

Лабораторные методы диагностики растения картофеля к вирусам *PVX* и *PVY*

И. О. Газданова[✉], Н. Н. Догузова

Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук»,
Владикавказ, Россия

[✉]E-mail: Gazdanovaira2020@gmail.com

Аннотация. Картофель, как и любые другие сельскохозяйственные культуры, поражается рядом болезней-вредителей. Вирус X (PVX) и Y (PVY) картофеля могут снизить производство картофеля до 80 %. Следовательно, создание сортов обладающих устойчивостью к болезням представляет собой одну из ключевых задач для селекционеров растений. Виды дикого картофеля являются хорошими источниками генов устойчивости. **Цель** работы – с помощью методов молекулярных технологии диагностировать в генотипах картофеля вирусы PVX и PVY и гены устойчивости к фитопатогенам для последующего использования в маркер-опосредованной селекции. **Научная новизна** работы заключается в том, что была проведена оценка устойчивости гибридного материала картофеля к вирусам PVX и PVY. **Методы.** Диагностика устойчивости образцов картофеля к болезням проведена на основе полимеразной цепной реакции. В процессе молекулярного анализа картофеля применялись ДНК-маркеры, ориентированные на гены, отвечающие за устойчивость к фитопатогенам, в частности, *YES3-3A*, *RYSC3*, *Ry186*, *M6*, *M45*, *5Rx1*, *PVX*. Зараженность образцов методом ПЦР-РВ (в реальном времени), определяли с использованием набором реагентов ООО «Синтол» Potato Virus X и Potato Virus Y-РВ. **По результатам** диагностики фитопатогенов методом ПЦР-РВ у 6 генотипов картофеля обнаружен вирус PVY, в одном гибриде (3190) – вирус PVX. Результаты молекулярно-генетического анализа на гены устойчивости к фитопатогенам показали, что 17 образцов картофеля устойчивы к вирусу PVX гена *Rx1* с применением маркера 5RX. Устойчивость картофеля к R-генами вирусостойчивости к PVY с геном *Rysto* сцепленного с маркером YES3-3A с ожидаемым размером фрагмента 341 п. н. не отмечена у образцов картофеля. Маркер RYSC3 с генами *Ry_{adg}* также не обнаружен, но с применением маркеров M45 и M6 гена *Ryadg* выявлен у 9 и 6 образцов картофеля. **Выводы.** Диагностика картофеля современными методами позволяет выявлять болезни картофеля своевременно. Выявленные генотипы картофеля с комплексов генов устойчивости позволяют применять их в дальнейшей селекционной программе по выведению новых сортов картофеля.

Ключевые слова: ген, устойчивость, маркер, картофель, вирус, гибрид, сорт, ПЦР, ДНК

Для цитирования: Газданова И. О., Догузова Н. Н. Лабораторные методы диагностики растения картофеля к вирусам PVX и PVY // Аграрный вестник Урала. 2025. Т. 25, № 07. С. 1004–1013. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2025-25-07-1004-1013>.

Дата поступления статьи: 28.01.2025, **дата рецензирования:** 04.03.2025, **дата принятия:** 14.04.2025.

Laboratory methods for diagnostics of potato plants to PVX and PVY viruses

I. O. Gazdanova[✉], N. N. Doguzova

Federal Scientific Center “Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”,
Vladikavkaz, Russia

[✉]E-mail: Gazdanovaira2020@gmail.com

Abstract. Potato, like any other agricultural crops, is affected by a number of diseases and pests. The most important viral pathogens of cultivated potatoes are potato virus X (PVX) and Y (PVY), which can reduce potato production by up to 80 %. Thus, breeding resistance to phytopathogenic is one of the main goals of plant breeders. Wild potato species are good sources of resistance genes. **The purpose** of the work was to diagnose viruses (PVX) and (PVY) and phytopathogen resistance genes in potato genotypes using molecular technology methods for subsequent use in marker-assisted selection. **The scientific novelty** of the work lies in the fact that an assessment was made of the resistance of hybrid potato material to the PVX and PVY viruses. **Methods.** Diagnosis of potato sample resistance to diseases was carried out using polymerase chain reaction. For molecular screening of potatoes, DNA markers of phytopathogen resistance genes were used – YES3-3A; RYSC3; Ry186; M6, M45, 5Rx1, PVX. Infection of samples by the PCR-RV (in real time) was determined using the reagent kit of Sintol LLC Potato Virus X and Potato Virus Y-RV. According to the results of phytopathogen diagnosis by the PCR-RV, the PVY virus was detected in 6 potato genotypes, and the PVX virus was found in one hybrid (3190). **The results** of molecular genetic analysis for phytopathogen resistance genes showed that 17 potato samples are resistant to the PVX virus of the Rx1 gene using the 5RX marker. Resistance of potatoes with R-genes of virus resistance to PVY with the Rysto gene linked to the YES3-3A marker with an expected fragment size of 341 bp was not noted in potato samples. The RYSC3 marker with the Ryadg genes was also not detected, but using the M45 and M6 markers of the Ryadg gene, it was detected in 9 and 6 potato samples. **Conclusions.** Potato diagnostics using modern methods allows timely detection of potato diseases. The identified potato genotypes with resistance gene complexes allow their use in the further breeding program for developing new potato varieties.

Keywords: gene, resistance, marker, potato, virus, hybrid, variety, PCR, DNA

For citation: Gazdanova I. O., Doguzova N. N. Laboratory methods for diagnostics of potato plants to PVX and PVY viruses. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2025; 25 (07): 1004–1013. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2025-25-07-1004-1013>. (In Russ.)

Date of paper submission: 28.01.2025, **date of review:** 04.03.2025, **date of acceptance:** 14.04.2025.

Постановка проблемы (Introduction)

Картофель (*Solanum tuberosum*) – одна из важнейших культур нашей планеты, которая занимает 4-е место после кукурузы, пшеницы, риса и обеспечивает питанием миллиарды людей во всем мире. Однако высокая урожайность и качество клубней картофеля постоянно находятся под угрозой широкого спектра патогенов. Они снижают объемы урожая и его качество, что приводит к экономическим потерям и проблемам с продовольственной безопасностью. Одним из основных факторов, негативно влияющих на производство картофеля в мире, является вирусная инфекция [1].

Производство семенного картофеля имеет большое экономическое значение для России. Все партии семян должны быть сертифицированы на наличие вирусов картофеля Y (PVY), X (PVX), S (PVS), A (PVA). Каждый год проводятся многомиллионные исследования на определение вирусов карто-

феля с применением сэндвич-ИФА с двойными антителами (DAS-ELISA). В каждом тесте ELISA обычно обнаруживается только один вирус (исключение составляют PVX и PVS), что требует проведения ряда параллельных анализов. Это приводит к дополнительным затратам на рабочую силу, расходные материалы, химикаты и отходы по сравнению с анализом, в котором все вирусы могут быть обнаружены одновременно в одном образце, а именно мультиплексным анализом [2].

Наиболее важными вирусными патогенами культурного картофеля являются вирус картофеля Y (PVY) и вирус картофеля X (PVX), которые могут снизить производство картофеля до 80 %. Эти вирусы очень опасны в сельскохозяйственном, экономическом и биологическом отношении. Вирусы передаются тлями, которые наиболее распространены в умеренных климатических зонах страны. Поэтому контроль и профилактика вирусов затруд-

нены в сельскохозяйственном производстве. В отличие от PVY вирус PVX передается механическим путем. Однако он также легко распространяется при контакте от растения к растению [2]. Вирусы являются патогенами, которые развиваются внутри клеток, их невозможно эффективно контролировать или предотвращать с помощью химических методов. Уничтожение зараженных растений или применение пестицидов для снижения численности переносчиков не дает желаемого результата. В данный момент отсутствует действенная стратегия для борьбы с вирусными болезнями. Необходимость создания новых устойчивых сортов картофеля становится более актуальной. У диких видов картофеля можно выделить несколько типов естественной вирусной устойчивости, что открывает новые горизонты для селекционных процессов [3].

Для обнаружения вирусной инфекции у растений широко используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот подход значительно улучшает надежность мониторинга, поскольку позволяет проводить анализ непосредственно на уровне вирусного генома [4]. В последнее время для решения поставленных задач достаточно хорошо зарекомендовал себя метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) [5]. Введение дополнительного уровня точности, связанного с наличием флуоресцентно-

го зонда в реакционной смеси, позволяет считать данный метод образцом аналитической специфичности в процессе потоковых исследований [6].

Селекция растений – это практика изменения генетического состава растений. Селекция включает в себя несколько различных подходов: от простого отбора растений с желаемыми признаками, от генетического скрещивания до использования более сложных молекулярных методов для косвенного отбора желаемых признаков [7; 8].

Традиционный подход к селекции растений включает отбор одной из родительских линий из сорта, имеющего желаемый признак, для введения в другой сорт, имеющий другие желательные признаки, с целью объединения желательных признаков. Обычные методы селекции растений имеют некоторые ограничения: например, может отсутствовать подходящий источник устойчивости, устойчивость может быть тесно связана с нежелательными признаками или устойчивость может быть мультигенной, поэтому ею трудно манипулировать в программах селекции. Полученное потомство от скрещивания родительских растений наследует смесь генов, кодирующих положительные и отрицательные признаки, что требует отбора особей, несущих наиболее положительные и наименее отрицательные признаки [9; 10].

Таблица 1
ДНК-маркеры, используемые для оценки генотипов картофеля

Ген	Маркер	Размер фрагмента (п. н.)	Температура отжига праймеров (°C)
ДНК-маркеры устойчивости к вирусу PVY			
<i>Ry_{adg}</i>	RYSC3	321	60
<i>Ry_{chc}</i>	Ry186	587	55
<i>Ry_{sto}</i>	YES3-3A	341	55
<i>Ry_{adg}</i>	M6	994	60
<i>Ry_{adg}</i>	M45	268	61
ДНК-маркер устойчивости к вирусу PVX			
<i>Rx1</i>	5Rx1	186	62
<i>Rx1</i>	PVX	1230	58

Table 1
DNA markers used to evaluate potato genotypes

Gene	Marker	Fragment size (p. n.)	Primer annealing temperature (°C)
DNA markers of resistance to PVY virus			
<i>Ry_{adg}</i>	RYSC3	321	60
<i>Ry_{chc}</i>	Ry186	587	55
<i>Ry_{sto}</i>	YES3-3A	341	55
<i>Ry_{adg}</i>	M6	994	60
<i>Ry_{adg}</i>	M45	268	61
DNA marker of resistance to PVX virus			
<i>Rx1</i>	5Rx1	186	62
<i>Rx1</i>	PVX	1230	58

Таблица 2

Диагностика генотипов картофеля на наличие ДНК вирусов PVX и PVY (2024 год)

№ п/п	Селекционный номер гибрида	PVX, пороговый цикл	PVY, пороговый цикл	№ п/п	Селекционный номер гибрида	PVX, пороговый цикл	PVY, пороговый цикл
1	ПКО1	28,05	28,33	25	3278	—	—
2	ОКО1	—	—	26	3195	—	18,33
3	3273 с	—	27,91	27	3195	—	—
4	3273 с	—	21,33	28	3195	—	—
5	3273 с	—	—	29	3195	—	—
6	3235	—	—	30	3195	—	—
7	3263	—	—	31	3188	—	—
8	3290	—	—	32	3188	—	—
9	3290	—	—	33	3188	—	—
10	3254	—	—	34	3188	—	—
11	3254	—	29,72	35	3188	—	—
12	3264	—	—	36	3214 с	—	—
13	3264	—	—	37	3214 с	—	—
14	3267	—	28,18	38	3190	37,85	—
15	3267	—	—	39	3190	—	—
16	3234	—	—	40	3190	—	—
17	3234	—	—	41	3190	—	—
18	3234	—	—	42	3233	—	—
19	3278	—	—	43	3208	—	—
20	3278	—	—	44	3208	—	—
21	3314	—	—	45	3208	—	—
22	3244	—	—	46	3208	—	—
23	3278	—	—	47	3208	—	—
24	3278	—	—	48	3208	—	26,98

Table 2

Diagnostics of potato genotypes for the presence of PVX and PVY viruses (2024)

No.	Hybrid selection number	PVX, threshold cycle	PVY, threshold cycle	No.	Hybrid selection number	PVX, threshold cycle	PVY, threshold cycle
1	PKO1	28.05	28.33	25	3278	—	—
2	OKO1	—	—	26	3195	—	18.33
3	3273 c	—	27.91	27	3195	—	—
4	3273 c	—	21.33	28	3195	—	—
5	3273 c	—	—	29	3195	—	—
6	3235	—	—	30	3195	—	—
7	3263	—	—	31	3188	—	—
8	3290	—	—	32	3188	—	—
9	3290	—	—	33	3188	—	—
10	3254	—	—	34	3188	—	—
11	3254	—	29.72	35	3188	—	—
12	3264	—	—	36	3214 c	—	—
13	3264	—	—	37	3214 c	—	—
14	3267	—	28.18	38	3190	37.85	—
15	3267	—	—	39	3190	—	—
16	3234	—	—	40	3190	—	—
17	3234	—	—	41	3190	—	—
18	3234	—	—	42	3233	—	—
19	3278	—	—	43	3208	—	—
20	3278	—	—	44	3208	—	—
21	3314	—	—	45	3208	—	—
22	3244	—	—	46	3208	—	—
23	3278	—	—	47	3208	—	—
24	3278	—	—	48	3208	—	26.98

Маркер-опосредованная селекция (МОС) используется для переноса известного гена, связанного с желаемым признаком, между генотипами растений вместо случайного смешивания положительных и отрицательных признаков. Такой подход может снизить вероятность передачи нежелательных признаков новым растениям и сэкономить время, также эффективно использовался для введения генов устойчивости растений к вирусам [11].

Селекция на устойчивость к вирусным заболеваниям является основным компонентом большинства программ селекции и, возможно, лучшей стратегией для обеспечения долгосрочной устойчивости к этим болезнетворным вирусам. В прошлом интрогрессия из различных источников устойчивости растений успешно использовалась для создания новых вирусоустойчивых сортов [12]. Растения-хозяева могут демонстрировать несовместимое или совместимое взаимодействие с вирусом. При несовместимом взаимодействии растения реагируют на вирусную инфекцию реакцией гиперчувствительности [13].

Рядом авторов была проведена большая работа с целью идентификации молекулярных маркеров, связанных с предполагаемыми основными генами, обеспечивающими устойчивость к PVY и PVX у картофеля *Solanum tuberosum* [14].

У картофеля устойчивость к вирусу PVX контролируется доминантными генами Rx1 и Rx2. Rx придает расоспецифическую устойчивость к вирусу PVX, ген картофеля Rx1 расположен на хромосоме XII, а ген Rx2 – на хромосоме V. Исходя из анализа генеалогии, выдвигалась гипотеза о том, что ген Rx1 происходит от *S. tuberosum subsp. andigena*, а ген Rx2 – от *S. acaule* [14].

Создано несколько ДНК-маркеров R-генов, обеспечивающих устойчивость к PVY. Эти маркеры активно применяются в разных странах для определения источников соответствующих генов в основном в картофельных сортах, а также отслеживания их в гибридных потомках. На данный момент три гена Ry были локализованы на хромосомах. Хотя ген Rysto до сих пор не идентифицирован, весьма вероятно, что, как и большинство охарактеризованных генов вирусной устойчивости, он принадлежит к классу генов устойчивости NBS-LRR. Другой ген Ry, Ryadg, получен из *S. tuberosum ssp. andigena* и картирован на хромосоме XI, тогда как третий, происходящий от *S. chacoense* (Rychc), расположен на хромосоме IX [15].

Материалы и методы исследования (Methods)

Для выделения растительной ДНК использовали листья картофеля. ДНК из листьев картофеля выделяют стандартным методом с использованием 2 % СТАВ. Образцы растирали в СТАВ-буфере, гомогенизировали, инкубировали в СТАВ-буфере, очищали хлороформом, осаждали смесью изопропанола

и 0,5 М ацетата калия, 2 раза промывали 70-процентным спиртом. Полученную ДНК растворяли в деионизированной воде и хранили при –20 °С.

Молекулярно-генетический анализ селекционного материала на наличие генов устойчивости к вирусам – сложный процесс, требующий применения высокоспецифических методов. В данной работе для выявления генов устойчивости использовали различные типы маркеров, взятые из литературных источников. Выбор конкретных маркеров определяется специфичностью гена устойчивости и, соответственно, вирулентности вируса. Для идентификации гена Ryadg используют SCAR-маркер RYSC3. Присутствие в исследуемом образце гена Rysto выявляли с помощью маркера YES3-3A, а наличие гена Rx1, контролирующего устойчивость к вирусу PVX определяли двумя маркерами: 5RX1 и PVX.

Аmplification ДНК проводили в термоциклере MiniAmp Plus (Thermo FS). Стандартная реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 10X буфер для Taq ДНК-полимеразы (ООО «Синтол»), 2,5 mM смесь dNTP (Диаэм), 2,5 mM водный раствор хлорида магния (Fermentas), 5–10 пкмоль каждого праймера (ООО «Синтол»), 0,2 е. а. Taq ДНК-полимеразы (ООО «Синтол»), 20 нг пробы ДНК и 13–15 мкл автоклавируемой бидистиллированной воды. Для исключения контаминации в реакционной смеси и чистоты реакции ПЦР-анализа в каждую партию включали отрицательный контрольный образец (H₂O). Для разделения амплифицированных продуктов использовали электрофоретическое разделение в агарозном геле. Для этого 1,5 г сухой агарозы расплавляли в 100 мл 1X буфера TAE, нагревая смесь в микроволновой печи. Раствору дали остыть примерно до 40 °С перед добавлением бромида этидия, в концентрации 0,05 мкг/мл, а затем вылили в лоток для отливки геля и дали ему затвердеть. Гель переносили в камеру для электрофореза и покрывали буфером (1X буфер TAE). Перед загрузкой продуктов ПЦР каждый образец ДНК смешивали с гелем. К гелю прикладывалось напряжение 120 В. После электрофореза образцы ДНК визуализировали, помещая гель под УФ-освещение.

Исследование вирусов проводили с использованием оборудования и тест-систем производства коммерческой компании ООО «Синтол». В ходе исследований определяли вирусы картофеля PVX и PVY коммерческим набором Potato Virus X и Potato Virus Y-PB. ПЦР в реальном времени проводили на оборудовании АНК-48 производства ООО «Синтол».

Целью данного исследования являлось выявление с помощью молекулярных методов диагностики перспективных гибридов картофеля на наличие и устойчивость к вирусным патогенам.

Таблица 3

Молекулярно-генетический анализ генотипов картофеля на гены устойчивости к фитопатогенам (2024 г.)

Agrotechnologies

№	Селекционный номер гибрида	Происхождение	Наличие ДНК маркеров/ген						
			Устойчивость к PVY					Устойчивость к PVX	
			RYSC3/ Ryadg	Ry186/ Ryhc	M45/ Ryadg	M6/ Ryadg	YES3-3A/ Rysto	PVX/Rx1	5Rx1/ Rx1
1	3273 с	Ред Скарлетт × Кармен	—	—	+	—	—	—	+
2	3273 с	Ред Скарлетт × Кармен	—	—	—	—	—	—	+
3	3273 с	Ред Скарлетт × Кармен	—	—	—	—	—	—	+
4	3235	Сандрин × Лабадиа	—	—	—	+	—	—	—
5	3263	Чароит × Эльмундо	—	—	—	—	—	—	+
6	3290	Джувел × Крепыш	—	+	—	—	—	—	—
7	3290	Джувел × Крепыш	—	—	—	—	—	—	+
8	3254	Сандрин × Мираж	—	—	—	—	—	—	—
9	3254	Сандрин × Мираж	—	—	+	+	—	—	+
10	3264	Кармен × Эльмундо	—	—	—	—	—	—	—
11	3264	Кармен × Эльмундо	—	—	—	—	—	—	—
12	3267	Триумф × Эльмундо	—	—	+	+	—	—	—
13	3267	Триумф × Эльмундо	—	—	—	—	—	—	—
14	3234	Палац × Лабадиа	—	+	—	—	—	—	—
15	3234	Палац × Лабадиа	—	—	—	—	—	—	—
16	3234	Палац × Лабадиа	—	—	—	—	—	—	—
17	3278	Аксения × Кармен	—	—	+	—	—	—	+
18	3278	Аксения × Кармен	—	+	—	+	—	—	+
19	3314	Ривьера × Гала	—	—	—	—	—	—	+
20	3244	Чароит × Лабадиа	—	+	+	—	—	—	+
21	3278	Аксения × Кармен	—	+	—	—	—	—	—
22	3278	Аксения × Кармен	—	—	—	—	—	—	—
23	3278	Аксения × Кармен/	—	—	—	—	—	—	—
24	3195	Арктика × Эльбейда	—	+	—	—	—	—	—
25	3195	Арктика × Эльбейда	—	—	—	—	—	—	—
26	3195	Арктика × Эльбейда	—	—	—	—	—	—	+
27	3195	Арктика × Эльбейда	—	—	+	+	—	—	—
28	3195	Арктика × Эльбейда	—	—	+	+	—	—	—
29	3188	Ариэль × Феррари	—	—	—	—	—	—	—
30	3188	Ариэль × Феррари	—	—	—	—	—	—	—
31	3188	Ариэль × Феррари	—	—	—	—	—	—	—
32	3188	Ариэль × Феррари	—	—	—	—	—	—	—
33	3188	Ариэль × Феррари	—	—	—	—	—	—	—
34	3214 с	Джувел × Спринтер	—	—	—	—	—	—	—
35	3214 с	Джувел × Спринтер	—	—	—	—	—	—	—
36	3190	Санибель × Феррари	—	—	—	—	—	—	—
37	3190	Санибель × Феррари	—	+	—	—	—	—	+
38	3190	Санибель × Феррари	—	—	+	—	—	—	—
39	3190	Санибель × Феррари	—	—	—	—	—	—	+
40	3233	Кибиц × Лабадиа	—	—	—	—	—	—	+
41	3208	Кармен × Капризе	—	—	—	—	—	—	+
42	3208	Кармен × Капризе	—	—	—	—	—	—	+
43	3208	Кармен × Капризе	—	—	—	—	—	—	+
44	3208	Кармен × Капризе	—	+	—	—	—	—	—
45	3208	Кармен × Капризе	—	+	+	—	—	—	—
46	3208	Кармен × Капризе	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. —/+ означает, что маркер присутствует/отсутствует; PVY – Y-вирус / PVX – X-вирус картофеля.

Table 3

Molecular genetic analysis of potato genotypes for genes of resistance to phytopathogens (2024)

No.	Hybrid breeding number	Origin	Presence of DNA markers/gene						
			PVY resistance					PVX resistance	
			<i>RYSC3/Ryadg</i>	<i>Ry186/Rychc</i>	<i>M45/Ryadg</i>	<i>M6/Ryadg</i>	<i>YES3-3A/Rysto</i>	<i>PVX/Rx1</i>	<i>5Rx1/Rx1</i>
1	3273 c	Red Scarlett × Carmen	–	–	+	–	–	–	+
2	3273 c	Red Scarlett × Carmen	–	–	–	–	–	–	+
3	3273 c	Red Scarlett × Carmen	–	–	–	–	–	–	+
4	3235	Sandrine × Labadia	–	–	–	+	–	–	–
5	3263	Charoite × Elmundo	–	–	–	–	–	–	+
6	3290	Jewel × Krepysch	–	+	–	–	–	–	–
7	3290	Jewel × Krepysch	–	–	–	–	–	–	+
8	3254	Sandrine × Mirage	–	–	–	–	–	–	–
9	3254	Sandrine × Mirage	–	–	+	+	–	–	+
10	3264	Carmen × Elmundoo	–	–	–	–	–	–	–
11	3264	Carmen × Elmundo	–	–	–	–	–	–	–
12	3267	Carmen × Elmundo	–	–	+	+	–	–	–
13	3267	Triumph × Elmundo	–	–	–	–	–	–	–
14	3234	Palace × Labadiya	–	+	–	–	–	–	–
15	3234	Palace × Labadiya	–	–	–	–	–	–	–
16	3234	Palace × Labadiya	–	–	–	–	–	–	–
17	3278	Aksenia × Carmen	–	–	+	–	–	–	+
18	3278	Aksenia × Carmen	–	+	–	+	–	–	+
19	3314	Riviera × Gala	–	–	–	–	–	–	+
20	3244	Charoite × Labadia	–	+	+	–	–	–	+
21	3244	Charoite × Labadia	–	+	–	–	–	–	–
22	3244	Charoite × Labadia	–	–	–	–	–	–	–
23	3278	Aksenia × Carmen	–	–	–	–	–	–	–
24	3195	Arctic × Elbeida	–	+	–	–	–	–	–
25	3195	Arctic × Elbeida	–	–	–	–	–	–	–
26	3195	Arctic × Elbeida	–	–	–	–	–	–	+
27	3195	Arctic × Elbeida	–	–	+	+	–	–	–
28	3195	Arctic × Elbeida	–	–	+	+	–	–	–
29	3188	Ariel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	–
30	3188	Ariel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	–
31	3188	Ariel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	–
32	3188	Ariel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	–
33	3188	Ariel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	–
34	3214 c	Jewel × Sprinter	–	–	–	–	–	–	–
35	3214 c	Jewel × Sprinter	–	–	–	–	–	–	–
36	3190	Sanibel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	–
37	3190	Sanibel × Ferrari	–	+	–	–	–	–	+
38	3190	Sanibel × Ferrari	–	–	+	–	–	–	–
39	3190	Sanibel × Ferrari	–	–	–	–	–	–	+
40	3233	Kibitz × Labadia	–	–	–	–	–	–	+
41	3208	Carmen × Caprice	–	–	–	–	–	–	+
42	3208	Carmen × Caprice	–	–	–	–	–	–	+
43	3208	Carmen × Caprice	–	–	–	–	–	–	+
44	3208	Carmen × Caprice	–	+	–	–	–	–	–
45	3208	Carmen × Caprice	–	+	+	–	–	–	–
46	3208	Carmen × Caprice	–	–	–	–	–	–	–

Note. –/+ means that marker present/absent; PVY – Y virus / PVX – X potato virus.

Результаты (Results)

Для диагностики скрытой вирусной инфекции был использован метод ОТ-ПЦР-РВ. В процессе лабораторного исследования удалось установить присутствие вирусной инфекции в картофеле. Использование данного метода, основанного на качественной и количественной полимеразной цепной реакции, позволило не только идентифицировать вирус, но и определить его нагрузку в образцах, что имеет большое значение для работы. ПЦР-диагностика проводилась в соответствии с инструкцией производителя наборов для тестирования. В каждом наборе имеется положительный контрольный образец (ПКО), который необходим для определения специфичности набора, и отрицательный контрольный образец (ОКО) для подтверждения отсутствия в реакционной смеси контаминации. Значения порогового цикла, полученные методом ПЦР-РВ-ОТ, представлены в таблице 2. Следует учитывать, что интенсификация вирусных частиц в образце напрямую соотносится с количеством ранних циклов, необходимых для обнаружения РНК вируса. По результатам анализа полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) удалось идентифицировать наличие вируса картофельной Y-формы (PVY) в шести различных генотипах картофеля, представленных в таблице 2. В результате ПЦР-РВ-анализа зараженным вирусом PVX был один образец – гибрид 3190 (таблица 2). Наличие вирусной РНК указывает на необходимость усиленного мониторинга и проведения профилактических мероприятий для предотвращения дальнейшего распространения вируса среди исследуемых генотипов картофеля.

Важно отметить, что дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение взаимодействия вируса с генетическими характеристиками различных сортов и гибридов картофеля, что позволит разработать более эффективные стратегии защиты и повышения урожайности. Эти результаты подчеркивают значимость молекулярных методов диагностики сельскохозяйственных культур, способствующих более глубокому пониманию вирусных заболеваний в растениях и формированию устойчивых сортов.

Исследования показывают, что устойчивые сорта способны минимизировать распространение вируса, что, в свою очередь, укрепляет здоровье

растений на всех этапах их развития. Комплексный подход к селекции, включающий генетический анализ, молекулярные методы, а также традиционное скрещивание, открывает новые горизонты в борьбе с вирусными инфекциями. Особенно важным является привлечение местных сортов, обладающих природной устойчивостью, что способствует сохранению биологического разнообразия и устойчивости агроэкосистем.

По результатам молекулярно-генетического анализа на присутствие генов *Ry_{adg}*, *Ry_{sto}*, отвечающих за устойчивость к вирусу PVY, имеющую наибольшую селекционную ценность, они встречаются редко.

Среди исследуемых образцов картофеля STS-маркер YES3-3A гена *Ry_{sto}* и маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}*, контролирующий устойчивость к вирусу PVY, интрогрессированного от аллотетраплоидного вида *S. stoloniferum*, не были выявлены в исследуемых образцах картофеля. У 9 гибридных образцов картофеля выявлен ген *Rychc* маркера Ry186.

Молекулярные маркеры M45 и M6 гена *Ryadg* выявлены у 9 (3273с, 3254, 3267, 3278, 3244, 3195, 3195, 3190, 3208) и 6 (3235, 3254, 3267, 3278, 3195, 3195) генотипов картофеля. Вирус картофеля PVX гена RX1 в исследуемой выборке с использованием маркера PVX не выявлен, но зато выявлен у 17 образцов маркером 5RX1, которые можно использовать в качестве исходного ценного материала для дальнейшей гибридизации.

Таким образом, метод молекулярного анализа (МОС) представляет собой действенный подход к разработке генотипов картофеля, обладающих определенными характеристиками в борьбе с вирусной инфекцией.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

С учетом множества различных вирусов, влияющих на картофель, вопрос защиты этой культуры имеет большое экономическое значение. Применение молекулярных технологий может значительно улучшить эффективность мониторинга вирусной инфекции, позволяя не только быстро выявлять ее наличие, но и точно определить виды вирусов. Исследовательские результаты выявили генотипы картофеля, которые имеют наибольший потенциал для дальнейшего селекционного процесса. Эти генотипы обладают комплексом генов, отвечающих за устойчивость к вирусам PVX и PVY.

Библиографический список

1. Бирюкова В. А., Жарова В. А., Чалая Н. А., Шмыгля И. В., Рогозина Е. В. Молекулярные маркеры как инструмент в селекции на устойчивость к Y-вирусу картофеля // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2022. Т. 23, № 6. С. 777–787. DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.6.777-787.
2. Гавриленко Т. А., Клименко Н. С., Алпатьева Н. В., Костина Л. И., Лебедева В. А., Евдокимова З. З., Апаликова О. В., Новикова Л. Ю., Антонова О. Ю. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по типам цитоплазм // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23, № 6. С. 753–764. DOI: 10.18699/VJ19.534.

3. Elison G. L., Hall D. G., Novy R. G., Whitworth J. L. Development and Application of a Multiplex Marker Assay to Detect PVY Resistance Genes in *Solanum tuberosum* // *American Journal of Potato Research*. 2020. Т. 97. С. 289–296. DOI: 10.1007/s12230-020-09777-1.
4. Фролова Т. С., Черенко В. А., Силицына О. И., Кочетов А. В. Генетические аспекты устойчивости картофеля к фитофторозу // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021. Т. 25, № 2. С. 164–170. DOI: 10.18699/VJ21.020.
5. Chung I.M., Venkidasamy B., Upadhyaya C. P., Packiaraj G., Rajakumar G., Thiruvengadam M. Alleviation of *Phytophthora infestans* mediated necrotic stress in the transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) with enhanced ascorbic acid accumulation // *Plants (Basel)*. 2019. Vol. 8, No. 10. Article number 365. DOI: 10.3390/plants8100365.
6. Zlobin I. E., Pashkovskiy P. P., Kartashov A. V., Nosov A. V., Fomenkov A. A., Kuznetsov V. V. The relationship between cellular Zn status and regulation of Zn homeostasis genes in plant cells // *Environmental and Experimental Botany*. 2020. Vol. 176. Article number 104104. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2020.104104.
7. Asano K., Shimosaka E., Yamashita Y., et al. Improvement of diagnostic markers for resistance to *Globodera pallida* and application for selection of resistant germplasms in potato breeding // *Breed*. 2021. Vol. 71. Pp. 354–364. DOI: 10.1270/jsbbs.20134.
8. Gavrilenko T. A., Khiutti A. V., Klimenko N. S. Phenotypic and DNA marker-assisted characterization of russian potato cultivars for resistance to potato cyst nematodes // *Agronomy*. 2021. No. 11. Article number 2400. DOI: 10.3390/agronomy11122400.
9. Blatnik E., Horvat M., Berne S., Humar M., Dolničar P., Meglič V. Late blight resistance conferred by Rpi-Smira2/R8 in potato genotypes in vitro depends on the genetic background // *Plants*. 2022. Vol. 11. Article number 1319. DOI: 10.3390/plants11101319.
10. Mwangi J. M., Niere B., Finckh M. R., Krussel S., Kiewnick S. Reproduction and life history traits of a resistance breaking *Globodera pallida* population // *Journal of Nematology*. 2019. No. 51. DOI: 10.21307/jofnem-2019-079.
11. Niragire I., Couvreur G., Karssen G., Uwumukiza B., Bert W. First report of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* infecting potato (*Solanum tuberosum*) in Rwanda // *Plant Disease*. 2019. No. 104. Pp. 293–296. DOI: 10.1094/pdis-04-19-0891-pdn.
12. Ochola J. A., Cortada L., Ng'ang'a M., Hassanali A., Coyne D., Torto B. Mediation of potato-potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis* interaction by specific root exudate compounds // *Frontiers in Plant Science*. 2020. No. 11. Article number 649. DOI: 10.3389/fpls.2020.00649.
13. Wright K. M. et al. Transcriptome analysis of the sugarcane cyst nematode *Heterodera sacchari* shows signatures of adaptation to a monocot host // *The Plant Journal*. 2020. No. 103. Pp. 1263–1274. DOI: 10.1111/tbj.14910.
14. Mburu H., Cortada L., Haukeland S., Ronno W., Nyongesa M., Kinyua Z. Potato cyst nematodes: a new threat to potato production in East Africa // *Frontiers in Plant Science*. 2020. No. 11. Article number 670. DOI: 10.3389/fpls.2020.00670.
15. Bhardwaj V., Sood S., Kumar A., Vanishree G., Sharma S., Sundaresha S., Raigond B., Kumar R., Bairwa A., Lal M., Chakrabarti S. K. Efficiency and reliability of marker assisted selection for resistance to major biotic stresses in potato // *Potato Journal*. 2019. Vol. 46, No. 1. Pp. 56–66.

Об авторах:

Ирина Олеговна Газданова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований сельскохозяйственных растений, Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук», Владикавказ, Россия; ORCID 0000-0002-3000-8615, AuthorID 1036581. E-mail: Gazdanovaira2020@gmail.com

Нино Нодаровна Догужева, младший сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований сельскохозяйственных растений, Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук», Владикавказ, Россия; ORCID 0000-0003-365-5166, AuthorID 1036676. E-mail: doguzovanino@yandex.ru

References

1. Biryukova V. A., Zharova V. A., Chalaya N. A., Shmyglya I. V., Rogozina E. V. Molecular markers as tools in breeding for resistance to Potato Virus Y. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2022; 23 (6): 777–787. DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.6.777-787. (In Russ.)
2. Gavrilenko T. A., Klimenko N. S., Alpatieva N. V., Kostina L. I., Lebedeva V. A., Evdokimova Z. Z., Apalikova O. V., Novikova L. Y., Antonova O. Yu. Cytoplasmic genetic diversity of potato varieties bred in Russia

and FSU countries. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019; 23 (6): 753–764. DOI: 10.18699/VJ19.534. (In Russ.)

3. Elison G. L., Hall D. G., Novy R. G., Whitworth J. L. Development and Application of a Multiplex Marker Assay to Detect PVY Resistance Genes in *Solanum tuberosum*. *American Journal of Potato Research*. 2020; 97: 289–296. DOI: 10.1007/s12230-020-09777-1

4. Frolova T. S., Cherenko V. A., Sinitsyna O. I., Kochetov A. V. Genetic aspects of potato resistance to phytophthora. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021; 25 (2): 164–170. DOI: 10.18699/VJ21.020. (In Russ.)

5. Chung I. M., Venkidasamy B., Upadhyaya C. P., Packiaraj G., Rajakumar G., Thiruvengadam M. Alleviation of *Phytophthora infestans* mediated necrotic stress in the transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) with enhanced ascorbic acid accumulation. *Plants*. 2019; 8 (10): 365. DOI: 10.3390/plants8100365.

6. Zlobin I. E., Pashkovskiy P. P., Kartashov A. V., Nosov A. V., Fomenkov A. A., Kuznetsov V. V. The relationship between cellular Zn status and regulation of Zn homeostasis genes in plant cells. *Environmental and Experimental Botany*. 2020; 176: 104104. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2020.1041049.

7. Asano K., Shimosaka E., Yamashita Y., et al. Improvement of diagnostic markers for resistance to *Globodera pallida* and application for selection of resistant germplasms in potato breeding. *Breed.* 2021; 71: 354–364. DOI: 10.1270/jsbbs.20134.

8. Gavrilenko T. A., Khiutti A. V., Klimenko N. S. Phenotypic and DNA Marker-Assisted Characterization of Russian Potato Cultivars for Resistance to Potato Cyst Nematodes. *Agronomy*. 2021; 11: 2400. DOI: 10.3390/agronomy11122400.

9. Blatnik E., Horvat M., Berne S., Humar M., Dolničar P., Meglič V. Late blight resistance conferred by Rpi-Smira2/R8 in potato genotypes in vitro depends on the genetic background. *Plants*. 2022; 11: 1319. DOI: 10.3390/plants11101319.

10. Mwangi J. M., Niere B., Finckh M. R., Krussel S., Kiewnick S. Reproduction and life history traits of a resistance breaking *Globodera pallida* population. *Journal of Nematology*. 2019; 51. DOI: 10.21307/jofnem-2019-079.

11. Niragire I., Couvreur G., Karssen G., Uwumukiza B., Bert W. First report of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* infecting potato (*Solanum tuberosum*) in Rwanda. *Plant Disease*. 2019; 104: 293. DOI: 10.1094/pdis-04-19-0891-pdn.

12. Ochola J. A., Cortada L., Ng'ang'a M., Hassanali A., Coyne D., Torto B. Mediation of potato–potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis* interaction by specific root exudate compounds. *Frontiers in Plant Science*. 2020; 11: 649. DOI: 10.3389/fpls.2020.00649.

13. Wright K. M., et al. Transcriptome analysis of the sugarcane cyst nematode *Heterodera sacchari* shows signatures of adaptation to a monocot host. *The Plant Journal*. 2020; 103: 1263–1274. DOI: 10.1111/tpj.14910.

14. Mburu H., Cortada L., Haukeland S., Ronno W., Nyongesa M., Kinyua Z. Potato cyst nematodes: a new threat to potato production in East Africa. *Frontiers in Plant Science*. 2020; 11: 670. DOI: 10.3389/fpls.2020.00670

15. Bhardwaj V., Sood S., Kumar A., Vanishree G., Sharma S., Sundaresha S., Raigond B., Kumar R., Bairwa A., Lal M., Chakrabarti S. K. Efficiency and reliability of marker assisted selection for resistance to major biotic stresses in potato. *Potato Journal*. 2019; 46 (1): 56–66.

Authors' information:

Irina O. Gazdanova, candidate of agricultural sciences, researcher of the laboratory of molecular genetic studies of agricultural plants, Federal Scientific Center “Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Vladikavkaz, Russia; ORCID 0000-0002-3000-8615, AuthorID 1036581.

E-mail: Gazdanovaira2020@gmail.com

Nino N. Doguzova, junior researcher of the laboratory of molecular genetic research of agricultural plants, Federal Scientific Center “Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Vladikavkaz, Russia; ORCID 0000-0003-365-5166, AuthorID 1036676. E-mail: doguzovanino@yandex.ru