

ПРИЛОЖЕНИЯ

к статье Т.А. Гавриленко, Н.С. Клименко, Н.В. Алпатьевой, Л.И. Костиной, В.А. Лебедевой, З.З. Евдокимовой, О.В. Апаликовой, Л.Ю. Новиковой, О.Ю. Антоновой «Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по типам цитоплазм»

Приложение 1. Распространение различных типов цитоплазм, определенных согласно классификации Hosaka, Sanetomo (2012), у селекционных сортов картофеля, созданных в разных странах

Всего сортов	T	D	W/γ	W/β	W/α*	P	A	M	Лит. источник
Сорта, созданные в Японии									
110	N = 86 (78.2 %)	N = 17 (15.5 %)	N = 0	N = 0	N = 0	N = 5 (4.5 %)	N = 2 (1.8 %)	N = 0	Hosaka, Sanetomo, 2012
Сорта, созданные в странах Западной Европы и Северной Америки									
669	N = 466 (69.6 %)	N = 139 (20.8 %)	N = 45 (6.7 %)	N = 11 (1.7 %)	N = 1 (0.2 %)	N = 0	N = 7 (1.0 %)	N = 0	Sanetomo, Gebhardt, 2015
Сорта, созданные в странах РФ и ближнего зарубежья из расширенной выборки (N = 277), включающей литературные данные и результаты настоящей работы (см. ниже)									
277	N = 134 (48.4 %)	N = 123 (44.4 %)	N = 19 (6.8 %)	N = 0	N = 0	N = 0	N = 1 (0.4 %)	N = 0	Расширенная выборка
Литературные данные по сортам расширенной выборки									
25	N = 15: Вармас, Вербя, Воротынский ранний, Голубизна, Житомирянка, Кабардинский, Львовянка, Люберецкий, Матс, Мостовский, Незабудка, Октябрьенок, Сорка, Сотка, Степановский	N = 9: Ариадна, Вита, Жуковский ранний, Мавка, Невский, Прикарпатский, Радуга полевая, Свитанок киевский, Татьяна	N = 0	N = 0	N = 0	N = 0	N = 1: Катюша	N = 0	Sanetomo, Gebhardt, 2015
40	N = 40: Агрономический, Атлант, Бронницкий, Гатчинский, Горизонт, Детскосельский, Елизавета, Журавинка, Заравшан, Зарина, Зарево, Имандра, Исток, Камераз, Комсомолец 20, Катунский, Лорх, Лошицкий, Луговской, Лыбидь, Матрешка, Милавица, Мурманский, Нарочь, Оредежский, Петербургский, Победа, Повировец, Прамень, Приекульский ранний, Приобский, Радуга, Северная Роза, Синеглазка, Сузорье, Талисман, Темп, Фитофтороустойчивый, Энергия, Янтарный	–	–	–	–	–	–	–	Gavrilenko et al., 2007
28	N = 5: Балтийский, Вдохновение, Загадка Питера, Памяти Осиповой, Столовый 19	N = 20: Алый Парус, Арина, Белогорский ранний, Весна белая, Даная, Жемчужина, Лига, Ломоносовский, Майский цветок, Наяда, Очарование, Рождественский, Русская красавица, Сиреневый туман, Сказка, Снегирь, Суйдинский ранний, Холмогорский, Чародей, Чароит	N = 3: Гусар, Евразия, Сударыня	N = 0	N = 0	N = 0	N = 0	N = 0	Гавриленко и др., 2018
Результаты настоящей работы, детали – в таблице в тексте									
185	N = 74 (40.0 %)	N = 94 (50.8 %)	N = 16 (8.7 %)	N = 0	N = 0	N = 0	N = 1* (0.5 %)	N = 0	Настоящее исследование

Примечание. N – число (%) сортов с различными типами цитоплазм, определенных согласно классификации Hosaka, Sanetomo (2012). W/α* – тип цитоплазмы W/α без маркера D. Одноименные сорта, проанализированные разными авторами, цитируются по их первому упоминанию в литературе.

* Подтвержден A-тип цитоплазмы у сорта Катюша украинской селекции, ранее определенный в работах (Hosaka, Sanetomo, 2012; Sanetomo, Gebhardt, 2015).

Приложение 2. ДНК-маркеры разных типов цитоплазм, определяемых по классификации Hosaka, Sanetomo (2012)

Лocus	Маркер	Праймеры	Рестриктаза	Последовательность праймеров (5'→3')	T _m , °C	Диагностический фрагмент	Лит. источник
Маркеры для идентификации типов цитоплазм T, P, A, M, W							
<i>ndhC/trnV</i>	T	H1	–	F: GGAGGGGTTTTTCTTGTTG R: AAGTTTACTCACGGCAATCG	60→55	Тип T – 202 п.о.	Hosaka, 2003
<i>rps16/trnQ</i>	S	NTCP6	–	F: GGTTCGAATCCTCCGTC R: GATTCTTTCGCATCTCGATTC	63→58	Тип P – 127 п.о., остальные типы – 172–175 п.о.	Bryan et al., 1999
<i>cemA</i>	SAC	SAC	BamHI	F: TTGGAGTTGTTGCGAATGAG R: GTCCCTAGCCACGATTCTG	60	Типы A, M, P – нет рестрикции; W и T – рестрикция	Hosaka, Sanetomo, 2012
<i>rpl32/ccsA</i>	A	A	BamHI	F: AACTTTTGAACTCTATTCCTAATTG R: ACGCTTCATTAGCCCATACC	60	Тип A – наличие рестрикции	Hosaka, Sanetomo, 2012
Маркеры для идентификации типа митохондриальной ДНК							
<i>rps 10</i>	ALM4/5	ALM_4 ALM_5	–	F: AATAATCTTCCAAGCGGAGAG R: AAGACTCGTGATTACGGCAAT	55	α – 2400 п.о. β – 1600 п.о. γ – нет фрагмента	Lössl et al., 2000
Маркеры для идентификации D-типа цитоплазмы							
<i>Band1</i>	D (Region 1)	Band1-F11 Band1-R6	–	F: CGGGAGGTGGTGTACTTTCT R: ACGGCTGACTGTGTGTTTGA	60	527 п.о.	Sanetomo, Hosaka, 2011; Hosaka, Sanetomo, 2012
	D (Region 2)	Band1-F8 Band1-R9	–	F: AACTTGGAAGCGAAAGCTCA R: ATTGCCGATGTCCAAGTAGG	65→60	434 п.о.	Sanetomo, Hosaka, 2011

Приложение 3. ДНК-маркеры генов *R1* и *R3a* расоспецифичной устойчивости к *Phytophthora infestans*, интрогрессированных в селекционный генофонд от *S. demissum*

Ген	Хромосома	Маркер	Последовательность праймеров (5'→3')	T _m , °C	Диагностический фрагмент	Лит. источник
<i>R1</i>	V	R1	F (76-2sf2): CACTCGTGACATATCCTCACTA R (76-2SR): CAACCCTGGCATGCCACG	65→58	1400 п.о.	Ballvora et al., 2002; Mori et al., 2011
<i>R3a</i>	XI	RT-R3a	F: ATCGTTGTCATGCTATGAGATTGTT R: CTTCAAGGTAGTGGGCAGTATGCTT	65→58	982 п.о.	Huang et al., 2005

Приложение 4. Праймеры, разработанные нами для дифференциации митотипов у мужскостерильных и фертильных генотипов – носителей стерильных типов цитоплазм

№	Ген	Название праймера	Последовательность праймера	Позиция праймера в последовательности <i>S. phureja</i> (JF772172.1)	T _m , °C	Длина ПЦР-продукта, п. о.
1	<i>nad1/atp6</i>	nad1_NA1-F	ATCGCTCTCTCCAGGAGGTT	49252–49271	60	1319
		nad1_NA1-R	GGACTCCCGCGGTAATAAG	47949–47968		
1a	<i>nad1/atp6</i> (для NGS)	NAD1NGS-F	CCGCCCGTAAAGTTCCTTTGTC	49945–49965	60	516
		NAD1NGS-R	CACCCGCTACTCCGTTTTGA	48450–48469		
2	<i>nad2</i>	nad2_NA3-F	CCCCGGTTACAGCATTCCTT	217620–217639	60	2113
		nad2_NA3-R	AGAATCCATGTCCTAGGTGTATCA	215503–215526		
2a	<i>nad2</i> (для NGS)	NAD2NGS-F	GGGCTTCTTGCTACGCTACA	216388–216407	60	383
		NAD2NGS-R	TTAAGCCTGGGCGAAGATGG	216025–216044		
3	<i>nad7</i>	nad7_NA1-F	GCTGCTCATGGTGTTCACGA	162986–163006	60	2903
		nad7_NA1-R	ATACGGTTGCCGGTTGACAT	165872–165891		
4	<i>cox2</i>	cox2_NA1-F	GGTCGCGCTTATGGCATT	152600–152619	60	1966
		cox2_NA1-R	TTGGATACCCGAGAGCCATA	154546–154565		
5	<i>CcmFc</i>	CcmFc_NA1-F	ATTACTTCCGTGGTCGTGCC	301763–301782	59	2036
		CcmFc_NA1-R	CAGTCGTGCTCGTCCTTCT	303779–303798		
6	<i>rps3</i>	rps3_NA1-F	TCGGTAAGACTTGATCTGAATCGT	149123–149146	60	2635
		rps3_NA1-R	TCGGATATAGCACGTCCCCC	151738–151757		
7	<i>atp6</i>	atp6_NA1-F	TTCTTCCCCCGTTCTACCT	47325–47344	59	883
		atp6_NA1-R	TTTCGTGCTGAACCCGGTAA	48189–48208		
8	<i>atp9</i>	atp9_NA1-F	AACGAGGGGAAGAATCGACG	443503–443522	59	400
		atp9_NA1-R	AGCAGGAACCTCACTAGCCT	443883–443902		

**Приложение 5. Результативность комбинаций контролируемых скрещиваний (завязываемость ягод с семенами),
 в которых опылители имели D-тип цитоплазмы**

Материнские родительские формы	Отцовские родительские формы (все опылители с D-типом цитоплазмы)	Фертильность пыльцы, %	Завязавшихся ягод, %	Среднее число семян на 1 ягоду	Материнские родительские формы	Отцовские родительские формы (все опылители с D-типом цитоплазмы)	Фертильность пыльцы, %	Завязавшихся ягод, %	Среднее число семян на 1 ягоду
Гусар (W/γ)	Алый парус	25.1–75.0	10.0–35.0	7.3–75.0	Гусар (W/γ)	Русская красавица	75.0	40.0	42.1
Даная (D)					Гусар (W/γ)	Свитанок Киевский	85.0–90.5	19.0	64.5
Сударыня (W/γ)	Башкирский	63.2	38.6	5.1	Гусар (W/γ)	Сиреневый туман	20.0–66.2	22.2–41.6	67.8–75.0
Алый парус (D)	Даная	62.0	12.5	16.5	Даная (D)				
Гусар (W/γ)	Лига	23.1–58.3	23.1–58.3	5.3–27.3	Гусар (W/γ)	Сказка	50.3–91.0	0.0–0.61	0.0–1.0
Жуковский ранний (D)					Русская красавица (D)			0.0	0.0
Сиверский (W/γ)	Ломоносовский	59.9–3.0	31.9	21.6	Сиреневый туман (D)			0.0	0.0
Сударыня (W/γ)			33.3	11.2	Гусар (W/γ)	Снегирь	58.0	19.4	8.35
Гусар (W/γ)	Майский цветок	64.0	7.3	10.1	Гусар (W/γ)	Чародей	34.0	24.3	43.3
Гусар (W/γ)	Наяда	43.45–69.4	14.3–38.6	13.3–23.7	Ломоносовский (D)	Чароит	30–85.0	13.2–33.30	5.8–26.2
Сказка (D)					Сиверский (W/γ)				
Журавинка (T)					Сударыня (W/γ)				
Маэстро	Очарование	25.0	8.3–18.2	23.0–47.0	Гусар (W/γ)				
Алова					1604/16 (W/γ)				

Приведены данные за 2–4 года.

Приложение 6. Результаты молекулярного скрининга сортов* с маркерами R1_1400 и R3a_982 генов R1 и R3a расоспецифичной устойчивости к *Phytophthora infestans*, интрогрессированных в селекционный генофонд от *S. demissum* («+» означает наличие маркера, «-» – отсутствие маркера)

R1_1400 / R3a_982 +/-	R1_1400 / R3a_982 -/+	R1_1400 / R3a_982 +/+	R1_1400 / R3a_982 -/-
Сорта с T-типом цитоплазмы (N = 66)			
Аврора, Гарт, Горизонт, Горноуральский, Гранат, Дружный, Зауральский, Зольский, Искра, Колпашевский, Кристалл, Лекарь, Люкс, Нарт 1, Северянин, Энергия, Юбилейный Осетии	Аметист, Антонина, Брат-2, Гулливвер, Корневский, Красная горка, Красноуфимский, Кустаревский, Лаймдота, Лыбидь, Нарымка, Огниво, Прибрежный, Приморский (=При-12), Синева, Солнечный	Бежицкий, Красавчик, Красная заря, Русалка, Рябинушка, Сентябрь, Филатовский, Шаман, Юпитер	Алиса, Варсна, Василек, Вираз, Волжский, Загадка, Имандра, Импала, Кабардинский, Катюша, Лидер, Мурманский, Мусинский, Нарочь, Наука, Памяти Рогачева, Сафо, Светлячок, Фаленский, Фиолетовый, Хибинский ранний, Чайка, Шурминский 2, Явар
17	16	9	24 (36.4 %)

Окончание таблицы

<i>R1_1400 / R3a_982</i> +/-	<i>R1_1400 / R3a_982</i> -/+	<i>R1_1400 / R3a_982</i> +/+	<i>R1_1400 / R3a_982</i> -/-
Сорта с D-типом цитоплазмы (N = 68)			
Барин, Болвинский, Златка, Ладожский, Любава, Манифест, Маугли, Нестеровский, Пролисок, Томич, Успех, Юна	Алена, Альпинист, Антошка, Белуха, Большевик, Букет, Ирбитский, Каменский, Кемеровчанин, Красавица, Кузнечанка, Нальчикский, Парус, Призер, Рамзай, Рапсодия, Рассвет, Регги, Росинка (Расінка), Русич, Старт, Танай, Украинский розовый	Амур, Бородянский розовый, Былина Сибири, Виза, Горняк, Горянка, Жигулевский, Звездочка, Кормилец, Лазарь, Престиж, Ромашка, Саровский, Солнышко, Танго, Фрителла	Бабушка, Барон, Веселовский 2–4, Вымпел, Гарант, Губернатор, Донцовский, Жаворонок, Живица, Кортни, Матушка, Румянка, Самбо, Скарб, Фермер, Чая, Югана
12	23	16	17 (25 %)
Сорта с W/γ-типом цитоплазмы (N = 7)			
Москворецкий	Олимп, Погарский	Вектар, Накра	Метеор, Фокинский
1	2	2	2
Сорта с А-типом цитоплазмы (N = 1)			
Катюша (украинской селекции)			
N = 30	N = 42	N = 27	N = 43
Как минимум с одним из маркеров <i>R1_1400</i> и <i>R3a_982</i>			Без этих маркеров
N = 99			N = 43 (30.3 %)

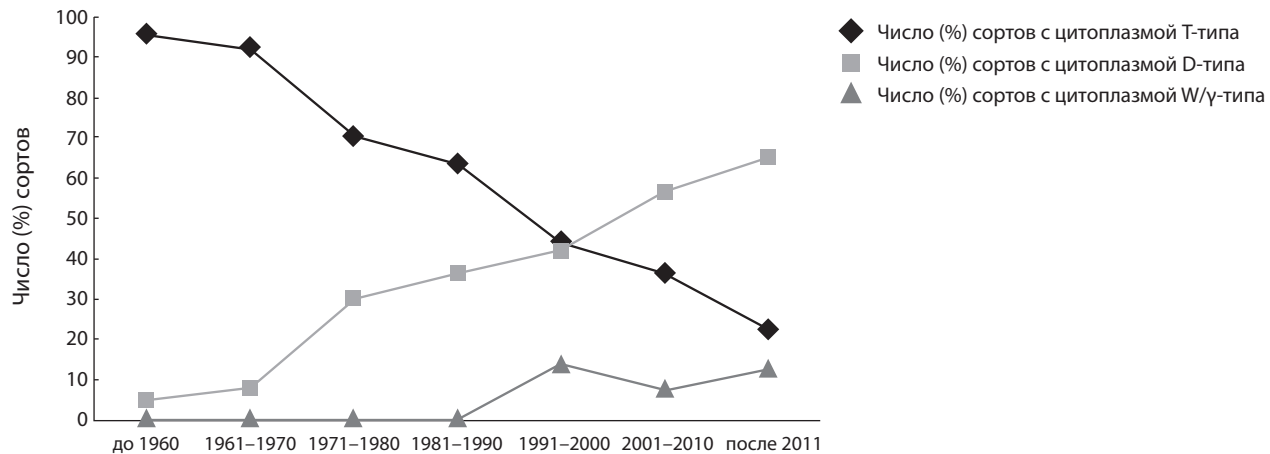
* Результаты молекулярного скрининга с маркерами *R1_1400* и *R3a_982* для остальных сортов расширенной выборки были получены ранее в работах (Gebhardt et al., 2004; Бекетова, Хавкин, 2006; Гавриленко и др., 2018).

Приложение 7. Результаты NGS-анализа для трех bulk-проб, включающих 28 образцов с W/γ-типом цитоплазмы, и соотношение замен A/C/T/G в полиморфных сайтах интрона гена *nad2* (в положении 216310) и межгенного спейсера *nad1/atp6* (в положении 48923)

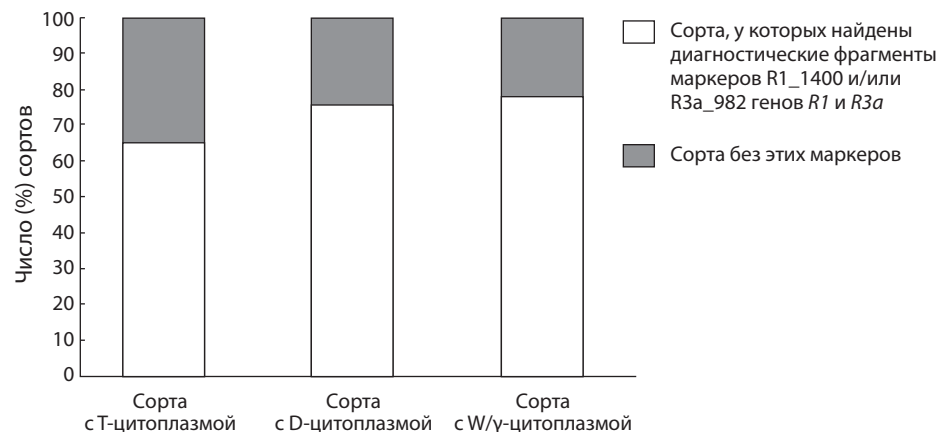
№	Образцы с W/γ-типом цитоплазмы различного происхождения	Число генотипов	Второй интрон гена <i>nad2</i>				Межгенный спейсер <i>nad1/atp6</i>					
			Число сиквентов	Число и процентное соотношение вариантов в полиморфном сайте				Число сиквентов	Число и процентное соотношение вариантов в полиморфном сайте			
				A	C	T	G		A	C	T	G
1	Селекционные сорта с цитоплазмой W/γ от <i>S. stoloniferum</i> , с тетрадной стерильностью: Amado*, Forelle*, Kuras*, Maxi*, Solara*, Брянский красный, Вектар, Гусар, Евразия, Корона, Москворецкий, Накра, Олимп, Ресурс, Сударыня, Юбилей Жукова	16	33943	32952 (97.08 %)	115 (0.34 %)	700 (2.06 %)	176 (0.52 %)	27413	0	0	27313 (99.63 %)	100 (0.37 %)
2	Селекционные сорта с цитоплазмой W/γ, с фертильной пылью: Бармалей, Фокинский; происхождение неизвестно	2	33642	27 (0.08 %)	33324 (99.05 %)	177 (0.53 %)	114 (0.34 %)	22092	0	0	0	22992 (100 %)
3	Селекционные клоны с цитоплазмой W/γ от <i>S. guerreroense</i> , с тетрадной стерильностью (Зотеева и др., 2017)	10	37007	35877 (96.95 %)	113 (0.30 %)	888 (2.40 %)	129 (0.35 %)	4112	0	0	4094 (99.56 %)	18 (0.44 %)

* Полученные нами данные о типе цитоплазмы W/γ и тетрадной стерильности пыльцы пяти зарубежных сортов подтвердили результаты, опубликованные ранее в работе (Song, Schwarzfischer, 2008).

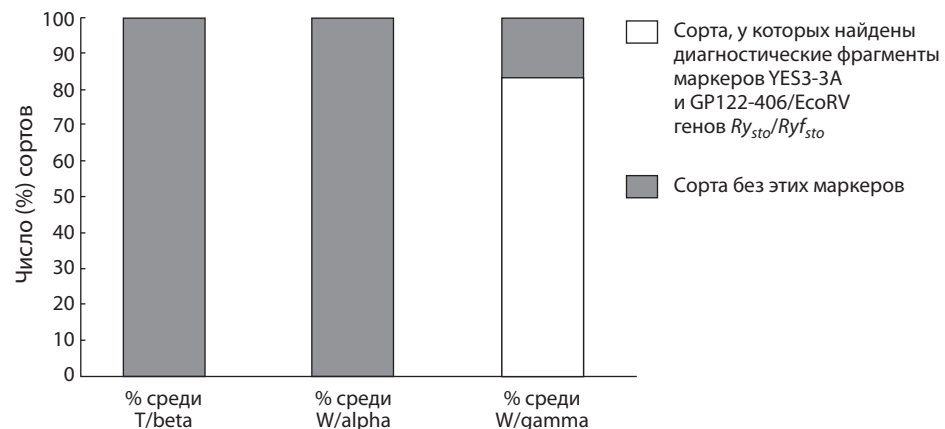
Приложение 8. Частота встречаемости разных типов цитоплазм у отечественных сортов, созданных в разные периоды



Приложение 9. Встречаемость маркеров R1_1400 и/или R3a_982 генов *R1* и *R3a*, интрогрессированных от *S. demissum*, у сортов с разными типами цитоплазм



Приложение 10. Встречаемость маркеров YES3-3A и GP122-406/EcoRV генов *Ry_{sto}*/*Ryf_{sto}*, интрогрессированных от *S. stoloniferum*, у сортов с разными типами цитоплазм (на основании результатов молекулярного скрининга *R*-генов (Antonova et al., 2018))



Приложения 9, 10 – расширенная выборка сортов (см. Приложение 1).