

RUSSIAN ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

State Scientific Center of the Russian Federation
N. I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry (VIR)

**IDENTIFIED PLANT GENEPOOL
AND
BREEDING**

St. Petersburg
2005

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

Государственный научный центр Российской Федерации
Всероссийский научно-исследовательский институт
растениеводства имени Н. И. Вавилова (ГНЦ РФ ВИР)

**ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЙ
ГЕНОФОНД РАСТЕНИЙ
И
СЕЛЕКЦИЯ**

Санкт-Петербург
2005

86. Valkonen J., Brigneti G., Salazar L., Pehu E., Gibson R. Interactions of the Solanum subsp. of the Etuberosa group and nine potato-infecting viruses and viroid// Ann. Appl. Biol. 1992. V. 20. P. 301–313.
87. Valkonen J., Brigneti G., Pehu E. Resistance to Myzus persicae (Suls.) in wild potatoes of the series Etuberosa// Acta Agric. Scand. 1992. V. 42. P. 118–127.
88. Waara S., Glimelius K. The potential of somatic hybridization in crop breeding// Euphytica. 1995. V. 85. P. 217–233.
89. Wenzel G., Schieder O., Przewzny T., Sopory S., Melchers G. Comparison of single-cell-culture-derived Solanum tuberosum L. plants and a model for their application in breeding programs// Theor. Appl. Gen. 1979. V. 55. P. 49–55.
90. Zelcer A., Aviv D., Galun E. Interspecific transfer of cytoplasmic male-sterility by fusion between protoplasts of normal Nicotiana sylvestris and X-ray irradiated protoplasts of male-sterile N. tabacum// Z. Pflanzenphysiol. 1978. Bd 90. S. 397–407.

СОЗДАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К ВИРУСАМ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ НА ОСНОВЕ ТРАДИЦИОННЫХ ПОДХОДОВ И МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИИ*

Т. А. Гавриленко, д-р биол. наук; **Е. В. Рогозина**, канд. биол. наук;
О. Ю. Антонова, науч. сотрудник

ВИРУСЫ КАРТОФЕЛЯ

Картофель занимает четвертое место в мире среди продовольственных культур и является одним из основных продуктов питания в нашей стране. Вирусные заболевания приводят к значительным потерям урожая картофеля. Известно более 30 поражающих его вирусов, из них повсеместно в мире распространены: вирус скручивания листьев картофеля (ВСЛК), вирус картофеля Y (YVK), вирус картофеля X (ХВК) и вирус картофеля А (АВК) [55, 97]. Остальные – имеют локальное распространение. Наиболее вредоносны в мировом масштабе YVK и ВСЛК, из-за которых потери урожая восприимчивых сортов достигают 80 % [97]. По данным Р. Койма и Х. Лапьерре, ежегодный ущерб урожая, вызванного ВСЛК, составляет 20 млн т [59]. На территории Российской Федерации и других стран СНГ наиболее часто идентифицируют вирусы Y, X, ВСЛК, S, M, реже встречаются F и A. Распространение и вредоносность различных вирусов определяют в системе взаимодействия патогена, растения-хозяина и условий окружающей среды. Так, на Дальнем Востоке ВСЛК снижал урожайность картофеля в 3–5 раз [10]. В Белоруссии при поражении восприимчивых сортов вирусами Y, X, M снижение урожая достигало 68, 34 и 25 %, соответственно [1].

В естественных условиях трансмиссию вирусов в растения картофеля могут осуществлять насекомые-переносчики (тли, белокрылки, цикадки) и нематоды. Некоторые вирусы (ХВК и ВТМ) передаются только контактным путем. Также известны случаи переноса вирусов пылью и через семена (табл. 1).

подавляющее большинство известных в настоящее время вирусов картофеля имеют геном, представленный однопонитевой (ss) РНК, плюс-полярности. Из вирусов, инфицирующих картофель, только два являются ДНК (ss)-содержащими (см. табл. 1).

ТИПЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К ВИРУСАМ

Различия в терминологии, критериях и обозначениях различных типов устойчивости к вирусам [2, 78, 84–86, 93, 97] объясняются огромным разнообразием видов и сортов картофеля, обуславливающим широкий диапазон реакций растений на вирусные инфекции, наличием большого числа штаммов вирусов, а также влиянием условий среды на экспрессию разных генов устойчивости.

* Работа выполнена при поддержке гранта CRDF-Минобразования РФ ST-012-0.

Таблица 1. Характеристика основных вирусов картофеля [55, 82, 97]

Название вируса		английское	Геном	Группа	Способ передачи вируса
русское					
Вирус скручивания листьев картофеля (ВСЛК)		Potato leafroll virus (PLRV)	ss(+)-РНК	Luteovirus	Тли
Y-вирус картофеля (YBK)		Potato virus Y (PVY)	ss(+)-РНК	Potyvirus	"
X-вирус картофеля (XBK)		Potato virus X (PVX)	ss(+)-РНК	Potexvirus	Контактный
A-вирус картофеля (ABK)		Potato virus A (PVA)	ss(+)-РНК	Potyvirus	Тли
Вирус мозаики люцерны (ВМЛ)		Alfalfa mosaic virus (AMV)	ss(+)-РНК	AMV group	Контактный, тли
Андийский вирус крапчатости картофеля (АВКК)		Andean potato mottle virus (APMV)	ss(+)-РНК	Comovirus	Контактный
Андийский латентный вирус картофеля (АЛВК)		Andean potato latent virus (APLV)	ss(+)-РНК	Tymovirus	Контактный, жуки, TPS
Вирус курчавости свеклы		Beet curly top virus (BCTV)	ss ДНК	Geminivirus	Цикадки
Вирус огуречной мозаики (ВОМ)		Cucumber mosaic virus (CMV)	ss(+)-РНК	Cucumovirus	Контактный, тли
Вирус аукуба-мозаики картофеля (ВАМК)		Potato aucuba mosaic virus (PAMV)	ss(+)-РНК	Potexvirus	"
Вирус щетковидности (метельчатости) верхушки		Potato mop-top virus (PMTV)	ss(+)-РНК	Tobamovirus	<i>Spongospora subterranea</i>
M-вирус картофеля (МВК)		Potato virus M (PVM)	ss(+)-РНК	Carlavirus	Контактный, тли
S-вирус картофеля (SBK)		Potato virus S (PVS)	ss(+)-РНК	"	"
T-вирус картофеля (ТВК)		Potato virus T (PVT)	ss(+)-РНК	Carillovirus	Контактный, пыльцой, TPS
U-вирус картофеля (УВК)		Potato virus U (PVU)	ss(-)-РНК	Nepovirus	Нематоды
V-вирус картофеля (VВК)		Potato virus V (PVV)	ss(+)-РНК	Potyvirus	Тли
Вирус желтой карликовости картофеля		Potato yellow dwarf virus (PYDV)	ss(-)-РНК	Rhabdovirus	Цикадки
Вирус мозаики табака (ВТМ)		Tobacco mosaic virus (TMV)	ss(+)-РНК	Tobamovirus	Контактный
Вирус некроза табака (ВНТ)		Tobacco necrosis virus (TNV)	ss(+)-РНК	Nectovirus	<i>Olpidium brassicae</i>
Вирус погрелковости табака		Tobacco rattle virus (TRV)	ss(+)-РНК	Tobravirus	Нематоды
Вирус черной кольцевой пятнистости томата (ВЧКПТ)		Tomato black ring virus (TBRV)	ss(+)-РНК	Nepovirus	Нематоды, TPS
Вирус кольцевой пятнистости табака		Tobacco ringspot virus (TRSV)	ss(+)-РНК	"	"
Вирус бронзовости томата		Tomato spotted wilt virus (TSWV)	ss(+)-РНК	Tospovirus	Трипсы
Вирус желтой мозаики картофеля		Potato yellow mosaic virus	-	-	Белокрылка
Вирус пожелтения жилок картофеля (ВЖКК)		Potato yellow vein virus (PYVV)	-	-	-
-		Potato deforming mosaic diseases virus	-	-	Тли
-		Solanum apical leaf curling virus (SALCV)	ss ДНК	Geminivirus	-
-		Tobacco streak virus (TSV)	ss(+)-РНК	Parvivirus	-
-		Potato yellowing virus (PYV)	-	-	Тли, TPS

Примечание. TPS (true potato seeds) – передача вирусов семенами. "-" – данные отсутствуют.

Случаи, когда растение не является хозяином для данного вида патогена, Н. И. Вавилов называл видовым иммунитетом. Позже такую устойчивость стали называть неспецифической, или нехозяйской устойчивостью (nonhost resistance) растений к патогенам. Применительно к вирусным инфекциям устойчивостью данного типа обладают те растения, в которых вирус неспособен размножаться. Таким образом, иммунитет можно рассматривать как абсолютную невосприимчивость растений к вирусной инфекции [29]. Когда в процессе совместной эволюции определенный вид растений становится восприимчивым для определенного вида патогена, тогда данный патоген становится для растения специфическим. Возникновение устойчивых генотипов у вида-хозяина относят к специфической, «хозяйской» устойчивости (host resistance). В настоящее время различают следующие типы специфической устойчивости растений картофеля к вирусам.

1. Крайняя устойчивость (ER = extreme resistance). У растений, обладающих таким типом устойчивости, репликация вирусного генома, или перемещение вирусов из инфицированных клеток в незараженные, подавляется на самых ранних стадиях инфекции, причем в норме данный тип устойчивости не связан с гибелью клеток растений. Поэтому ER проявляется и в культуре изолированных протопластов. Растения с крайней устойчивостью не проявляют никаких симптомов после вирусной инокуляции либо иногда на их листьях и/или стеблях образуются ограниченные некрозы в виде точечных поражений. Данный тип устойчивости обуславливает предельно низкий титр вируса в инфицированных растениях, который нельзя выявить общепринятыми методами (ELISA) даже после инокуляции прививкой. ER обуславливает устойчивость к разным штаммам одного вируса, а в ряде случаев и к нескольким вирусам одной группы [84–86, 97].

2. Устойчивость на основе реакции сверхчувствительности (HR = hypersensitive resistance) выражается в гибели клеток в месте контакта с вирусом, что приводит к локализации инфекции и предотвращению распространения вирусов по растению. HR проявляется в виде локальных некрозов в местах проникновения вируса или, напротив, в виде системных некрозов на растении. Такой тип устойчивости в культуре изолированных протопластов не проявляется [84–86, 97].

3. Устойчивость к инфицированию, или полевая устойчивость, обуславливает низкую вероятность инфицирования растений вирусами в естественных условиях среды. Полевая устойчивость к вирусной инфекции связана с неблагоприятным воздействием растений на насекомых или с устойчивостью растений к векторному переносу (например, с устойчивостью к тлям), обусловленной непредпочитаемостью растений насекомыми [84, 85, 96, 97].

4. Устойчивость к вирусной аккумуляции, при которой в инфицированном растении сохраняется относительно низкая концентрация вирусных частиц [84, 85].

5. Устойчивость к распространению вирусов обусловлена ограничением их транспорта по растению. HR можно рассматривать как один из вариантов устойчивости к передвижению вирусов по растению [84, 85].

6. Толерантность (выносливость) рассматривают как устойчивость к развитию вирусных болезней. В этом случае инфицированные растения, имеющие относительно высокий вирусный титр, не проявляют видимых симптомов инфекции [84–86, 97]. Толерантные растения представляют опасность для восприимчивых сортов картофеля как скрытый источник распространения вирусных болезней.

7. Устойчивость трансгенных форм к вирусам ряд авторов рассматривает как отдельный тип вирусостойчивости [86]. Подробнее этот тип устойчивости будет рассмотрен далее.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ
К ВИРУСНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ, КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ

Наиболее подробно изучена генетика устойчивости картофеля к вирусам Y, X, A, V, M, S и L. Крайняя устойчивость к вирусам контролируется доминантными R-генами, а устойчивость по типу реакции сверхчувствительности – доминантными N-генами. Действие R-генов более стабильно и обуславливает устойчивость к нескольким штаммам одного вируса, тогда как проявление реакции сверхчувствительности зависит от условий среды и физиологического состояния растений. Кроме того, обычно действие N-генов специфично к определенному штамму вируса [84, 97].

Гены устойчивости обозначают тремя буквенными символами, отражающими: 1) контролируемый ими тип устойчивости; 2) название вируса; 3) сокращенное латинское название вида рода *Solanum* L. – источника данного гена. Так, например, ген Ry_{sto} , контролирующей крайнюю устойчивость растений к вирусу Y, интрогрессирован в сорта картофеля *Solanum tuberosum* L. subsp. *tuberosum* (здесь и далее названия видов указаны по: [47]) от *S. stoloniferum* Schlecht. et Bche., а ген Nx_{che} , контролирующей устойчивость к вирусу X по типу сверхчувствительности, интродуцирован от *S. chacoense* Bitt.

Оба типа устойчивости (ER и HR) к вирусам Y, X, A, V и S имеют моногенный контроль и определяются доминантными аллелями R- и N-генов устойчивости соответственно (табл. 2). Известны единичные случаи рецессивных генов устойчивости, например ген s_{ibr} , контролирующей устойчивость к SBK [15]. Показано также наличие генов-модификаторов устойчивости, например к M-вирусу картофеля. Крайняя устойчивость к этому вирусу интрогрессирована от *S. gourlayi* Hawkes, основана на взаимодействии двух комплементарных генов *Gm* и *Ma* [73] и обусловлена медленным перемещением и низкой концентрацией вируса M в инфицированных растениях [35, 100]. Устойчивость к MBK у *S. megistacrolobum* Bitt. основана на реакции сверхчувствительности и контролируется доминантной аллелью гена *Nm* [35].

Установлено, что устойчивость к инфицированию вирусом скручивания листьев, аккумуляции и распространению ВСЛК в растениях контролируют различные генетические системы [45, 46]. Для ряда образцов дикорастущих видов картофеля *S. raphanifolium* Card. et Hawk. и *S. chacoense* продемонстрирован олиогенный контроль устойчивости к вирусу ВСЛК, которая проявляется в неспособности к аккумуляции этого вируса в растениях [23, 78]. В. Марчевский с соавторами изучали устойчивые к аккумуляции вируса ВСЛК образцы картофеля, созданные с участием *S. chacoense*. Установлено, что у изученных образцов QTL (quantitative trait loci – локусы количественных признаков) устойчивости (PLRV₁) обуславливает 50–60 % вариации признака [64]. Полигенный контроль устойчивости к ВСЛК установлен у отдельных образцов видов: *S. tuberosum* L. subsp. *andigena* (Juz. et Buk.) Hawkes, *S. demissum* Lindl., *S. phureja* Juz. et Buk. и *S. acaule* Bitt. [86, 97]. У многих сортов картофеля, созданных с участием этих видов, устойчивость к ВСЛК обусловлена устойчивостью к инфицированию и в ряде случаев – к ограниченному накоплению вируса в растении. Иногда устойчивость картофеля к передвижению вируса ВСЛК из листьев в клубни сопровождается некрозами флоэмы [43, 52], хотя такую реакцию наблюдают не во всех случаях подавления транспорта вирусов в растениях [17].

В отличие от ER и HR устойчивость, связанная с ограничением передвижения вирусов в растении, может определяться рецессивными аллелями соответствующих генов. Так, рецессивная аллель гена *va* у растений табака обеспечивает устойчивость данного типа сразу к нескольким вирусам группы *Potyvirus* [70], а рецессивная аллель гена *ra* картофеля контролирует устойчивость к распространению вируса A в зараженных тканях растений [46].

Таблица 2. Идентифицированные гены устойчивости к вирусам у картофеля

Ген (синонимы)	Устойчивость		Локализация (хромосома, локус)	Литература
	тип	источник		
Rx (Rx _{adg})	ER к ХБК	S. tuberosum	XII (у сорта Cara)	[19, 28, 98]
Rx1 (Rx=Rx _{tub} =Rx _{tbr})	ER к ХБК	S. tuberosum subsp. andigena	XII (у диплоида P18)	[38, 67, 75, 78]
Rx2 (Rx _{acl})	ER к ХБК	S. acaule	V	[75, 77]
Rx _{HB} (Rx _{HBscr})*	ER к ХБК(HB)	S. sucrense	–	[24]
Nx _{tbr} (Nx)	HR к ХБК	S. tuberosum	–	[25, 28]
Nb _{tbr} (Nb)*	HR к ХБК	«	V	[28, 33]
Nx _{chc}	HR к ХБК	S. chacoense	–	[28]
Nx _{phu}	HR к ХБК	S. phureja	IX, длинное плечо (у образца IvP35)	[91]
Ry _{ang}	ER к YБК HR к АВК	S. tuberosum subsp. andigena	XI, между маркерами GP125 и СТ182 (у диплоида 2x(v-2)7)	[44, 69]
Ry _{hou}	ER к YБК, ER к АВК	S. hougasii	–	[28]
Ry _{sto} (Ry = R ¹)	ER к вирусам: Y, А и VБК	S. stoloniferum	–	[16, 28, 79]
Ry _{sto} ^{na} (R ²)	ER к YБК и VБК HR к АВК	«	XI, между маркерами GP125 и СТ182 (у образца I-1039)	[16, 22, 28, 56]
Ry _{sto} ^{rna} (R ³)	ER к YБК, HR к АВК	«	–	[28]
Ny (Ny ^{tbr})	HR к YБК	S. tuberosum	–	[32, 53, 56]
Ny _{tbr}	HR к YБК ^o	«	IV, между маркерами TG 316 и TG 208	[26]
Ny _{adg}	HR к YБК	S. tuberosum subsp. andigena	–	[94]
Ny _{chc}	HR к YБК и АВК	S. chacoense	–	[28]
Ny _{dms} (Ny)	HR к YБК, HR к АВК	S. demissum	–	[28]
Ra (Ra _{sto})	ER к АВК	S. stoloniferum	–	[16]
Ra _{adg} /Na _{adg}	ER/HR к АВК	S. tuberosum subsp. andigena	XI, дистально от Ry ^{ang} на расстоянии 6,8 см	[44]
Na _{sto} (R ⁶ = Rym)	ER к АВК	S. stoloniferum	–	[28, 79]
Na _{tbr} (Na)	HR к АВК	S. tuberosum	–	[25, 28]
ra	Подавление транспорта АВК	–	XI	[46]
Nv (Nv _{tbr})	HR к VБК	S. tuberosum	–	[40, 56]
Nv _{adg}	HR к VБК	S. tuberosum subsp. andigena	XI	[45]
Gm	ER к MBK	S. gourlayi	–	[35]
Nm	HR к MBK	S. megistacro- lobum	–	[35]
N _s	HR к SBK	S. tuberosum subsp. andigena	VIII, сцеплен с GP 126 GP 189, CP 16	[63]
PLRV ₁	Устойчивость к аккумуляции ВСКЛК	S. chacoense	XI, сцеплен с маркером GP 125	[64]

* Nb, Hb – вирусные штаммы различных групп.

К настоящему времени идентифицировано около 30 генов, контролирующих устойчивость растений картофеля к вирусам Y, X, A, V и M [84, 86, 93, 97]. Из них 13 генов картированы в IV, V, VIII, IX, XI и XII хромосомах картофеля (см. табл. 2). С помощью методов MAS (marker-assisted selection), основанных на изучении косегрегации гена устойчивости с уже известными RFLP- и AFLP-маркерами, локализованными в той же хромосоме, были построены подробные карты, характеризующиеся высоким разрешением. Такой подход позволил найти молекулярные маркеры, фланкирующие район расположения генов устойчивости к ХВК – Rx_{adg} и $Rx2$ (Rx_{act}), и сделал возможным их клонирование [20]. Предприняты попытки клонировать и ген Ry_{sto} [22].

Известно, что R-гены растений, контролирующие устойчивость к различным патогенным микроорганизмам и вредителям, расположены в геноме растений не случайно, а локализованы крупными кластерами. Считается, что кластеры генов устойчивости произошли из предкового гена путем его дупликаций и последующих перестроек за счет неравного кроссинговера. Этот процесс сопровождался точечными мутациями, и, таким образом, дочерние копии в дальнейшем специализировались по устойчивости к разным патогенам. У картофеля кластерная локализация выявлена для генов, контролирующих устойчивость к разным патогенам и вредителям, в том числе и для генов, контролирующих устойчивость к вирусным заболеваниям [42]. Ярким примером служит дистальная область длинного плеча XI хромосомы, где локализованы гены устойчивости (ER) к вирусу картофеля Y – Ry_{adg} , Ry_{sto} [44–46]; гены, контролирующие HR к вирусам A и V, – Na_{adg} , Nv_{adg} [45–46] и QTL устойчивости к ВСЛК – PLRV₁ [64] (см. табл. 2). В том же районе картирован и рецессивный ген устойчивости *ra*, определяющий устойчивость к вирусу A картофеля на основе подавления транспорта АВК в растении, а также три RGL-последовательности (resistance-gene-like), сходные с генами устойчивости растений из-за наличия в их продуктах лейцинбогатых повторов (LRR) [45]. В этом же локусе длинного плеча XI хромосомы картированы доминантные гены R_{MCI} и *Gpa3*, контролирующие устойчивость к двум видам нематод (*Meloidogyne chitwoodi*, *Globodera pallida* Mulvey et Stone), ген *Sen1*, определяющий устойчивость к раку картофеля (*Synchytrium endobioticum* Schilb.), QTL устойчивости к фитофторозу (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) и QTL устойчивости к бактериальному патогену *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall) Dye [42].

У картофеля, кроме XI хромосомы, кластеры R-генов выявлены также в хромосомах V и XII. Так, в одном и том же локусе хромосомы V локализованы ген $Rx2$ (Rx_{act}), определяющий устойчивость к вирусу ХВК (см. табл. 2), и ген *R1*, контролирующий устойчивость к расе R1 возбудителя фитофтороза. В хромосоме XII локализован ген Rx_{adg} , определяющий крайнюю устойчивость к вирусу X картофеля [19]. Дистальнее от него картирован ген *Rx1*, также контролирующей крайнюю устойчивость к ХВК; ген *Rx1* картирован рядом с доминантным геном *Gpa2*, контролирующим устойчивость к нематоде *G. pallida* [75, 80]. Таким образом, в хромосоме XII локализован отдельный кластер R-генов, включающий гены *Rx1* и Rx_{adg} , которые определяют крайнюю устойчивость картофеля к одному и тому же вирусу X (см. табл. 2). Возможно, что новые гены устойчивости к вирусу X возникли в результате перестроек в исходном R-локусе [19].

МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ

Устойчивость растений к вирусам рассматривают в рамках общей концепции «ген-на-ген», которая принадлежит Х. Флору [39]. Согласно этой концепции каждому гену, контролирующему устойчивость растения-хозяина, соответствует специфический ему ген, контролирующий вирулентность патогена. Устойчивость наблюдают в случае взаимодействия доминантной (функциональной) аллели гена устойчивости растения-хозяина с доминант-

ной аллелью гена авирулентности патогена. Наиболее изучены, с молекулярной точки зрения, такие типы устойчивости, как сверхчувствительность (HR) и крайняя устойчивость (ER). Как указывалось выше, оба типа устойчивости контролируются доминантными аллелями соответствующих генов.

Реакции HR предшествует распознавание растением специфических сигнальных молекул вируса – элиситоров (от английского to elicit – вызывать). Синтез элиситоров контролируют гены авирулентности (Avg-гены) патогена, которые обуславливают способность вируса заражать растения определенного генотипа. Показано, что в качестве элиситоров могут выступать следующие вирусоспецифические белки: белок вирусной оболочки (кодируют гены CP вирусного генома), вирусная репликаза (РНК-зависимая РНК-полимераза у РНК-содержащих вирусов) и транспортный белок (ТБ – movement protein). В жизненном цикле вирусов белок оболочки необходим для загрузки вирусов во флоэму, благодаря чему и происходит их распространение по растению. Транспортный белок способствует проводимости плазмодесма для комплекса вирусная РНК–ТБ [31]. У табака *Nicotiana glauca* развитие реакции сверхчувствительности к вирусам табачной и томатной мозаики (TMV и ToMV) инициирует белок оболочки соответствующих вирусов. То есть CP-гены вирусов TMV и ToMV, кодирующие капсидные белки, являются генами авирулентности и соответствуют гену устойчивости растений *N'*, контролирующему у *N. glauca* устойчивость по типу сверхчувствительности [30]. Гены вируса табачной мозаики, кодирующие вирусную репликазу и транспортный белок размером 30 кДа, являются Avg-генами, активирующими гены устойчивости томата *Tm1* и *Tm2* соответственно. Гены *Tm1* и *Tm2* контролируют индукцию реакции сверхчувствительности при инфицировании растений томата вирусом TMV [64, 102].

Гены устойчивости растений, как правило, кодируют рецепторы к элиситорам, или отвечают за передачу сигнала от рецептора к ядру клетки. Образование комплекса элиситор–рецептор запускает в клетке каскад реакций (сигнальная трансдукция), приводящих в итоге к синтезу веществ, высокие концентрации которых токсичны как для патогена, так и для клетки, в результате чего инфицированные клетки растений погибают. Таким образом индуцируется реакция сверхчувствительности, которая развивается в растении в виде некрозов. Если растение неспособно вырабатывать специфические рецепторы, то вирусная инфекция распространяется по всему растению и приводит к его гибели.

В настоящее время клонирован и секвенирован целый ряд R-генов растений, определяющих устойчивость к разным патогенам, в том числе и гены устойчивости к вирусу X картофеля [20]. Показано, что белки, являющиеся продуктами R-генов устойчивости к неродственным патогенам, содержат общие функциональные домены. Наиболее частый домен R-белков – это лейцинбогатый мотив – LRR (leucine rich repeat), представляющий собой многократный повтор из 24 аминокислот. Белки, содержащие такие повторы, склонны к димеризации друг с другом. Контакты между разными LRR-доменами поддерживают правильную конформацию самого R-белка, обеспечивают белок-белковые взаимодействия и могут узнавать и передавать белковые сигналы, в том числе и от вирусных элиситоров. Эти функции могут также иметь домен LZ (leucine zipper – «лейциновая молния»), способный образовывать белковые димеры, и домен TIR, гомологичный рецептору интерлейкина-1 млекопитающих (IL-1R) и белку Toll дрозофилы, которые участвуют в регуляции клеточных процессов. Многие R-белки содержат также домен NBS (nucleotide binding domain), способный связывать АТФ и ГТФ; трансмембранный домен (TM), обеспечивающий локализацию белка в мембране, и домен PK (protein kinase), характерный для серин-треонин-протеинкиназ, которые регулируют уровень активности белков цитоплазмы. В зависимости от комбинации имеющихся доменов R-белки можно разделить на

следующие классы: NBS–LRR, LRR–TM–PK, LRR–TM и PK [16]. Так, например, продукты генов *Rx1*, *Rx2* и *R1* содержат домены NBS–LRR [42].

Гены, контролируемые крайнюю устойчивость (ER) и сверхчувствительность (HR) растений к вирусам, имеют похожую структуру. Поэтому возможно, что они и функционально родственны. Так, в *N*-гене *Nicotiana glutinosa* L., определяющем HR к вирусу табачной мозаики (TMV), обнаружены те же домены, которые встречаются и в других *R*-генах растений, а именно, домены TIR, NBS и LRR [103]. Известно, что в индукции реакции сверхчувствительности этого вида табака участвует репликаза вируса TMV размером 126 кДа [13]. То есть ген, кодирующий синтез вирусной репликазы, является Avr-геном для *N*-гена устойчивости *N. glutinosa*.

Известна структура гена *Rx_{and}* у сорта картофеля Кара (Cara), определяющего крайнюю устойчивость растений к вирусу X [20]. Ген *Rx_{and}* кодирует белок, относящийся к классу LZ–NBS–LRR, т. е. содержащий домены типа «лейциновой молнии», связывания трифосфатов и лейцинобогатый домен. Показано, что крайняя устойчивость к вирусу X у сорта картофеля Кара, определяемая геном *Rx_{and}*, активируется белком оболочки этого вируса [21]. Следовательно, ген CP вируса X, кодирующий капсидный белок, является геном авирулентности для гена устойчивости *Rx_{and}* картофеля. Таким образом, начальным этапом развития крайней устойчивости в данном случае служит рецепция белка-элиситора (капсидного белка ХВК), что типично для запуска реакции сверхчувствительности. Более того, оба типа устойчивости (ER и HR) могут быть индуцированы одним и тем же геном. Например, ген *Ry^{na}_{sto}* определяет крайнюю устойчивость к вирусу Y и сверхчувствительность к вирусу A [84]. У дикорастущего вида картофеля *S. stoloniferum* *R*-гены, определяющие крайнюю устойчивость к вирусам АВК и ВВК, эпистатируют над генами сверхчувствительности к тем же вирусам [28], поэтому было высказано предположение, что *R*-гены действуют на более ранней стадии развития инфекции [45].

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ОТБОРА УСТОЙЧИВЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ

Методы диагностики вирусов

Известны биологические, физические, химические и молекулярные методы обнаружения патогена. Метод визуальной диагностики локальных и системных симптомов вирусных заболеваний – самый простой и дешевый, однако зависимость степени выраженности симптомов от генотипа растения, штамма возбудителя и условий эксперимента снижает его надежность. Диагностика, основанная на использовании растений-индикаторов, или тест-растений, проявляющих локальные или системные симптомы даже при низких концентрациях вируса, отличается высокой достоверностью [106]. Гистологические и цитологические методы используют в тех случаях, когда вирусные инфекции приводят к видимым изменениям в строении клеток и тканей растений в результате нарушений метаболизма сахаров, активности пластид и т. д. Таким способом возможно диагностировать ВСЛК, при поражении которых у растений картофеля отмечен избыточный синтез каллозы и некроз флоэмы. Метод электронной микроскопии позволяет непосредственно выявлять вирусные частицы в исследуемом растительном материале, однако сложность и трудоемкость работы ограничивают его широкое применение. Иммунологические методы диагностики основаны на реакции между белковой оболочкой вирусной частицы и специфичных к данному вирусному белку антител. Среди таких методов наибольшей точностью и относительной простотой выполнения отличается метод ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), широко используемый сегодня в семеноводческой и селекционной работе. Этим методом

Таблица 3. Сравнение двух диагностических наборов ELISA-теста для определения вирусов у семи сортов картофеля

Диагностический набор	Число растений						Результаты сравнения наборов	
	изученных в опытах	с положительной реакцией				с отрицательной реакцией	совпадение	несовпадение
		ХВК	SBK	МВК	УВК			
AGDIA	35	5	1	0	2	132	113	27
POLAND, IHAR, Gdansk	35	7	8	15	1	109		

выявляют присутствие антигена (вируса) в растительной пробе по реакции окрашивания между энзимом и специфическим для этого энзима субстратом. Тест позволяет определять белки в количестве нескольких нг в 1 мл сока растений [7]. Диагностические наборы для обнаружения вирусной инфекции данным методом производят восемь зарубежных компаний [55] и одна российская – НПО «Биотехнология» при ВНИИКХ имени А. Г. Лорха (М., Коренево). Как показали проведенные в ВИР исследования, специфичность данного метода может снижаться при диагностике разных популяций возбудителя. Так, сравнение результатов, полученных при одновременном тестировании визуально здоровых растений картофеля на наличие вирусов X, S, M, Y с использованием наборов двух разных фирм, показало, что польский набор более эффективен для диагностики местных популяций вирусов. Особенно существенными были отличия между наборами при диагностировании вирусов M и S (табл. 3) [Рогозина, не опублик.]. Метод иммуносорбентной электронной микроскопии, основанный на сочетании серологических методов и электронномикроскопического изучения тканей и клеток растений, характеризуется повышенной чувствительностью и надежностью, особенно при выявлении смешанной инфекции.

К молекулярным методам диагностики вирусов в растениях относится метод NASH-гибридизации (nucleic acid spot hybridization), основанный на образовании дуплексов между нуклеиновой кислотой (НК) вируса и специфической пробой, содержащей радиоактивную или нерадиоактивную метку. В качестве пробы при этом используют кДНК, синтезируемую на матрице РНК вируса. Для проведения гибридации НК вируса обычно иммобилизуется на нитроцеллюлозных или нейлоновых мембранах. Чувствительность метода NASH-гибридизации в несколько раз выше чувствительности теста ELISA [18, 37, 83]. Однако необходимо учитывать, что эффективность выявления вируса NASH-методом зависит от размера пробы (зонда) и от того, какой участок вирусного генома используют в качестве пробы [34]. Так, наилучшие результаты по выявлению вируса Y в тканях растений получены при использовании проб, содержащих участки кДНК, которые соответствуют гену *PI* или гену *CI* вирусного генома [82].

Метод обратной полимеразной цепной реакции (RT-PCR) основан на амплификации кДНК, синтезированной на матрице РНК вируса, с праймерами, последовательности которых специфичны для определенных участков генома данного вируса. Наибольшее влияние на результаты оказывают методика выделения РНК и правильный подбор праймеров. Если места наложения праймеров оказываются далеко друг от друга, то эффективность реакции падает. Так, при работе с УВК⁰ амплификация фрагментов размером 1016–1040 п. о. позволяла выявлять 1–10 пг РНК вируса, а амплификация меньших фрагмен-

тов, размером 217–249 п. о., оказалась в 1000 раз эффективнее, позволив выявить менее 1 фг вирусной РНК [82]. Кроме того, отмечен эффект положения амплифицируемого фрагмента в геноме вируса. Последовательности 3'-конца генома УВК⁰ обнаруживались в меньших концентрациях, чем последовательности 5'-конца [81].

Оценка и отбор вирусоустойчивых форм

Для оценки и отбора генотипов, устойчивых к вирусам, используют методы искусственного заражения испытываемых растений и(или) полевые испытания в условиях массового распространения вирусных болезней. Результаты, полученные в тепличных и полевых тестах, позволяют оценить устойчивость по 9-балльной шкале, где 9 – наивысшая устойчивость, а 1 – наивысшая поражаемость. В зависимости от способа трансмиссии патогена используют следующие методы искусственного заражения: механическую инокуляцию путем втирания в листья испытываемых растений суспензии, содержащей вирусы; испытание прививкой и инфицирование с помощью переносчиков вирусов – тли (ВСЛК, УВК) и нематод (TRV).

На ранних этапах селекции для оценки устойчивости большого количества сеянцев к УВК, ХВК, МВК проводят дву- или трехкратную механическую инокуляцию, опрыскивая тепличные растения из пистолета-распылителя [1, 106]. Для выделения форм, устойчивых к вирусу У, применяют инокуляцию наиболее вирулентным и вредоносным штаммом УВК^N, так как устойчивость к этому штамму, как правило, сочетается с устойчивостью к штаммам обычной группы вируса У [8, 27]. Результаты инокуляции оценивают визуально, по симптомам поражения, и методом ELISA. Растения, не пораженные вирусами, заражают повторно с помощью прививки на инфицированные растения табака или томата. У выделенных устойчивых форм растений собирают клубни, которые проращивают и тестируют еще раз методом глазковой пробы, применяя механическую инокуляцию световых ростков. Результаты инокуляции оценивают визуально и методом ELISA [106]. Отсутствие симптомов поражения вирусом, отрицательные результаты иммуноферментного теста растений, инокулированных прививкой, и отсутствие заражения в клубневых репродукциях свидетельствуют о крайней устойчивости испытываемых растений к инфекции. Появление локальных некрозов после механической инокуляции вирусами УВК, ХВК и МВК или появление верхушечных некрозов при испытании прививкой указывают, что устойчивость растений к этим вирусам основывается на реакции сверхчувствительности.

Для отбора образцов, устойчивых к ВСЛК, используют методы искусственного заражения растений при помощи персиковой тли и метод прививки. Присутствие ВСЛК в тестируемом материале оценивают методом ELISA трижды: в листьях побега (расположенного ниже места прививки), световых ростках клубней и растениях следующей клубневой репродукции. Генотипы с низкими показателями оптической плотности во всех трех опытах считают устойчивыми к ВСЛК [106].

При проведении селекции на устойчивость растений к нескольким вирусам наибольшее практическое значение имеет полевой тип устойчивости. Для оценки полевой устойчивости к УВК и ВСЛК испытываемые растения выращивают в поле на искусственно созданном инфекционном фоне, а в местах сильного распространения вирусных болезней – и на естественном фоне. При полевых испытаниях на устойчивость к СВК и ХВК зараженные растения чередуют с испытываемыми, так как данные вирусы распространяются контактным путем.

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, УСТОЙЧИВЫХ К ВИРУСАМ

Интенсификация сельского хозяйства приводит к генетической однородности сортов, к нарушениям популяционного гомеостаза патогенов и создает условия для массового

размножения фитопатогенных микроорганизмов и вредителей. Поэтому основной задачей исследователей и селекционеров является расширение генетического разнообразия картофеля по устойчивости к патогенам. Для ее решения активно используют традиционные подходы, включающие поиск и выделение источников новых генов вирусоустойчивости среди дикорастущих видов и создание новых доноров на основе интрогрессии генов дикорастущих форм в восприимчивые сорта, а в последние годы все шире распространяются новые методы клеточной и геномной инженерии.

Традиционные методы создания источников и доноров устойчивости к вирусам

Высокая устойчивость к вирусам присуща многим культурным и дикорастущим видам картофеля. Устойчивые к вирусам сорта создавали на основе использования в селекции следующих видов: *S. tuberosum* subsp. *tuberosum*, *S. tuberosum* subsp. *andigena*, *S. stoloniferum*, *S. demissum*, *S. acaule*, *S. phureja*, *S. chacoense*, *S. hougasii* Corr., *S. microdontum* Bitt., *S. sparsipilum* (Bitt.) Juz. et Buk., *S. sucrense* Hawkes (см. табл. 2). Для расширения генетического разнообразия картофеля необходимо выявить источники с новыми генами устойчивости, еще неиспользованными в селекции. В ВИРе при изучении мировой коллекции картофеля выделены многочисленные образцы с полевой устойчивостью к вирусам X, S, M и Y среди следующих дикорастущих видов: *S. berthaultii* Hawkes, *S. famatinae* Bitt. et Wittm., *S. gourlayi*, *S. kurtzianum* Bitt. et Wittm., *S. multidissectum* Hawkes, *S. multiinterruptum* Bitt., *S. oplocense* Hawkes, *S. setulosistylum* Bitt., *S. sparsipilum* (Bitt.) Juz. et Buk., *S. spagazzinii* Bitt., *S. sucrense* Hawkes, *S. vernei* Bitt. et Wittm., *S. marinasense* Vargas, *S. pampasense* Hawkes, *S. raphanifolium*, *S. lignicaule* Vargas, *S. venturii* Hawkes et Hjerting, *S. boliviense* Dun., *S. sogarandinum* Ochoa, *S. toralapanum* Card. et Hawkes, *S. albicans* (Ochoa) Buk., *S. acroscopicum* Ochoa, *S. huancabambense* Ochoa, *S. urubambae* Juz., *S. capsicibaccatum* Card., *S. tarijense* Hawkes, *S. medians* Bitt., *S. verrucosum* Schlecht. [2], *S. etuberosum* Lindl. и *S. brevidens* Phil. [7, 41, 54, 90]. Успех использования дикорастущих видов в создании доноров вирусоустойчивости зависит от подбора исходных родительских форм, их скрещиваемости, фертильности гибридов, механизмов интрогрессии и эффективности отбора устойчивых форм в потомстве гибридов [2, 3].

В ВИРе работы по созданию межвидовых гибридов, обладающих ценными для селекции признаками, ведутся уже около 100 лет. В последние годы с участием *S. stoloniferum*, *S. demissum*, *S. vernei*, *S. tuberosum* subsp. *andigena* и *S. rybinii* Juz. et Buk. созданы межвидовые гибриды – доноры устойчивости к одному из наиболее вредоносных вирусов картофеля – YVK; среди них гибриды 90-7-7, 90-7-2, 93-104-2 и 180-1, способные передавать потомству устойчивость к YVK, не снижая при этом продуктивности [5]. Показано, что у гибрида 90-7-7 устойчивость к вирусу Y связана с замедленным транспортом и низкой концентрацией вируса в растениях [Рогозина, неопубл.]. Новые источники устойчивости к YVK выделены в ВИРе среди видов *S. stenotomum* Juz. et Buk. (к-14826), *S. phureja* (к-16533), *S. pinnatisectum* Dun. (к-16902) и *S. cardiophyllum* Lindl. (к-21300) [5]. И. М. Яшина в качестве источников устойчивости к YVK использовала образцы видов *S. stoloniferum* и *S. chacoense*. С их участием созданы устойчивые к YVK сорта Эффект, Юбилей Жукова и сорт Утенок [12].

В работах К. З. Будина с соавторами [4] показан моногенно-доминантный характер наследования устойчивости к вирусу M у гибридов, которые получены на основе источников, выделенных среди образцов дикорастущих видов *S. gourlayi* и *S. megistacrolobum*. Гибриды картофеля с этими видами использованы в создании польского сорта Triada, ген *Rm* которого контролирует устойчивость к вирусу M [106]. Следует отметить, что большинство западноевропейских и американских сортов неустойчивы к вирусу M, по-

сколькx угроза поражения МКВ представляет гораздо бoльшую проблему для стран Восточной Европы. Поэтому наиболее активные исследования по созданию новых сортов картофеля с устойчивостью к МКВ проводят в России и Польше.

Создание нового материала с комплексной устойчивостью к различным вирусам – одна из важнейших задач селекции, поскольку наибольшие потери урожая наблюдаются при поражении картофеля несколькими вирусами [86]. В ВИРе выделены образцы видов *S. phureja* (к-1815), *S. rybinii* (к-16533, 3644), *S. stenotomum* (к-16222) с полевой устойчивостью к вирусам X, M, Y и L [9]. Созданы перспективные образцы (95-25-1, 97-152-8, 97-154-6, 97-157-1, 97-159-3 и 97-80-1), обладающие полевой устойчивостью к группе вирусов: X, M и Y. Эти образцы проявляли среднюю устойчивость к вирусным заболеваниям в условиях искусственного инфекционного фона в течение трехлетнего испытания. Задача создания новых доноров с комплексной устойчивостью к различным вирусам значительно упрощается в случае тесного сцепления генов, контролирующих устойчивость к разным вирусам. Так, например, тесное сцепление (6,8 сМ) генов Ry_{adg} и Na_{adg} , локализованных в XI хромосоме вида *S. tuberosum* subsp. *andigena* (А-геном) [44], позволило создать ряд новых сортов картофеля, устойчивых одновременно к вирусам Y и A. В создании венгерских сортов картофеля, устойчивых к YВК и ХВК, участвовал *S. chacoense*. Возможно, сцепление генов Ny_{chc} и Nx_{chc} у *S. chacoense* объясняет устойчивость венгерских сортов к вирусам X и Y [28]. И. М. Яшиной получены образцы, которые, помимо гена устойчивости к вирусу Y *S. chacoense*, обладают генами *Nm* и *Gm*, определяющими устойчивость к M-вирусу картофеля [12].

СОМАТИЧЕСКАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ

В соответствии с дивергенцией геномов культурные и дикорастущие виды картофеля подразделяют на группы с А, АВ, АС, ADD, В и Е-геномами [47, 65]. Дикорастущие виды картофеля представляют источник устойчивости к болезням и вредителям. В то же время из-за барьеров несовместимости из 228 видов секции *Petota* в селекционные программы с культурным картофелем *S. tuberosum* (геном А) вовлечено лишь около 10 % близкородственных видов [3]. Так, например, к настоящему времени известно более 20 генов, контролирующих устойчивость к вирусам картофеля [84, 97]. Эти гены интрогрессированы в сорта картофеля от близкородственных культурных и дикорастущих видов кластера А-геномов и близких аллополиплоидных дикорастущих видов с ADD- и АВ- геномами. Генетический контроль и механизмы устойчивости к важнейшим вирусам изучены только для этого комплекса культурных и дикорастущих видов картофеля.

Барьеры несовместимости ограничили вовлечение в гибридизацию с культурным картофелем (геном А) дикорастущих видов кластера Е-геномов рода *Solanum* (*S. etuberosum*, *S. brevidens*), обладающих крайней устойчивостью к YВК, АВК, ВСЛК и среднеустойчивых к ХВК, МКВ и SBK [95], а также устойчивых к различным видам тли – переносчикам вирусных заболеваний [90, 96]. Генетический контроль устойчивости к патогенам у дикорастущих видов кластера Е-геномов неизвестен. Ряд авторов полагает, что ген(ы) дикорастущих видов кластера Е-геномов, контролирующие крайнюю устойчивость к вирусу Y, отличаются от генов Ry_{sto} и Ry_{and} уже интрогрессированных в устойчивые к YВК сорта картофеля и активно используемых в селекционных программах [97].

Соматическая гибридизация позволяет расширить рамки скрещиваемости видов, преодолевать несовместимость растений и осуществлять перенос чужеродного генетического материала между отдаленными видами. Несколько групп исследователей использовали методы слияния протопластов для преодоления нескрещиваемости между культурным картофелем *S. tuberosum* (А-геном) и дикорастущими видами кластера Е-гено-

мов – *S. etuberosum* и *S. brevidens*. Так, в нашей работе были синтезированы соматические гибриды между культурным картофелем *S. tuberosum* (А-геном) и дикорастущими видами *S. etuberosum* и *S. brevidens* (Е-геном) [6, 41, 88]. Ряд соматических гибридов между картофелем и *S. etuberosum* обладал крайней устойчивостью к YBK. По данным ELISA-теста, вирусную инфекцию не выявляли у гибридов после заражения растений различными штаммами (Y^N , Y^{NTN} , Y^O) как методом механической инокуляции, так и при заражении растений через прививку [41, 54, 88]. Группа американских исследователей на основе соматических гибридов между картофелем и *S. etuberosum* создала новые доноры высокой полевой устойчивости к YBK и ВСЛК, а также новые доноры устойчивости к тле [71]. Финские исследователи выделили источники крайней устойчивости к ВСЛК и высокой устойчивости к YBK в потомстве соматических гибридов картофеля и *S. brevidens* [76]. В нашей работе был отобран образец дикорастущего мексиканского вида *S. tarnii* Hawkes et Hjerting, обладающий крайней устойчивостью к YBK [89]. На основе методов слияния протопластов впервые получены межвидовые гибриды культурного картофеля с этим дикорастущим видом, и некоторые из них наследовали крайнюю устойчивость к YBK *S. tarnii* [89].

Трансгенез

В последние десятилетия созданы трансгенные растения, устойчивые к различным вирусам. Чаще всего вирусостойкость трансформантов не связана с экспрессией *R*- или *N*-генов устойчивости растений, а осуществляется за счет прерывания жизненного цикла самого вируса, что может быть достигнуто посредством интеграции в хромосомы растения-хозяина определенных генов вирусного генома [74], контролирующих синтез белков оболочки [49, 57, 60], нетранслируемой вирусной РНК [61], антисмысловой РНК [58] и гена, кодирующего вирусную репликазу [14]. Такой тип устойчивости получил название PDR (pathogen-derived resistance).

Наиболее часто устойчивые к вирусам трансформанты получают за счет внесения в растения генов, кодирующих синтез белка оболочки вирусов, и экспрессии в трансгенных растениях капсидных белков. В жизненном цикле вирусов белок оболочки необходим для загрузки вирусов во флоэму, благодаря чему и происходит их распространение по растению. Трансгенное растение, конститутивно экспрессирующее белок капсида определенного вируса, приобретает перекрестную устойчивость к данному вирусу, различным его штаммам и изолятам, а в ряде случаев и к близким вирусам из той же таксономической группы. Так, например, при трансформации сорта Фолва (Folva) вектором, несущим ген, контролирующей синтез белка оболочки некротического штамма вируса Y (Y^NBK), трансгенные растения были устойчивы и к изолятам Y^OBK и Y^{NTNBK} [72]. Однако при высокой концентрации инокулюма устойчивость, связанная с геном, кодирующим синтез белка оболочки, может быть преодолена [48]. Одни из первых трансгенных растений с PDR-типом устойчивости созданы у картофеля на основе переноса гена белка оболочки вируса X [49]. У таких растений уровень накопления капсидного белка составил 0,05–0,3 % от общего количества растворимых белков [51]. При этом подтвердилась корреляция между содержанием белка капсида и уровнем устойчивости к ХБК. У трансгенных линий с высоким уровнем вирусостойкости через две недели после заражения титр вируса был в 100–1000 раз меньше, чем у исходных, нетрансформированных растений [51].

Позднее, используя трансформирующие векторы с генами, контролирующими синтез капсидных белков, были созданы трансгенные растения с устойчивостью к вирусам Y и ВСЛК. Поскольку у вируса Y ген, кодирующий белок оболочки, не имеет иницирующего кодона (все белки синтезируются в виде общего предшественника), то при создании транс-

формирующих векторов потребовалось ввести в данный ген дополнительный кодон AUG поблизости от места старта. Трансформанты, несущие такой модифицированный ген, обладали крайней устойчивостью к вирусу Y, однако сам белок оболочки у устойчивых форм трансгенных растений не выявлялся [60]. Аналогично, при трансформации картофеля вектором, содержащим ген, кодирующий синтез белка оболочки вируса ВСЛК, получены вирусостойчивые трансформанты, у которых капсидный белок также не был обнаружен [58, 99]. Более того, высокий уровень вирусостойчивости наблюдали у растений, трансформированных вектором с антисмысловой последовательностью этого гена. У трансформантов обнаружена антисмысловая иРНК, и они не синтезировали белок капсида. Вероятно, в этом случае как смысловая, так и антисмысловая нити РНК действовали аналогичным образом, связываясь с РНК вируса, и тем самым предупреждали ее репликацию [58]. Результаты, полученные П. Ватерхузом с соавторами, подтверждают данное предположение. В работе этих исследователей показано, что трансформанты, содержащие смысловую и антисмысловую последовательности трансгена (ген протеазы вируса Y), отличались более высоким уровнем устойчивости к вирусному заражению по сравнению с растениями, трансформированными вектором, несущим только смысловую или только антисмысловую последовательности [101].

Введение в растения конструкций с геном, кодирующим синтез белка вирусной репликазы, приводило к ингибированию репликации вирусного генома [68]. Устойчивые формы трансформантов, проявляющие вирусостойчивость даже при высоком уровне заражения, характеризовались самым низким содержанием вирусной репликазы. Введение в восприимчивые сорта картофеля гена, кодирующего РНК-зависимую РНК-полимеразу вируса ВСЛК, позволило создать трансгенные растения, устойчивые к этому вирусу [85]. Известно, что устойчивость трансгенных растений, обусловленная нарушениями репликации и/или трансляции вирусных белков, связана с механизмами посттранскрипционного сайленсинга. Этот тип устойчивости характеризуется высокоспецифичной деградацией вирусной РНК при взаимодействии с трансгенной иРНК, для чего необходима высокая степень их гомологии [36].

Трансгенные растения с PDR-типом устойчивости к вирусам созданы также на основе использования конструкций с геном, кодирующим транспортный белок, способствующий распространению вируса по растению путем повышения проводимости плазмодесм. Растения картофеля были трансформированы вектором, содержащим открытую рамку считывания гена *pr17*, кодирующего флоэмо-специфичный транспортный белок протеин 17. У устойчивых линий этих трансгенных растений происходило накопление иРНК, но протеин 17 не синтезировался. Такие линии оказались устойчивыми к вирусу ВСЛК, но поражались вирусами X и Y. Трансгенные растения картофеля, полученные при переносе мутантного гена *pr17*, были устойчивы к вирусам X и Y; у этих растений отмечена трансляция мутантного гена *pr17*. На основании полученных результатов авторы заключили, что устойчивость к ВСЛК реализуется на уровне иРНК, а устойчивость к вирусам X и Y связана с экспрессией гена *pr17* [87]. При трансформации теми же конструкциями растений табака среди трансформантов выделены растения с изменениями плазмодесм в клетках флоэмы, в то время как в тканях мезофилла листьев плазмодесмы оставались нормальными [50].

Разработано также несколько путей создания трансгенных растений с широким спектром устойчивости, не связанной с переносом вирусных генов. В клеточных мембранах лаконоса (*Phytolacca americana*) обнаружен белок PAP (pokeweed antiviral protein), ингибирующий работу рибосом. Растения картофеля, трансформированные кДНК PAP белка, проявляли частичную устойчивость к вирусам X и Y [62]. Средняя устойчивость к вирусу X наблюдалась у трансгенных растений картофеля сорта Пито (Pito),

несущих ген 2'-5' олигоаденилатсинтетазы крысы. Показано, что этот ген, активируясь под действием двунитовой РНК, в свою очередь вызывает активацию латентной эндонуклеазы, расщепляющей РНК вируса [92]. Получены вирусоустойчивые трансгенные растения картофеля с генами млекопитающих, кодирующих синтез антител к растительным вирусам [105].

Как уже указывалось выше, несколько *R*-генов картофеля, определяющих устойчивость к вирусам, были клонированы. Генетические конструкции, несущие доминантные аллели этих генов, использовали для трансформации восприимчивых сортов картофеля. Так, трансгенные линии восприимчивого сорта Марис Бард (Maris Bard) с трансгеном *Rx_{and}* характеризовались крайней устойчивостью к ХВК [20].

Таким образом, наиболее эффективным подходом к снижению потерь урожая картофеля, вызванных вирусными болезнями, является возделывание вирусоустойчивых сортов. Вместе с тем такой подход одновременно является и наиболее экологически чистым способом борьбы с вирусными болезнями, поскольку выращивание устойчивых к вирусам сортов снижает применение химических средств защиты против переносчиков вирусов – насекомых и нематод. Развитие традиционной селекции и внедрение методов биотехнологии, направленных на создание источников, доноров и новых сортов с высокой устойчивостью к вирусам и их переносчикам, позволяет надеяться на прогресс в стабилизации урожая картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блоцкая Ж. В. Методы селекции картофеля на устойчивость к вирусным болезням. Минск, 1984. 94 с.
2. Будин К. З. Генетические основы селекции картофеля. Л., 1986. 192 с.
3. Будин К. З., Гавриленко Т. А. Генетические основы отдаленной гибридизации картофеля// Генетика. 1994. Т. 30. С. 1413–1422.
4. Будин К. З., Житлова Н. А., Соболева Т. И. Межвидовые гибриды картофеля – генетические источники и доноры устойчивости к патогенам: Каталог мировой коллекции ВИР. Л.: ВИР, 1989. Вып. 447. 20 с.
5. Будин К. З., Rogozina E. B. Доноры и источники устойчивости к патогенам картофеля: Каталог мировой коллекции ВИР. СПб., 1998. Вып. 691. 24 с.
6. Гавриленко Т. А. Межродовая, межвидовая, внутривидовая гибридизация пасленовых: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. д-ра биол. наук. СПб.: ВИР, 2000. 40 с.
7. Гнутова Р. В. Иммунологические исследования в вирусологии. М., 1985. 183 с.
8. Найданова Г. М. Устойчивость к штаммам вируса Y у диких видов и межвидовых гибридов картофеля// Науч.-техн. бюл. Новосибирск, 1980. Вып. 1. С. 12–19.
9. Палеха С. В., Rogozina E. B. Новый исходный материал для селекции картофеля на устойчивость к вирусным болезням// Совершенствование технологии возделывания картофеля. Пенза, 2000. С. 58–60.
10. Рейфман В. Г. Десять лет фитовирусологических исследований на Дальнем Востоке// Труды Биол. почвен. ин-та. 1976. Т. 25. С. 9.
11. Склярова Н. П. Изучение и генетическая оценка диких видов и гибридов картофеля по устойчивости к вирусам Y, X, M: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. М., 1970. 24 с.
12. Яшина И. М. Создание и генетическая оценка нового исходного материала картофеля и эффективные пути его использования в селекции: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. д-ра с.-х. наук. М., 2000. 70 с.
13. Abbink T. E. M., Tjernberg P. A., Bol J. F., Huub J. M., Linthorst J. M. Tobacco mosaic virus helicase domain induces necrosis in N gene-carrying tobacco in the absence of virus replication// Mol. Plant-Microbe Interact. 1998. V. 11. P. 1242–1246.
14. Audi P., Palukaitis P., Slack S. A., Zaitlin M. Replicase-mediated resistance to potato virus Y in transgenic plants// Ibid. 1994. V. 7. P. 15–22.
15. Bagnall R., Young D. Resistance to virus S in the potato// Am. Potato J. 1972. V. 49. P. 196–201.
16. Baker B., Zambryski P., Staskawicz B., Dinesh-Kumar S. P. Signaling in plant-microbe interaction// Science. 1997. V. 276. P. 726–733.
17. Barker H. Multiple components of the resistance of potato leafroll virus// Ann. Appl. Biol. 1987. V. 111. P. 641–648.

18. Baulcombe D., Flavell R. B., Boulton R. E., Jellis G. J. The sensitivity and specificity of rapid nucleic acid hybridization method for the detection of potato virus X in crude sap samples// *Plant Path.* 1984. V. 33. P. 361–370.
19. Bendahmane A. P., Kanyuka K., Balkombe D. High-resolution genetical and physical mapping of the Rx-gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato// *Theor. Appl. Gen.* 1997. V. 95. P. 153–162.
20. Bendahmane A., Kanyuka K., Baulcombe D. C. The rx-gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses// *Pl. Cell.* 1999. V. 11. P. 781–791.
21. Bendahmane A., Kuhn B. A., Dedi C., Baulcombe D. C. The coat protein of potato virus X is a strain-specific elicitor of Rx1-mediated virus resistance in potato// *Plant J.* 1995. V. 8. P. 933–941.
22. Brigneti G., Garcia-Mas J., Baulcombe D. C. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene $R_{Y_{sto}}$ in potato// *Theor. Appl. Gen.* 1997. V. 94. P. 198–203.
23. Brown C. R., Thomas P. E. Resistance to potato leafroll virus derived from *Solanum chacoense*, characterization and inheritance// *Euphytica.* 1994. V. 74. P. 5–57.
24. Brown C. R., Fernandez-Northcote E. N., Jayasinghe U., Salazar L. Breeding virus-resistant potato cultivars for developing countries// *CIP Circular.* 1984. V. 1. P. 1–4.
25. Cadman C. Autotetraploid inheritance in the potato// *J. Gen.* 1942. V. 44. P. 33–52.
26. Celebi-Toprak F., Slack S. A., Jahn M. M. A new gene, Ny_{ubr} , for hypersensitivity to Potato Virus Y from *Solanum tuberosum* Maps to Chromosome IV// *Theor. Appl. Gen.* 2002. V. 104. P. 669–674.
27. Chrzanoska M. Evaluation of resistance and reaction of potato cultivars and breeders Selections to PVY strains// *The Methods of evaluation and selection applied in potato research and breeding.* Radzikow: IHAR, 2001. 131 p.
28. Cockerham G. Genetical studies on resistance to potato viruses X and Y// *Heredity.* 1970. V. 25. P. 309–348.
29. Cooper J. I., Jones A. T. Responses of plants to viruses, proposals for the use of terms// *Phytopath.* 1983. V. 73. P. 127–128.
30. Culver J. N., Dawidson W. O. Tobacco mosaic virus elicitor coat protein genes produce a hypersensitive phenotype in transgenic *Nicotiana sylvestris* plants// *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1991. V. 4. P. 458–463.
31. Culver J. N. Viral avirulence genes// In: *Plant-Microbe Interact.* N. Y., 1997. V. 1. P. 196–219.
32. Davidson T. M. W. Breeding for resistance to virus disease of the potato (*Solanum tuberosum*) at the Scottish Plant Breeding Station// *Ann. Report.* Edinburgh, 1980. P. 100–108.
33. De Jong W., Forsyth A., Leister D., Gebhardt C., Baulcombe D. A potato hypersensitive resistance gene against potato virus X maps to a resistance gene cluster on chromosome 5// *Theor. Appl. Gen.* 1997. V. 95. P. 246–252.
34. Dhar A. K., Singh R. P. Improvement in the sensitivity of PVY^N detection by increasing the cDNA probe size// *J. Virol. Methods.* 1994. V. 50. P. 197–210.
35. Dziewonska M., Ostrowska K. Resistance to potato virus M in certain wild potato species// *Potato Research.* 1978. V. 21. P. 129–131.
36. English J. J., Mueller E., Baulcombe D. C. Suppression of virus accumulation in transgenic plant exhibiting silencing of nuclear genes// *Pl. Cell.* 1996. V. 8. P. 179–188.
37. Eweida M., Sit T. L., Abou-Haidar M. G. Molecular cloning of the genome of the Carlavirus potato virus S. Biotinylated RNA transcripts for detection in crude potato extracts// *Ann. Appl. Biol.* 1989. V. 115. P. 253–261.
38. Fernandez-Northcote E. N. Variability of PVX and PVY and its relationship to genetic resistance// *Intern. Potato Center.* Lima, 1990. P. 131–139.
39. Flor H. H. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*// *J. Agric. Res.* 1946. V. 73. P. 335–357.
40. Fribourg C., Nakashima J. Characterization of a new potyvirus from potato// *Phytopath.* 1984. V. 74. P. 1363–1369.
41. Gavrilenko T., Thieme R., Heimbach U., Thieme T. Genomic in situ hybridization analysis of fertile somatic hybrids of *Solanum tuberosum* (+) dihaploid *Solanum tuberosum* and their backcrossing progenies: relationships of genome dosage with tuber development and resistance to potato virus Y// *Euphytica.* 2003. V. 131. P. 323–332.
42. Gebhardt C., Valkonen J. P. T. Organization of genes controlling diseases resistance in the potato genome// *Ann. Rev. Phytopath.* 2001. V. 39. P. 79–102.
43. Golinowski W., Tomenius K., Oxelfelt P. Ultrastructural studies on potato phloem cells infected with PLRV—comparison of two potato varieties// *Acta Agric. Scand.* 1987. V. 37. P. 3–19.

44. *Hämäläinen J. H., Sorri V. A., Watanabe K. N., Gebhardt C., Valkonen J. P. T.* Molecular examination of a chromosome region that controls resistance to potato Y and A potyviruses in potato// *Theor. Appl. Gen.* 1998. V. 96. P. 1036–1043.
45. *Hämäläinen J.* Molecular mapping of potyvirus resistance genes in diploid potatoes// Doctor's dissert. Sweden, Uppsala, 1999. 67 p.
46. *Hämäläinen J., Kekarainen T., Watanabe K. N., Valkonen J. P. T.* Recessive and dominant gene interfere with the vascular transport of potato virus A in diploid potatoes// *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2000. V. 13. P. 402–414.
47. *Hawkes J. G.* Origins of cultivated potatoes and species relationships// *Potato Gen.* Wallingford, 1994. P. 3–42.
48. *Hefferon K., Khalilian H., Abouhaidar M.* Expression of the PVY^o coat protein under the control of the PVX CP-gene leader sequence, protection under greenhouse and field conditions against PVY^o and PVY^N infection in 3 potato cultivars// *Theor. Appl. Gen.* 1997. V. 94. P. 287–292.
49. *Hemenway C., Fang R.-X., Kaniewski W., Chua N.-H., Tumer N. E.* Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA// *The EMBO J.* 1988. V. 7. P. 1273–1280.
50. *Herbers K., Tacke E., Hazirezaei M., Krause K., Meilzer M., Sonnewald U.* Expression of a luteoviral movement protein in transgenic plants leads to carbohydrate accumulation and reduced photosynthetic capacity in source leaves// *Plant J.* 1997. V. 12. P. 1045–1056.
51. *Hoekema A., Huisman M. J., Molendijk L., Van den Elsen P. J. M., Cornelissen B. J. C.* The genetic engineering of two commercial potato cultivars for resistance to potato virus X// *Bio-Technol.* 1989. V. 7. P. 273–278.
52. *Hutton E. M., Brock R. D.* Reactions and resistance of some potato varieties and hybrids to the roll virus// *Aust. J. Agric. Res.* 1953. V. 4. P. 256–263.
53. *Hutton E. M.* Possible genotypes conditioning virus resistance in the potato and tomato// *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 1951. V. 17. P. 132–138.
54. *Ivanova T., Antonova O., Rogozina E., Thieme R., Gavrilenko T.* Transfer of resistance from wild species to potato *Solanum tuberosum* through somatic hybridization// *XI Intern. Mol. Plant-Microbe Interact.* 2003. P. 182.
55. *Jeffries C.* Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm, Potato// Rome: IPGRI, 1998. N 19. 180 p.
56. *Jones R.* Strain group specific and virus specific hypersensitive reaction to infection with potyviruses in potato cultivars// *Ann. Appl. Biol.* 1990. V. 117. P. 93–105.
57. *Kawchuk L. M., Martin R. R., MacPherson J.* Resistance in transgenic potato expressing the potato leafroll virus coat protein gene// *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1990. V. 3. P. 301–307.
58. *Kawchuk L., Martin R., MacPherson J.* Sense and antisense RNA-mediated resistance to potato leafroll virus in Russet Burbank potato plants// *Ibid.* 1991. V. 4. P. 247–253.
59. *Kojima R., Lapierre H.* Potato leafroll virus// *European Handbook of Plant Diseases.* Oxford, 1988. P. 23–24.
60. *Lawson C., Kaniewski W., Haley L., Rozman R., Newell C., Sanders P.* Engineering resistance to mixed virus infection in a commercial potato cultivar, resistance to potato virus X and potato virus Y in transgenic Russet Burbank potato// *Bio-Technol.* 1990. V. 8. P. 127–134.
61. *Lindbo J. A., Dougherty W. G.* Pathogen-derived resistance to a potyvirus, immune and resistant phenotypes in transgenic tobacco expressing other forms of a potyvirus coat protein nucleotide sequence// *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1992. V. 5. P. 144–153.
62. *Lodge J. K., Kaniewski W. K., Tumer N. E.* Broad spectrum resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein// *PNAS USA.* 1993. V. 90. P. 7089–7093.
63. *Marczewski W., Hennig J., Gebhardt C.* The potato virus S resistance gene Ns maps to potato chromosome VIII// *Theor. Appl. Gen.* 2002. V. 105. P. 564–567.
64. *Marczewski W., Flis B., Syller J., Schafer-Pregl R., Gebhardt C.* A major QTL for resistance to Potato leafroll virus (PLRV) is located in a resistance hotspot on potato chromosome XI and is tightly linked to N-gene-like markers// *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2001. V. 12. P. 1420–1425.
65. *Matsubayashi M.* Phylogenetic relationships in the potato and its related species// *Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution.* Amsterdam: Elsevier, 1991. P. 93–118.
66. *Meshi T., Motoyoshi F., Adachi A., Watanabe Y., Takamatsu N., Okada Y.* Two concomitant base substitutions in the putative replicase genes of tobacco mosaic virus confer the ability to overcome the effects of a tomato resistance gene, Tm-1// *The EMBO J.* 1989. V. 7. P. 1575–1581.
67. *Mills W. R.* Inheritance of immunity to potato virus X// *Am. Potato J.* 1965. V. 42. P. 294–295.

68. Mueller E., Gilbert J., Davenport G., Brigneti G., Baulcombe D. Homology dependent resistance: transgenic virus resistance in plants related to homology-dependent gene silencing// *Plant J.* 1995. V. 7. P. 1001–1013.
69. Munoz F. J., Plaisted R. L., Thurston H. D. Resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*// *Am. Potato J.* 1975. V. 52. P. 107–115.
70. Nicolas O., Dunnington S., Gotow L., Pirone T., Hellmann G. Variations in the VPg protein allow a potyvirus to overcome va-gene resistance in tobacco// *Virology*. 1997. V. 237. P. 452–459.
71. Novy R., Nasruddin A., Ragsdale D., Radcliffe E. Genetic resistances to potato leafroll virus, potato virus Y, and green peach aphid in progeny of *Solanum tuberosum*// *Am. J. Potato Res.* 2002. V. 79. P. 9–18.
72. Okamoto D., Nielsen S. V. S., Albrechtsen M., Borkhardt B. General resistance against potato virus Y introduced into a commercial potato cultivar by genetic transformation with PVYN coat protein gene// *Potato Res.* 1996. V. 39. P. 271–282.
73. Pochitonow Z. Dziedziczenie odpornosci na wirus M ziemniaka (PVM) w diploidalnych mieszcach pochodzacych od *Solanum gourlayi* Hawk// *Praca doktorska. Inst. Ziemi. Mlochow*, 1989. 57 p.
74. Powell-Abel P., Nelson R. S., DE W., Hoffmann N., Rogers S. G., Fraley R. T., Beachy R. N. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene// *Science*. 1986. V. 32. P. 738–743.
75. Ritter E., Debener T., Barone A., Salamini F., Gebhardt C. RFLP mapping on potato chromosomes of two genes controlling extreme resistance to potato virus X (PVX)// *MGG*. 1991. V. 227. P. 81–85.
76. Rokka V.-M., Valkonen J., Tauriainen A., Pietilä L., Lebecka R., Zimnoch-Guzowska E., Pehu E. Production and characterization of 'Second Generation' somatic hybrids derived from protoplast fusion between interspecific somatohaploid and dihaploid *Solanum tuberosum* L.// *Am. J. Potato Res.* 2000. V. 77. P. 149–159.
77. Ross H. Der Vererbung der Immunität gegen das Xβ-virus in tetraploidem *Solanum acaule*// In: *Proceed. of the 9th Intern. Congr. of Genetics. Caryologia. Bellagio*, 1954. V. 6. P. 1128–1132.
78. Ross H. Potato breeding – problems and perspectives. *Advances in Plant Breeding*// *J. Plant Breed.* 1986. V. 13 (suppl.). 182 p.
79. Ross H. Über der Vererbung von Eigenschaften für Resistenz gegen das Z- und A-virus in *Solanum stoloniferum* und die mögliche Bedeutung für eine allgemeine Genetik der Virusresistenz in *Solanum sect. tuberosum*// *Confer. Potato Virus Dis. Braunschweig*, 1961. P. 40–49.
80. Rouppe van der Voort J., Wolters P., Folkertsma R., Hutten R., van Zandvoort P., Vinke H., Kanyuka K., Bendahmane A., Jakobsen E., Janssen R., Bakker J. Mapping of the cyst nematode resistance locus Gpa 2 in potato using a strategy based on comigrating AFLP-markers// *Theor. Appl. Gen.* 1997. V. 95. P. 874–880.
81. Singh M., Singh R. P. Potato virus Y detection: sensitivity of RT-PCR depends on the size of fragment amplified// *Can. J. Plant Pathol.* 1997. V. 19. P. 149–155.
82. Singh R. P. Development of the molecular methods for potato virus and viroid detection and prevention// *Genome*. 1999. V. 42. P. 592–604.
83. Smith O., Damsteegt V., Keller C., Beck R. Detection of potato leafroll virus in leaf and aphid extracts by dot-blot hybridization// *Plant Dis.* 1993. V. 77. P. 1098–1102.
84. Solomom-Blackburn R., Barker H. A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: genes, genetics and mapped locations// *Heredity*. 2001. V. 86. P. 8–16.
85. Solomom-Blackburn R., Barker H. Breeding virus resistant potatoes (*Solanum tuberosum*): a review of traditional and molecular approaches// *Ibid.* P. 17–35.
86. Swiezynski K. M. Inheritance of resistance to viruses// *Potato genetics*. 1994. P. 229–363.
87. Tacke E., Salamini F., Rohde W. Genetic engineering of potato for broad-spectrum protection against virus infection// *Nature Biotechnol.* 1996. V. 14. P. 1597–1601.
88. Thieme R., Gavrilenko T., Thieme T., Heimbach U. Production of potato genotypes with resistance to potato Virus Y by biotechnological methods// *Plant Biotechnol.* 1999. P. 557–560.
89. Thieme R., Dinu I., Darsow U., Rakosy-Tican L., Kang Z., Gavrilenko T., Antonova O., Heimbach U., Thieme T. Use of somatic hybridization to transfer resistance to late blight and Potato Virus Y (PVY) into cultivated potato// *Plant Breed. and Seed Science (PBSS)*. 2004. V. 50. P. 113–118.
90. Thieme T., Thieme R. Evaluation of resistance to potato virus Y (PVY) in wild species and potato breeding clones of the genus *Solanum*// *Aspects Appl. Biol.* 1998. V. 52. P. 355–359.
91. Tommiska T., Hämäläinen J., Watanabe K., Valkonen J. Mapping of gene N_{x_{phu}} that controls hypersensitive resistance to potato virus X in *Solanum phureja* IvP35// *Theor. Appl. Gen.* 1998. V. 96. P. 840–843.
92. Truve E., Aaspollu A., Honkanen J., Puska R., Mehto M., Hassl A., Teeri T., Kelve M., Seppanen P., Searma M. Transgenic potato plants expressing mammalian 2'-5' oligoadenylate synthetase are protected from potato

- virus infection under field conditions// Bio-Technol. N. Y., 1993. V. 11. P. 1048–1052.
93. *Valkonen J. P. T., Jones R. A. C., Slack S. A., Watanabe K. N.* Resistance specificities to viruses in potato: Standardization of nomenclature// Plant Breed. 1996. V. 115. P. 433–438.
 94. *Valkonen J. P. T., Slack S. A., Plaisted R. L., Watanabe K. N.* Extreme resistance is epistatic to hypersensitive resistance to Potato virus Y^o in a *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*-derived potato genotype// Plant Dis. 1994. V. 78. P. 1177–1180.
 95. *Valkonen J., Brigneti G., Salazar L., Pehu E., Gibson R.* Interactions of the *Solanum* sp. of the *Etuberosa* group and 9 potato-infecting viruses and viroid// Ann. Appl. Biol. 1992. V. 20. P. 301–313.
 96. *Valkonen J. P. T., Brigneti G., Pehu E.* Resistance to *Myzus persicae* (Suls.) in wild potatoes of the series *Etuberosa*// Acta Agric. Scand. 1992. V. 42. P. 118–127.
 97. *Valkonen J. P. T.* Natural genes and mechanisms for resistance to viruses in cultivated and wild potato species// Plant Breed. 1994. V. 12. P. 1–16.
 98. *Van der Voort J. R., Kanjuka K., van der Vossen E., Bendahmane A., Mooijman P., Klein-Lankhorst R.* Tight physical linkage of the nematode resistance gene *Gpa2* and the virus resistance gene *Rx* on a single segment introgressed from the wild species *S. tuberosum* subsp. *andigena* CPC 1673 into cultivated potato// Mol. Plant-Microbe Interact. 1999. V. 12. P. 197–206.
 99. *Van der Wilk F., Posthumus-Lutke Willink D., Huisman M. J., Huttinga H., Golbach R.* Expression of the potato leafroll luteovirus coat protein gene in transgenic potato plants inhibits viral infection// Plant. Mol. Biol. 1991. V. 17. P. 431–439.
 100. *Was M., Dziejowska M., Ostrowska K.* Further characteristics of reaction to potato virus M (PVM) in hybrids between *Solanum gourlayi* Hawk. and *S. tuberosum*// Plant Virol. Brno, 1981. P. 201–203.
 101. *Waterhouse P., Graham M., Wang M.* Virus resistance and gene silencing in plants can be induced by simultaneous expression of sense and antisense RNA// Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998. V. 95. P. 13959–13964.
 102. *Weber H., Schulze S., Pfitzner A. J. P.* Two amino-acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein counter the ability to overcome the *Tm-2'*-resistance gene in tomato// J. Virol. 1994. V. 67. P. 6432–6438.
 103. *Whitham S., Dinesh-Kumar S., Choi D., Hehl R., Corr C., Baker B.* The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *N*: similarity to Toll and the interleukin-1 receptor// Cell. 1994. V. 78. P. 1101–1115.
 104. *Wilson C. R., Jones R.A.C.* Resistance to phloem transport of potato leafroll virus in potato plants// J. Gen. Virol. 1992. V. 73. P. 219–224.
 105. *Zimmermann S., Liao Y., Fischer R.* Intracellular expression of TMV-specific single-chain Fv fragments leads to improved virus resistance in *N. tabacum*// Mol. Breed. 1998. V. 4. P. 369–379.
 106. *Zimnoch-Guzowska E., Syller J., Sieczka M.* The Methods of evaluation and selection applied in potato research and breeding. Radzikow: IHAR, 2001. 131 p.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ИНТРОГРЕССИЮ СЕЛЕКЦИОННО ЦЕННЫХ ГЕНОВ У ЗЛАКОВ

Г. И. Пендинен, канд. биол. наук; В. Е. Чернов, канд. биол. наук

Цитогенетические исследования особенностей взаимодействия родительских генов при отдаленных скрещиваниях в процессе развития гибридных зародышей и растений являются неотъемлемой частью в работах по отдаленной гибридизации. Они необходимы для прогнозирования возможностей интрогрессии чужеродного генетического материала в геномы культурных растений. Такие исследования имеют теоретическое значение, связанное с эволюцией видов и систематикой, и представляют практическую ценность, позволяя на основе полученных результатов определять оптимальные методы для интрогрессии ценных чужеродных генов в геномы культурных растений, а также пути восстановления фертильности гибридных форм. Все это позволяет более углубленно понять процессы видообразования и расширить генетическое разнообразие возделываемых растений, в связи с чем Н. И. Вавилов отметил исключительную перспективность работ в этой области [1].