

АГРОНОМИЯ, ЛЕСНОЕ И ВОДНОЕ ХОЗЯЙСТВО

AGRONOMY, FORESTY AND WATER MANAGEMENT

Научная статья

УДК 635.21:578.2:579.64

doi: 10.55196/2411-3492-2022-2-36-5-14

**ПЦР-диагностика возбудителей болезней сортов картофеля
(*Solanum tuberosum*)****Александр Евгеньевич Калашников^{✉1,2}, Яна Александровна Кабицкая¹**¹Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, ул. Ленина, 13, п. Лесные поляны, Пушкинский район, Московская область, Россия, 141212²Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н. П. Лаверова Уральского отделения РАН, Набережная Северной Двины, 23, г. Архангельск, Россия, 163069^{✉1,2} aekalashnikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1600-7357>¹ kabitskaya@gausz.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5943-2535>

Аннотация. При создании технологических схем оздоровления картофеля в настоящее время активно применяются методы ПЦР, в частности, амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и «по конечной точке». В настоящей работе применены оба эти метода и проведена диагностика разводимых сортов и линий картофеля на присутствие вирусных патогенов (A, M, S, X, Y), андийского вируса крапчатости и латентного тимовируса картофеля (APMV, APLV), вириона веретенновидности клубней (PSTVd), а также вируса метельчатости верхушки картофеля (PMTV). Проведен анализ на наличие паразитарных заболеваний бледной (*Globodera pallida*) и золотистой цистообразующей нематод (*Globodera rostochiensis*), бактериальных кольцевой и бурой гнили (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* и *Ralstonia solanacearum* соответственно), а также грибного рака (*Synchytrium endobioticum*). В результате ПЦР-анализа паразитарных, грибных и бактериальных заболеваний обнаружено не было. От общего количества образцов 44% были здоровыми от вирусных заболеваний, в то время как 25% были изначально инфицированы и для них были проведены операции оздоровления. Система ПЦР-диагностики впервые внедрена в технологические процессы получения сортовых агрокультур Тюменской области, свободных от носительства заболеваний для адаптации к условиям выращивания на территории Западной Сибири.

Ключевые слова: патоген, сорт, вирусы, материал, потеря урожая, ПЦР, биотехнологии, меристемы, оздоровление, клонирование

Для цитирования. Калашников А. Е., Кабицкая Я. А. ПЦР-диагностика возбудителей болезней сортов картофеля (*Solanum tuberosum*) // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В. М. Кокова. 2022. № 2(36). С. 5–14. doi: 10.55196/2411-3492-2022-2-36-5-14

Original article

PCR diagnostics of pathogens of potato varieties (*Solanum tuberosum*)

Alexander E. Kalashnikov^{✉1,2}, Yana A. Kabitskaya¹

¹All-Russian Research Institute of Breeding Ministry of Agriculture of the Russian Federation, 13 Lenin street, Lesnye Polyany settlement, Pushkinsky district, Moscow region, Russia, 141212

²Federal Research Center for Comprehensive Study of the Arctic named after Academician N.P. Laverov, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 23 Severnaya Dvina Embankment, Arkhangelsk, Russia, 163069

✉¹aekalashnikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1600-7357>

¹kabitskaya@gausz.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5943-2535>

Abstract. When creating technological schemes for the improvement of potatoes, PCR methods are currently actively used, in particular, amplification with hybridization-fluorescence detection in the "real time" and "end point" modes. In this work, both of these methods were applied and the diagnostics of cultivated potato varieties and lines for the presence of viral pathogens A, M, S, X, Y, Andean mottle viruses and latent potato thymovirus (APMV, APLV), as well as tuber spindle viroid (PSTVd) and potato panicle top virus (PMTV) was carried out. The analysis for the presence of parasitic diseases of pale *Globodera pallida* and golden cyst nematodes *Globodera rostochiensis*, bacterial ring and brown rot *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* and *Ralstonia solanacearum*, as well as fungal cancer *Synchytrium endobioticum*. As a result of PCR analysis, parasitic, fungal and bacterial diseases were not detected 44% of the total number of samples were healthy from viral diseases, while 25% were initially infected and underwent sanitation operations. For the first time, the PCR diagnostic system was introduced into the technological processes for obtaining varietal crops of the Tyumen region, free from diseases, to adapt to growing conditions in Western Siberia.

Keywords: pathogen, variety, viruses, material, crop loss, PCR, biotechnology, meristems, recovery, cloning

For citation. Kalashnikov A.E., Kabitskaya Y.A. PCR diagnostics of pathogens of potato varieties (*Solanum tuberosum*). *Izvestiya of the Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov.* 2022;2(36):5–14. (In Russ.). doi: 10.55196/2411-3492-2022-2-36-5-14

Введение. Современный картофель (*S. tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) представляет собой тетраплоид, полученный путем продолжительной селекции интродуцированного культивируемого картофеля *Andigena* (*S. tuberosum* ssp. *Andigena*) [1, 2]. Сегодня важно решение проблемы прогрессирующей дегенерации культуры картофеля, которая выражается в значительном снижении его урожайности, качества и сроков хранения, в том числе из-за инфекций [3, 4]. Наиболее опасными вирусами в настоящее время являются *PLRV* и *PVY* (*Potato leafroll virus*, вирус скручивания листьев, *Potato virus Y* – *Y* вирус картофеля, соответственно) [5]. При помощи микросателлитного анализа сейчас можно проводить генетическую идентификацию сортов карто-

феля, селекционных линий [5, 6], а молекулярной диагностикой выявлять патогены: вирусные, бактериальные, грибковые и паразитарные заболевания в лабораторных, селекционных и полевых работах [7–9].

В сельском хозяйстве биотехнология выращивания картофеля рассматривается не только в рамках производства культуры клеток и тканей растений, микроклональном размножении растений [8], но и в методах идентификации и ПЦР [10–12]. При работе с первичными меристемами применение биотехнологий позволяет сократить цикл оздоровления сортов картофеля и наладить технологический процесс распространения элитных сортов без использования опытных полей и теплиц [13].

Молекулярная диагностика является неотъемлемой частью схемы стерилизации и очистки культивируемых образцов от патогенов, полученных при их приобретении или в ходе экспериментальных работ, при выращивании первичных апикальных меристем при черенковании [14–16].

Для расширения доли страны в мировом картофелеводстве необходимо улучшать агротехнику, проводить селекцию новых сортов и улучшать посевной материал. При этом болезни наносят значительный вред картофелеводству. Наличие одного вируса, вызывающего мозаичность листьев картофеля, снижает урожай на 15-17%. Когда их несколько, потери урожая доходят до 30% и более, вирусы снижают выход полноценных клубней при хранении на 4-5%, а семенной продукции на 45% [17, 18].

У значительной части заражённых растений болезнь вирусного происхождения клинически не проявляется, а способность вирусов передаваться через клубни в репродукции обуславливает накопление и сохранение инфекций. Наиболее опасными с точки зрения нанесения экономического ущерба считаются вирусы: *PLRV*, *PVY*, *PVX* и *PSTVd* [9, 19]. Не менее важным, чем вирусные заболевания, является акцент на диагностике бактериальных заболеваний, таких как кольцевая гниль *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* и бурая гниль *Ralstonia solanacearum*, а также грибной болезни – рака картофеля *Synchytrium endobioticum* [3].

Первичные меристемы использованы при проведении экспериментов клонирования линий и сортов при помощи методов биотехнологии и клеточной инженерии [14, 18]. В последние годы разработаны и применяются в практике специальные биотехнологические методы оздоровления растений картофеля от носительства наиболее распространённых патогенов. Эффективным способом является введение картофеля в стерильную культуру с использованием апикальной меристемы в сочетании с термической обработкой при активном применении методов молекулярной диагностики [10, 17, 20, 21].

Традиционно процесс культивации меристемных культур начинали с того, что в стерильных условиях выделяют апексы ростков картофеля. Для получения лучших результатов клубнеобразования использовали стеблевой черенок из апикальной части. Апексы высаживали и культивировали на питательных средах Мурасиге и Скуга для регенерации исходных растений [8, 11, 13, 22]. После повторной проверки клонов при помощи ПЦР выделяли и черенковали уже только «чистые», выращивая их в культуре *in vitro* в необходимом количестве. По достижении растениями в пробирке высоты 10-12 см (7-8 междоузлий) их высаживали в аэропонную установку. Таким образом ПЦР помогала в стерилизации сортов [4, 23–25].

Молекулярная диагностика является неотъемлемой частью схемы стерилизации и очистки культивируемых образцов от патогенов, полученных при их приобретении или в ходе экспериментальных работ при выращивании первичных апикальных меристем во время черенкования [14, 15]. Для выявления фитопатогенов картофеля могут применяться методы *tr*-ELISA и проточная фотометрия [26], а в рамках работы лаборатории ДНК-технологий – технология ПЦР. В частности, при исследованиях использовались методы ПЦР-FLASH, ПЦР (ОТ-ПЦР, РТ-ПЦР) (детекция с гибридизацией флуоресцентных зондов в режиме «конечной точки» и в «реальном времени»).

Целью работы являлось проведение диагностики при помощи молекулярных методов элитных сортов картофеля на наличие бактериальных, грибковых, паразитарных и вирусных патогенов.

Финансирование проекта было обеспечено благодаря договору двустороннего сотрудничества ФГБОУ ВО ГАУСЗ и ФГБНУ ВНИИплем.

Материалы и методы исследований. Биологическим материалом для исследований являлись листья побегов распространённых сортов картофеля ($n = 3$ ($N = 99$ в репликах)), любезно предоставленных для тестирования в рамках оздоровления культур, используемых в центре биотехнологии и клонирования растений ФГБОУ ВО ГАУСЗ (табл. 1).

Таблица 1. Биологические образцы сортов картофеля
Table 1. The biological samples of potato cultivars

Обозначение образца	Наименование сорта	Правообладатель	Год включения сортов в Госреестр
Раннеспелые сорта			
P-1	Гала	Norika Nordring (Германия)	2008
P-2	Чароит	Ленинградский НИИСХ Белогорка	2014
P-3	Антонина	ВНИИКХ им. А. Г. Лорха	2005
P-4	Люкс	УНИИСХ	2016
P-5	Юбиляр	СибНИИСХиТ	2009
P-6	Жуковский ранний	ВНИИКХ им. А. Г. Лорха	1993
РС-1	Аляска	УНИИСХ	2020
РС-2	Ильинский	ВНИИКХ им. А. Г. Лорха	1999
РС-3	Саровский	СибНИИСХиТ	2014
РС-4	Регги	ТатНИИСХ	2016
РС-5	Пушкинец	Санкт-Петербургский ГАУ	1993
РС-6	Любава	Кемеровский НИИСХ	2003
Среднеранние сорта			
СР-1	Сантэ	AGRICO U.A.	1993
СР-2	Памяти Рогачева	СибНИИСХ	2006
СР-3	Невский	Ленинградский НИИ сельского хозяйства	1982
СР-4	Лина	СибНИИСХ	1998
СР-5	Сафо	СибНИИСХ	2009
СР-6	Кузнечанка	Кемеровский НИИСХ	2020
СР-7	Накра	ГНУ Кемеровский НИИСХ	2000
СР-8	Сударыня	Ленинградский НИИ сельского хозяйства	-
СР-9	Амур	ФГБНУ Уральский НИИСХ	2015
СР-10	Браво	ФГБНУ Уральский НИИСХ	2015
СР-11	Андретта	NORIKA NORDRING (Германия)	1980
СР-12	Ред Скарлетт	AGRICO U.A. (Нидерланды)	2000
СР-13	Тулеевский	Кемеровский НИИСХ	2007
СР-15	Евразия	Ленинградский НИИСХ	2017
Среднеспелые сорта			
СС-1	Гусар	ООО СФ Лига	2017
СС-2	Старт	ООО СФ Лига	2020
СС-3	Хозяюшка	СибНИИСХ	2009
СС-4	Фиолетовый	ВНИИКХ	2020
СС-5	Терра	Уральский НИИСХ	2020
СС-6	Солнечный	СибНИИСХ, ВНИИКХ	2006
Среднепоздний сорт			
СП-1	Родео	HZPC Holland B.V. (Нидерланды)	нет

Биологические образцы весом 0,1-0,3 г отделяли и замораживали на 15 мин. При -80°C, растирали пластмассовым пестиком с небольшим количеством лизирующего буфера до максимально гомогенной консистенции. ДНК из биологических образцов выделяли при помощи коммерческих набо-

ров Экстран-3 и Сорб ГМО-Б (с ЦТАБ) (Синтол, Россия). Из биологических образцов картофеля также была выделена РНК возбудителей. Смесь РНК/ДНК экстрагировали при помощи наборов Рибо-сорб (ЦНИИ эпидемиологии и) и РНК-Эстран (Синтол, Россия) с увеличением длительности стадии

первичного лизиса с протеиназой К до 2 ч. Реакцию обратной транскрипции проводили с применением случайных 6-ти членных олигонуклеотидов и обратной транскриптазы MMLV (Синтол, Россия).

Перечень выявляемых патогенов был разработан с соответствии с доступными наборами для тестирования, производимыми коммерчески: для выявления РНК-содержащих геномов патогенов применяли наборы для амплификации компании Синтол и Агродиагностика (Россия): *PVA* (А потивирис), *PVM* (М кардавирис), *PVS* (S вирус), *PVX* (X потексвирус), *PVY* (Y потивирис), *PSTVd* (вириод веретенообразности (spindle tuber viroid), *PMTV* (вирус метельчатости верхушек), *APLV* (андийский латентный тимовирус), *ARMV* (андийский вирус крапчатости), ДНК бактериальных инфекций: кольцевой гнили *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (сокр. CMS) и бурой гнили *Ralstonia solanacearum* (RAL), и ДНК гриба рака *Synchytrium endobioticum* (SYN), паразитарных ДНК: бледной *Globodera pallida* (GP) и золотистой цистообразующей нематод *Globodera rostochiensis* (GR).

Амплификацию по методам ОТ-ПЦР (ПЦР со стадией обратной транскрипции), РТ-ПЦР (ПЦР в режиме «реального времени») проводили в репликах (3-кратном повторе) согласно протоколам на амплификаторе Quadro-2 (Bio-Rad, США) с последующей детекцией на Gene-4 (ДНК-Технологии, Россия). Протокол для амплификации с детекцией в режиме «конечной точки»: для выявления бактерий, грибов, нематод: 94°C 3 мин, далее {94°C 1 мин 30 с, 67 °C 15 с} 5 циклов и {94°C 5 с, 62°C 15 с} 40 циклов; а вирусов и вириодов: 94°C 3 мин {94°C 3 мин, 61°C 5 с, 62°C 10 с} 5 циклов {94°C 15 с, 60°C 10 с, 61°C 45 с} 40 циклов, для амплификации с детекцией по конечной точке на Q5 (Thermo-Fisher, США): 94°C 1 мин 30 с {94°C 20 с, 61°C 5 с, 62°C 10 с} 5 циклов {94°C 1 мин, 54°C 5 с, 60°C 5 с} 40 циклов [17, 26].

Данные экспериментов были получены с применением контрольных образцов (ПКО, ОКО и ВКО). Статистическая обработка данных проведена в соответствии с инструк-

цией производителя диагностикумов в операционной среде unix ubuntu 20.04¹ и программной среде R (CRAN Task View: Official Statistics & Survey Statistics², в визуализаторе R-studio³.

Результаты и обсуждение. ПЦР-диагностика проводилась в соответствии с инструкцией производителя наборов для тестирования. В случае, когда применялась FLASH-детекция (по конечной точке на приборе Gene-4), то наблюдаемый сигнал по каналу FAM детектировался в карусельном детекторе Gene и, в случае, если он превышал стандартное пороговое значение по умолчанию, – фиксировался как положительный ответ. Например, (для теста PVY), в одной из серий образцов, (а они ставились в трехкратном повторе), фоновый сигнал в среднем составлял 0,848-1,152±0,050, ПКО 11,930±0,075, а порог при этом был выставлен ПО прибора величиной 2,1. Флуоресценция ОКО должна была, соответственно, не превышать пороговое значение.

В случае выявления возбудителей на приборе Q5 в режиме «реального времени» оценивалась форма кривых флуоресценции. Если кривые были S-образные с выходом на плато, это означало, что амплификация проходила в полной мере, что контролировалось флуоресценцией ПКО. Также важно, чтобы величина флуоресценции при амплификации превысила пороговый уровень в диапазоне пороговых циклов от 15 до 25. Порог выбирался ПО прибора автоматически, в зависимости от наклона фоновой кривой с 5 цикла по 10 цикл. Например, для ПКО APLV (реакция ПЦР с обратной транскрипцией) сигнал в серии эксперимента был в среднем 24,910±0,455 пороговых циклов, ОКО выходил отрицательным, не превышая порог, а сигнал положительной детекции был 15,125±0,570, и он был засчитан в результатах анализа.

Чистыми от возбудителей оказались образцы (n=33): 48,4% от всего количества тестируемых образцов): раннеспелых сортов Р-3-6, С-5, РС-6) (n=7, 21,2% от общего числа образцов);

¹ <https://ubuntu.com/>

² <https://cran.r-project.org/>

³ <https://www.rstudio.com/products/rstudio/>

среднеранних сортов СР-9-14 (n=5, 15,1%);
среднеспелых сортов СС-3-6 (n=4, 12,1%).

Выявлены вирусные возбудители PVM,
PVS, PVX, PVY в ряде образцов с общей частотой 25% для раннеспелых сортов (n=5,

15,5%), среднеранних (n=10, 30,3%), средне-
спелых (n=2, 6,0%) и среднепоздних (n=3,
9,1%) сортов. Возбудители PVA, APLV,
APMV, PSTVd, PMTV, PLV не были обнару-
жены ни в каких образцах (табл. 2).

Таблица 2. Результаты диагностики патогенов при помощи ПЦР (end-point), и ПЦР-ОТ (RT)
Table 2. The results of pathogen diagnostics using PCR (end-point), and PCR-RT (realtime+reverse)

Обра- зец	PVA	PVM	PVS	PVX	PVY	PLV	PMTV	PSTVd	APMV	APLV	GP	GR	CMS	RAL	SYN	Actin карто- феля
Тип	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	РНК	РНК	РНК	РНК	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	РНК	ДНК
Р-1		1		1												1a
Р-2																1a
Р-3																1a
Р-4																1a
Р-5																1a
Р-6																1a
РС-1		1														1a
РС-2		1														1a
РС-3				1												1a
РС-4		1														1a
РС-5																1a
РС-6																1a
СП-1		1														1a
СР-1		1														1a
СР-10																1a
СР-11																1a
СР-12																1a
СР-13																1a
СР-15																1a
СР-2				1												1a
СР-3		1														1a
СР-4		1														1a
СР-5				1												1a
СР-6		1	1													1a
СР-7					1											1a
СР-8		1														1a
СР-9																1a
СС-1		1														1a
СС-2		1														1a
СС-3																1a
СС-4																1a
СС-5																1a
СС-6																1a

Примечание: 1 – выявлен патоген; не указано – не обнаружен патоген; 1a – амплификация контрольного гена.

Проведена ПЦР-диагностика наличия бактериальных патогенов. Показано, что в исследуемых образцах не были выявлены паразитарные инфекции GP и GR. Не было

выявлено и бактериальных инфекций CMS, RAL и грибных SYN.

Заключение. Проанализированы образцы листьев раннеспелых, среднеранних, средне-спелых и среднепоздних семенных сортов картофеля, из которых чистыми по отношению к бактериальным, паразитарным и грибковым патогенам оказались все исследуемые сорта. По отношению к патогенам оказались не инфицированными 48,4% сортов, в то время как выявлено носителей (для раннеспелых, среднеранних и среднеспелых сортов: 3,0, 12,1, 6,0 и 9,1% от общего количества, соответственно).

Производство и сертификация семенного картофеля требуют полного отсутствия ви-

русов и патогенов в исходном материале растений-резерватов и, по возможности, поддержания безвирусного статуса растений при их размножении. Применение метода ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и по «конечной точке» позволяет проводить анализ меристем в процессе клонирования и выявлять вириодные и бактериальные патогены в разводимых линиях при получении микроклубней. Получение оздоровленного материала микроклонов картофеля позволит в дальнейшем вести линии сортов для сортоиспытания, обладающих хорошей продуктивностью, однородностью материала и отсутствием болезней.

Список литературы

1. Беспалова Е. С., Воропаева Е. В. История и достижения отечественной селекции // XXII Царскосельские чтения: материалы международной научной конференции, Санкт-Петербургский государственный университет им. А. С. Пушкина. 2018. С. 145–147.
2. Басиев С. С., Бекузарова С. А., Болиева З. А. и др. История культуры картофеля // Вестник Владикавказского научного центра РАН. 2017. Т. 17. № 1. С. 39–45.
3. Логинов Ю. П., Казак А. А., Якубышина Л. И. Картофелеводство Сибири – надёжный резерв продовольственной безопасности страны // В сборнике «Инновации в технологиях возделывания сельскохозяйственных культур»: материалы Всероссийской научно-практической конференции. 2017. С. 192–197.
4. Макарова С. С., Макаров В. В., Тальянский М. Э. и др. Устойчивость картофеля к вирусам: современное состояние и перспективы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. №1. С. 62–73. DOI: 10.18699/VJ17.224
5. Трифонова Е. А., Никитин Н. А., Архипенко М. В. и др. Сравнительное изучение термической перестройки вирусов с икосаэдрическим и спиральным типом симметрии // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2017. Т. 72. № 4. С. 209–214.
6. Тараканец Л. Д., Кабицкая Я. А., Глазунова Л. А. Возможности использования геномных технологий в ветеринарии // Сборник материалов LIV Студенческой научно-практической конференции «Актуальные вопросы науки и хозяйства. Новые вызовы и решения». Тюмень. 2020. С. 24–31.
7. Шнейдер Ю. А., Приходько Ю. Н., Каримова Е. В. Разработка методов диагностики вируса мотельчатости верхушки картофеля и вируса желтой карликовости картофеля в Российской Федерации // Современные подходы и методы в защите растений: материалы II Международной научно-практической конференции. Екатеринбург. 2020. С. 118–119.
8. Яловик А. В., Федорова Ю. Н. Вопросы оздоровления картофеля от вирусов // Проблемы инновационного развития АПК: материалы международной научно-практической конференции. Великие Луки. 2017. С. 34–37.
9. Aguilar E., Almendral D., Allende L. [et al]. The P25 Protein of Potato Virus X (PVX) Is the Main Pathogenicity Determinant Responsible for Systemic Necrosis in PVX-Associated Synergisms // Journal Virology. 2015. V. 89(18). Pp. 96–99.
10. Григорян М. А., Ткаченко О. В. Опыт определения вирусов картофеля методом ПЦР в реальном времени // Сборник статей международной конференции. Саратов: Амирит. 2017. С. 54–57.
11. Никаноркина В. В. Определение штаммового разнообразия вируса у картофеля в РФ с помощью мультиплексного ПЦР // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии. 2018. С. 115–116.

12. Тихомирова М. А., Шнейдер Ю. А. Разработка методов диагностики американских вирусов картофеля, создающих опасность для картофелеводства Российской Федерации // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты. 2018. С. 232–234.
13. Климина Е. В., Галикеева Г. Ф. Идентификация вирусов у растений картофеля методом ПЦР // Вестник науки. 2019. Т. 3. № 2(11). С. 95–100.
14. Нуриддинов Я. А., Тоболова Г. В. Микрклональное размножение картофеля. Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения // Сборник материалов ЛП Международной студенческой научно-практической Конференции ГАУ Северного Зауралья. Часть 1. Тюмень. 2018. С. 150–153.
15. Ступин А. С. Регуляторы роста растений. Стимуляторы и ингибиторы. Потенциал науки и современного образования в решении приоритетных задач АПК и лесного хозяйства // Материалы юбилейной национальной научно-практической конференции. 2019. С. 288–293.
16. Senanayake D.M., Mandal B. Expression of symptoms, viral coat protein and silencing suppressor gene during mixed infection of a N-Wi strain of potato virus Y and an asymptomatic strain of potato virus X // Virus disease. 2014. V. 25(3). Pp. 314–321. DOI: 10.1007/s13337-014-0204-1.
17. Кондакова О. А., Бутенко К. О., Скурат Е. В. и др. Молекулярная диагностика инфекций Y-вирусом и вирусом скручивания листьев картофеля методом иммунохроматографии // Вестник московского университета. Серия 16. Биология. 2016. № 1. С. 46–51.
18. Калашникова Е. В. Клеточная инженерия растений: учебник и практикум для ВУЗов, изд. 2-е. 2020. С. 182–189.
19. Gray S., De Boer S., Lorenzen J. [et al]. Potato virus Y: An Evolving Concern for Potato Crops in the United States and Canada. *Plant Disease*. 2010. V. 94(12). Pp. 1384–1397.
20. Анисимов Б. В. Фитопатогенные вирусы и их контроль в семеноводстве картофеля (практическое руководство). Москва: Росинформагротех. 2004. 80 с.
21. Анисимов Б. В., Белов Г. Л., Варицев Ю. А. и др. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Москва: Картофелевод. 2009. 272 с.
22. Ухатова Ю. В. Совершенствование методов криоконсервации и оздоровления от вирусных болезней образцов вегетативно размножаемых культур: дис. ... канд. биол. наук. 2020. 133 с.
23. Latvala-Kilby S., Aura J.M., Pupola N. [et al.]. Detection of potato mop-top virus in potato tubers and sprouts: combinations of RNA2 and RNA3 variants and incidence of symptomless infections // *Phytopathology*. 2009. V. 99(5). Pp. 519–531.
24. Lico C., Benvenuto E., Baschieri S. The Two-Faced Potato Virus X: From Plant Pathogen to Smart Nanoparticle // *Front Plant Science*. 2015. V. 17. P. 1009.
25. UNECE Standard S-1, Concerning the marketing and commercial quality control of seed potatoes. UNITED NATIONS. New York and Geneva. 2013. 41 p.
26. Файзиев В. Б., Жавлиева Д. Т., Жураева У. М. и др. Изучение распространения и определения растений-резервуаров X и L вирусов картофеля методом иммуноферментного анализа // Научное обозрение. Биологические науки. 2019. № 2. 79–86.

References

1. Bespalova E.S., Voropaeva E.V. History and achievements of domestic selection. *XXII Carskosel'skie chteniya. Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii, Sankt-peterburgskij gosudarstvennyj universitet im. A.S. Pushkina* [XXII Tsarskoye Selo Readings: Proceedings of the International Scientific Conference, St. Petersburg State University]. 2018. Pp. 145–147. (In Russ.)
2. Basiev S.S., Bekuzarova S.A., Bolieva Z.A. [et al.] The history of potato crops. *Vestnik of Vladikavkaz Scientific Centre RAS*. 2017;17(1):39–45. (In Russ.)
3. Loginov Yu.P., Kazak A.A., Yakubyshina L.I. Potato growing in Siberia is a reliable reserve of the country's food security. *V sbornike: Innovacii v tekhnologiyah vozdeleyvaniya sel'skohozyajstvennyh kul'tur. Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii* [In the collection: Innovations in crop cultivation technologies: materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference]. 2017. Pp. 192–197. (In Russ.)
4. Makarova S.S., Makarov V.V., Taliansky M.E. [et al.] Resistance to viruses of potato: current status and prospects. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):62–73. (In Russ.)
5. Trifonova E.A., Nikitin N.A. [et al.] Comparative study of the thermal remodelling of viruses with icosahedral and helical symmetry. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2017;72(4):209–214. (In Russ.)

6. Tarakanec L.D., Kabickaya Ya.A., Glazunova L.A. Possibilities of using genomic technologies in veterinary medicine. *Sbornik materialov LIV Studencheskoj nauchno-prakticheskoy konferencii. Aktual'nye voprosy nauki i hozyajstva. Novye vyzovy i resheniya* [Collection of materials LIV Student scientific-practical conference. Topical issues of science and economy. New challenges and solutions.]. Tyumen'. 2020. Pp. 24–31. (In Russ.)
7. Shneider Yu.A., Prihodko Yu.N., Karimova E.V. Development of diagnostic methods for potato panicle virus and potato yellow dwarf virus in the Russian Federation – Modern approaches and methods in plant protection. *Materialy II Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii* [Materials of the II International Scientific and Practical Conference]. Ekaterinburg. 2020. Pp. 118–119. (In Russ.)
8. Yalovik A.V., Fedorova Yu.N. Questions of healing potatoes from viruses. *Problemy innovacionnogo razvitiya APK: materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii* [Problems of innovative development of the agro-industrial complex: materials of the international scientific and practical conference]. Veli-kie Luki. 2017. Pp. 34–37. (In Russ.)
9. Aguilar E., Almendral D., Allende L. [et al.] The P25 Protein of Potato Virus X (PVX) Is the Main Pathogenicity Determinant Responsible for Systemic Necrosis in PVX-Associated Synergisms. *J. Virology*. 2015;89(18):96–99.
10. Grigoryan M.A., Tkachenko O.V. Experience in the detection of potato viruses by real-time PCR. *Sbornik statej mezhdunarodnoj konferencii* [Collection of articles of the international conference]. Saratov: Amirit. 2017. Pp. 54–57. (In Russ.)
11. Nikanorkina V.V. Determination of strain diversity of potato y virus in the Russian Federation using multiplex PCR. *Biotekhnologiya v rastenievodstve, zhivotnovodstve i veterinarii* [Biotechnology in crop production, animal husbandry and veterinary medicine]: conference proceedings. 2018. Pp. 115–116. (In Russ.)
12. Tikhomirova M.A., Shneider Yu.A. Development of methods for diagnosing American potato viruses that pose a danger to potato growing in the Russian Federation. *Aktual'nye problemy kartofelevodstva: fundamental'nye i prikladnye aspekty* [Actual problems of potato growing: fundamental and applied aspects]: conference proceedings. 2018. Pp. 232–234. (In Russ.)
13. Klimina E.V., Galikeeva G.F. Identification of viruses in potato plants by PCR. *Bulletin of science*. 2019;3(2):95–100. (In Russ.)
14. Nuriddinov Ya.A., Tobolova G.V. Micropropagation of potatoes. Topical issues of science and economy: new challenges and solutions. *Sbornik materialov LII Mezhdunarodnoj studencheskoj nauchno-prakticheskoy Konferencii GAU Severnogo Zaural'ya*. [Collection of materials of the LII International Student Scientific and Practical Conference of the State Agrarian University of the Northern Trans-Urals]. Part 1. Tyumen'. 2018. Pp. 150–153. (In Russ.)
15. Stupin A.S. Plant growth regulators. Stimulants and inhibitors. The potential of science and modern education in solving the priority tasks of the agro-industrial complex and forestry. *Materialy yubilejnoj nacional'noj nauchno-prakticheskoy konferencii* [Materials of the anniversary national scientific and practical conference]. 2019. Pp. 288–293. (In Russ.)
16. Senanayake D.M., Mandal B. Expression of symptoms, viral coat protein and silencing suppressor gene during mixed infection of a N-Wi strain of potato virus Y and an asymptomatic strain of potato virus X. *Virus disease*. 2014;25(3):314–321. doi: 10.1007/s13337-014-0204-1.
17. Kondakova O.A., Butenko K.O., Skurat E.V. [et al.] Molecular diagnostics of potato infections with pvy and plrv by immunochromatography. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2016;(1):46-51. (In Russ.)
18. Kalashnikova E.B. *Kletochnaya inzheneriya rastenij* [Plant cell engineering]: uchebnik i praktikum dlya VUZov. 2020. Pp. 182–189. (In Russ.)
19. Gray S., De Boer S., Lorenzen J. [et al.] Potato virus Y: An Evolving Concern for Potato Crops in the United States and Canada. *Plant Disease*. 2010;94(12):1384–1397.
20. Anisimov B.V. *Fitopatogennye virusy i ih kontrol' v semenovodstve kartofelya (Prakticheskoe rukovodstvo)* [Phytopathogenic viruses and their control in potato seed production (A practical guide)]. Moscow: Rosinformagrotekh. 2004. 80 p. (In Russ.)
21. Anisimov B.V., Belov G.L. *Zashchita kartofelya ot boleznej, vreditelej i sornyakov* [Protecting potatoes from diseases, pests and weeds]. Moscow: Kartofelevod. 2009. 272 p. (In Russ.)
22. Uhatova Yu.V. *Sovershenstvovanie metodov kriokonservacii i ozdorovleniya ot virusnyh boleznej obrazcov vegetativno razmnozhaemyh kul'tur* [Improving the methods of cryopreservation and recovery from viral diseases of samples of vegetatively propagated crops]: dis. ... cand. biol. sciences. 2020. 133 p. (In Russ.)

23. Latvala-Kilby S., Aura J.M., Pupola N. [et al.] Detection of potato mop-top virus in potato tubers and sprouts: combinations of RNA2 and RNA3 variants and incidence of symptomless infections. *Phytopathology*. 2009. V. 99(5):519–531.

24. Lico C., Benvenuto E., Baschieri S. The Two-Faced Potato Virus X: From Plant Pathogen to Smart Nanoparticle. *Front Plant Science*. 2015;17:1009.

25. UNECE Standard S-1, Concerning the marketing and commercial quality control of seed potatoes. UNITED NATIONS. New York and Geneva. 2013. 41 p.

26. Fajziev V.B., Zhavlieva D.T., Zhuraeva U.M. [et al.] Investigation of the distribution and identification of plant-reservers of X and L potato viruses by enzyme-linked immunosorbent assay. *Scientific Review. Biological science*. 2019;(2):79–86. (In Russ.)

Сведения об авторах

Калашников Александр Евгеньевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации; старший научный сотрудник лаборатории растениеводства, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова», SPIN-код: 2087-2029, Author ID: 160570, Scopus ID: 13410341300, Researcher ID: C-7568-2014

Кабитская Яна Александровна – соискатель, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, SPIN-код: 1628-5256, Author ID: 869733, Scopus ID: 57221443777, Researcher ID: AFT-0475-2022

Information about the author

Alexander E. Kalashnikov – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, All-Russian Research Institute of Breeding of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of Plant Growing, Federal Research Center for Comprehensive Study of the Arctic named after Academician N.P. Laverov, SPIN-code: 2087-2029, Author ID: 160570, Scopus ID: 13410341300, Research ID: C-7568-2014

Yana A. Kabitskaya – Applicant, All-Russian Research Institute of Breeding of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation, SPIN-code: 1628-5256, Author ID: 869733, Scopus ID: 57221443777, Research ID: AFT-0475-2022

Авторский вклад. Все авторы принимали непосредственное участие в планировании, выполнении и анализе данного исследования. Все авторы настоящей статьи ознакомились и одобрили представленный окончательный вариант.

Author's contribution. All authors were directly involved into the planning, execution and analysis of this study. All authors of this article have read and approved the submitted final version.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 04.03.2022;
одобрена после рецензирования 31.03.2022;
принята к публикации 05.04.2022.

The article was submitted 04.03.2022;
approved after reviewing 31.03.2022;
accepted for publication 05.04.2022.