Оздоровление сортов картофеля из коллекции ВИР от вирусов

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-164-172
УДК: 635.21: 632.3
Поступление/Received: 19.10.2020
Принято/Accepted: 23.12.2020

Sanitization of potato varieties from the VIR collection against viruses

Е. С. БЕСПАЛОВА*, М. М. АГАХАНОВ, С. Б. АРХИМАНДРИТОВА, М. В. ЕРАСТЕНКОВА, Ю. В. УХАТОВА

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
** e.bespalova@vir.nw.ru*

E. S. BESPALOVA*, M. M. AGAKHANOV, S. B. ARKHIMANDRITOVA, M. V. ERASTENKOVA, YU. V. UKHATOVA

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia
** e.bespalova@vir.nw.ru*

Актуальность. Коллекция картофеля ВИР является одной из старейших и богатейших, однако полевые растения постоянно подвергаются воздействию вирусов, снижающему качество клубней. Проведение тщательного мониторинга фитосанитарного статуса образцов картофеля позволяет подобрать наиболее эффективный метод терапии для последующего оздоровления инфицированных растений и получения качественного посадочного материала. **Материалы и методы.** Проведено тестирование 18 сортов картофеля *Solanum tuberosum* L. из коллекции ВИР на наличие вирусов методами ИХА и RT-ПЦР и оздоровление методами культуры меристем и криотерапии. **Результаты и выводы.** При тестировании на наличие вирусов полевых растений картофеля выявлены наиболее часто встречающиеся вирусы – PVX, PVS и PVA. Вирус PSTVd полностью отсутствовал у всех протестированных образцов. Проведена оценка эффективности оздоровления *in vitro* растений картофеля от вирусов методом культуры меристем. Процент оздоровления составил: PVS – 0%, PVX – 0%, PVA – 33,4%, PLRV – 50%, PVY – 72,3%, PVM – 83,4%. Показано, что оздоровление методом культуры меристем наиболее эффективно в отношении вирусов PVY и PVM. В ходе оценки эффективности посткриогенного восстановления микрорастений картофеля определен уровень посткриогенной регенерации апексов микрорастений картофеля: в среднем по выборке 22,3%. Минимум наблюдали у образца к-16762 'Sagita N' (5%), максимум – у образца к-1375 'Marta' (41,7%). Анализ эффективности оздоровления образцов картофеля от вирусов методом криотерапии *in vitro* показал, что процент оздоровления составил: PVY – 100%, PVA – 100%, PVM – 88,9%, PVS – 77,8%, PVX – 44,4%. Таким образом, методы оздоровления от вирусов – культура апикальных меристем и криотерапия – эффективны в отношении вирусов PVY, PVA, PVM, однако в случае множественной инфекции необходимо комбинировать элементы различных протоколов оздоровления для повышения эффективности процедуры оздоровления.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, криотерапия, диагностика патогенов, фитосанитарное состояние.

Background. VIR's potato collection is one of the oldest and richest; however, it is constantly exposed to viruses that negatively affect useful agronomic properties of tubers. Close monitoring of the phytosanitary state of potato accessions helps to select the most effective method of therapy for subsequent healing of infected plants and obtaining high-quality planting material. **Materials and methods.** The research was aimed at improving the health of 18 varieties of *Solanum tuberosum* L. from the VIR collection. Testing for the presence of viruses was based on the ICA and RT-PCR techniques, and the consequent healing was performed using the methods of meristem culture and cryotherapy. **Results and conclusions.** During the field test of potato plants, PVX, PVS and PVA were found to be the most common viruses. PSTVd was completely absent in all tested accessions. The effectiveness of *in vitro* healing of potato plants from viruses was assesses using meristem culture. The percentage of healed plants was 0% for PVS, 0% for PVX, 33.4% for PVA, 50% for PLRV, 72.3% for PVY, and 83.4% for PVM. Healing with meristem culture was shown to be the most effective against PVY and PVM. While assessing the effectiveness of post-cryogenic restoration of potato microplants, the level of post-cryogenic regeneration of the shoot tips in potato microplants was determined at 22.3% on average for a sample. The minimum was observed in k-16762 'Sagita N' (5%), and the maximum in k-1378 'Marta' (41.7%). Analysis of the effectiveness of potato recovery from viruses by *in vitro* cryotherapy showed that the percentage of recovered plants was 100% for PVY, 100% for PVA, 88.9% for PVM, 77.8% for PVS, 44.4% for PVX. Thus, the techniques of apical meristem culture and cryotherapy proved to be effective against PVY, PVA and PVM viruses. However, in the case of multiple infections, it is necessary to combine elements of different healing protocols to increase the effectiveness of the healing procedure.

Key words: *Solanum tuberosum* L., cryotherapy, diagnostics of pathogens, phytosanitary state.

Введение

Картофель, занимает четвертое место (Genebank Standards…, 2014) в мировом производстве важнейших культур сельского хозяйства после риса, пшеницы и кукурузы. Клубни картофеля очень питательны и содержат в себе практически все необходимые для человека питательные вещества: витамины, каротиноиды, минеральные соединения, крахмал, белок, сахар (Truskinov, 1987; Trofimets,1990).

Во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) сохраняют одну из крупнейших и старейших в мире коллекций образцов картофеля, которая является частью уникальной научной установки «Коллекция генетических ресурсов растений ВИР» (регистрационный номер на портале: 505851; http://ckp-rf.ru/auth/login.php). В состав коллекции картофеля ВИР входят образцы как диких и культурных видов, так и межвидовых гибридов (Rogozina et al., 2018). В коллекции поддерживается около 2500 сортов картофеля отечественной и зарубежной селекции. Картофель является вегетативно размножаемой культурой, поэтому сортовая коллекция поддерживается в виде клонов и ежегодно высаживается в поле для получения свежих репродукций клубней, идентичных материнским и сохраняющих все сортовые признаки.

Известно, что полевые растения постоянно подвержены воздействию экстремальных факторов внешней среды: биотических и абиотических. Большой вред полевым растениям наносят болезни: бактериальные, фитоплазменные, вирусные, вироидные и т. п. Наиболее вредоносными фитопатогенами являются вирусы (Streltsova et al., 2014; Biryukova et al., 2019). Из 40 известных вирусов, поражающих картофель, к наиболее вредоносным относят: Y-вирус картофеля = *Potato virus Y* (YВК, PVY), вирус скручивания листьев картофеля = *Potato leaf roll virus* (ВСЛК, PLRV), X-вирус картофеля = *Potato virus* (ХВК, PVX), S-вирус картофеля = *Potato virus S* (SВК, PVS), M-вирус картофеля = *Potato mop-top virus* (МВК, PVM), A-вирус картофеля = *Potato virus A* (АВК, PVA). На территории России и стран СНГ чаще всего можно встретить такие вирусы, как YВК, ВСЛК, ХВК, SВК, МВК. К главным переносчикам вирусов в полевых условиях относят насекомых (в частности тлей); также вирусы могут передаваться контактным способом (Blotskaya, 1989; Loenbenstein, 2001).

Вироид веретеновидности клубней картофеля = *Potato spindle tuber viroid* (ВВКК, PSTVd) является первым обнаруженным вироидом. PSTVd представляет собой одноцепочечную молекулу РНК длиной 359 нуклеотидов (Drygin et al., 2007). В природе поражает представителей семейства Пасленовые (Solanaceae Juss.), в том числе, картофель и томаты, причем заражение может протекать бессимптомно. При обнаружении вироида необходимо выбраковывать зараженный образец, поскольку до настоящего времени способов оздоровления от PSTVd не существует, а скорость перезаражения здоровых образцов от пораженных вироидом очень высока.

Полевые коллекции картофеля могут накапливать вирусные и вироидные инфекции. Как известно из литературы и практики, под влиянием вирусов и вироида потери урожая картофеля составляют 20–85% (Blotskaya, 1989; Anisimov et al., 2009).

Поэтому возникает необходимость проведения тщательного мониторинга фитосанитарного статуса образцов картофеля, результаты которого позволят подобрать наиболее эффективный метод терапии для последующего оздоровления инфицированных растений.

Для выявления вирусов используют следующие методы тестирования: иммуноферментный анализ (ИФА), иммунохроматографический анализ (ИХА), ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и ПЦР в реальном времени (RT-ПЦР).

В качестве способов оздоровления растений от вирусов используют различные методы терапии: культуры апикальных меристем, термотерапию, химиотерапию, криотерапию, электротерапию, а также комплексную (комбинированную) терапию, включающую комбинацию приемов различных методов.

Цель данной работы – тестирование сортов картофеля *Solanum tuberosum* L. из коллекции ВИР на наличие вирусов PVX, PVY, PVA, PVS, PLRV, PVM и вироида PSTVd и оздоровление от них двумя методами.

Материал и методы

Материалом исследования служили 18 сортов картофеля (‘Кореневский’ к-1057, ‘Приекульский Ранний’, к-1350; ‘Эпрон’, к-1145; ‘Agassiz Special’, к-20; ‘Alpha’, к-19487; ‘Brondeslev’, к-2609; ‘Centifolia’, к-204; ‘Daber’, к-1512; ‘Deodara’, к-1421; ‘Dr. McIntosh’, к-4754; ‘Erntedank’; ‘Irish Cobbler’, к-24157; ‘Marta’, 1375; ‘Oberarnbacher Fruhe’, к-4939; ‘Parnassia’, к-4755; ‘Russet Burbank’, к-24158; ‘Sagita N’, к-16762; ‘Sieglinde’, к-22140) европейской селекции XX века из коллекции ВИР, полученные в виде клубней с Полярной опытной станции – филиала ВИР (г. Апатиты). В работе были использованы полевые растения и растения *in vitro*.

Введение в культуру in vitro. Микроразмножение проводили в соответствии с методическими указаниями (Dunaeva et al., 2017). Введенные в культуру *in vitro* микрорастения выращивали в течение двух месяцев на питательной среде MS с содержанием сахарозы – 20 г/л, БАП – 1 мг/л, агар – 6 г/л. Затем микрорастения пересаживали на питательную среду ½ MS с содержанием сахарозы – 30 г/л, агара – 6 г/л на три месяца для накопления в них достаточной концентрации вирусов. Культивирование проводили в условиях световой комнаты при температуре 20°С и 16-часовом фотопериоде (16 ч день / 8 ч ночь).

Тестирование на наличие вирусов методом ИХА. Буфер для ИХА выдерживали при комнатной температуре (18–25°С) в течение 30 минут. Затем буфер переносили из пробирок в специальные зип-пакеты, которые входят в набор для приготовления экстрактов. Вычлененный образец помещали в зип-пакет с буфером и закрывали. Образец измельчали в буфере для смешивания сока растения и буфера (смешивали до максимально возможной однородности).

В пробирку из-под буфера переносили по 0,5 мл полученного экстракта, после чего в него на 1,5–2,0 минуты вертикально погружали тест-полоски (производства фирмы Bioreba), а затем извлекали их из экстракта и помещали на ровную горизонтальную поверхность. Через 10 минут оценивали результат. При положительном результате проявлялись две полоски, свидетельствующие о наличии вируса в пробе. На тех пробах, на

которых проявлялась только одна полоска, вирусов не было.

Работа была проведена на базе ЦКП «Лаборатории оздоровления генофонда растений» ВИР.

Для тестирования на наличие вирусов использовали метод Real-time PCR и ИХА. Выделение нуклеиновых кислот осуществляли с использованием набора реактивов фирмы «Синтол» (SINTOL..., 2020). Амплификацию проводили в 6-канальном термоциклере Real-time CFX96 (BioRad) в соответствии с протоколом компании-поставщика с учетом качества и количества выделенной РНК для каждого образца отдельно.

В качестве оздоровления были выбраны два метода – культура апикальных меристем и криотерапия. Криотерапию проводили с использованием модифицированного метода дроплет-витрификации (Ukhatova et al., 2017; Gavrilenko et al., 2019; Bespalova et al., 2019). Работа была выполнена в трех биологических повторностях на 18 образцах. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Excel 2016.

Результаты

Оздоровление с использованием метода культуры меристем

Проводили тестирование на вирусы методом Real-time PCR до и после введения материала в культуру *in vitro*: брали проростки клубней и микрорастения в возрасте трех месяцев.

В работе тестировали полевые растения и растения *in vitro* образцов картофеля на наличие вирусов PVX, PVY, PLRV, PVM, PVA, PVS и PSTVd (табл. 1).

Исходя из результатов тестирования 18 полевых образцов было установлено, что наиболее встречаемыми вирусами являются: PVX (100%), PVS (100%) и PVA (88,8%) (рис. 1).

В свою очередь у растений *in vitro* также наблюдали высокую встречаемость вирусов PVX (100%), PVS (100%) и PVA (66,6%) (рис. 2). Результаты, полученные при тестировании методами RT-PCR и ИХА, полностью совпали, что свидетельствует об их высокой эффективности.

Таблица 1. Тестирование образцов картофеля в поле и *in vitro* на наличие вирусов

Table 1. Testing of potato accessions for viruses in the field and *in vitro*

Название	№ по каталогу	Тип пробы РНК	Наличие вирусов						
			X	Y	L	M	A	S	Vd
Кореневский	1057	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	–	–	–	–	+	–
Приекульский Ранний	1350	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	–	–	–	+	+	–
Эпрон	1145	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	+	–	–	+	+	–
Agassiz Special	20	*in vitro*	+	–	–	–	–	+	–
		полевой	+	–	+	–	+	+	–
Alpha	19487	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	–	–	–	+	+	–
Brondeslev	2609	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	+	+	–	+	+	–
Centifolia	204	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	+	–	–	+	+	–
Daber	1512	*in vitro*	+	–	–	–	–	+	–
		полевой	+	+	–	–	–	+	–
Deodara	1421	*in vitro*	+	–	+	+	+	+	–
		полевой	+	–	+	+	+	+	–

Таблица 1. Окончание

Table 1. The end

Название	№ по каталогу	Тип пробы РНК	Наличие вирусов						
			X	Y	L	M	A	S	Vd
Dr. McIntosh	4754	*in vitro*	+	–	+	+	+	+	–
		полевой	+	–	+	+	+	+	–
Erntedank	–	*in vitro*	+	–	+	+	+	+	–
		полевой	+	+	+	–	+	+	–
Irish Cobbler	24157	*in vitro*	+	–	–	–	+	+	–
		полевой	+	–	+	–	+	+	–
Marta	1375	*in vitro*	+	–	+	–	+	+	–
		полевой	+	–	+	+	+	+	–
Oberarnbacher Fruhe	4939	*in vitro*	+	+	–	–	–	+	–
		полевой	+	+	+	+	+	+	–
Parnassia	4755	*in vitro*	+	–	–	–	–	+	–
		полевой	+	–	–	–	+	+	–
Russet Burbank	24158	*in vitro*	+	–	–	–	–	+	–
		полевой	+	–	–	–	+	+	–
Sagita N	16762	*in vitro*	+	–	–	–	–	+	–
		полевой	+	–	+	+	+	+	–
Sieglinde	22140	*in vitro*	+	–	+	–	+	+	–
		полевой	+	–	+	–	+	+	–

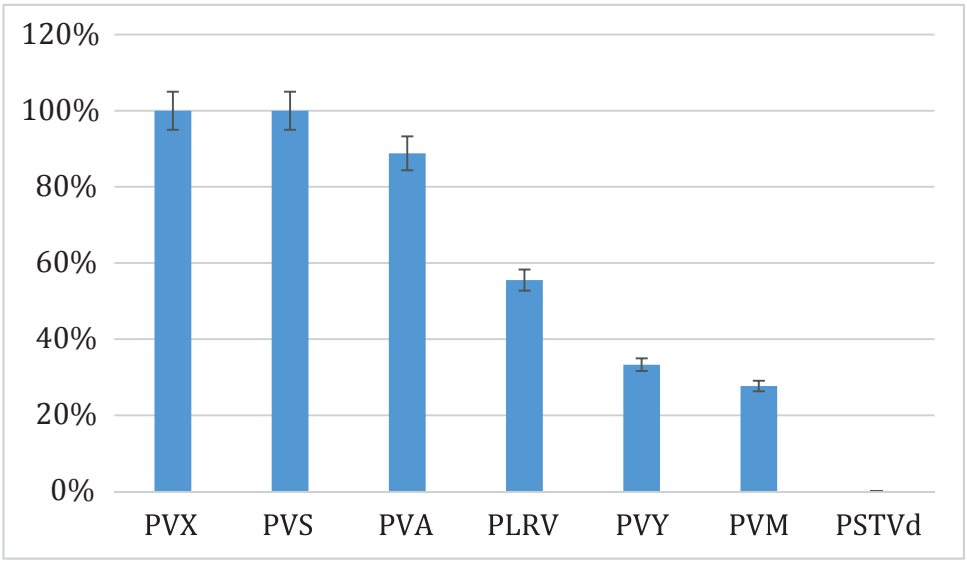

Рис. 1. Встречаемость вирусов у полевых растений

Fig. 1. The occurrence of viruses in field plants

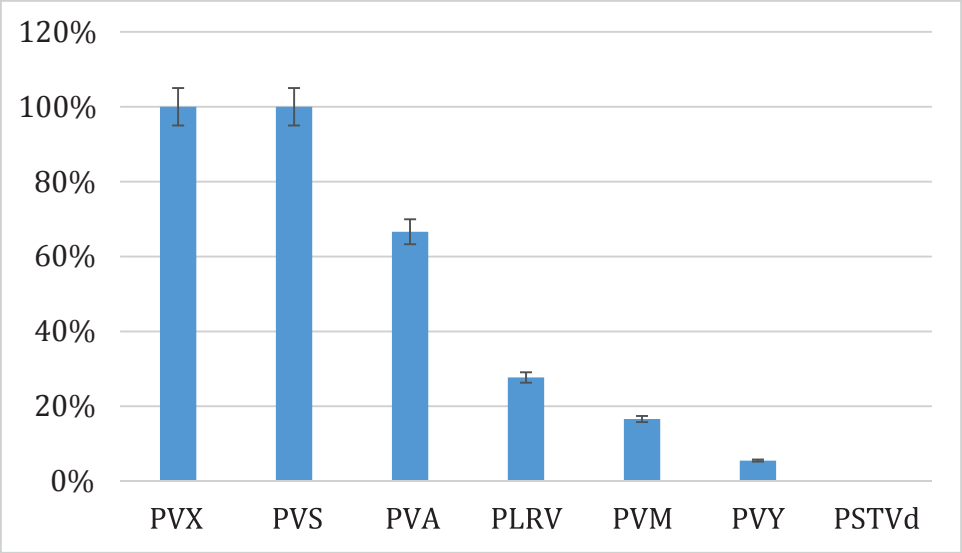

Рис. 2. Встречаемость вирусов у растений *in vitro*

Fig. 2. The occurrence of viruses in *in vitro* plants

Таким образом, эффективность оздоровления от вирусов методом культуры апикальных меристем составила: PVX – 0%, PVS – 0%, PVA – 33,4%, PLRV – 72,3%, PVM – 83,4%, PVY – 94,5%.

Следует отметить, что наиболее успешно при использовании этого метода поддаются элиминации вирусы PVY и PVM. Для освобождения растений от оставшихся вирусов (PVS, PVX, PVA) необходимо применять дополнительные методы антивирусной терапии. В нашей работе мы выбрали метод криотерапии, который известен высокой эффективностью в отношении многих вирусов (Ukhatova, 2017; Ukhatova et al., 2017).

Оздоровление с использованием метода криотерапии

Определение уровня посткриогенной регенерации апексов микрорастений образцов картофеля

После тестирования на наличие вирусов для проведения экспериментов по криотерапии были взяты те же образцы картофеля.

В эксперименте использовали апексы микрорастений картофеля. В качестве контроля (без погружения в жидкий азот) использовали 10 апексов, а в опыте (с погружением в жидкий азот) – по 10–20 апексов. Для каждого опыта было проведено три биологических повторности. Экспланты помещали на агаризованную питательную среду MSTo, дополненную зеатин-рибозидом (0,5 мг/л,), ИУК (0,5 мг/л,) и ГК (0,2 мг/л,) (Dunaeva et al., 2011, 2017). Процент жизнеспособности и регенерации эксплантов отмечали на третьей, шестой и восьмой неделях после оттаивания.

Для достоверной оценки эффективности криотерапии сначала были оценены показатели посткриогенного восстановления апексов: процент жизнеспособных апексов и уровень посткриогенной регенерации – долю апексов, сформировавших регенеранты после оттаивания.

Результаты наблюдений и подсчетов представлены в таблице 2.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, наиболее высокую жизнеспособность апексов показали образцы ‘Marta’ (51,7%) и ‘Centifolia’ (43,3%), самые низкие результаты наблюдались у следующих образцов: ‘Sagita N’ (5%), ‘Russet Burbank’, ‘Irish Cobbler’, ‘Приекульский Ранний’ (по 10%). Изученные в рамках настоящей работы образцы проявили низкий уровень регенерации верхушечных почек – в среднем по выборке 22,6%, минимум наблюдали у образца ‘Sagita N’ (5%), максимум – у образца ‘Marta’ (41,7%). В то же время варианты контроля в данном опыте показали высокий уровень регенерации, что говорит о том, что все манипуляции были проведены правильно.

Ранее в отделе биотехнологии ВИР описанный метод криоконсервации был апробирован на образцах картофеля, прошедших процедуру оздоровления от вирусов до криоконсервации, то есть источником апексов служили оздоровленные микрорастения с подтвержденным безвирусным статусом. В результате после криоконсервации были получены высокие уровни посткриогенной регенерации (Ukhatova, 2017; Ukhatova et al., 2017). В литературе по криоконсервации подчеркивается, что безвирусные растения имеют более высокие показатели восстановления после оттаивания (Wang et al., 2006; Wang, Valkonen, 2009). В настоящей работе источниками эксплантов служили микрорастения, пораженные комплексом вирусов. Таким образом, литературные данные о более высоком уровне посткриогенной регенерации апексов, полученных из свободных от фитопатогенов микрорастений, нами подтверждены. Для изучения эффективности оздоровления микрорастений методом криотерапии необходимо провести тестирование на наличие вирусов у полученных посткриогенных регенерантов. Вероятно, метод криотерапии более эффективен в случае поражения растений единичными вирусами.

Оценка эффективности оздоровления от вирусов методом криотерапии in vitro

Тестирование на наличие вирусов у криорегенерантов проводили методом ИХА и методом RT-ПЦР, сравнивая исходные микрорастения с криорегенерантами. Тестирование на наличие вироида провели повторно, для того чтобы исключить возможную контаминацию и подтвердить полученные ранее результаты.

Таблица 2. Показатели посткриогенного восстановления апексов картофеля после оттаивания

Table 2. Indicators of post-cryogenic recovery in potato shoot tips after thawing

Название сорта	№ по каталогу ВИР	Жизнеспособность + LN	Регенерационная способность + LN	Жизнеспособность – LN	Регенерационная способность – LN
Кореневский	1057	28,3 ± 4,4	25,0 ± 2,9	80,0 ± 10,0	80,0 ± 10,0
Приекульский Ранний	1350	10,0 ± 2,8	10,0 ± 2,8	63,3 ± 12	63,3 ± 12,0
Эпрон	1145	28,3 ± 6,0	23,3 ± 8,8	86,7 ± 6,7	66,7 ± 3,3
Agassiz Special	20	26,7 ± 7,3	16,7 ± 7,3	86,7 ± 3,3	86,7 ± 3,3
Alpha	19487	11,6 ± 4,4	15,0 ± 2,8	66,6 ± 12	60,0 ± 14,5
Brondeslev	2609	13,3 ± 6,7	13,3 ± 6,7	86,7 ± 6,7	86,7 ± 6,7
Centifolia	204	43,3 ± 16,6	26,6 ± 10,1	81,4 ± 10,3	81,4 ± 10,3
Daber	1512	18,3 ± 9,3	18,3 ± 9,3	46,6 ± 14,5	46,6 ± 14,5
Deodara	1421	33,3 ± 13,3	26,6 ± 6,6	83,3 ± 12,0	80,0 ± 15,3
Dr. McIntosh	4754	28,3 ± 10,9	21,6 ± 10,1	84,9 ± 2,9	84,9 ± 2,9
Erntedank	–	23,3 ± 8,8	20,0 ± 5,8	96,7 ± 3,3	96,7 ± 3,3
Irish Cobbler	24157	10,0 ± 5,7	10,0 ± 5,7	63,3 ± 3,3	60,0 ± 0,0
Marta	1375	51,7 ± 13,3	41,7 ± 13,6	86,7 ± 13,3	86,7 ± 13,3
Oberarnbacher Fruhe	4939	13,3 ± 6,7	8,3 ± 4,4	80,0 ± 10,0	76,7 ± 8,8
Parnassia	4755	28,3 ± 6,0	30,0 ± 5,7	36,6 ± 3,3	36,6 ± 3,3
Russet Burbank	24158	10 ± 7,6	10,0 ± 7,6	53,3 ± 8,8	50,0 ± 5,7
Sagita N	16762	5,0 ± 2,8	5,0 ± 2,8	40,0 ± 5,7	40,0 ± 5,7
Sieglinde	22140	25,0 ± 2,8	25,5 ± 5,0	80,0 ± 0,0	80,0 ± 0,0
X ± mx		22,6 ± 2,9	19,3 ± 2,2	72,4 ± 4,2	70,2 ± 4,2

Примечание: в таблице представлены значения средних по трем повторностям с величиной ошибки среднего. Приведены данные по выживаемости и регенерационной способности, учтенные на 8 неделе после момента размораживания эксплантов: с погружением в жидкий азот (+LN) и контрольные без погружения (–LN)

Note: The table presents mean values for three replications with the standard error of the mean. The data on the survival and regeneration ability were recorded on the 8th week after the explants stored in liquid nitrogen (+LN) were defrosted and compared with the reference samples that had not been exposed to liquid nitrogen (–LN)

Исходя из проведенного тестирования двумя методами ИХА и RT-ПЦР установлено, что после применения метода криотерапии процент оздоровления от вирусной инфекции составил: PVY – 100%, PVA – 100%, PVX – 44,4–66,7%, PVM – 66,7–88,9%, PVS – 66,7–77,8% (рис. 3).

Результаты показали, что эффективность оздоровления картофеля методом криотерапии составила от 44 до 100%. Поддаются оздоровлению с помощью метода криотерапии вирусы PVY и PVA. Хуже подвергается оздоровлению вирус PVX.

Для повышения эффективности результатов работы по элиминации вирусов, вероятно, следует использовать метод комплексной термо-химиотерапии. На данном этапе можно сказать, что метод криотерапии самый бы-

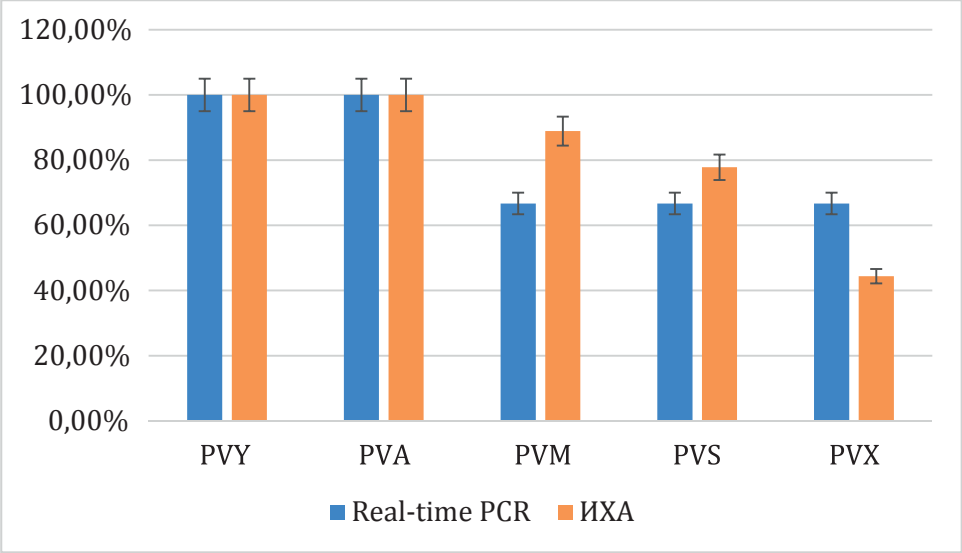

Рис. 3. Процент оздоровленных микрорастений после криотерапии
Fig. 3. Percentage of sanitized microplants after cryotherapy

стрый и простой для получения в короткий срок (50–60 дней) здорового материала. В то же время при использовании метода комплексной термо-химиотерапии нужно потратить не менее 5 месяцев для получения результатов.

В нашей работе растения были поражены множественной вирусной инфекцией, включающей от 3 до 5 вирусов. В литературе описана криотерапия в отношении 1-2 вирусов. Таким образом, для достижения более высоких результатов необходимо комбинирование методов, применяемых при оздоровлении растений картофеля от вирусов.

Заключение

Методы оздоровления от вирусов – культура апикальных меристем и криотерапия – эффективны в отношении вирусов PVY, PVA, PVM, однако в случае множественной инфекции необходимо комбинировать элементы различных протоколов оздоровления для повышения эффективности процедуры оздоровления.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0004 «Коллекция вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 "Collections of vegetatively propagated crops (potato, fruit, berry and ornamental crops, grapes) and their wild relatives at VIR: studying and sustainable utilization".

References/Литература

Anisimov B.V., Belov G.L., Varitsev Yu.A., Elansky S.N., Zhuromsky G.K., Zavriev S.K., Zeyruk V.N., Ivanyuk V.G., Kuznetsova M.A., Plyakhnevich M.P., Pshechenkov K.A., Simakov E.A., Sklyarova N.P., Stashevsky Z., Uskov A.I., Yashina I.M. Protection of potatoes from diseases, pests and weeds (Zashchita kartofelya ot bolezney, vrediteley i sornyakov). Moscow: Kartofelevod; 2009. [in Russian] (Анисимов Б.В., Белов Г.Л., Варицев Ю.А., Еланский С.Н., Журомский Г.К., Завриев С.К., Зейрук В.Н., Иванюк В.Г., Кузнецова М.А., Пляхневич М. П., Пшеченков К.А., Симаков Е.А., Склярова Н.П., Сташевски З., Усков А.И., Яшина И.М. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Москва: Картофелевод; 2009).

Bespalova E.S., Ukhatova Yu.V., Volkova N.N., Oves E.V., Gaitova N.A., Gavrilenko T.A. Investigation of the post-cryogenic regeneration ability of potato varieties under different cultivation conditions. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(3):281-286. [in Russian] (Беспалова Е.С., Ухатова Ю.В., Волкова Н.Н., Овэс Е.В., Гаитова Н.А., Гавриленко Т.А. Изучение посткриогенного регенерационного потенциала сортов картофеля в разных условиях культивирования. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2019;23(3):281-286). DOI: 10.18699/VJ19.500

Biryukova V.A., Shmiglya I.V., Zharova V.A., Beketova M.P., Rogozina E.V., Mityushkin A.V. et al. Molecular markers of genes for extreme resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum* L. cultivars and hybrids. *Russian Agricultural Sciences*. 2019;(5):17-22 [in Russian] (Бирюкова В.А., Шмыгля И.В., Жарова В.А., Бекетова М.П., Рогозина Е.В., Митюшкин А.В. и др. Молекулярные маркеры генов экстремальной устойчивости к Y вирусу картофеля в сортах и гибридах *Solanum tuberosum* L. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2019;(5):17-22). DOI: 10.31857/S2500-26272019517-22

Blotskaya Zh.V. Potato viruses (Virusy kartofelya). Minsk: Urajay; 1989. [in Russian] (Блоцкая Ж.В. Вирусы картофеля. Минск: Ураджай; 1989).

Drygin Yu.F., Chirkov S.N., Kondakova O.A., Zinovkin R.A., Ivanov P.A., Blintsov A.N. et al. Highly sensitive technologies for molecular diagnostics of viral and viroid infections of potatoes (Vysokochuvstvitelnye tekhnologii molekulyarnoy diagnostiki virusnykh i viroidnoy infektsiy kartofelya). *Achievements of Science*

and Technology of AIC. 2007;7:20-24. [in Russian] (Дрыгин Ю.Ф., Чирков С.Н., Кондакова О.А., Зиновкин Р.А., Иванов П.А., Блинцов А.Н. и др. Высокочувствительные технологии молекулярной диагностики вирусных и вироидной инфекций картофеля. *Достижения науки и техники АПК*, 2007;7:20-24).

Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O. Yu., Shvachko N.A., Ukhatova Yu.V., Shuvalova L.E., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Conservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryogenic collections: guidelines (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kulur v in vitro i kriokollektsiyakh: metodicheskiye ukazaniya). T.A. Gavrilenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю. В., Шувалова Л. Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях: методические указания / под. ред. Т.А. Гавриленко Санкт-Петербург: ВИР; 2017).

Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Yu., Shvachko N.A., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Conservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryogenic collections: guidelines (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kulur v in vitro i kriokollektsiyakh: metodicheskiye ukazaniya). T.A. Gavrilenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2011. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях: методические указания / под. ред. Т.А. Гавриленко. Санкт-Петербург: ВИР; 2011).

Gavrilenko T.A., Shvachko N.A., Volkova N.N., Ukhatova Yu.V. A modified droplet vitrification method for cryopreservation of shoot tips from *in vitro* potato plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(4):422-429. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Швачко Н.А., Волкова Н.Н., Ухатова Ю.В. Модифицированный метод дроплет-витрификации для криоконсервации апексов *in vitro* растений картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(4):422-429). DOI: 10.18699/VJ19.505

Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Revised edition. Rome: FAO; 2014. Available from: http://www.fao.org/3/a-i3704e.pdf%20 [accessed Sept. 09, 2020].

Loenbenstein G., Berger P.H., Brunt A.A., Lawson R.H. (eds). Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed potatoes. Dordrecht: Springer; 2001. DOI: 10.1007/978-94-007-0842-6

Rogozina E.V., Biryukova V.A., Simakov E.A., Zharova V.A., Chalaya N.A., Kuznetsova M.A. et al. Interspecific hybrids as parental lines in anticipatory breeding for potato resistant to disease and pests. *Achievements of Science and Technology of AIC.* 2018;32(1):26-31. [in Russian] (Рогозина Е.В., Бирюкова В.А., Симаков Е.А., Жарова В.А., Чалая Н.А., Кузнецова М.А. и др. Межвидовые гибриды как родительские формы для упреждающей селекции картофеля на устойчивость к болезням и вредителям. *Достижения науки и техники АПК.* 2018;32(1):26-31). DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10105

SINTOL. Products for identification of plant pathogens (SINTOL. Produktsiya dlya vyavleniya fitopatogenov). 2020. [in Russian] (СИНТОЛ. Продукция для выявления фитопатогенов. 2020). URL: http://www.syntol.ru/catalog/nabory-reagentov-dlya-ptsr-v-realnom-vremeni/dlya-vyyavleniya-fitopatogenov.html [дата обращения: 17.04.2020].

Streltsova T.A., Opleukhin A.A., Menokhov M.S. Research into the bioresource potential of a new collection of potatoes when introduced into the Altai Mountains: a monograph (Issledovaniye bioresursnogo potentsiala novoy kollektsii kartofelya pri introduktsii v gorny Altai: monografiya). Gorno-Altaysk: Gorno-Altaysk State University; 2014. [in Russian] (Стрельцова Т.А., Оплеухин А.А., Менохов М.С. Исследование биоресурсного потенциала новой коллекции картофеля при интродукции в горный Алтай: монография. Горно-Алтайск: Горно-Алтайский госуниверситет; 2014).

Trofimets L.N. Potato viral diseases. Supplement to the journal *Plant Protection* (Virusnye bolezni kartofelya. Prilozheniye k zhurnalu "Zashchita rasteniy"). Moscow: Agropromizdat; 1990. [in Russian] (Трофимец Л.Н. Вирусные болезни картофеля. Приложение к журналу «Защита растений». Москва: Агропромиздат; 1990).

Truskinov EV Maintenance and storage of the potato collection accessions *in vitro*. Guidelines (Podderzhaniye i khraneniye kollektsionnykh obraztsov kartofelya v usloviyakh *in vitro*. Metodicheskiye ukazaniya). Leningrad: VIR; 1987. [in Russian] (Трускинов Э.В. Поддержание и хранение коллекционных образцов картофеля в условиях *in vitro*. Методические указания. Ленинград: ВИР; 1987).

Ukhatova Yu.V. Improving methods of cryopreservation and recovery from viral diseases in vegetatively propagated crop samples (Sovershenstvovaniye metodov kriokonservatsii i ozdorovleniya ot virusnykh bolezney obraztsov vegetativno razmnozhayemykh kultur) [dissertation]. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Ухатова Ю.В. Совершенствование методов криоконсервации и оздоровления от вирусных болезней образцов вегетативно размножаемых культур: дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).

Ukhatova Yu.V., Oves E.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of potato breeding cultivars at VIR. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2017;178(3):13-20. [in Russian] (Ухатова Ю.В. Овэс Е.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Криоконсервация селекционных сортов картофеля в ВИРе. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(3):13-20). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-3-13-20

Wang, Q.C., Liu Y., Xie Y., You M. Cryotherapy of potato shoot tips for efficient elimination of *Potato leafroll* virus (PLRV) and *Potato virus Y* (PVY) *Potato Research*. 2006;49:119-129. DOI: 10.1007/s11540-006-9011-4

Wang Q.C., Valkonen J.P.T. Improved recovery of cryotherapy-treated shoot tips following thermotherapy of *in vitro*-grown stock shoots of raspberry (*Rubus idaeus* L.). *CryoLetters*. 2009;30(3):171-182.

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Беспалова Е.С., Агаханов М.М., Архимандритова С.Б., Ерастенкова М.В., Ухатова Ю.В. Оздоровление сортов картофеля из коллекции ВИР от вирусов. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(4):164-172. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-164-172

Bespalova E.S., Agakhanov M.M., Arkhimandritova S.B., Erastenkova M.V., Ukhatova Yu.V. Sanitization of potato varieties from the VIR collection against viruses. Proceedings on Applied Botany, GeneticsandBreeding.2020;181(4):164-172.DOI:10.30901/2227-8834-2020-4-164-172

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-4-164-172

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID
Bespalova E.S. https://orcid.org/0000-0002-7298-9212
Agakhanov M.M. https://orcid.org/0000-0003-2438-9156
Arkhimandritova S.B. https://orcid.org/0000-0002-5624-4245
Erastenkova M.V. https://orcid.org/0000-0002-7328-437X
Ukhatova Yu.V. https://orcid.org/0000-0001-9366-0216