионных векторов в ткани растений включают прямую инфекцию или совместное культивирование клеток растений с *Agrobacterium tumefaciens*. Описания векторных систем на основе *Agrobacterium* и способы *Agrobacterium*-опосредованного переноса генов предложены в патенте США № 5591616. Общие описания экспрессионных векторов и генов-репортеров для растений, протоколы трансформации и описания векторных систем на основе *Agrobacterium* и способы *Agrobacterium*-опосредованного переноса генов можно найти в Gruber and Crosby, 1993 (см. Gruber and Crosby, 1993. *Vectors for plant transformation*. B: B.R. Glick and J.E. Thompson, eds. *Methods in plant molecular biology and biotechnology*, CRC Press, Boca Raton, страницы 89-119). Общие способы культивирования тканей растений предложены, например, Miki et al., 1993 (см. Miki et al., 1993. *Procedure for Introducing Foreign DNA into Plants*. B: *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, ed. Glick and Thompson, CRC Press, Boca Raton, страницы 67-88). Надлежащим базовым руководством по методам молекулярного клонирования и подходящим экспрессионным векторам является Sambrook and Russell, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Другой способ введения экспрессионного вектора в растение основан на опосредованной микрочастицами трансформации (бомбардировке частицами), согласно которому ДНК наносят на поверхности микрочастиц. Экспрессионный вектор вводят в ткани растения с помощью баллистического устройства, которое ускоряет микрочастицы до скоростей от 300 до 600 м/с, что достаточно для проникновения через клеточные стенки и мембраны растения.

Другой способ введения ДНК в растения заключается в обработке ультразвуком клеток-мишеней. Альтернативно, слияние липосом или сферопластов может быть применено для введения экспрессионных векторов в растения. Прямое поглощение ДНК протопластами с осаждением CaCl_2 , поливиниловым спиртом или поли-L-орнитинном также может быть применено, как и электропорация протопластов и целых клеток и тканей.

Другие хорошо известные методы, такие как применение бактериальных искусственных хромосом (BAC, bacterial artificial chromosome), согласно которым части генома картофеля вводят в бактериальные искусственные хромосомы (BAC), т.е. векторы, используемые для клонирования фрагментов ДНК (размер вставки 100-300 т.п.н.; в среднем 150 т.п.н.) в клетках *Escherichia coli*, основанные на природной содержащей F-фактор плазмиде, обнаруженной в *Escherichia coli*, могут, например, быть применены в сочетании с системой ВІВАС для получения трансгенных растений.

После трансформации тканей-мишеней картофеля, экспрессия вышеописанных селективных мар-

кernых генов обеспечивает преимущественный отбор трансформированных клеток, тканей и/или растений с применением методов регенерации и отбора, в настоящее время хорошо известных в данной области техники.

Растения, которые могут быть получены в соответствии с этим аспектом изобретения, согласно которому известные гены картофеля вводят в реципиентную селекционную линию, включают растения, имеющие признаки желтого цвета мякоти, оранжевого цвета мякоти, содержания амилозы/амилопектина, качества при нарезании тонкими ломтиками, образования сахара на холоде, содержания крахмала и качества картофеля фри, возникновения темных пятен на поверхности, содержания фенольных антиоксидантов, уровней акриламида, содержания фосфорилированного крахмала и качества при жарке, устойчивости к *Phytophthora Infestans*, устойчивости к *G. rostochiensis* Rol и устойчивость к Y-вирусу картофеля (PVY) и X-вирусу картофеля (PVX), указанные в табл. 10 и обусловленные присутствием генов с номерами доступа в базе данных GenBank HM013963.1, HM013964.1, HM013965.1, X58453.1, X70368.1, EU684230.1, X73477.1, AJ133765, HQ110081, HQ197977, AY341425.1, AY864819.1, AY864820.1, FJ810205.1, FJ810206.1, FJ810207.1, FJ810208.1, FJ810209.1, AY864821.1, GU980593.1, GU980594.1, GU980595.1, U22921.1, U22922.1, U22923.1, AY205302.1, EU310399.1, CK278037.1, CK271149.1, AF143202.1, Y09533.1, FJ536325.1, FJ536323.1, GU563971.1, GU563972.1, GU563973.1, FJ536324.1, FJ423045.1, FJ423046.1, AY336128.1, DQ122125.1, FJ188415.1, AY196151.1, AF195939.1, Y15297.1 и AJ300266.1. Все номера доступа в базе данных GenBank, упомянутые в настоящей заявке, относятся к базе данных генетических последовательностей от 21 апреля 2011 года, версия плоского файла GenBank NCBI 183,0. Таким образом, настоящее изобретение относится к гибридным растениям, получаемым от скрещивания между двумя по существу гомозиготными родительскими селекционными линиями, по меньшей мере одна из которых содержит внедренный в ее геном, и обеспечивает получение гибрида F1, содержащего ген бета-каротингидроксилазы 2 (CHY2), ген зеаксантинооксидазы (ZEP), ген картофеля, кодирующий гранул-связанную синтазу крахмала, ген бета-фруктофуранозидазы или кислой инвертазы картофеля, ген сахарозофосфатсинтазы, ген предполагаемого предшественника ингибитора инвертазы (INH1/INH2), ген полифенолоксидазы клубней (PPO), ген сахарозосинтазы, ген индуктора хлорогеновой кислоты, маркерные экспрессируемые последовательности EST724115 и EST717227 для аспарагинсинтетазы, ген фосфорилазы L, ген белка R1 дикиназы глюкан-вода, все из *Solanum Tuberosum*, гены белка R2 и R2-подобного белка из *S. demissum*, ген белка R2 устойчивости к картофельной гнили (Rpi-hjt1.3) из *S. hjertingii*, ген белка ABPT Rpi, гены белков устойчивости к картофельной гнили из *S. venturii*, ген предполагаемого белка RGA2 устойчивости к заболеваниям из *S. bulbocastanum*, ген белка RPI устойчивости к картофельной гнили из *S. bulbocastanum*, ген белка Rpi-blb2 устойчивости к картофельной гнили (Rpi-blb2) из *S. bulbocastanum*, ген белка устойчивости NBS-LRR (Rpi-btl) из *S. bulbocastanum*, ген белка устойчивости к нематодам (Gro1-4) из *S. Tuberosum*, ген белка Gpa2 устойчивости к заболеваниям из *S. Tuberosum*, ген, контролирующий устойчивость к Y- и A-поливирусам картофеля из *S. Tuberosum*, подвид *andigena* ADG2/2x(v-2)7a и/или ген, подобный гену устойчивости из *S. Tuberosum*, подвид *andigena* gy-1, экзоны 1-6, сплайс-варианты C38 и C19.

D. Применение имеющих трансгенных растений.

В соответствии с настоящим изобретением, можно применять трансгенные последовательности, которые ранее были интегрированы в геном картофеля. Растения согласно изобретению могут быть получены путем скрещивания с трансгенным растением, несущим ген желаемого признака. Альтернативно, трансген может быть введен с помощью технологий трансформации непосредственно в растение селекционной линии. Трансгенные растения картофеля, которые могут быть применены согласно этому аспекту изобретения, включают трансгены, содержащие признаки наличия красного антоцианина, синих или пурпурных пигментов, пигментации кожи клубней, устойчивости к *Phytophthora Infestans*, указанные в табл. 10 и обусловленные присутствием генов с номерами доступа в базе данных GenBank AY289924.1, AY675561.1, AY675560.1, AY675558.1, AY675559.1, AY841129.1, AF447489.1, AY849382.1 и FJ188415.1. Все номера доступа в базе данных GenBank, упомянутые в настоящей заявке, относятся к базе данных генетических последовательностей от 21 апреля 2011 года, версия плоского файла GenBank NCBI 183,0.

Таким образом, настоящее изобретение относится к гибридным растениям, получаемым от скрещивания между двумя по существу гомозиготными родительскими селекционными линиями, по меньшей мере одна из которых содержит внедренный в ее геном, и обеспечивает получение гибрида F1, содержащего ген дигидрофлавонол-4-редуктазы, ген флавоноид-3',5'-гидроксилазы и/или ген регулятора транскрипции R2R3 MYB пути биосинтеза антоцианина-1, все из *S. Tuberosum* L., ген белка устойчивости к картофельной гнили (R1) из *S. demissum*, ген белка R3a устойчивости к картофельной гнили из *S. Tuberosum* L. и ген белка устойчивости NBS-LRR (Rpi-btl) из *S. bulbocastanum*.

Все растения селекционных линий картофеля, описанные выше, подвергшиеся указанной интрогрессии или трансформации, могут быть выведены в элитную линию посредством последовательных этапов возвратного скрещивания с рекуррентным родителем с целью получения более чистой или инбредной линии. Таким образом, согласно настоящему изобретению также предложены элитные, или инбредные, линии картофеля во всех аспектах изобретения, описанного в настоящей заявке.

Растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению, име-

Растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению, имеющие дополнительный желаемый признак, являются диплоидными и могут быть использованы в качестве родителей в скрещиваниях для получения коммерческих гибридов F1 (или разновидностей). Растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению, имеющие дополнительный желаемый признак, имеют по меньшей мере один из признаков, предпочтительно по меньшей мере два или три, более предпочтительно по меньшей мере 4, еще более предпочтительно по меньшей мере 5 из признаков или генов, описанных в табл. 10. Растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению, имеющие дополнительный желаемый признак, предпочтительно содержат по меньшей мере один ген, выбранный из генов, представленных в табл. 10, связанный с признаками клубней, предпочтительно в комбинации с по меньшей мере одним геном, выбранным из генов, представленных в табл. 10, связанным с признаками обработки или качества клубней, предпочтительно дополнительно в комбинации с по меньшей мере одним геном, выбранным из генов, представленных в табл. 10, связанным с устойчивостью к *Phytophthora infestans*, предпочтительно дополнительно в комбинации с по меньшей мере одним геном, выбранным из генов, представленных в табл. 10, связанным с устойчивостью к нематодам, предпочтительно дополнительно в комбинации с по меньшей мере одним геном, выбранным из генов, представленных в табл. 10, связанным с устойчивостью к вирусам.

В еще одном альтернативном варианте растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере два гена, один из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с признаками обработки или качества клубней, а другой выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к *Phytophthora infestans*, или из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к нематодам, или из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к вирусам.

В еще одном альтернативном варианте растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере два гена, один из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к *Phytophthora infestans*, а другой выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к нематодам, или из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к вирусам.

В еще одном альтернативном варианте растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере два гена, один из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к нематодам, а другой выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к вирусам.

Альтернативно, растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере три гена, первый из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с признаками клубней, второй из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с признаками обработки или качества клубней, и третий из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к *Phytophthora infestans*, или из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к нематодам, или из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к вирусам.

В еще одном альтернативном варианте растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере три гена, первый из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с признаками обработки или качества клубней, второй из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к *Phytophthora infestans*, и третий из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к нематодам, или из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к вирусам.

В еще одном альтернативном варианте растения по существу гомозиготных селекционных линий согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере три гена, первый из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к *Phytophthora infestans*, второй из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к нематодам, и третий из которых выбран из генов, представленных в табл. 10, связанных с устойчивостью к вирусам.

Таблица 10. Признаки, подходящие для внедрения в диплоидные селекционные линии картофеля

Класс	Название признака	Обозначение локуса	Источник зародышевой плазмы	Маркер/Положение на хромосоме	Кодируемый белок	Номер доступа в базе данных GenBank	Ссылки на литературу	
Морфологические признаки клубней								
D	Красный антоцианин	<i>D (R/R_{pw})</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 3	дигидрофлавонол-4-редуктаза (DFR)	AY289924.1	Van Eck et al., (1994); De Jong et al., (2003)	
D	Синие или пурпурные пигменты	<i>P</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 11	флавоноид-3',5'-гидроксилаза (F3'5'H)	AY675561 рецессивный аллель сорт Rideau AY675560 рецессивный аллель клон USW5281.2 AY675558 рецессивный аллель клон USW5281.2 AY675559 доминантный аллель Jung et al клон USW5281.2	Jung et al., (2005)	
D	Пигментация кожи клубня	<i>I₁</i> (<i>D</i> в тетраплоидах)	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 10	Stan2, фактор транскрипции R2R3 MYB	кДНК Stan2 (777), выделенная из W5281.2 (AY841129)	De Jong, (1987); Jung et al., (2009)	
C	Окрашенная мякоть клубня	<i>Pf</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 10	аллельный вариант паралога <i>Stan2</i> , фактора транскрипции R2R3 MYB		De Jong, (1987); Zhan et al., (2009)	
C	Желтый цвет мякоти	<i>Y-locus или BCH или Chy2</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 3	бета-каротингидроксилаза 2	HM013963	Bonierbale et al., (1988); Brown et al., (2006)	
C	Оранжевый цвет мякоти	<i>Chy2 + zep</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 2	<i>Zep</i> (на Хромосоме 2), участвующий в превращении зеаксантина в антраксантин и в превращении антраксантина в виолаксантин	HM013964 и HM013965	Walters et al, (2010)	
B	Форма клубня	<i>Ro</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L. CxE	Хромосома 10, TG34 - TG63			Van Eck et al., 1994.	
Признаки обработки или качества клубней								
D	Амилоза/амилопектин		GBSS	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 8	гранул-связанная синтаза крахмала	X58453.1	Van der Leij et al., (1991)
C	Качество при нарезании тонкими ломтиками, образование сахара на холоду		PAIN	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 3	бета-фруктофуранозидаса или кислая инвертаза картофеля	X70368.1	Li et al., (2008).
D	Содержание крахмала и качество картофеля фри		SPS	<i>S. tuberosum</i>	Хромосома 7	сахарозофосфатсинтаза (sps)	EU684230.1, X73477.1	Zrenner et al., (1995)
C	Качество при нарезании тонкими ломтиками, образование сахара на холоду		InvGE/GF	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 9	инвертаза	AJ133765, HQ110081, HQ197977, AY341425.1	Li et al., (2008).
D	Качество при нарезании тонкими ломтиками, образование сахара на холоду		Ингибитор инвертазы	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 12	изоформы ингибитора инвертазы	AY864819, AY864820, FJ810205, FJ810206, FJ810207, FJ810208, FJ810209, AY864821, GU980593, GU980594 INH2b*92 Cryptic? 158 1 Vacuolar GU980595	Brummel et al., (2011).
D	Возникновение темных пятен на поверхности		PPD	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 8	Плюфенилксидаза PPD	POT33 аллель U22922.1 POT32 аллель U22921.1 POT72 аллель U22923.1	Thygesen et al., (1995)
D	Содержание крахмала и качество картофеля фри		Сахарозо-синтаза	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 9	сахарозосинтаза	AY205302	Salanoubat & Belliard (1987); Kim et al., (2000).
D	Фенольные антиоксиданты		StMtf1M	<i>Solanum tuberosum</i> L.		фактор транскрипции MYB гена StMtf1M, активирующий фенилпропаноидный путь биосинтеза	EU310399	Rommens et al., (2008a)
D	Уровни акриламида		StAs1 и StAs2	<i>Solanum tuberosum</i> L.		аспарагинсинтаза	CK278037, CK271149	Rommens et al., (2008b)
D	Содержание крахмала и качество картофеля фри		PhL	<i>Solanum tuberosum</i> L.		фосфоорилаза L (PhL)	AF143202	Rommens et al., (2006)
D	Содержание крахмала и качество картофеля фри		GWD	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Хромосома 5	белок R1 или белок, синонимичный дикиназе глюкан-вода	Y09533.1	Ritte et al., (2002); Rommens et al., (2006)
D	Устойчивость к ингибированию образования клубней под действием высоких температур		FT	<i>Solanum tuberosum</i> L.		белок локуса T, отвечающий за цветение	GU223211.1	Fan et al., (2010)
Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>								
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>R1</i>	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 5	<i>R1</i>	AF447489.1	Leonards-Schippers et al. (1994); Ballvora, et al., (2002)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>R2</i>	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 4	<i>R2</i>	FJ536325.1	Lokossou et al., (2009)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>R2-подобный</i>	<i>Solanum sp. AM-3778-16</i>	Хромосома 4	AM-3778-16 R2-подобный белок	FJ536323.1	Lokossou et al., (2009)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>Rpi-hjt1.3, Rpi-hjt1.2, Rpi-hjt1.1</i>	<i>Solanum hjertingii</i>	Хромосома 4	<i>Rpi-hjt1.3, Rpi-hjt1.2, Rpi-hjt1.1</i>	<i>Rpi-hjt1.3</i> GU563973.1 <i>Rpi-hjt1.2</i> GU563972.1 <i>Rpi-hjt1.1</i> GU563971.1	Champouret, N. (2010)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>Rpi-abpt</i>	<i>Solanum bulbocastanum</i>	Хромосома 4	ABPT Rpi	FJ536324.1	Lokossou et al., (2009)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>R3a</i>	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	<i>R3a</i>	AY849382	El-Kharbotly et al. (1994); Huang et al., (2004; 2005)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>R3b</i>	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	<i>R3b</i>	HQ437670.1	El-Kharbotly et al. (1994); Huang et al., (2004)	
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>Rpi1</i>	<i>Solanum pinnatisectum</i>	Хромосома 7	<i>Rpi1</i>		Kuhl et al. (2001)	
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	<i>Rpi-vnt1.1</i>	<i>Solanum venturii</i>	Хромосома 9	<i>Rpi-vnt1.1</i>	FJ423044.1	Foster et al., (2009); Pel et al., (2009)	

Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>							
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-vnt1.2	<i>Solanum venturii</i>	Хромосома 9	Rpi-vnt1.2	FJ423045.1	Foster et al., (2009); Pei et al., (2009)
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-vnt1.3	<i>Solanum venturii</i>	Хромосома 9	Rpi-vnt1.3	FJ423046.1	Foster et al., (2009); Pei et al., (2009)
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-blb1 / Rb	<i>Solanum bulbocastanum</i>	Хромосома 8	Rpi-blb1 / Rb	AY336128 / AY426259	Van der Vossen et al., (2003); Song et al., (2003)
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-blb2	<i>Solanum bulbocastanum</i>	Хромосома 6	Rpi-blb2	DQ122125.1	Lokossou et al., (2009)
D	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-bt1	<i>Solanum bulbocastanum</i>	Хромосома 8, между CD60 и TG261	Rpi-bt1	FJ188415.1	Oosumi et al., (2009)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R5	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	R5		Huang S (2005)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R6	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	R6		El-Kharbotly et al. (1996)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R7	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	R7		El-Kharbotly et al. (1996)
A	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R8	<i>Solanum demissum</i>		R8		Black et al., (1953); Malcolmson et al., (1966).
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R9	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	R9		Malcolmson & Black (1966), Huang S (2005)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R10	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	R10		Huang S (2005)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	R11	<i>Solanum demissum</i>	Хромосома 11	R11		Huang S (2005)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-ber1	<i>Solanum berthaultii</i>	Хромосома 10, между CT214 и TG63	Rpi-ber1		Ewing et al. 2000; Rauscher et al., (2006) ; Park et al., (2009)
B	Устойчивость к <i>Phytophthora infestans</i>	Rpi-mcd1	<i>Solanum microdontum</i>	Хромосома 4			Tan et al. (2008); Tan et al., (2010)
Устойчивость к нематодам							
B	Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> Ro1	H1	<i>Solanum tuberosum</i> subsp. <i>andigena</i> CPC 1690 (or 1673?)	Хромосома 5, связанная с CP113 и CD78			Pineda et al. (1993); Gebhardt et al. (1993)
B	Устойчивость к <i>G. pallida</i>	H3 or GpaIV _{adg}	<i>Solanum tuberosum</i> подвид <i>Andigena</i>	Хромосома 4: Анализ маркера: BAC9_3_fwd_CGCCAACCTGCTTCA TACA BAC9_3_rev_TGCAGAGGTCAAGTTGT TTGG. маркеры SNP были разработаны из BAC GB003E01 и GB080G22, внесенных в базу GenBank как AC236732 и AC236733, соответственно.			Bradshaw et al., (1998); Moloney et al., (2010)
D	Устойчивость к <i>G. rostochiensis</i> Ro1	Gro1-4	<i>Solanum spegazzinii</i>	Хромосома 7		AY196151	Paal, et al., (2004)
B	Устойчивость к <i>Globodera rostochiensis</i> Ro5-22 и <i>G. pallida</i> Pa2-D383	Grp1	<i>Solanum tuberosum</i> 78-3778 (AM)	Хромосома 5			Roupe van der Voort et al., (1998)
Устойчивость к нематодам							
B	Устойчивость к <i>G. pallida</i> Pa2, Pa3	Gpa	<i>Solanum spegazzinii</i>	Хромосома 5			Kreike et al. 1994
C	Устойчивость к <i>G. pallida</i>	Gpa2	<i>Solanum tuberosum</i> подвид <i>Andigena</i> Cpc 1673	Хромосома 12, между GP34 и CT79		AF195939.1	Van der Vossen et al., (2000); Bakker et al., (2003).
B	Устойчивость к <i>G. pallida</i> Pa2, Pa3	GpaXI _{кар I}	<i>Solanum tarijense</i>	Хромосома 11			Tan et al., (2009).
B	Устойчивость к <i>G. pallida</i> Pa2, Pa3	Gpa5	3704-76 (JP)	Хромосома 5: прямой праймер 5' ACACCACTGTTTGATAAA AAACT 3' с обратным праймером 5' GCCTTACTCCCTGCTGAA G 3', приводящими к гаплотипу с			Roupe van der Voort et al. (2000); Sattarzadeh et al., (2006)
B	Устойчивость к <i>G. pallida</i> Pa3	Gpa6	3704-76	Хромосома 9			Roupe van der Voort et al. (2000); Sattarzadeh et al., (2006)
B	Устойчивость к <i>M. chitwoodi</i>	R _{Mc1}	<i>Solanum bulbocastanum</i>	Хромосома 11			Brown et al. (1996); Roupe van der Voort et al. (1999)
B	Устойчивость к <i>M. chitwoodi</i> / <i>M. fallax</i>	RMc2	<i>Solanum fendlerii</i>	Хромосома 11			Draaistra (2006)
B	Устойчивость к <i>M. chitwoodi</i> / <i>M. fallax</i>	RMc1(hou)	<i>Solanum hougassii</i>	Хромосома 11			Brown et al. , (2003)
A	Устойчивость к <i>M. hapla</i>	RMh1	<i>Solanum chacoense</i> BGRC18618				Draaistra (2006)
A	Устойчивость к <i>M. hapla</i>	RMh2	<i>Solanum chacoense</i> BGRC18618				Draaistra (2006)
A	Устойчивость к <i>M. hapla</i>	RMh3	<i>Solanum tarijense</i> BGRC 24717				Draaistra (2006)

Устойчивость к вирусам							
C	Устойчивость к PVY	Ry ^{adg}	<i>Solanum tuberosum</i> подвид <i>andigena</i>	Хромосома 11		Y15297.1; AJ300266.1	Hämäläinen <i>et al.</i> , (1997); Sorri <i>et al.</i> (1999); Kasai <i>et al.</i> , (2000); Vidal <i>et al.</i> , (2002)
B	Устойчивость к PVY	Rysto	<i>Solanum stoloniferum</i>	Хромосома 12			Song, <i>et al.</i> , (2005; 2008)
D	Устойчивость к PVX	Rx	<i>Solanum tuberosum</i> подвид <i>andigena</i> CPC 1673*	Хромосома 12		AJ011801.1	Ritter <i>et al.</i> , (1991); Bendahmane <i>et al.</i> (1999); Kanyuka <i>et al.</i> , (1999)
B	Устойчивость к PVX	Nb	<i>S. tuberosum</i> corm Pentland Ivory	Хромосома 5, между GP21 и TG432			De Jong <i>et al.</i> (1997); Marano <i>et al.</i> , (2002)
B	Устойчивость к PVS	Ns	<i>Solanum tuberosum</i> DW 83-3121	Хромосома 8, рядом с GP126, GP189 и CP16			Marczewski <i>et al.</i> , (2002)

класс	источник	маркеры	последовательность	трансген
A	X	-	-	-
B	X	X	-	-
C	X	X	X	-
D	X	X	X	X

A, B, C и D в вышеприведенной таблице относятся к столбцу 1 табл. 10.

0. Указан только желаемый признак, но нет информации относительно встречаемости такого признака. Не значимо для данного патента.

A. Известен только источник (образец).

В нескрещиваемых видах: клонируйте ген и вводите ген посредством методов трансформации.

В скрещиваемых видах: проведите скрещивание между донором, несущим признак, и рекуррентным родительским растением картофеля, отберите желаемые растения в потомстве путем (повторных) скрещиваний и отборов, проведите самоопыление растения до состояния гомозиготности с отбором на желаемые признаки.

B. Известны диагностические маркеры.

Что касается B, выполняют положительную селекцию посредством косвенного отбора по диагностическому маркеру. Конечный продукт проверяют на наличие желаемых признаков.

C. Известна последовательность.

Что касается C, эффективность отбора оптимизирована, поскольку получают диагностический маркер, характеризующийся 100% надежностью.

D. Известны трансгенные растения.

Желаемые продукты могут быть получены посредством скрещивания с трансгенным растением, содержащим ген, ответственный за желаемый признак. Альтернативно, трансген может быть введен с применением технологий трансформации.

Применяя любую из вышеупомянутых по существу гомозиготных родительских селекционных линий в соответствии с настоящим изобретением, специалист в данной области техники способен создавать широкое разнообразие комбинаций возможных родительских линий. Таким образом, использование двух из этих родительских линий в скрещивании с получением разновидности картофеля F1 может приводить к одинаково широкому спектру возможных гибридов F1.

Гибридные растения (гибриды F1) согласно настоящему изобретению можно легко отличить от гибридов картофеля, относящихся к предшествующему уровню техники, путем скрининга на любую из трех характеристик: (генетическое) единообразие, низкая аллельная частота и образование сильных удвоенных (ди)гаплоидов.

Генетическое единообразие.

Гибридные линии в соответствии с настоящим изобретением демонстрируют единообразие, что означает, что характеристики растения остаются постоянными при переходе от растения к растению в пределах линии или разновидности, полученной посредством скрещивания двух по существу гомозиготных селекционных линий, по меньшей мере одна из которых представляет собой гомозиготную селекционную линию в соответствии с настоящим изобретением. Наоборот, гибридные линии картофеля, относящиеся к предшествующему уровню техники, не демонстрируют единообразия. На самом деле, в линиях картофеля, относящихся к предшествующему уровню техники, различных растения одной и той же линии отличаются по своим характеристикам. Несмотря на то, что традиционные разновидности картофеля, размножающиеся вегетативно, также генетически единообразны, когда такие традиционные разновидности выращивают из семян (истинные семена картофеля, TPS), растения не являются генетически

единообразными. Таким образом, разновидности картофеля в соответствии с аспектами настоящего изобретения являются генетически единообразными и уникальными по сравнению с истинными семенами картофеля. Следовательно, гибридное растение согласно настоящему изобретению можно распознать, проверив, является ли растение единообразным по отношению к другим растениям линии.

Низкие аллельные частоты.

Более 80% генетических локусов в традиционных тетраплоидных разновидностях картофеля и селекционных клонах являются тетрагенными, что означает, что в локусе тетраплоидного генома присутствуют четыре различных аллеля. 3-5% локусов являются тригенными, и менее чем 1% - дигенными. Таким образом, наблюдается заметно высокая частота тригенных и тетрагенных локусов. Диплоидные гибриды картофеля согласно настоящему изобретению могут быть подвергнуты удвоению хромосом, что приведет к получению тетраплоидных гибридов. Полученные таким образом тетраплоидные гибриды не содержат тригенных или тетрагенных локусов и, следовательно, легко отличимы от тетраплоидов, относящихся к предшествующему уровню техники, посредством анализа частот аллелей с применением маркеров.

Сильные удвоенные (ди)гаплоиды.

Авторами настоящего изобретения были получены тетраплоидные линии и гибриды из диплоидных линий картофеля. Имеются некоторые литературные данные по получению дигаплоидов и удвоенных дигаплоидов из тетраплоидного картофеля. Результаты свидетельствуют о том, что сильные и фертильные потомства от двойных (ди)гаплоидных растений никогда не образовывались. Вероятнее всего, причина этого заключается во вредоносных рецессивных генах, которые могут часто встречаться в традиционных разновидностях картофеля. Двойные (ди)гаплоиды из новых линий картофеля, описанных в настоящей заявке, являются сильными благодаря тому факту, что вредоносные аллели были удалены в процессе скрещивания. Таким образом, гибридные линии картофеля (F1), являющиеся аспектом настоящего изобретения, легко отличимы от диплоидных линий, относящихся к предшествующему уровню техники, тем, что настоящие линии проявляются в виде сильных и фертильных удвоенных (ди)гаплоидов.

Список литературы к табл. 10.

1. Bakker, E., Butterbach, P., Rouppe van der Voort, J., Van der Vossen, E., van Vliet, J., Bakker, J. & Goverse, A. (2003). Genetic and physical mapping of homologues of the virus resistance gene *Rx1* and the cyst nematode resistance gene *Gpa2* in potato. *Theor. Appl. Genet.* 106:1524-1531
2. Ballvora, A., Ercolano, M.R., Weiss, J., Meksem, K., Bormann, C.A., Oberhagemann, P., Salamini, F. & Gebhardt, C. (2002). The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. *Plant J.* 30:361-371
3. Bendahmane, A., Kanyuka, K. & Baulcombe, D.C. (1999). The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell* 11: 781-792
4. Black, W., Mastenbroek, C., Mills, W.R. & Peterson, L.C. (1953). A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* 2:173-179
5. Bonierbale, M.W., Plaisted, R.L. & Tanksley, S.D. (1988). RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* 120:1095-1103
6. Bradshaw, J.E., Meyer, R.C., Milbourne, D., McNicol, J.W., Phillips, M.S. & Waugh, R. (1998). Identification of AFLP and SSR markers associated with quantitative resistance to *Globodera pallida* (Stone) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) with a view to marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 97, 202-210
7. Brown, C.R., Yang, C-P., Mojtahedi, H., Santo, G.S. & Masuelli, R. (1996). RFLP analysis of resistance to Columbia root-knot nematode derived from *Solanum bulbocastanum* in a BC2 population. *Theor. Appl. Genet.* 92:572-576
8. Brown, C.R., Mojtahedi, H., & Santo, G.S. (2003). Characteristics of resistance to Columbia root-knot nematode introgressed from several Mexican and North American wild potato species. *Acta Hort.* 619:117-125
9. Brown, C.R., Kim, T.S., Ganga, Z., Haynes, K., De Jong, D., Jahn, M., Paran, I. & De Jong, W. (2006). Segregation of total carotenoid in high level potato germplasm and its relationship to beta-carotene hydroxylase polymorphism. *Amer. J. Potato Res.* 83:365-372
10. Brummell, D.A., Chen, R.K.Y., Harris, J.C., Zhang, H., Hamiaux, C., Kralicek, A.V. & McKenzie, M.J. (2011). Induction of vacuolar invertase inhibitor mRNA in potato tubers contributes to cold-induced sweetening resistance and includes spliced hybrid mRNA variants. *J. Exper. Bot.*, advanced access March 10, 2011 pg 1-16 (doi:10.1093/jxb/err043)
11. Champouret, N. (2010). Functional genomics of *Phytophthora infestans* effectors and *Solanum* resistance genes. PhD thesis. Wageningen University

12. De Jong, H. (1987). Inheritance of pigmented tuber flesh in cultivated diploid potatoes. *Amer. Potato J.* 64:337-343
13. De Jong, W., Forsyth, A., Leister, D., Gebhardt, C. & Baulcombe, D.C. (1997). A potato hypersensitive resistance gene against potato virus X maps to a resistance gene cluster on chromosome 5. *Theor. Appl. Genet.* 95:246-252
14. De Jong, W.S., De Jong, D.M., De Jong, H., Kalazich, J. & Bodis M. (2003). An allele of dihydroflavonol 4-reductase associated with the ability to produce red anthocyanin pigments in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107:1375–1383
15. Draaistra, J. (2006). Genetic analysis of root-knot nematode resistance in potato. PhD thesis Wageningen University, The Netherlands. <http://edpot.wur.nl/43902>
16. El-Kharbotly, A., Leonards-Schippers, C., Huigen, D.J., Jacobsen, E., Pereira, A., Stiekema, W.J., Salamini, F. & Gebhardt, C. (1994). Segregation analysis and RFLP mapping of the *R1* and *R3* alleles conferring race specific resistances to *Phytophthora infestans* in progenies of dihaploid potato parents. *Mol. Gen. Genet.* 242:749-754.
17. El-Kharbotly, A., Paloino-Sánchez, C., Salamini, F., Jacobsen, E. & Gebhardt, C. (1996). *R6* and *R7* alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the *R3* locus on chromosome XI. *Theor. Appl. Genet.* 92:880-884.
18. Ewing, E.E., I, Simko, C.D. Smart, M.W. Bonierbale, E.S.G. Mizubuti, G.D. May & W.E. Fry (2000). Genetic mapping from field tests of qualitative and quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in a population derived from *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. *Mol. Br.* 6:25-36.
19. Fan, C.Y., Yin, J.-M., Wang, B., Zhang, Y.F. & Yang, Q., (2010). Molecular cloning and expression analysis of a FT homologous gene from *Solanum tuberosum*. *Agricult. Sci. China* 9:1133-1139
20. Foster, S.J., Park, T.H., Pel, M., Brigneti, G., Śliwka, J., Jagger, L., Van der Vossen, E. & Jones, J.D.G. (2009). *Rpi-vnt1.1*, a *Tm-2* homolog from *Solanum venturii*, confers resistance to potato late blight. *Mol. Pl. Microb. Inter.* 22: 589-600
21. Gebhardt, C., Mugniery, D., Ritter, E., Salamini, F. & Bonnel, E. (1993). Identification of RFLP markers closely linked to the *H1* gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Theor. Appl. Genet.* 85:541-544
22. Hämläinen, J.H., Watanabe, K.N., Valkonen, J.P.T., Arihara, A., Plaisted, R.L., Pehu, E., Miller, L. & Slack, S.A. (1997). Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to potato virus Y. *Theor. Appl. Genet.* 94:192-197.
23. Huang, S., Vleeshouwers, V.G.A.A., Werij, J.S., Hutten, R.C.B., Van Eck, H.J., Visser, R.G.F. & Jacobsen, E. (2004). The *R3* resistance to *Phytophthora infestans* in potato is conferred by two closely linked *R* genes with distinct specificities. *Mol. Pl. Micr. Interact.* 17:428-435
24. Huang, S. (2005). Discovery and characterization of the major late blight resistance complex in potato. Thesis, Wageningen University, The Netherlands.
25. Huang, S., van der Vossen, E.A., Kuang, H., Vleeshouwers, V.G., Zhang, N., Borm, T.J., van Eck, H.J., Baker, B., Jacobsen, E. & Visser, R.G. (2005). Comparative genomics enabled the isolation of the *R3a* late blight resistance gene in potato. *Plant J.* 42:251-261
26. Jung, C.S., Griffiths, H.M., De Jong, D.M., Cheng, S., Bodis, M. & De Jong, W.S. (2005). The potato *P* locus codes for flavonoid 3',5'-hydroxylase. *Theor. Appl. Genet.* 110:269-275
27. Jung, C.S., Griffiths, H.M., De Jong, D.M., Cheng, S., Bodis, M., Kim, T.S. & De Jong, W.S. (2009). The potato *developer* (*D*) locus encodes an R2R3 MYB transcription factor that regulates expression of multiple anthocyanin structural genes in tuber skin. *Theor. Appl. Genet.* 120:45-57
28. Kanyuka, K., Bendahmane, A., Rouppe van der Voort, J.N.A.M., Van der Vossen, E.A.G. & Baulcombe D.C. (1999). Mapping of intra-locus duplications and introgressed DNA: aids to map-based cloning of genes from complex genomes illustrated by physical analysis of the *Rx* locus in tetraploid potato. *Theor. Appl. Genet.* 98:679-689.
29. Kasai, K., Morikawa, Y., Sorri, V.A., Valkonen, J.P.T., Gebhardt, C. & Watanabe, K.N. (2000). Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ry^{adg}* based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome* 43:1-8.
30. Kim, H.S., Jeon, J.H., Choi, K.H., Joung, Y.H., Lee, B.I. & Joung, H. (2000). Regulation of starch contents in potato (*Solanum tuberosum* L.) by manipulation of sucrose synthase gene. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 69:243-249.
31. Kreike, C.M., De Koning, J.R.A., Vinke, J.H., Van Ooijen, J.W. & Stiekema, W.J. (1994). Quantitatively inherited resistance to *Globodera pallida* is dominated by one major locus in *Solanum spegazzinii*. *Theor. Appl. Genet.* 88:764-769
32. Kuhl, J.C., Hanneman, R.E. & Havey, M.J. (2001). Characterization and mapping of *Rpi1*, a late blight resistance locus from diploid (1EBN) Mexican *Solanum pinnatisectum*. *Mol. Gen. Genet.* 265:977-985
33. Leonards-Schippers, C., Gieffers, W., Schäfer-Pregl, R., Ritter, E., Knapp, S.J., Salamini, F. & Gebhardt, C. (1994). Quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in potato: a case study for QTL mapping in an allogamous plant species. *Genetics* 137:67-77.
34. Li, L., M.J. Paulo, Strahwald, J., Lubeck, J., Hofferbert, H.R., Tacke, E., Junghans, H., Wunder, J., Draffehn, A., Van Eeuwijk, F. & Gebhardt, C. (2008). Natural DNA variation at candidate loci is associated with potato chip color, tuber starch content, yield and starch yield. *Theor. Appl. Genet.* 116:1167-1181

35. Lokossou, A.A., Park, T.H., van Arkel, G., Arens, M., Ruyter-Spira, C., Morales, J., Whisson, S.C., Birch, P.R.J., Visser, R.G.F., Jacobsen, E. & Van der Vossen, E.A.G. (2009). Exploiting knowledge of *R/Avr* genes to rapidly clone a new LZ-NBS-LRR family of late blight resistance genes from potato Linkage Group IV. *Mol. Pl. Micr. Interact.* 22: 630-641
36. Malcolmson, J.F. & Black, W. (1966). New R genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Euphytica* 15:199-203
37. Marano, M.R., Malcuit, I., De Jong, W. & Baulcombe, D.C. (2002). High-resolution genetic map of *Nb*, a gene that confers hypersensitive resistance to potato virus X in *Solanum tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 105:192-200.
38. Marczewski, W., Hennig, J. & Gebhardt, C. (2002). The Potato virus S resistance gene *Ns* maps to potato chromosome VIII. *Theor. Appl. Genet.* 105:564-567.
39. Moloney, C., Griffin, D., Jones, P.W., Bryan, G.J., McLean, K., Bradshaw, J.E. & Milbourne, D. (2010). Development of diagnostic markers for use in breeding potatoes resistant to *Globodera pallida* pathotype Pa2/3 using germplasm derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 2802. *Theor. Appl. Genet.* 120:679-689
40. Oosumi, T., Rockhold, D.R., Maccree, M.M., Deahl, K.L., McCue, K.F. & Belknap, W.R. (2009). Gene *Rpi-bt1* from *Solanum bulbocastanum* confers resistance to late blight in transgenic potatoes. *Amer. J. Potato Res.* 86:456-465
41. Paal, J., Henselewski, H., Muth, J., Meksem, K., Menendez, C.M., Salamini, F., Ballvora, A. & Gebhardt, C. (2004). Molecular cloning of the potato *Grol-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant J.* 38:285-297
42. Park, T.H., Foster, S., Brigneti, G. & Jones, J.D.G. (2009). Two distinct potato late blight resistance genes from *Solanum berthaultii* are located on chromosome 10. *Euphytica* 165:269-278
43. Pel, M.A., Foster, S.J., Park, T.H., Rietman, H., Van Arkel, G., Jones, J.D., Van Eck, H.J., Jacobsen, E., Visser, R.G. & Van der Vossen, E.A.G. (2009). Mapping and cloning of late blight resistance genes from *Solanum venturii* using an interspecific candidate gene approach. *Mol. Plant Microb. Interact.* 22:601-615
44. Pineda, O., Bonierbale, M.W., Plaisted, R.L., Brodie, B.B. & Tanksley, S.D. (1993). Identification of RFLP markers linked to the *H1* gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Genome* 36:152-156
45. Rauscher, G.M., Smart, C.D., Simko, I., Bonierbale, M., Mayton, H., Greenland, A. & Fry, W.E. (2006). Characterization and mapping of *RPI-ber*, a novel potato late blight resistance gene from *Solanum berthaultii*. *Theor. Appl. Genet.* 112:674-687.
46. Ritte, G., Lloyd, J.R., Eckermann, N., Rottmann, A., Kossmann, J. & Steup, M. (2002). The starch-related R1 protein is an α -glucan, water dikinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:7166-7171.
47. Ritter, E., Debener, T., Barone, A., Salamini, F. & Gebhardt, C. (1991). RFLP mapping on potato chromosomes of two genes controlling extreme resistance to potato virus X (PVX). *Mol. Gen. Genet.* 227:81-85
48. Rommens, C.M., Ye, J., Richael, C. & Swords, K. (2006). Improving potato storage and processing characteristics through all-native DNA transformation. *J. Agric. Food Chem.* 54:9882-9887
49. Rommens, C.M., Richael, C.M., Yan, H., Navarre, D.A., Ye, J., Krucker, M. & Swords, K. (2008a). Engineered native pathways for high kaempferol and caffeoylquinic acid production in potato. *Plant J.* 6:870-886
50. Rommens, C.M., Yan, H., Swords, K., Richael, C. & Ye, J. (2008b). Low-acrylamide French fries and potato chips. *Plant Biotech. J.* 6:843-853.
51. Rouppe van der Voort, J., Lindeman, W., Folkertsma, R., Hutten, R., Overmars, H., Van der Vossen, E., Jacobsen, E. & Bakker, J. (1998). A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* spp.) maps to a resistance gene cluster in potato. *Theor. Appl. Genet.* 96:654-661
52. Rouppe van der Voort, J.N.A.M., Janssen, G.J.W., Overmars, H., Van Zandvoort, P.M., Van Norel, A., Scholten, O.E., Janssen, R. & Bakker, J. (1999). Development of a PCR-based selection assay for root-knot nematode resistance (*Rmc1*) by a comparative analysis of the *Solanum bulbocastanum* and *S. tuberosum* genome. *Euphytica* 106:187-195
53. Rouppe van der Voort, J., Van der Vossen, E., Bakker, E., Overmars, H., Van Zandvoort, P., Hutten, R., Klein-Lankhorst, R. & Bakker, J. (2000). Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theor. Appl. Genet.* 101:1122-1130
54. Salanoubat, M. & Belliard, G. (1987). Molecular cloning and sequencing of sucrose synthase cDNA from potato (*Solanum tuberosum* L.): preliminary characterization of sucrose synthase mRNA distribution. *Gene* 60: 47-56
55. Sattarzadeh, A., Achenbach, U., Lübeck, J., Strahwald, J., Tacke, E., Hofferbert, H.-R., Rothsteyn, T. & Gebhardt, C. (2006). Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping as basis for developing a PCR-based marker highly diagnostic for potato varieties with high resistance to *Globodera pallida* pathotype Pa2/3. *Molec. Breed.* 4:301-312
56. Song, J., Bradeen, J.M., Naess, S.K., Raasch, J.A., Wielgus, S.M., Haberlach, G.T., Liu, J., Kuang, H., Austin-Phillips, S., Buell, R., Helgeson, J.P. & Jiang, J. (2003). Gene RB cloned

- from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:9128-9133
57. Song, Y.-S., Hepting, L., Schweizer, G., Hartl, L., Wenzel, G. & Schwarzfischer, A. (2005). Mapping of extreme resistance to PVY (*R_{Y sto}*) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. Theor. Appl. Genet. 111:879-887.
 58. Song, Y.-S. & Schwarzfischer, A. (2008). Development of STS markers for selection of extreme resistance (*R_{Y sto}*) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. Amer. J. Potato Res. 85:159-170
 59. Sorri, V.A., Watanabe, K.N. & Valkonen, J.P.T. (1999). Predicted kinase-3a motif of a resistance gene analogue as a unique marker for virus resistance. Theor. Appl. Genet. 99:164-170
 60. Tan, M.Y.A., Hutten, R.C.B., Celis, C., Park, T.H., Niks, R.E., Visser, R.G.F. & Van Eck, H.J. (2008). The *RPi-mcd1* locus from *Solanum microdontum* involved in resistance to *Phytophthora infestans*, causing a delay in infection, maps on potato chromosome 4 in a cluster of NBS LRR genes. Mol. Pl. Micr. Interact. 21:909-918
 61. Tan, M.Y.A., Park, T.H., Alles, R., Hutten, R.C.B., Visser, R.G.F. & Van Eck, H.J. (2009). *GpaXI tar 1* originating from *Solanum tarijense* is a major resistance locus to *Globodera pallida* and is localised on chromosome 11 of potato. Theor. Appl. Genet. 119:1477-1487
 62. Tan, M.Y.A., Hutten, R.C.B., Visser, R.G.F. & Van Eck, H.J. (2010). The effect of pyramiding *Phytophthora infestans* resistance genes R (*Pi-mcd1*) and R (*Pi-ber*) in potato. Theor. Appl. Genet. 121: 117-125
 63. Thygesen, P.W., Dry, I.B. & Robinson, S.P. (1995). Polyphenol oxidase in potato. A multigene family that exhibits differential expression patterns. Pl. Physiol. 109:525-531
 64. Van der Leij, F.R., Visser, R.G., Ponstein, A.S., Jacobsen, E. & Feenstra, W.J. (1991). Sequence of the structural gene for granule-bound starch synthase of potato (*Solanum tuberosum* L.) and evidence for a single point deletion in the *amf* allele. Mol. Gen. Genet. 228:240-248
 65. Van der Vossen, E.A.G., Rouppe van der Voort, J.N.A.M., Kanyuka, K., Bendahmane, A., Sandbrink, H., Baulcombe, D.C., Bakker, J., Stiekema, W.J. & Klain-Lankhorst, R.M. (2000). Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. Plant J. 23:567-576
 66. Van der Vossen, E., Sikkema, A., Hekkert Bt, B.L., Gros, J., Stevens, P., Muskens, M., Wouters, D., Pereira, A., Stiekema, W. & Allefs, S. (2003). An ancient *R* gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. Plant J. 36:867-882
 67. Van Eck, H.J., Jacobs, J.M., Van den Berg, P.M.M.M., Stiekema, W.J. & Jacobsen, E. (1994). The inheritance of anthocyanin pigmentation in potato (*Solanum tuberosum* L.) and mapping of tuber skin colour loci using RFLPs. Heredity 73:410-421
 68. Vidal, S., Cabrera, H., Andersson, R.A., Fredriksson, A. & Valkonen, J.P.T. (2002). Potato gene *Y-1* is an *N* gene homolog that confers cell death upon infection with potato virus Y. Mol. Pl.-Micr. Interact. 15:717-727
 69. Wolters, A.-M.A., Uitdewilligen, J.G.A.M.L., Kloosterman, B.A., Hutten, R.C.B., Visser, R.G.F. & Van Eck, H.J. (2010). Identification of alleles of carotenoid pathway genes important for zeaxanthin accumulation in potato tubers. Pl. Molec. Biol. 73:659-671.
 70. Zhang Y., Jung, C. S. & De Jong, W.S. (2009). Genetic analysis of pigmented tuber flesh in potato. Theor. Appl. Genet. 119:143-150.
 71. Zrenner, R., Salanoubat, M., Willmitzer, L. & Sonnewald, U. (1995). Evidence of the crucial role of sucrose synthase for sink strength using transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.). Plant J. 7:97-107.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения диплоидного, фертильного, самоопыляемого и по существу гомозиготного растения картофеля вида *Solanum tuberosum*, содержащего участки интрогрессии других клубнеобразующих видов *Solanum*, являющихся скрещиваемыми с *Solanum tuberosum*, имеющего урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г, включающий:

а) обеспечение первого растения картофеля, которое представляет собой растение первой диплоидной, самоопыляемой и фертильной линии картофеля, при этом способность к самоопылению определяется геном-ингибитором S-локуса (SN), происходящим от *Solanum chacoense*;

б) обеспечение второго растения картофеля, при этом указанное второе растение картофеля пред-

ставляет собой растение диплоидной или тетраплоидной линии картофеля вида *Solanum tuberosum*, которое является генетически чистым или содержит участки интрогрессии других клубнеобразующих видов *Solanum*, являющихся скрещиваемыми с *Solanum tuberosum*, которая может иметь любой уровень гомозиготности, при этом указанная линия указанного второго растения картофеля включает растения, имеющие среднюю урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение;

с) перекрестное опыление указанного первого и второго растения картофеля с получением семян и сбор указанных семян;

d) выращивание указанных семян и отбор из полученного гибридного потомства растений, дающих клубни с урожайностью, выраженной в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г на растение, и

e) осуществление от 1 до 8 самоопылений отобранного растения картофеля гибридного потомства или осуществление от 1 до 8 возвратных скрещиваний с первым растением картофеля, и отбор растений, дающих фертильное потомство, с получением таким образом диплоидного, фертильного, самоопыляемого и по существу гомозиготного растения картофеля вида *Solanum tuberosum*, содержащего участки интрогрессии других клубнеобразующих видов *Solanum*, являющихся скрещиваемыми с *Solanum tuberosum*, имеющего урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г;

f) причём указанный способ дополнительно включает этап введения в указанное растение, полученное на этапе (e), по меньшей мере одного гена, выбранного из группы, состоящей из генов, обеспечивающих устойчивость к *Phytophthora infestans* от *Solanum bulbocastanum* или *S. demissum*, устойчивость к *G. rostochiensis* Ro1 от *S. tuberosum* подвида *andigena* CPC 1690 или 1673, устойчивость к *G. pallida* от *S. tuberosum* подвида *andigena*, устойчивость к *G. rostochiensis* Ro5-22 и *G. pallida* Pa2-D383 от *S. tuberosum* с номером доступа AM78-3778, устойчивость к *G. pallida* Pa2 и Pa3 от *Solanum spegazzinii* и *Solanum tarijense*, устойчивость к *G. pallida* Pa3 от *S. tuberosum* с номером доступа 3704-76, устойчивость к *M. chitwoodi* от *S. bulbocastanum*, устойчивость к *M. chitwoodi*/*M. fallax* от *S. fendlerii* и *S. hougassii*, устойчивость к *M. hapla* от *S. chacoense* и *S. tarijense*, устойчивость к X-вирусу картофеля (PVX) от *S. tuberosum* сорта Pentland Ivory и устойчивость к S-вирусу картофеля (PVS) от *S. tuberosum* DW 83-3121, гена бета-каротингидроксилазы 2 (CHY2) от *S. tuberosum* L, гена зеаксантинооксидазы (ZEP) от *S. tuberosum* L, гена картофеля, кодирующего гранулсвязанную синтазу крахмала от *S. tuberosum* L, гена бета-фруктофуранозидазы или кислой инвертазы картофеля от *S. tuberosum* L, гена сахарозофосфатсинтазы от *S. tuberosum* L, гена инвертазы от *S. tuberosum* L, гена предполагаемого предшественника ингибитора инвертазы (INH1/INH2) от *S. tuberosum* L, гена полифенолоксидазы клубней (PPO) от *S. tuberosum* L, гена сахарозосинтазы от *S. tuberosum* L, гена индуктора хлорогената от *S. tuberosum* L, указанного под номером GenBank EU310399, маркеров экспрессируемых последовательностей EST724115 и EST717227 для аспарагинсинтетазы от *S. tuberosum* L, гена фосфорилазы L от *S. tuberosum* L, гена белка R1 или глюкан-вода-дикиназы от *S. tuberosum* L, гена белка R2 из *S. demissum*, гена R2-подобного белка AM-3778-16 из видов *Solanum*, гена белка R2 устойчивости к картофельной гнили (Rpi-hjt1.3) из *S. hjertingii*, гена белка ABPT Rpi из *S. bulbocastanum*, генов белков устойчивости к картофельной гнили из *S. venturii*, гена предполагаемого белка RGA2 устойчивости к заболеваниям из *S. bulbocastanum*, гена белка RPI устойчивости к картофельной гнили из *S. bulbocastanum*, гена белка Rpi-blb2 устойчивости к картофельной гнили (Rpi-blb2) из *S. bulbocastanum*, гена белка устойчивости NBS-LRR (Rpi-bt1) из *S. bulbocastanum*, гена белка устойчивости к нематодам (Gro1-4) из *S. tuberosum*, гена белка Gra2 устойчивости к заболеваниям из *S. tuberosum*, гена, контролирующего устойчивость к Y- и A-потивирусам картофеля из *S. tuberosum* подвида *andigena* ADG2/2x(v-2)7a и/или гена, подобного гену устойчивости из *S. tuberosum* подвида *andigena* гу-1, экзонов 1-6, сплайс-вариантов C38 и C19, указанных под номером доступа GenBank AJ300266.1, гена дигидрофлавонол-4-редуктазы от *S. tuberosum* L, гена флавоноид-3',5'-гидроксилазы и гена регулятора транскрипции R2R3 MYB пути биосинтеза антоцианина-1, оба от *S. tuberosum* L, гена белка устойчивости к картофельной гнили (R1) из *S. demissum* и гена белка R3a устойчивости к картофельной гнили из *S. tuberosum* L, причём термин "по существу гомозиготный" означает, что по меньшей мере 50% генетических локусов указанного растения картофеля являются гомозиготными.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное первое растение картофеля представляет собой растение картофеля линии NCIMB 41663, NCIMB 41664, NCIMB 41665 или NCIMB 41765, при этом образцы семян указанной линии депонированы в NCIMB, Абердин, Шотландия под селекционными номерами AGVD1, AGVD2, AGVD3 и AGVD17, соответственно.

3. Диплоидное, фертильное, самоопыляемое и по существу гомозиготное растение картофеля, имеющее урожайность клубней, выраженную в граммах сырой массы, по меньшей мере 200 г, при этом указанное растение относится к виду *Solanum tuberosum*, содержащему участки интрогрессии других клубнеобразующих видов *Solanum*, являющихся скрещиваемыми с *Solanum tuberosum*; при этом способность к самоопылению определяется геном-ингибитором S-локуса (SN), происходящим от *Solanum chacoense*; и при этом указанное растение имеет помимо указанной урожайности клубней по меньшей мере один ген, желательный с агрономической точки зрения, при этом указанный ген выбран из группы, состоящей из генов, обеспечивающих устойчивость к *Phytophthora infestans* от *Solanum bulbocastanum* или *S. demis-*

sum, устойчивость к *G. rostochiensis* Ro1 от *S. tuberosum* подвида *andigena* CPC 1690 или 1673, устойчивость к *G. pallida* от *S. tuberosum* подвида *andigena*, устойчивость к *G. rostochiensis* Ro5-22 и *G. pallida* Pa2-D383 от *S. tuberosum* с номером доступа AM-78-3778, устойчивость к *G. pallida* Pa2 и Pa3 от *Solanum spregazzinii* и *Solanum tarijense*, устойчивость к *G. pallida* Pa3 от *S. tuberosum* с номером доступа 3704-76, устойчивость к *M. chitwoodi* от *S. bulbocastanum*, устойчивость к *M. chitwoodi*/*M. fallax* от *S. fendlerii* и *S. hougassii*, устойчивость к *M. hapla* от *S. chacoense* и *S. tarijense*, устойчивость к X-вирусу картофеля (PVX) от *S. tuberosum* сорта Pentland Ivory и устойчивость к S-вирусу картофеля (PVS) от *S. tuberosum* DW 83-3121, гена бета-каротингидроксилазы 2 (CHY2) от *S. tuberosum* L, гена зеаксантинопексидазы (ZEP) от *S. tuberosum* L, гена картофеля, кодирующего гранул-связанную синтазу крахмала от *S. tuberosum* L, гена бета-фруктофуранозидазы или кислой инвертазы картофеля от *S. tuberosum* L, гена сахарозофосфатсинтазы от *S. tuberosum* L, гена инвертазы от *S. tuberosum* L, гена предполагаемого предшественника ингибитора инвертазы (INH1/INH2) от *S. tuberosum* L, гена полифенолоксидазы клубней (PPO) от *S. tuberosum* L, гена сахарозосинтазы от *S. tuberosum* L, гена индуктора хлорогената от *S. tuberosum* L, указанного в GenBank под номером доступа EU310399, маркеров экспрессируемых последовательностей EST724115 и EST717227 для аспарагинсинтазы от *S. tuberosum* L, гена фосфорилазы L от *S. tuberosum* L, гена белка R1 или глюкан-вода-дикиназы от *S. tuberosum* L, гена белка R2 из *S. demissum*, гена R2-подобного белка AM-3778-16 из видов *Solanum*, гена белка R2 устойчивости к картофельной гнили (Rpi-hjt1.3) из *S. hjertingii*, гена белка ABPT Rpi из *S. bulbocastanum*, генов белков устойчивости к картофельной гнили из *S. venturii*, гена предполагаемого белка RGA2 устойчивости к заболеваниям из *S. bulbocastanum*, гена белка RPI устойчивости к картофельной гнили из *S. bulbocastanum*, гена белка Rpi-blb2 устойчивости к картофельной гнили (Rpi-blb2) из *S. bulbocastanum*, гена белка устойчивости NBS-LRR (Rpi-bt1) из *S. bulbocastanum*, гена белка устойчивости к нематодам (Gro1-4) из *S. tuberosum*, гена белка Gra2 устойчивости к заболеваниям из *S. tuberosum*, гена, контролирующего устойчивость к Y- и A-потивирусам картофеля из *S. tuberosum* подвида *andigena* ADG2/2x(v-2)7a и/или гена, подобного гену устойчивости из *S. tuberosum* подвида *andigena* gy-1, экзонов 1-6, сплайс-вариантов C38 и C19, указанных под номером доступа GenBank AJ300266.1, гена дигидрофлавонол-4-редуктазы от *S. tuberosum* L, гена флавоноид-3',5'-гидроксилазы и гена регулятора транскрипции R2R3 MYB пути биосинтеза антоцианина-1, оба от *S. tuberosum* L, гена белка устойчивости к картофельной гнили (R1) из *S. demissum* и гена белка R3a устойчивости к картофельной гнили из *S. tuberosum* L, причём термин "по существу гомозиготный" означает, что по меньшей мере 50% генетических локусов указанного растения картофеля являются гомозиготными.

4. Растение картофеля по п.3, отличающееся тем, что указанное растение содержит по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 генов, желательных с агрономической точки зрения, выбранных из указанной группы.

5. Тетраплоидное растение, полученное путем удвоения генома растения по п.3 или 4, при этом указанное тетраплоидное растение содержит по меньшей мере один ген, желательный с агрономической точки зрения, растения по п.3 или 4.

6. Способ получения гибридного семени картофеля, включающий:

а) обеспечение первого растения картофеля по любому из пп.3-5,

б) обеспечение второго растения картофеля, при этом указанное второе растение картофеля представляет собой растение фертильной, самоопыляемой и по существу гомозиготной линии картофеля, при этом указанное второе растение картофеля является диплоидным или тетраплоидным, и

с) перекрестное опыление указанного первого и второго растения картофеля, получение от одного из указанных родительских растений ягод с семенами и сбор гибридных семян из указанных ягод, причём термин "по существу гомозиготный" означает, что по меньшей мере 50% генетических локусов растения указанной линии картофеля являются гомозиготными.

7. Семя, полученное способом по п.6.

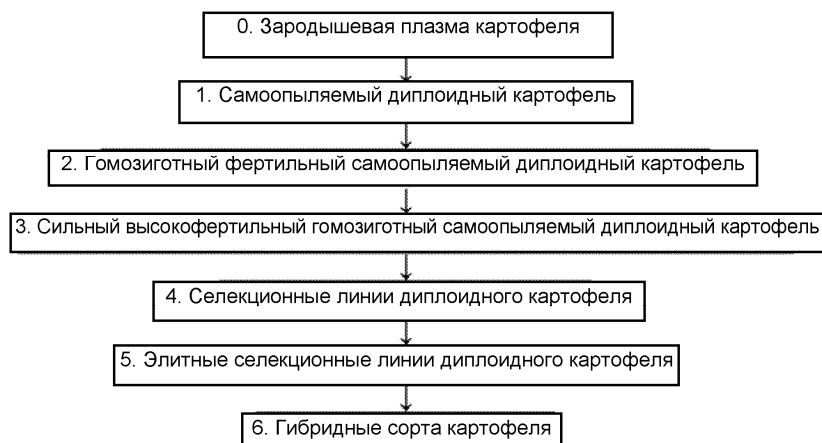
8. Гибридное растение картофеля или его часть, полученное путем выращивания семени по п.7, причём указанное гибридное растение картофеля имеет по меньшей мере один ген, желательный с агрономической точки зрения, растения стадии (а) п.6.

9. Пыльца или семяпочка растения по п.8.

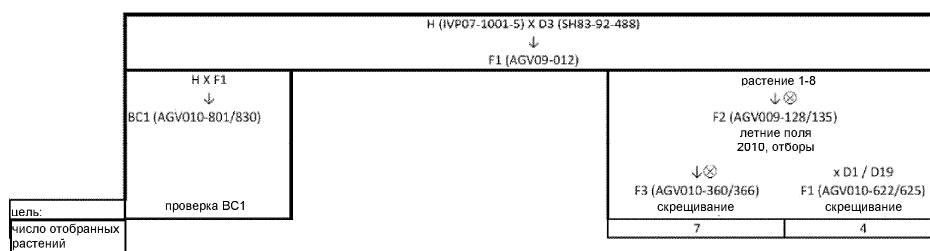
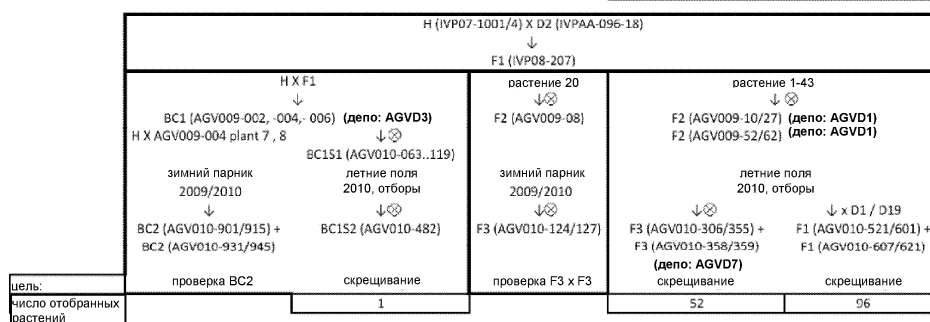
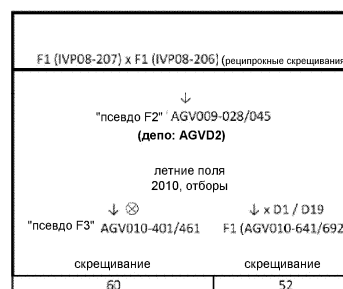
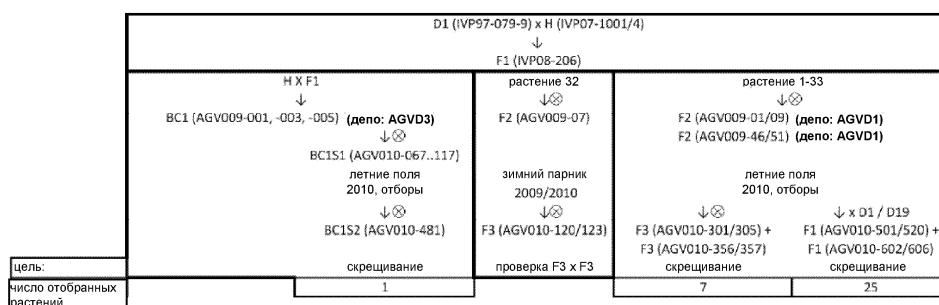
10. Клубень растения по п.8.

11. Культура ткани растения по п.8.

12. Набор по меньшей мере из 2 скрещиваемых между собой диплоидных, фертильных, самоопыляемых и по существу гомозиготных растений картофеля по любому из пп.3-5 для получения гибридных сортов, причём термин "по существу гомозиготный" означает, что по меньшей мере 50% генетических локусов указанного растения картофеля являются гомозиготными.

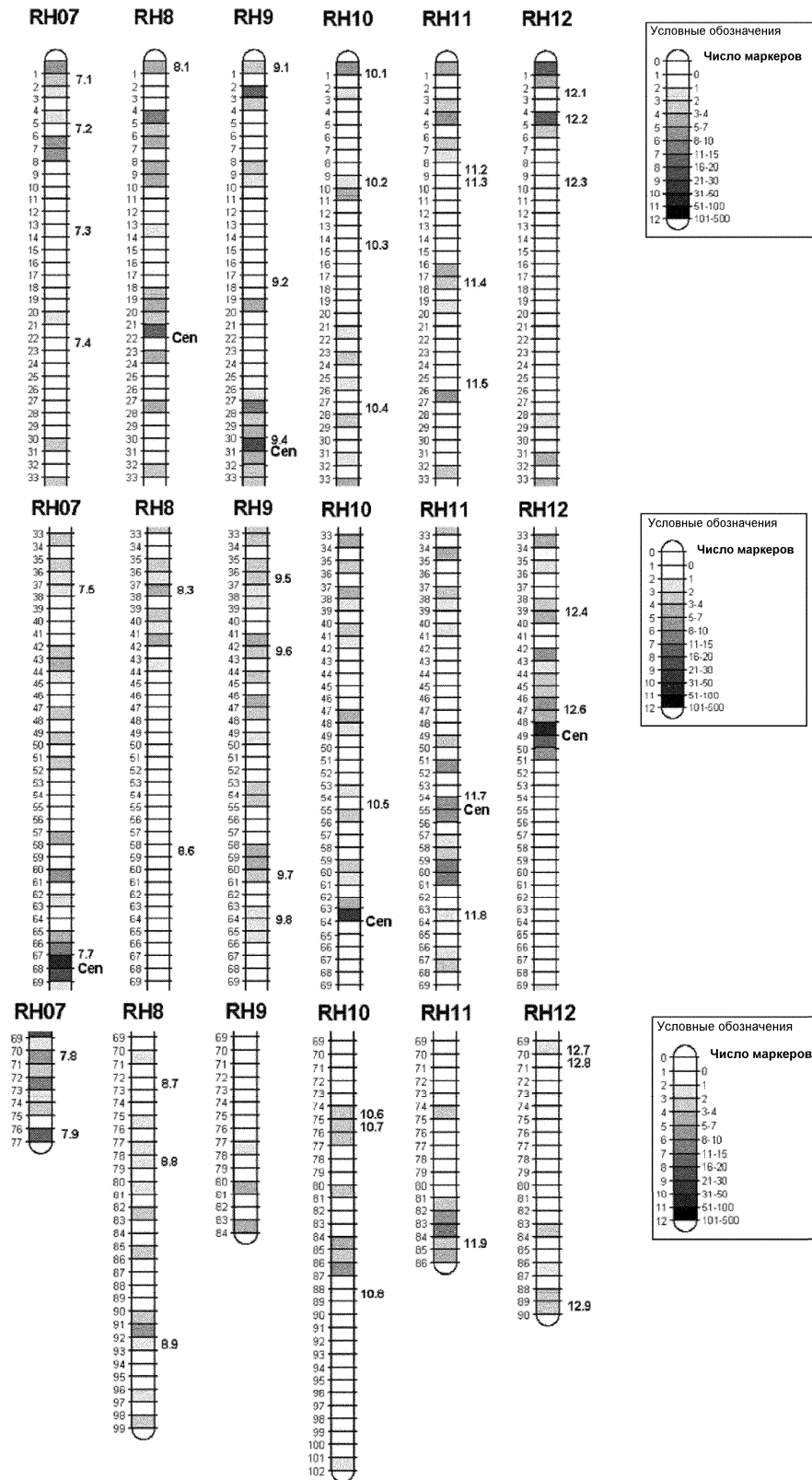


Фиг. 1



Фиг. 2





SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP072	A:A	A:A	G:A	G:A	G:A	A:A	G:A	A:A	G:A	G:A	A:A
PotSNP834	C:C	T:T	T:T	T:T	T:T	C:C	T:T	C:C	T:T	T:T	T:T
PotSNP645	T:T	X	T:T	T:T	X	G:G	T:G	G:G	T:G	G:G	G:G
PotSNP1034	A:A	G:A	G:A	A:A	G:G	G:A	A:A	G:A	G:A	G:A	A:A
PotSNP987	C:C	G:A	G:A	X	X	C:A	G:A	C:C	C:C	C:C	C:A
PotSNP185	T:T	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:T	C:T	C:C	C:C
PotSNP392	T:T	T:A	T:A	T:T	A:A	T:A	T:T	T:A	A:A	T:A	T:A
PotSNP165	G:G	G:G	G:A	G:A	G:G	G:G	G:A	G:G	X	G:G	G:G
PotSNP1139	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP072	A:A	G:G	G:A	G:A	A:A	G:A	G:A	A:A	A:A
PotSNP834	T:T	X	T:T	T:T	T:C	C:C	T:T	T:T	C:C
PotSNP645	T:G	T:G	G:G	T:T	G:G	G:G	T:G	T:G	G:G
PotSNP1034	A:A	A:A	A:A	G:G	G:A	G:G	G:A	G:A	G:A
PotSNP987	C:A	C:C	X	C:C	C:A	C:C	C:A	C:C	C:A
PotSNP185	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:T
PotSNP392	T:T	T:A	T:A	T:A	T:A	T:T	T:T	T:A	A:A
PotSNP165	G:G	G:A	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP1139	G:G	G:G	G:G	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G	G:G

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP038	C:C	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	T:T	C:T
PotSNP910	A:A	A:A	T:A	T:A	A:A	T:A	T:A	T:A	T:A	T:A	T:A
PotSNP106	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:T	G:G	C:T	G:G	G:T	G:T
PotSNP893	A:A	A:A	A:G	A:A	A:A	A:G	A:A	A:G	A:G	A:G	A:A
PotSNP401	A:A	G:G	G:G	G:G	G:A	G:A	G:G	G:A	G:G	G:A	G:G
PotSNP220	C:C	C:T	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C	C:C
PotSNP567	A:A	A:C	A:A	A:A	A:C	A:A	A:A	A:C	A:C	A:A	A:A
PotSNP947	T:T	T:G	T:G	T:T	T:T	T:T	T:T	T:G	T:G	T:T	T:T

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP038	T:T	C:C	C:C	C:T	C:T	T:T	T:T	T:T	C:T
PotSNP910	T:T	T:A	T:A	A:A	A:A	T:A	T:A	T:A	T:T
PotSNP106	G:G	A:T	T:T	G:G	G:G	T:T	G:T	G:G	G:G
PotSNP893	A:A	G:G	A:G	A:G	A:G	A:G	A:G	G:G	A:A
PotSNP401	G:G	A:A	G:G	A:A	A:A	G:G	G:G	A:A	G:G
PotSNP220	C:C	C:T	C:C	C:T	C:T	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP567	A:A	A:A	A:C	A:C	C:C	A:C	A:A	A:C	A:A
PotSNP947	T:T	T:G	T:G	T:G	G:G	T:G	T:T	T:G	T:T

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP055	G:G	G:G	G:A	G:A	G:A	A:A	G:A	G:G	G:A	G:A	G:A
PotSNP985	G:G	A:A	A:A	A:A	G:G	A:G	A:A	A:G	A:G	A:G	G:G
PotSNP1083	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T
PotSNP423	G:G	G:G	G:G	G:G	A:G	G:G	G:G	A:G	A:G	G:G	G:G
PotSNP1057	C:C	C:C	C:C	A:C	C:C	C:C	A:C	C:C	A:A	C:C	A:C
PotSNP068	C:C	C:C	C:C	C:T	C:T	C:T	C:T	C:C	C:T	T:T	C:C
PotSNP652	C:C	T:T	C:C	A:C	C:C	T:C	T:C	T:C	T:C	C:C	T:T
PotSNP796	C:C	C:A	C:A	T:A	G:A	C:A	G:A	C:A	A:A	G:A	C:A

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP055	G:G	G:G	G:A	G:A	X	G:A	G:G	A:A	G:A
PotSNP985	X	A:G	G:G	A:A	A:A	A:A	A:G	A:G	A:G
PotSNP1083	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	C:T	C:C
PotSNP423	G:G	A:G	A:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	A:G
PotSNP1057	C:C	A:C	A:T	A:T	A:C	C:C	C:C	A:C	C:C
PotSNP068	C:T	C:T	C:C	C:C	C:C	C:C	C:T	C:T	C:C
PotSNP652	T:C	T:C	T:C	T:T	T:T	T:C	T:C	T:C	T:C
PotSNP796	C:C	C:A	C:C	C:A	A:A	A:A	A:A	C:A	A:A

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP178	T:T	T:T	T:T	T:T	G:T	T:T	T:T	G:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP1072	T:T	T:T	T:T	T:T	G:G	T:T	T:T	G:T	T:T	G:T	G:G
PotSNP960	C:C	C:C	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:T	T:T	C:T	T:T
PotSNP061	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP569	G:G	A:A	G:G	G:G	G:G	G:A	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G
PotSNP083	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:C	C:T	C:T	C:C
PotSNP964	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	A:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP928	T:T	A:A	A:T	T:T	A:T	A:T	T:T	A:T	A:T	A:T	A:T

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP178	T:T	T:T	G:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP1072	X	T:T	G:T	T:T	T:T	T:T	T:T	G:T	T:T
PotSNP960	T:T	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:T	C:T
PotSNP061	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	C:T
PotSNP569	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	A:A	A:A	G:G	A:A
PotSNP083	C:C	C:T	C:C	C:T	C:T	C:C	C:C	T:T	C:T
PotSNP964	T:T	T:T	A:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP928	T:T	T:T	T:T	A:T	A:T	A:T	A:T	T:T	A:T

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP573	C:C	C:T	C:C	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	T:T	C:T	C:C
PotSNP184	G:G	G:A	A:A	G:A	A:A	A:A	G:A	A:A	G:A	G:A	A:A
PotSNP702	A:A	A:A	A:T	A:T	A:T	A:T	A:T	A:T	A:T	A:T	T:T
PotSNP731	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	A:A	G:G	A:G	G:G	A:A	A:A
PotSNP043	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:A	C:C	C:A	C:C	C:C	C:C
PotSNP057	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T
PotSNP1105	A:A	C:C	A:C	A:C	A:A	A:C	A:C	A:C	C:C	A:C	A:A
PotSNP032	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G	G:A	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G

SNP	IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP573	C:T	T:T	C:T	C:C	C:C	C:T	T:T	C:T	C:T	C:C
PotSNP184	G:G	A:A	A:A	G:G	G:A	A:A	A:A	G:A	G:A	A:A
PotSNP702	A:A	A:T	T:T	A:A	A:A	A:T	T:T	A:T	A:T	A:T
PotSNP731	X	A:G	A:G	G:G	A:A	A:G	A:A	A:A	G:G	X
PotSNP043	C:C	C:C	X	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP057	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:A
PotSNP1105	A:C	C:C	A:C	C:C	A:C	C:C	A:C	A:C	A:C	A:C
PotSNP032	G:G	G:A	G:A	G:A	G:G	G:A	G:A	G:A	G:G	G:A

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP205	A:A	G:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	G:A	G:A	A:A	A:A
PotSNP753	A:A	A:A	G:A	G:A	A:A	A:A	G:A	A:A	A:A	A:A	G:A
PotSNP470	T:T	T:A	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:A	T:A	T:T	T:T
PotSNP026	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP626	G:G	A:A	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:A	G:G	G:A	G:G
PotSNP081	C:C	C:C	C:T	C:T	T:T	T:T	C:T	A:T	C:C	C:T	C:C
PotSNP866	G:G	G:T	G:G	G:T	G:T	G:G	G:T	G:G	G:G	G:G	G:T

SNP	IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP205	A:A	G:A	A:A	A:A	G:A	A:A	A:A	G:A	A:A	A:A
PotSNP753	G:A	G:G	G:A	G:A	A:A	A:A	A:A	G:A	G:A	G:A
PotSNP470	T:T	T:A	T:A	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP026	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP626	G:G	G:G	G:A	G:A	A:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:G
PotSNP081	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP866	G:G	G:T	G:T	G:G	T:T	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP124	A:A	A:A	G:A	G:A	G:G	G:A	G:A	G:A	A:A	A:A	G:A
PotSNP047	C:C	C:C	C:C	C:C	T:T	C:T	C:T	C:T	C:C	C:C	C:T
PotSNP543	A:A	A:A	T:A	A:A	T:A	T:A	A:A	T:A	A:A	A:A	T:A
PotSNP130	C:C	C:C	C:T	A:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:T	C:T
PotSNP1049	C:C	C:C	T:C	C:C	T:T	T:T	C:C	T:A	C:C	T:C	C:C
PotSNP229	C:C	C:T	C:T	C:T	C:C	C:C	C:T	C:C	T:T	C:T	C:T
PotSNP712	G:G	C:G	C:G	C:G	C:G	C:G	C:G	C:G	G:G	C:C	C:G
PotSNP138	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	T:T	C:T	T:T
PotSNP827	A:A	A:A	A:A	A:A	T:A	A:A	A:A	T:A	A:A	T:A	A:A

SNP	IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP124	G:A	A:A	G:G	A:A	A:A	G:A	G:A	G:A	G:A	A:A
PotSNP047	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP543	T:A	A:A	T:A	A:A	A:A	T:A	T:A	A:A	T:A	A:A
PotSNP130	T:T	C:G	T:T	C:G	C:G	G:T	T:T	C:C	C:T	T:T
PotSNP1049	T:C	T:C	C:C	C:C	C:C	C:C	T:T	C:C	T:C	T:C
PotSNP229	C:T	C:C	C:C	C:C	C:T	C:T	C:T	C:C	C:T	C:T
PotSNP712	C:G	C:C	C:C	C:C	C:G	C:G	C:C	C:C	G:G	C:C
PotSNP138	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T
PotSNP827	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	T:A	A:A	A:A

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP1026	G:G	G:C	G:G	G:C	G:C	C:C	X	G:C	C:C	G:G	G:G
PotSNP1122	C:C	T:A	C:C	T:A	T:C	C:C	T:A	T:T	T:T	T:C	C:C
PotSNP700	G:G	G:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:G	G:G
PotSNP853	C:C	A:C	A:C	A:C	A:T	C:C	A:C	A:A	A:C	A:C	A:C
PotSNP089	G:G	G:G	G:A	G:A	G:A	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G	G:A
PotSNP948	T:T	T:A	T:T	T:A	T:A	T:T	T:A	T:A	T:T	T:A	T:A
PotSNP194	C:C	C:T	C:C	C:T	T:T	C:C	C:T	C:T	X	C:T	T:T
PotSNP116	G:G	G:G	G:A	A:A	G:A	A:A	A:A	G:A	G:G	A:A	G:A
PotSNP002	C:C	C:C	C:C	G:C	C:C	G:C	G:C	G:G	G:C	C:C	C:C

SNP	IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP1026	G:G	G:C	G:G	C:C	G:C	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP1122	T:A	C:C	T:A	T:C	T:C	C:C	C:C	T:C	T:C	C:C
PotSNP700	G:G	X	G:G	G:A	G:A	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP853	C:C	A:C	A:C	A:C	A:C	C:C	A:C	A:C	C:C	A:C
PotSNP089	G:A	G:G	G:A	G:A	G:G	G:A	G:G	G:G	G:G	G:A
PotSNP948	T:A	T:T	T:A	T:T	T:T	T:A	T:A	T:A	T:A	T:A
PotSNP194	C:T	C:C	C:T	C:C	C:C	C:T	C:T	C:T	C:T	T:T
PotSNP116	G:A	G:A	G:G	G:G	G:G	G:G	G:A	G:A	G:G	G:A
PotSNP002	G:C	G:C	C:C	C:C	G:C	G:C	C:C	C:C	C:C	G:C

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP102	A:A	G:A	G:A	G:A	G:A	A:A	G:A	G:A	G:A	A:A	G:G
PotSNP587	C:C	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	T:T
PotSNP1115	C:C	C:C	C:C	T:C	T:C	C:C	T:C	C:C	T:C	C:C	C:C
PotSNP402	T:T	T:C	T:T	T:C	T:C	T:C	T:C	C:C	T:C	C:C	T:T
PotSNP713	A:A	A:A	G:A	G:A	G:G	A:A	G:A	G:A	A:A	G:A	A:A
PotSNP080	T:T	C:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	C:T	C:T	T:T
PotSNP458	G:G	A:G	G:G	G:G	G:G	A:G	G:G	A:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP162	T:T	T:T	C:T	C:T	C:C	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	T:T

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP102	G:G	G:A	G:A	G:A	G:G	G:G	G:A	G:A	A:A
PotSNP587	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	X
PotSNP1115	C:C	T:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP402	T:T	T:C	T:C	T:C	T:C	T:T	T:C	C:C	T:T
PotSNP713	A:A	G:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	G:A	A:A
PotSNP080	T:T	T:T	T:T	C:C	C:T	T:T	C:T	C:T	C:C
PotSNP458	G:G	G:G	A:G	A:G	G:G	A:A	A:G	G:G	A:G
PotSNP162	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP021	C:C	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:T	T:T
PotSNP073	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:T	G:G	G:T	G:T	G:T	G:G
PotSNP152	C:C	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP122	A:A	G:A	A:A	A:A	G:A	G:G	A:A	G:A	G:A	G:G	G:A
PotSNP775	X	G:A	G:A	A:A	G:G	A:A	A:A	G:A	G:A	G:A	G:G
PotSNP134	C:C	C:T	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C	C:T	C:T	C:C	C:C
PotSNP446	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP120	A:A	G:A	A:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:A	A:A	G:A	A:A

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP021	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T
PotSNP073	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:T	G:T	G:G
PotSNP152	T:T	C:T	T:T	T:T	T:T	T:T	C:T	C:T	T:T
PotSNP122	G:A	G:A	G:G	G:A	A:A	A:A	G:G	G:A	G:A
PotSNP775	G:A	G:G	G:G	A:A	G:A	G:A	G:G	G:A	A:A
PotSNP134	C:C	X	C:T	C:T	C:C	C:T	C:C	C:C	C:C
PotSNP446	C:T	X	C:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP120	G:A	G:A	A:A	A:A	G:G	A:A	A:A	G:A	A:A

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP586	C:C	C:C	X	C:T	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP100	C:C	C:C	C:T	C:C	C:T	C:T	C:C	C:T	C:C	C:C	C:C
PotSNP607	C:C	T:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	T:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP766	C:C	C:C	C:C	T:T	C:C	C:C	T:T	C:C	C:C	T:T	C:C
PotSNP759	C:C	T:T	C:C	C:T	C:C	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T
PotSNP118	A:A	G:A	G:G	G:A	G:A	G:G	G:A	G:G	G:A	G:G	G:A
PotSNP982	T:T	C:T	C:C	C:C	C:T	C:T	C:C	C:T	C:T	T:T	C:T
PotSNP983	G:G	G:A	G:G	G:G	G:A	G:G	G:G	G:A	G:A	G:A	G:A
PotSNP580	C:C	T:T	T:C	T:T	T:T	T:C	T:T	T:C	C:C	T:T	T:T

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP586	X	C:T	C:T	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C	C:T
PotSNP100	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:T	C:C	C:C
PotSNP607	C:C	T:C	T:C	C:C	T:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP766	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	T:C
PotSNP759	C:T	G:T	C:T	X	T:T	C:T	C:T	T:T	T:T
PotSNP118	A:A	G:G	G:A	G:G	G:G	G:A	G:A	G:G	G:G
PotSNP982	X	C:T	C:T	C:T	T:T	T:T	T:T	C:T	C:T
PotSNP983	X	G:G	G:A	G:G	A:A	G:G	G:A	G:G	G:A
PotSNP580	T:T	C:C	T:C	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:C

SNP	07-1004-01	IVP97-079-9	IVPAA-096-18	SH83-92-488	C	E	SH83-92-488	RH89-039-16	3778-16	IVP92-057-3	IVP98-082-14
PotSNP099	C:C	C:C	T:T	T:T	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	T:T
PotSNP011	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	C:T	T:T	C:C
PotSNP996	T:T	T:T	C:T	C:C	C:T	T:T	C:C	C:T	T:T	C:C	C:T
PotSNP045	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	G:A	A:A	G:A	G:A	A:A	G:A
PotSNP121	C:C	C:T	T:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	T:T	C:T	T:T
PotSNP908	A:A	A:A	A:A	T:A	T:T	A:A	T:A	T:A	T:A	A:A	T:A
PotSNP182	A:A	G:A	A:A	A:A	A:A	G:A	A:A	G:A	G:A	G:G	G:A
PotSNP213	G:G	G:G	X	G:G	G:G	G:G	G:G	G:A	G:G	G:A	G:A
PotSNP052	C:C	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:C	T:T	C:T

IPV02-089-5	IVP05-113-1	IVP05-122-24	IVP06-142-12	IVP06-145-2	IVP06-148-13	IVP06-149-12	IVP06-155-9	IVP06-161-16	IVPAA-134-16
PotSNP099	T:T	C:T	C:T	C:T	C:C	C:C	T:T	T:T	C:T
PotSNP011	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	T:T	T:T	C:C
PotSNP996	C:T	C:T	C:C	T:T	T:T	T:T	C:T	C:T	C:C
PotSNP045	X	G:A	G:A	A:A	A:A	A:A	G:A	A:A	G:A
PotSNP121	X	C:T	T:T	C:T	C:T	T:T	C:T	C:T	C:T
PotSNP908	X	T:T	T:A	T:A	A:A	T:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP182	A:A	G:A	G:G	A:A	G:A	G:A	G:A	G:A	G:A
PotSNP213	G:G	G:A	A:A	G:G	G:G	G:A	G:A	G:G	G:A
PotSNP052	T:T	T:T	C:T	C:C	C:C	C:C	T:T	C:T	T:T

Фиг. 4

	H	D1	F1	популяция F3 №121																				
SNP	07-1004-1	VP97-079-9	VP08-206-32	121-1	121-2	121-3	121-4	121-5	121-6	121-7	121-8	121-9	121-10	121-11	121-12	121-13	121-14	121-15	121-16	121-17	121-18	121-19	121-20	121-21
PotSNP834	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP392	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP038	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP947	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP985	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP796	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP569	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP928	T/T	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	T/T	T/T	A/A	A/A	A/A	A/A	T/T	A/A	A/A	A/A	T/T	A/A	A/A	A/A	T/T	T/T	T/T
PotSNP184	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP1105	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C	A/A	A/A	C/C	?	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP205	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP626	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP229	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP102	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP458	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP138	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP1026	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP152	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP120	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP607	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP580	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP099	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP182	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP052	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C

	популяция F3 №121																							
SNP	121-22	121-23	121-24	121-25	121-26	121-27	121-28	121-29	121-30	121-31	121-32	121-33	121-34	121-35	121-36	121-37	121-38	121-39	121-40	121-41	121-42	121-43	121-44	121-46
PotSNP834	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP392	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP038	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP947	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP985	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	A/A	A/A	A/A	G/G
PotSNP796	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP569	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	?	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP928		A/A	T/T	T/T	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	T/T	A/A	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	A/A	A/A	A/A	A/A	T/T
PotSNP184	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP1105		A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	A/A	C/C	C/C	C/C	A/A	C/C	C/C	C/C
PotSNP205	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP626	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	?	G/G
PotSNP229	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP102	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP458	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP138	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP1026	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP152		T/T	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T
PotSNP120	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
PotSNP607	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP580	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	?
PotSNP099	C/C	C/C	G/G	G/G	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	?	G/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C
PotSNP182			G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G
PotSNP052		C/C	T/T	C/C	T/T	C/C	?	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	G/G	G/G	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G

Фиг. 5А

	H	D1	F1	F2	популяция F3 №122																				
SNP	07-1004-1	VP97-079-9	VP08-206-32	AGV09-007-09	122-1	122-2	122-3	122-4	122-5	122-6	122-7	122-8	122-9	122-10	122-11	122-12	122-13	122-14	122-15	122-16	122-17	122-18	122-19		
PotSNP834	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP392	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T		
PotSNP038	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP947	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T		
PotSNP985	G:G	A:A			A:A				G:G	A:A				G:G			A:A					A:A	A:A		
PotSNP796	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP569	G:G	A:A		G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G		
PotSNP928	T:T	A:A	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T		
PotSNP184	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G		
PotSNP1105	A:A	C:C					A:A			A:A	A:A	A:A	A:A			A:A	C:C	A:A	C:C			C:C	C:C		
PotSNP205	A:A	A:A	A:A				A:A				A:A	G:A	G:A					A:A		G:G	A:A				
PotSNP626	G:G	A:A		G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G		
PotSNP229	C:C					T:T			T:T	T:T	T:T						T:T	T:T	C:C						
PotSNP102	A:A		A:A		A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A		
PotSNP458	G:G		G:G		G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G		
PotSNP138	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T		
PotSNP1026	G:G	G:G	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP152	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP120	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A		
PotSNP607	C:C		C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP580	C:C	T:T				C:C			C:C	T:T		C:C			T:T		C:C	C:C	T:T	C:C			T:T		
PotSNP099	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		
PotSNP182	A:A		A:A		A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A		
PotSNP052	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C		

	популяция F3 №122																							
SNP	122-20	122-21	122-22	122-23	122-24	122-25	122-27	122-28	122-29	122-30	122-31	122-32	122-33	122-34	122-35	122-36	122-37	122-38	122-39	122-40	122-41	122-42	122-43	
PotSNP834	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP392	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP038	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP947	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP985			A:A	A:A		G:G	A:A	A:A		A:A	A:A		G:G		G:G		A:A				G:G		A:A	
PotSNP796	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP569	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP928	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP184	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP1105	C:C	A:A	A:A										C:C		C:C		A:A	A:A		C:C		C:C	A:A	
PotSNP205	A:A	G:C			A:A	?						A:A	A:A			A:A		A:A						
PotSNP626	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP229	T:T		T:T		T:T				C:C	T:T	C:C	T:T	C:C	?	C:C		C:C	C:C				C:C	T:T	
PotSNP102	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	?	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	
PotSNP458	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP138	T:T	T:T	T:T	T:T	?	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP1026	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP152	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP120	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	
PotSNP607	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP580	C:C	C:C	C:C							T:T	C:C	T:T	C:C	?				C:C	T:T		T:T	T:T		
PotSNP099	C:C	C:C	C:C	C:C	?	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP182	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	
PotSNP052	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	

Фиг. 5B

	H	D1	F1	популяция F3 №123																						
SNP	07-1004-1	VP97-079-9	VP08-206-32	AGV09-007-13	123-1	123-2	123-3	123-4	123-5	123-6	123-7	123-8	123-9	123-10	123-11	123-12	123-13	123-14	123-15	123-16	123-17	123-18	123-19			
PotSNP834	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP392	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T		
PotSNp038	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP947	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T		
PotSNP985	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A		
PotSNP796	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP569	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP928	T/T	A/A	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T		
PotSNP184	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP1105	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP205	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A		
PotSNP626	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP229	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP138	T/T	A/A	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T		
PotSNP1026	G/G	G/C	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP700	G/G	?	?	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	?	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP102	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A		
PotSNP458	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP021	C/C	T/T	?	?	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP152	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP120	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G		
PotSNP607	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP580	C/C	T-T	C/C	C/C	C/C	C/C	T-T	T-T	T-T	T-T	T-T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		
PotSNP099	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	?	C/C		
PotSNP182	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	?	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	A/A	C/C	C/C	C/C	C/C	A/A		
PotSNP052	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C		

популяция F3 №123																	
SNP	123-20	123-21	123-22	123-23	123-24	123-25	123-26	123-27	123-28	123-29	123-30	123-31	123-32	123-33	123-34	123-35	
PotSNP834	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP392	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNp038	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP947	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP985	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	
PotSNP796	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP569	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP928	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP184	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP1105	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP205	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	
PotSNP626	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP229	T:T	C:C	C:C	T:T			T:T		T:T	T:T					T:T		T:T
PotSNP138	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	
PotSNP1026	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP700	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP102	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	
PotSNP458	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP021	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP152	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP120	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	
PotSNP607	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP580	C:C		C:C	C:C	C:C		C:C	T:T			C:C		C:C	T:T	C:C		
PotSNP099	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	
PotSNP182	A:A		A:A	G:G		?							G:G				
PotSNP052	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	

Фиг. 5С

Фиг. 5D

	H	D2	F1	F2	популяция F3 №126B												
SNP	07-1004-1	IVPAA-096-18	IVP08-207-20	AGV09-008-16	126B-1	126B-2	126B-3	126B-4	126B-5	126B-6	126B-7	126B-8	126B-9	126B-10	126B-11	126B-12	126B-13
PotSNP834	C:C	T:T								C:C		T:T	C:C	C:C	C:C		C:C
PotSNP165	G:G		G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNp038	C:C		T:T	T:T						C:C			C:C	T:T			T:T
PotSNP947	T:T		T:C	T:C		T:C	T:T	G:G	G:G	G:G	T:T	T:C	T:C	G:G		G:G	G:G
PotSNP985	G:G	A:A						A:A	A:A		G:G				A:A	G:G	A:A
PotSNP796	C:C		C:C	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP960	C:C			C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP928	T:T		T:T	T:T		T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP184	G:G	A:A			G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP1105	A:A		A:A	A:A		A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP753	A:A			G:G		G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP081	C:C		C:C	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP124	A:A			A:A		A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	?	A:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP700	G:G	A:A	G:G	G:G		?	G:G	G:G	G:G	G:G	?	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP116	G:G		G:G	G:G		G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP102	A:A		A:A	A:A		A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP162	T:T		?	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP021	C:C	T:T		T:T		T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP152	C:C		C:C	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	?	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP100	C:C					C:C						C:C			C:C		
PotSNP580	C:C		C:C	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP996	T:T		T:T	T:T		T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP213	G:G	?				G:G	G:G	G:G			G:G		G:G	A:A	G:G		G:G
PotSNP052	C:C		C:C	C:C		C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C

популяция F3 №126B																		
SNP	126B-14	126B-15	126B-16	126B-17	126B-18	126B-19	126B-20	126B-21	126B-22	126B-23	126B-24	126B-25	126B-26	126B-27	126B-28	126B-29	126B-30	126B-31
PotSNP834	T:T		C:C	T:T		C:C				C:C		C:C	C:C	T:T				C:C
PotSNP165	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNp038			C:C	T:T			T:T	C:C	T:T				T:T	C:C	T:T			T:T
PotSNP947		T:T	T:T	G:G	G:G		G:G	G:G		T:T		G:G	G:G					T:T
PotSNP985	A:A	G:G		G:G					A:A			?		G:G		G:G	A:A	A:A
PotSNP796	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP960	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	?	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP928	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP184	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP1105	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	?	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP753	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP081	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP124	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	?	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP700	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP116	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G	G:G
PotSNP102	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
PotSNP162	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP021	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP152	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP100	C:C	C:C	C:C	C:C		C:C	C:C		T:T				C:C			C:C		C:C
PotSNP580	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C
PotSNP996	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T	T:T
PotSNP213		A:A	A:A	A:A	G:G	A:A		A:A		A:A			G:G	G:G	G:G	A:A	A:A	A:A
PotSNP052	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C	C:C

Фиг. 5E

SNP	H	D1	F1	F2	популяция F3 №127																										
					07-1004-1	IVPAA 096-18	IVP08-207-20	AGV08-008-23	127-1	127-2	127-4	127-5	127-6	127-7	127-8	127-9	127-10	127-11	127-12	127-13	127-14	127-15	127-16	127-17	127-18	127-19	127-20	127-21	127-22	127-23	127-24
PotSNP834	C	C	T																												
PotSNP165	G	G		G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNp038	C	C																													
PotSNP947	T	T		T																											
PotSNP985	G	A		G																											
PotSNP798	C	C		C	C																										
PotSNP960	C	C																													
PotSNP928	T	T	T	T																											
PotSNP184	G	A	A																												
PotSNP1105	A	A	A	A	A	7	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
PotSNP753	A	A	A	A	G		G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP081	C	A		C	C		G	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP124	A	A		G			G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP700	G	A	G	G	G		G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP116	G	G	G	G	G		G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP102	A	A	A	A	A		A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	7	A	A	A	A	A	A
PotSNP162	T		?				T	T						T																	
PotSNP021	C	T																													
PotSNP152	C		C	C	C		C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP100	C						C	C	C	C																					
PotSNP580	C		C	C	C		C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP966	T	T	T	T			T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
PotSNP213	G	?		A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
PotSNP052	C		C	C	C		C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

SNP	популяция F3 №127																													
	127-27	127-28	127-29	127-30	127-31	127-32	127-33	127-34	127-35	127-36	127-37	127-38	127-39	127-40	127-41	127-42	127-43	127-44	127-45	127-46	127-47	127-48	127-49	127-50	127-51	127-52	127-53	127-54	127-55	127-56
PotSNP834	C	C	G	G	C																									
PotSNP165	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNp038					C	T																								
PotSNP947	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
PotSNP985	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP798	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP960	T	T	C				C	C				C	C	C	C															
PotSNP928	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
PotSNP184	A	A	A	A	A	A	G	G	A	A	A	A	A	G	G	A	A	A	A	A	A	A	A	G						
PotSNP1105	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
PotSNP753	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP081	C	C	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP124	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP700	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP116	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
PotSNP102	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
PotSNP162			?	C	A	T	C			C	T	T	C	C	A	T	C			T		T		C				C	T	
PotSNP021	C	C				C	T					C		C	T					C	C									
PotSNP152	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP100	C																													
PotSNP580	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
PotSNP966	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
PotSNP213	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
PotSNP052	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

Фиг. 5F