

УДК 635.21:631.524

Н. В. Русецкий, кандидат биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник

И. А. Михалькович, доцент, старший научный сотрудник

Д. В. Башко, научный сотрудник

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»,
аг. Самохваловичи, Минский район

СКРИНИНГ НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К S- И М-ВИРУСАМ СРЕДИ ДИКИХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты исследований по оценке образцов диких видов картофеля, поддерживаемых как клубневым репродуктивным, так и in vitro в коллекции РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству», на устойчивость к S- и M-вирусам и выделению источников устойчивости к этим патогенам. По данным проведенных исследований выделен ряд устойчивых форм, которые могут быть использованы в селекции картофеля на вирусоустойчивость.

Ключевые слова: картофель; устойчивость; дикий вид; образец; S-вирус картофеля; M-вирус картофеля; инокуляция; ген устойчивости; ИФА; маркер; ДНК; ПЦР.

ВВЕДЕНИЕ

Картофель, в отличие от большинства основных сельскохозяйственных культур, изобилует большим количеством диких родичей, представленных, согласно данным J. G. Hawkes, 232 видами и 22 подвидами [1]. Без обогащения генетической базы исходного материала генами дикорастущих видов, которые вследствие длительной коэволюции с патогенами и вредителями выработали генетически детерминированные механизмы защиты и являются неисчерпаемым источником ценной для селекции культуры гермоплазмы, невозможно создание конкурентоспособных сортов картофеля [1–3].

Вирусные болезни картофеля представлены большим видовым разнообразием, при этом имея широкий повсеместный ареал распространения, наносят культуре картофеля значительный ущерб.

По данным фитовирусологического мониторинга, проводимого в 2005–2020 гг., пораженность посадок картофеля в картофелеводческих организациях различных форм собственности составляет: PVM – от 22,3 до 72,9 %, PVS – от 32,0 до 55,2 % [4]. Сложность создания устойчивых к M- и S-вирусам исходных форм и сортов в первую очередь обусловлена отсутствием или незначительным количеством надежных генетических источников этого признака как среди диких видов, так и внутри вида *Solanum tuberosum*.

Исходя из сведений, приведенных в литературных источниках, до настоящего времени у картофеля рода *Solanum* выявлено два типа доминантных генов устойчивости к PVM. Один из них ген *Rm*, отвечающий за гиперчувствительную некротическую реакцию (HS – hyper sensitivity), происходящий от *S. megistacrolobum* [5]. Второй ген *Gm* выявлен у некоторых образцов *S. gurlayi*, который обеспечивает устойчивость

к инфекции, связанную с медленным размножением и медленным системным распространением вируса в растениях [6, 7]. Помимо этого устойчивые к М-вирусу образцы были выделены среди видов *S. stoloniferum* и *S. microdontum* [8].

В селекции на устойчивость к S-вирусу в основном используется тип устойчивости, связанный со сверхчувствительной реакцией, которая была обнаружена у боливийской линии PI 258907 (*ssp andigena*) и обусловлена одним доминантным геном *Ns*. Получены сорта картофеля, содержащие этот ген – Ssignal, Fantasia, Adretta, Barycz, Klepa, Meduza, Omulew и др. [5].

В настоящее время требования потребительского рынка значительно возросли в связи с расширением числа признаков, по которым ведется подбор, гибридизация и отбор селекционного материала. Поэтому существует постоянная необходимость в расширении генетического разнообразия исходного материала для различных направлений селекции и повышения частоты встречаемости гетерогенных генотипов получаемого потомства. Для успешной селекции необходимым условием является наличие надежных источников устойчивости к патогену с эффективными генами, контролирующими этот признак.

В современной практике для ускорения и упрощения селекционного процесса во всем мире используются инновационные методы молекулярной биологии, основанной на использовании молекулярных маркеров генов устойчивости к различным вирусам. Использование ДНК-маркеров позволяет проводить оценку селекционного материала по генотипу как при подборе родительских форм, так и в процессе отбора и оценки полученных гибридов одновременно к нескольким патогенам.

В мировых центрах генетических ресурсов картофеля собрана и хранится богатейшая коллекция диких, примитивных и культурных видов картофеля. Изучение диких видов в Республике Беларусь по устойчивости к патогенам вирусной этиологии, а также выделение из их числа устойчивых образцов и создание на их основе исходного материала и сортов с комплексной устойчивостью к болезням позволит значительно снизить затраты, связанные с защитой посадок картофеля от болезней и улучшить экологическую ситуацию, повысив при этом рентабельность картофелеводства.

В связи с этим целью проводимых нами исследований являлось выделение среди диких видов картофеля источников устойчивости к вирусам PVS и PVM.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования по оценке диких и культурных видов картофеля на устойчивость к М- и S-вирусам проводили в 2022–2024 гг. Объектом изучения служил биологический материал, полученный из коллекции ВИР (Россия) и коллекции Центра генетических ресурсов картофеля (США). Всего за три года исследований на устойчивость к вирусам с применением биологических и генетических методов анализа был изучен 81 образец 27 диких видов.

Исследуемые на устойчивость к вирусам образцы диких и культурных видов высаживали в условиях защищенного грунта в горшечной культуре по 3–5 растений на образец. При наступлении фазы полных всходов и наличии 2–3 пар листьев испытываемые образцы инфицировали вирусной инфекцией путем механической инокуляции. Листья исследуемых образцов вначале опудривали карборундом, далее приготовленный инокулюм втирали в них с помощью поролоновой губки, а затем смывали дистиллированной водой, через неделю после первой инокуляции растения повторно инфицировали.

Для получения инокулюмов S- и М-вирусы размножали и накапливали на растениях *Lycopersicon esculentum* Mill. (сорт Невский). Инокулюм готовили путем растирания

инфицированных листьев в фарфоровой ступке. С целью стабилизации вирусов (МБК, SBK) сок смешивали с фосфатным буфером pH 7,2 в соотношении 1 : 1 [9, 10].

Диагностику вирусов в исследуемых растениях осуществляли визуально и методом ИФА в период бутонизации-цветения растений. Те образцы диких видов картофеля, которые остались свободными от вирусной инфекции после 2-кратного искусственного заражения с использованием механической инокуляции, по результатам тестирования методом ИФА считали устойчивыми.

С целью проведения генотипирования исследуемых форм диких видов ДНК образцов выделяли из зеленых свежесобранных листьев, взятых из среднего яруса куста. Выделение из растений *in vivo* геномной ДНК осуществляли с помощью наборов реагентов для выделения ДНК «Нуклеосорб» комплектация «С» производства ОДО «Праймтех» (Республика Беларусь) согласно протоколу производителя. Праймеры, использованные в работе, были синтезированы в ОДО «Праймтех». Качество полученной ДНК определяли проведением ПЦР-реакции с праймерами ВСН, являющимися внутренним положительным контролем, амплифицирующимися у любых образцов картофеля.

Скрининг образцов на наличие генов устойчивости *Gm*, *Rm* и *Ns* к S- и М-вирусам картофеля осуществляли с использованием ПЦР-маркеров. Ген *Ns*, отвечающий за устойчивость к S-вирусу картофеля, у исследуемых генотипов определяли с помощью SCAR-маркера SCG17₃₂₁, ISSR-маркера UBC811₆₆₀ и CAPS-маркера SC811₂₆₀. Присутствие гена *Gm* устанавливали с использованием SCAR-маркера SC878₈₈₅, гена *Rm* – UBC822₁₀₇₉ (ISSR), GP250₅₁₀, GP283₃₂₀ (CAPS).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка образцов диких видов картофеля по фенотипической устойчивости к S- и М-вирусам. Исследования по поиску новых источников устойчивости к SBK и МБК среди диких видов начинали проводить в феврале, для этого в условиях климакамеры селекционно-гибридного модуля были высажены растения-инфекторы с целью получения инфекции М- и S-вирусов. Клубневой материал, содержащий моноинфекцию соответствующих вирусов (каждый в отдельности), высаживали в 2-литровые сосуды, наполненные торфяным субстратом. Для проведения инфицирования использовали по 2 изолята на каждый исследуемый вирус. За высаженными растениями осуществляли регулярный уход, заключающийся в своевременном поливе, подкормке и подвешивании к опорам. Контроль чистоты вирусной инфекции был осуществлен методом ИФА, который проводили в лаборатории иммунодиагностики картофеля Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по картофелеводству и плодовоовощеводству. В результате были отобраны растения-инфекторы, содержащие моноинфекцию S- и М-вирусов в высокой концентрации.

Для накопления вирусной инфекции и получения инокулюмов вирусов также в условиях климакамеры были высеяны семена растений накопителей (*Lycopersicon esculentum* L. сорт Невский и сорт Сказка), распикирована полученная рассада и проведено инфицирование S- и М-вирусами, каждым в отдельности.

С целью выделения устойчивых к S- и М-вирусам образцов диких видов в условиях защищенного грунта селекционно-гибридного модуля проводили искусственное их инфицирование соответствующими вирусами путем 2-кратной механической инокуляции. Для этого в период вегетации в стеллажной теплице высаживали по 3–5 растений на образец в 2-литровые сосуды, наполненные торфяным субстратом. Проводили регулярный полив. Инфицирование исследуемых образцов осуществляли при наличии у них 2–4 пар настоящих листьев. Спустя 6 недель в лаборатории иммунодиагностики

**РАЗДЕЛ 1. СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО
КАРТОФЕЛЯ И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР**

картофеля проводили иммуноферментный анализ листовых проб исследуемых образцов на наличие пораженности их скрытой вирусной инфекцией PVS и PVM.

В результате выполненного иммуноферментного анализа в 2022 г. выявлено 4 высокоустойчивых образца к S-вирусу, к М-вирусу выделен лишь один относительно высокоустойчивый образец с поражением этим патогеном на 25,0 % (табл. 1).

Остальные же образцы изучаемой выборки были поражены исследуемыми вирусами S и М на 100 %, за исключением образца АЗ вида *S. andigenum*, который был поражен S-вирусом на 50,0 %, и образца Л70-4 вида *S. verrucosum* – содержал инфекцию этого же патогена на уровне 66,7 %.

Таблица 1 – Результаты тестирования образцов диких видов картофеля на содержание латентной вирусной инфекции (ИФА), 2022–2023 гг.

Образец	Дикий вид картофеля	Содержание вируса, %	
		SBK	MBK
2022 г.			
Л76-22	<i>Solanum vernei</i>	100	100
Л57-7	<i>Solanum pinnatisectum</i>	100	100
Л84-8	<i>Solanum hondelmannii</i>	100	25,0
Л75-15	<i>Solanum vernei</i>	100	100
D54	<i>Solanum vernei</i>	100	100
Л32-10	<i>Solanum stoloniferum</i>	100	100
Л32-5	<i>Solanum stoloniferum</i>	100	100
A3	<i>Solanum andigenum</i>	50,0	100
Л46-17	<i>Solanum acaule</i>	100	100
Л50-3	<i>Solanum berthaultii</i>	0	100
Л77-42	<i>Solanum tarijense</i>	0	100
Л70-4	<i>Solanum verrucosum</i>	66,7	100
chc71-7	<i>Solanum chacoense</i>	0	100
1-11 ber	<i>Solanum berthaultii</i>	20,0	100
Л46-19	<i>Solanum acaule</i>	100	100
Cnd64-1	<i>Solanum candolleianum</i>	100	100
Cnd70-1	<i>Solanum candolleianum</i>	100	100
Cnd95-1	<i>Solanum candolleianum</i>	100	100
Cnd56-1	<i>Solanum candolleianum</i>	100	100
Blv034-5	<i>Solanum boliviense</i>	100	100
Blv034-7	<i>Solanum boliviense</i>	100	100
Л31-41	<i>Solanum demissum</i>	100	100
2023 г.			
med60-1	<i>Solanum medians</i>	0	50,0
med94-1	<i>Solanum medians</i>	0	0
med60-4	<i>Solanum medians</i>	0	100
Л84-8	<i>Solanum hondelmannii</i>	100	33,3
Л41-3	<i>Solanum hougasii</i>	0	0
Л41-2	<i>Solanum hougasii</i>	0	100
Л50-3	<i>Solanum berthaultii</i>	0	100
Л77-42	<i>Solanum tarijense</i>	0	100
Л78-70	<i>Solanum spgazzinii</i>	0	0
stp60-1	<i>Solanum stipuloideum</i>	50,0	0
stp473458-6	<i>Solanum stipuloideum</i>	0	100
1-11	<i>Solanum berthaultii</i>	20,0	50,0

**РАЗДЕЛ 1. СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО
КАРТОФЕЛЯ И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР**

По данным иммуноферментного анализа, в 2023 г. выявлено 9 высокоустойчивых образцов к S-вирусу: 3 образца вида *S. medians*, 2 – *S. hougassii*, 1 – *S. berthaultii*, 1 – *S. tarijense*, 1 – *S. spgazzinii* и 1 – *S. stipuloideum*. К М-вирусу выделено 4 относительно высокоустойчивых образца: *S. medians*, *S. hougassii*, *S. spgazzinii*, *S. stipuloideum* и 1 среднеустойчивый *S. hondelmannii*, пораженный этим патогеном на 33,3 % (см. табл. 1). Остальные же образцы были поражены исследуемыми вирусами S и М на 100 %, за исключением следующих: 1-11 вида *S. berthaultii* были поражены S-вирусом на 20,0 %, а med60-1 (*S. medians*) и 1-11 вида *S. berthaultii* содержали инфекцию М-вируса на уровне 50,0 %.

Таким образом, в 2022 г. образцы изученной выборки в основном оказались в значительной степени восприимчивы к вирусной инфекции PVS и PVM, за исключением Л77-42, chс71-7, Л50-3 и 1-11 бер, показавших высокую устойчивость к S-вирусу, и Л84-8 относительно высокоустойчивый к М-вирусу, а в 2023 г. в значительной степени восприимчивы к вирусной инфекции PVM, за исключением med94-1, Л41-3, Л78-70 и str60-1, показавших высокую устойчивость к этому патогену и в большинстве своем высокоустойчивых к S-вирусу.

В изучаемой выборке 2024 г. по результатам искусственного инфицирования и применения иммуноферментного анализа выявлено 4 высокоустойчивых образца к S-вирусу: 2 образца вида *S. trifidum* (trf40-7 и trf42-1), 1 – *S. medians* (med94-1) и 1 – *S. huancabambense* (P458400-2), а также 1 среднеустойчивый образец вида *S. medians* (med60-11), пораженный этим патогеном на 33,3 %. К М-вирусу выделено 7 относительно высокоустойчивых образцов, из них 6 образцов вида *S. medians* (med95-8, med95-9, med60-10, med60-11, med60-12 и med94-1) и 1 – *S. stipuloideum* (stp60-1) (табл. 2).

Таблица 2 – Результаты тестирования образцов диких видов картофеля на содержание латентной вирусной инфекции (ИФА), 2024 г.

Образец	Дикий вид картофеля	Содержание вируса, %	
		SBK	MBK
trf41-3	<i>Solanum trifidum</i>	100	50,0
trf41-5	<i>Solanum trifidum</i>	100	100
trf41-2	<i>Solanum trifidum</i>	100	100
trf40-7	<i>Solanum trifidum</i>	0	100
trf42-1	<i>Solanum trifidum</i>	0	100
stp60-1	<i>Solanum stipuloideum</i>	75,0	0*
med95-8	<i>Solanum medians</i>	100	0
med95-9	<i>Solanum medians</i>	100	0
med60-10	<i>Solanum medians</i>	66,6	0
med60-11	<i>Solanum medians</i>	33,3	0
med60-12	<i>Solanum medians</i>	100	0
med94-1	<i>Solanum medians</i>	0*	0*
Л61-9	<i>Solanum pinnatisectum</i>	100	100
Л61-10	<i>Solanum pinnatisectum</i>	100	100
Л61-14	<i>Solanum pinnatisectum</i>	100	100
Л76-16	<i>Solanum vernei</i>	100	100
Д24	<i>Solanum emmeae</i>	100	100
P458400-2	<i>Solanum huancabambense</i>	0	100
Л78-70	<i>Solanum spgazzinii</i>	0/66,6**	0/100**
Л41-3	<i>Solanum hougassii</i>	0/80,0**	0/100**
Л41-2	<i>Solanum hougassii</i>	0/100**	100

* Подтвержденные в 2024 г. данные по устойчивости к вирусам, полученные в 2023 г.

** Поразились вирусами на второй год испытания, в 2024 г.

**РАЗДЕЛ 1. СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО
КАРТОФЕЛЯ И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР**

Остальные же образцы являлись очень восприимчивыми и были поражены исследуемыми вирусами S и М на 100 %, за исключением следующих: образец str60-1 вида *S. stipuloideum* был поражен на 75,0 %, а образцы med60-10 (*S. medians*) и Л78-70 (*S. spgazzinii*) на 66,6 % S-вирусом; образец trf41-3 (*S. trifidum*) на 50,0 % М-вирусом.

Среди исследуемого материала выделено 2 образца med94-1 (*S. medians*) и str60-1 (*S. stipuloideum*), которые в течение двух лет инфицирования подтвердили высокую устойчивость к М-вирусу, и med94-1 (*S. medians*) и Л50-3 (*S. berthaultii*) – к S-вирусу. В то же время образцы Л78-70 (*S. spgazzinii*), Л41-3 и Л41-2 (*S. hougasii*) в условиях вторичной инфекции поразились S- и М-вирусами от 66,6 до 100 %.

Таким образом, среди 21 образца данной выборки отмечена значительная степень восприимчивости к вирусной инфекции PVS и PVM, из них выделено 4 формы 3-х диких видов, показавших высокую устойчивость к S-вирусу, и 7 форм 2-х диких видов – к М-вирусу.

Скрининг образцов диких видов картофеля на наличие ПЦР-маркеров генов устойчивости к S- и М-вирусам картофеля. Для осуществления генотипирования признака устойчивости к PVS и PVM в 2022–2023 гг. проводили ПЦР-маркирование генов устойчивости к этим вирусам у 50 образцов диких видов картофеля. Для этого было выделено ДНК этих форм в рабочую коллекцию.

Скрининг образцов на наличие генов устойчивости *Gm*, *Rm* и *Ns* к S- и М-вирусам картофеля осуществляли с использованием специфических ПЦР-маркеров. Присутствие гена *Ns*, отвечающего за устойчивость к S-вирусу картофеля, устанавливали с помощью SCAR-маркера SCG17₃₂₁, ISSR-маркера UBC811₆₆₀ и CAPS-маркера SC811₂₆₀. Наличие гена *Gm* определяли с использованием SCAR-маркера SC878₈₈₅, гена *Rm* – UBC822₁₀₇₉ (ISSR), GP250₅₁₀, GP283₃₂₀ (CAPS).

Данные по молекулярному скринингу генов, отвечающих за устойчивость к вирусам картофеля S и М у исследуемых образцов картофеля, представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты молекулярного скрининга генов, отвечающих за устойчивость к S- и М-вирусам картофеля, 2022–2023 гг.

Образец	Вирус картофеля S			Вирус картофеля М			
	ген <i>Ns</i>			ген <i>Gm</i>	ген <i>Rm</i>		
	SCG17 ₃₂₁	UBC811 ₆₆₀	SC811 ₂₆₀ (BstKT I)	SC878 ₈₈₅	UBC822 ₁₀₇₉	GP283 ₃₂₀ (BstDE I)	GP250 ₅₁₀ (Acs I)
col 24-1	+	+	–	+	–	–	+
col 24-2	+	+	–	+	–	–	+
col 24-2	+	+	–	+	–	–	+
col 24-9	+	+	–	+	–	–	+
hcb 06-3	+	–	+	+	–	+	+
hcb 06-8	+	–	–	+	–	–	+
chc 59-1	+	+	–	–	–	–	+
chc 59-4	+	+	–	–	–	–	–
chc 71-7	+	+	–	–	–	–	–
trf 04-1	+	–	+	–	+	–	–
trf 04-2	+	–	+	–	+	–	–
trf 04-3	+	–	+	–	+	–	–
blv 034-5	+	+	–	+	+	–	–
blv 034-7	+	+	–	+	+	–	–
stp 60-1	+	+	–	+	+	–	+
stp 60-6	+	+	–	+	+	–	+
stp 58-6	+	+	–	+	+	–	+

**РАЗДЕЛ 1. СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО
КАРТОФЕЛЯ И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР**

Окончание таблицы 3

Образец	Вирус картофеля S			Вирус картофеля M			
	ген <i>Ns</i>			ген <i>Gm</i>	ген <i>Rm</i>		
	SCG17 ₃₂₁	UBC811 ₆₆₀	SC811 ₂₆₀ (BstKT I)	SC878 ₈₈₅	UBC822 ₁₀₇₉	GP283 ₃₂₀ (BstDE I)	GP250 ₅₁₀ (Acs I)
stp 58-6	+	+	—	+	+	—	+
iop 99-1	+	+	+	+	—	+	—
iop 99-2	+	+	+	+	—	—	—
iop 99-3	+	+	+	+	—	—	—
iop 99-7	+	+	+	+	—	—	—
iop 44-1	+	+	+	+	—	—	—
med 60-1	+	+	+	+	—	—	+
med 60-2	+	+	+	+	—	+	—
med 60-3	+	+	—	+	—	+	—
med 60-4	+	+	—	+	—	—	+
med 60-7	+	—	—	+	—	—	—
med 94-1	+	+	—	+	—	+	+
med 94-2	+	+	—	+	—	—	+
med 94-3	+	+	—	+	—	+	—
med 94-10	+	+	—	+	—	—	+
Л 76-18	+	+	+	+	—	—	—
Л 76-22	+	—	—	+	—	—	—
Л 57-7	+	—	—	—	—	—	—
S. hit 22585-2	+	—	—	—	—	—	—
S. hit 17718-2	+	+	—	—	—	—	—
S. brac 17681y	+	—	—	—	—	—	—
S.acsPI2300495	+	+	—	—	—	—	+
S. brac17681-9	+	+	—	—	—	—	—
S. vern 41/2-3m	+	+	—	+	—	+	—
Ген 41 m	+	—	—	—	—	—	+
Л 84-8	+	—	—	+	—	—	+
med60-1	+	+	—	—	—	—	+
med94-1	+	+	—	+	+	—	+
med60-4	+	+	—	+	+	—	—
Л41-3	+	+	—	—	—	—	—
Л41-2	+	+	—	—	—	+	—
Л50-3	+	—	+	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д
Л77-42	+	—	+	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д

Так, в результате проведенных исследований определяемый маркер к гену *Ns* – UBC811₆₆₀ выявлен у 72,1 % протестированных образцов диких видов картофеля. Используемый второй маркер для идентификации этого же гена SC811₂₆₀ обнаружен у 27,9 % форм. Маркер SCG17₃₂₁ показал присутствие у всех изучаемых образцов. Наличие всех трех маркеров к гену *Ns* отмечено у 8 образцов, что составляет 18,6 % от числа изученных по данному вирусу образцов. К ним относятся 5 форм (iop 99-1, iop 99-2, iop 99-3, iop 99-7, iop 44-1) дикого вида *S. iopetalum*, 2 (med 60-1, med 60-2) – *S. medians* и 1 (Л76-18) – *S. vernei*.

Для выявления генов, отвечающих за устойчивость к М-вирусу картофеля, использование SCAR-маркера SC878₈₈₅ показало положительный результат у 69,8 % образцов, а ISSR-маркера UBC822₁₀₇₉ лишь у 20,9 %. Присутствие в геноме ДНК-маркеров GP283₃₂₀ и GP250₅₁₀, ассоциированных с изучаемым признаком устойчивости к PVM, было

**РАЗДЕЛ 1. СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО
КАРТОФЕЛЯ И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР**

отмечено у 16,3 и 44,2 % образцов соответственно. Наличие в генотипе 3 маркеров устойчивости к МВК – SC878₈₈₅, UBC822₁₀₇₉ и GP250₅₁₀ выявлено у 6 форм: 4 (stp 60-1, stp 60-6, stp 58-5 и stp 58-6) вида *S. stipuloideum*, 1 (hcb06-3) – *S. huancambense* и 1 форма (med 94-1) вида *S. medians*.

Присутствие одновременно 5 S- и M- ДНК-маркеров отмечено в 10 образцах (20,8 %). Наличие 4 маркеров отмечено в 17 образцах диких видов (35,4 %). Все 7 изучаемых маркеров не отмечены ни у одного из исследуемых образцов.

В результате проведенных исследований по данным анализа искусственного инфицирования и молекулярного скрининга выявлено 4 образца среди видов *S. berthaultii* (Л50-3), *S. tarijense* (Л77-42), *S. chacoense* (chc71-7) и *S. medians* (med94-1), устойчивых к S-вирусу картофеля как по фенотипической оценке, так и согласно ДНК-маркированию, несущих в своем генотипе ген *Ns*.

В 2024 г. ПЦР-маркирование генов устойчивости к PVS и PVM проводили у 21 образца диких видов картофеля. Для этого было выделено ДНК этих форм в рабочую коллекцию. Скрининг образцов на наличие генов устойчивости *Gm*, *Rm* и *Ns* к S- и M-вирусам картофеля осуществляли с использованием специфических ПЦР-маркеров, подобранных ранее.

Данные по молекулярному скринингу генов, отвечающих за устойчивость к вирусам картофеля S и M у исследуемых образцов картофеля, представлены в таблице 4.

Так, в результате проведенных исследований определяемый маркер к гену *Ns* – SCG17₃₂₁ в изучаемой выборке был выявлен у 100 % протестированных образцов диких

Таблица 4 – Результаты молекулярного скрининга генов, отвечающих за устойчивость к S- и M-вирусам картофеля, 2024 г.

Образец	Вирус картофеля S			Вирус картофеля M			
	ген <i>Ns</i>			ген <i>Gm</i>	ген <i>Rm</i>		
	SCG17 ₃₂₁	UBC811 ₆₆₀	SC811 ₂₆₀ (BstKT I)	SC878 ₈₈₅	UBC822 ₁₀₇₉	GP283 ₃₂₀ (BstDE I)	GP250 ₅₁₀ (Acs I)
trf41-3	+	0	+	–	–	+	–
trf41-5	+	0	+	–	–	+	–
trf41-2	+	0	+	–	–	+	+
trf40-7	+	0	+	–	–	+	–
trf42-1	+	0	+	–	–	+	+
stp60-1	+	0	–	+	–	+	–
med95-8	+	0	–	–	–	+	+
med95-9	+	0	–	–	+	+	+
med60-10	+	0	–	–	–	+	+
med60-11	+	0	–	–	–	+	+
med60-12	+	0	–	–	–	+	+
Л61-9	+	0	+	–	–	+	+
Л61-10	+	0	+	–	–	+	+
Л61-14	+	0	–	–	–	+	+
Л76-16	+	0	+	–	–	+	+
Д24	+	0	+	–	–	+	+
med94-1	+	+	–	+	–	+	+
P458400-2	+	0	–	–	–	–	+
Л78-70	+	0	–	–	+	+	+
Л41-3	+	+	+	–	+	+	–
Л41-2	+	+	+	–	+	+	–

Примечание. «+» – наличие маркера; «–» – отсутствие маркера; «0» – не определено.

видов картофеля. Однако используемый маркер для идентификации этого же гена SC811₂₆₀ выявлен у 52,4 % изучаемых форм.

Для выявления генов, отвечающих за устойчивость к М-вирусу картофеля, использование SCAR-маркера SC878₈₈₅ показало положительный результат лишь у 1 образца stp60-1 дикого вида *S. stipuloideum*, а ISSR-маркера UBC822₁₀₇₉ – у 19,0 % (med95-9 вида *S. medians*, Л78-70 – *S. spgazzinii*, Л41-3 и Л41-2 – *S. hougassii*). Присутствие в геноме ДНК-маркеров – GP283₃₂₀ и GP250₅₁₀, ассоциированных с изучаемым признаком устойчивости к PVM, было отмечено у 90,5 и 66,7 % образцов соответственно. Наличие в генотипе 3 маркеров устойчивости к MBK (SC878₈₈₅, UBC822₁₀₇₉ и GP250₅₁₀) выявлено у 2 образцов (med95-9 вида *S. medians* и Л78-70 – *S. spgazzinii*) из числа изученных по данному вирусу образцов.

Присутствие одновременно 5 S- и М-ДНК-маркеров отмечено в 3 образцах: Л41-3 и Л41-2 дикого вида *S. hougassii* и med94-1 – *S. medians*. Наличие 4 маркеров выявлено у 8 образцов (trf41-2, trf42-1, med95-9, Л76-16, Л78-70, Д24, Л61-9 и Л61-10). Все 7 изучаемых маркеров не отмечены ни у одного из исследуемых образцов.

Таким образом, по данным анализа искусственного инфицирования и молекулярного скрининга, среди вида *S. medians* выявлено 6 образцов (med95-8, med95-9, med60-10, med60-11, med60-12 и med94-1) и 1 stp60-1 (*S. stipuloideum*), устойчивых к М-вирусу картофеля как по фенотипической оценке, так и согласно ДНК-маркированию, несущих в своем генотипе соответственно ген *Rm*, и у 2 из них (med94-1 и stp60-1) выявлен дополнительно ген *Gm*. Наличие фенотипической устойчивости, подтвержденной присутствием 2 молекулярных маркеров (SCG17₃₂₁ и SC811₂₆₀) гена *Ns*, определено в 3 образцах: trf40-7 и trf42-1 (*S. trifidum*), med94-1 (*S. medians*) и образце P458400-2 (*S. huancabambense*), содержащем маркер SCG17₃₂₁ к этому гену.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненных исследований по поиску новых источников устойчивости к S- и М-вирусам среди диких видов картофеля с использованием искусственного инфицирования и последующим применением иммуноферментного анализа было установлено, что в 2022 г. образцы изученной выборки оказались в значительной степени восприимчивы к вирусной инфекции PVS и PVM, но в то же время некоторые из них – Л77-42 (*S. tarijense*), chc71-7 (*S. chacoense*), Л50-3 и 1-11 ber (*S. berthaultii*) – показали высокую устойчивость к S-вирусу. Образец Л84-8 (*S. hondelmannii*) относительно высокоустойчив к М-вирусу, пораженный этим патогеном на 25,0 %.

В анализируемой выборке исследований, проведенных в 2023 г., по данным иммуноферментного анализа выявлено 9 высокоустойчивых образцов к S-вирусу: 3 образца вида *S. medians* (med94-1, med60-1, med60-4), 2 – *S. hougassii* (Л41-3, Л41-2), 1 – *S. berthaultii* (Л50-3), 1 – *S. tarijense* (Л77-42), 1 – *S. spgazzinii* (Л78-70) и 1 – *S. stipuloideum* (stp473458-6). К М-вирусу выделено 4 относительно высокоустойчивых образца – med94-1 (*S. medians*), Л41-3 (*S. hougassii*), Л78-70 (*S. spgazzinii*), stp60-1 (*S. stipuloideum*) и среднеустойчивый Л84-8 (*S. hondelmannii*), пораженный этим патогеном на 33,3 %.

В изучаемой выборке 2024 г. по данным искусственного инфицирования и применения иммуноферментного анализа выявлено 4 высокоустойчивых образца к S-вирусу: 2 образца вида *S. trifidum* (trf40-7 и trf42-1), 1 – *S. medians* (med94-1) и 1 – *S. huancabambense* (P458400-2), а также 1 среднеустойчивый – *S. medians* (med60-11), пораженный этим патогеном на 33,3 %. К М-вирусу выделено 7 относительно

высокоустойчивых образцов, из них 6 (med95-8, med95-9, med60-10, med60-11, med60-12 и med94-1) вида *S. medians* и 1 (stp60-1) вида *S. stipuloideum*.

Следует отметить, что среди исследуемого материала выделено 2 образца: med94-1 (*S. medians*) и stp60-1 (*S. stipuloideum*), которые в течение двух лет инфицирования подтвердили высокую устойчивость к М-вирусу и 2 – med94-1 (*S. medians*) и Л50-3 (*S. berthaultii*) к S-вирусу. В то же время образцы Л78-70 (*S. spegazzinii*), Л41-3 и Л41-2 (*S. hougasii*) в условиях вторичной инфекции поразились S- и М-вирусами от 66,6 до 100 %.

Проведен скрининг образцов диких видов на наличие генов устойчивости *Gm*, *Rm* и *Ns* к S- и М-вирусам картофеля на основе использования специфических ПЦР-маркеров.

В результате выполненных исследований, по данным анализа искусственного инфицирования и молекулярного скрининга выявлено 6 образцов (med95-8, med95-9, med60-10, med60-11, med60-12 и med94-1) вида *S. medians* и 1 (stp60-1) вида *S. stipuloideum*, устойчивых к М-вирусу картофеля как по фенотипической оценке, так и согласно ДНК-маркированию, несущих в своем генотипе соответственно ген *Rm*, и у 2 из них (med94-1 и stp60-1) – дополнительно ген *Gm*. Наличие фенотипической устойчивости, подтвержденной присутствием 2 молекулярных маркеров (SCG17₃₂₁ и SC811₂₆₀) гена *Ns*, определено в 5 образцах: trf40-7 и trf42-1 (*S. trifidum*), med94-1 (*S. medians*), Л77-42 (*S. tarijense*), Л50-3 (*S. berthaultii*) и образце P458400-2 (*S. huancabambense*), содержащем маркер SCG17₃₂₁ к этому гену.

Список литературы

1. Hawkes, J. G. The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources / J. G. Hawkes. – USA : Smithsonian Institution Press, 1990. – 259 p.
2. Букасов, С. М. Селекция и семеноводство картофеля / С. М. Букасов, А. Я. Камераз. – Л. : Колос, 1972. – 359 с.
3. Росс, Х. Селекция картофеля. Проблемы и перспективы : пер. с англ. / Х. Росс. – М. : Агропромиздат, 1989. – 183 с.
4. Русецкий, Н. В. Изучение образцов диких видов картофеля на устойчивость к вирусам S и M с использованием искусственного заражения и ПЦР-маркирования / Н. В. Русецкий, И. А. Шутинская, В. А. Козлов // V Вавиловская междунар. конф. : к 135-летию со дня рожд. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, 21–25 нояб. 2022 г. : тез. докл. : науч. электр. изд. / ФИЦ Всерос. ин-т генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова ; под общ. ред. Е. К. Хлесткиной, Ю. В. Ухатовой, Е. А. Соколовой. – СПб. : ВИР, 2022. – С. 151–152.
5. Dziewońska, M. Necrotic reaction to Potato virus M in *Solanum stoloniferum* and *Solanum megistacrolobum* / M. Dziewońska, K. Ostrowska // Phytopathol. Zeitschr. – 1977. – Vol. 88. – P. 172–179.
6. Reaction of *Solanum gourlayi* and its hybrids with *S. tuberosum* to potato virus M (PVM) / M. Waš, M. Dziewońska, K. Ostrowska, A. Kowalska // Phytopathol. Zeitschr. – 1980. – Vol. 97. – P. 186–191.
7. Swiezynski, K. M. Inheritance of resistance to potato virus M found in *Solanum gourlayi* Haw / K. M. Swiezynski, M. A. Dziewońska, K. Ostrowska // Genet. Pol. – 1981. – Vol. 22, № 1. – P. 1–8.
8. Swiezynski, K. Parental line breeding in potatoes / K. Swiezynski // Acta biol. ingosl. Ser. F. Suppl. Beogard. – 1983. – № 3. – P. 99–112.
9. Методические указания по созданию и оценке селекционного материала картофеля на устойчивость к штаммам вирусов / ВАСХНИЛ, Отд-ние защиты растений,

Белорус. НИИ защиты растений, Белорус. НИИ картофелеводства и плодоовощеводства ; сост.: А. Л. Амбросов, Ж. В. Блоцкая, Е. М. Счасленок, С. И. Гребенщикова. – М. : ВАСХНИЛ, 1983. – 16 с.

10. Русецкий, Н. В. Изучение наследования устойчивости к вирусам PVY и PVX у потомства исходных форм картофеля, полученных на основе сложных межвидовых гибридов / Н. В. Русецкий, Е. В. Воронкова // Картофелеводство : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр Нац. акад. наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству ; редкол.: С. А. Турко (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2017. – Т. 25. – С. 82–93.

Поступила в редакцию 13.12.2024 г.

N. V. RUSETSKIY, I. A. MIHALKOVICH, D. V. BASHKO

SCREENING NEW SOURCES OF RESISTANCE TO PVS AND PVM AMONG WILD POTATO SPECIES

SUMMARY

The results of studies evaluating samples of wild potato species maintained both through tuber reproduction and in vitro at the collection of the RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Potato, Fruit and Vegetable Growing» are presented. These studies assessed resistance to PVS and PVM and identified sources of resistance to these pathogens. The research identified several resistant forms that can be used in potato breeding for virus resistance.

Key words: potato; resistance; wild species; sample; PVS; PVM; inoculation; resistance gene; ELISA; marker; DNA; PCR.