

«М.А.Гендельманның 110 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 19» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 19», посвященной 110 - летию М.А. Гендельмана». – 2023. - Т.І, Ч.І.- С. 157-160.

**УДК635.21/632.934.3**

## **ОЗДОРОВЛЕНИЕ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *INVITRO* МЕТОДОМ ХИМИОТЕРАПИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ РИБАВИРИНА**

*Маханова М.М. докторант 2 курса  
Казахский агротехнический исследовательский университет им. С. Сейфул-  
лина,  
г.Астана*

Картофель играет важную роль в устойчивой продовольственной безопасности, и входит в четверку крупнейших сельскохозяйственных культур, ежегодно производимых с высокой долей от общей площади и урожайности в мире после риса, пшеницы и кукурузы [1]. Вегетативное размножение картофеля клубнями – основной метод, используемый фермерами. К числу основных проблем, связанных с вегетативным размножением семенного картофеля, относят восприимчивость к вирусным, бактериальным и грибным заболеваниям. Наиболее вредоносными фитопатогенами, снижающими урожай и качество клубней культуры, которые могут проявляться в латентной форме, являются вирусные заболевания [2].

В мире насчитывается около 40 видов вирусов, поражающих картофель. Снижение урожая из-за вирусных заболеваний может достигать 75%. По данным исследований на территории Казахстана в картофелеводческих посадках распространены X-вирус картофеля (ХВК), Y-вирус картофеля (YBK), S-вирус картофеля (SBK) и M-вирус картофеля (MBK), вирус скручивания листьев картофеля (BSLK), однако чаще встречаются вирусы рода *Carlavirus*: SBK и MBK [3,4].

Цель настоящих исследований – определение оптимальной концентрации противовирусного препарата «Рибавирин» при оздоровлении растений картофеля *invitro*.

Исследования проведены в условиях лаборатории биотехнологии растений кафедры «Биология, защита и карантин растений» НАО «Казахский агротехнический университет имени С. Сейфуллина» в рамках проекта AP14870270 «Молекулярно-генетическое обоснование устойчивости отечественных и зарубежных сортов и гибридов картофеля к основным вирусным, нематодным заболеваниям и фитофторозу», источник финансирования – Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, а также Международной научной программы: «Создание перспективных ли-

ний картофеля на основе генетических ресурсов КНР и Республики Казахстан».

Исследуемые растения картофеля культивировали *in vitro* в условиях 16-часового фотопериода при освещенности 3000-10000 люкс, температуре около 25°C, относительной влажности воздуха 60-70% [5]. Растения картофеля анализировали до и после проведения оздоровления от МВК «сэндвич-вариантом» метода иммуноферментного анализа (ИФА) коммерческими диагностическими наборами компании Agdia (США) в соответствии с прилагаемой инструкцией [6]. Результаты ИФА регистрировали на планшетном фотометре StatFax 4200 (Awareness Technology, США) при длине волны 405 нм. Образцы считались зараженными, если их оптическая плотность в три раза превышала оптическую плотность отрицательного контроля.

Для оздоровления растений картофеля использовали противовирусный препарат «Рибавирин» (виразол), который обеззараживали методом холодной стерилизации с помощью вакуумного фильтра Vacuum filtration 500 «rapid»-Filtermax (Швейцария) и добавляли, в автоклавированную при 1 атм, питательную среду в асептических условиях ламинарного бокса.

Объектами исследования послужили, инфицированные МВК, растения картофеля казахстанского сорта Альянс, которые культивировали *in vitro* на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС). Данные растения черенковали и высаживали на жидкую безгормональную питательную среду МС с добавлением противовирусного препарата в следующих концентрациях: 10 мг/л (В-1), 20 мг/л (В-2), 40 мг/л (В-3).

На первом этапе настоящих исследований проводили поиск моноинфицированных МВК клонов у различных сортов и селекционных линий картофеля: Aladin, Альянс, Gala, Невский, Линия 17-205-6 (таблица 1).

Таблица 1–Результаты оценки зараженности культуральных растений различных сортов картофеля основными вирусами методом ИФА

Название образца	МВК			SBK			УВК			ХВК			ВСЛК			Результат диагностики
	Ао	Ао/ОК	Р	Ао	Ао/ОК	Р	Ао	Ао/ОК	Р	Ао	Ао/ОК	Р	Ао	Ао/ОК	Р	
Aladin	0,082	1,4	-	0,074	1,3	-	0,078	1,2	-	0,074	1,1	-	0,041	1,1	-	На размножение
Альянс	0,342	5,8	+	0,119	2,1	-	0,110	1,7	-	0,176	2,6	-	0,083	2,2	-	Отобран для оздоровления
Gala	0,050	0,8	-	0,049	1,1	-	0,045	0,7	-	0,142	2,1	-	0,034	0,9	-	На размножение
Невский	0,166	2,8	-	0,319	5,6	+	0,344	5,3	+	0,496	7,3	+	0,045	1,2	-	Выбракован
Линия 17-205-6	0,640	11	+	0,228	4,0	+	0,227	3,5	+	0,169	2,5	-	0,053	1,4	-	Выбракована
ПК	0,247	4,2	+	0,524	9,2	+	0,487	7,5	+	0,509	7,5	+	0,296	7,8	+	
ОК	0,059	1,0	-	0,057	-	-	0,065	-	-	0,068	-	-	0,038	-	-	

Примечание: «Ао» – среднее значение экстинкции образца; «Ао/ОК» – отношение значения образца к значению отрицательного контроля; «Р» – результат тестирования; «+» – наличие вируса; «-» – отсутствие вируса; «ПК» – положительный контроль; «ОК» – отрицательный контроль.

В результате проведенного тестирования полиинфицированные образцы (линия 17-205-6, Невский) были выбракованы, свободные от вирусов картофеля сорта (Gala, Aladdin)- отобраны для дальнейшего микрклонального размножения, а моноинфицированный МВК клон сорта Альянс был тиражирован для проведения эксперимента по оздоровлению методом химиотерапии.

В исследуемых образцах картофеля встречалось большинство распространённых в Республике Казахстан вирусов [3, 4], за исключением ВСК.

После наработки достаточного количества клонов инфицированного сорта картофеля Альянс *in vitro*, одноузловые черенки, культивировали для изучения эффективности действия препарата «Рибавирин».

С целью прослеживания наличия вируса в культуральных растениях и исключения неточных результатов после химиотерапии, тестирование на вирусносительство проводили в течение двух циклов микрочеренкования (таблица 2).

В соответствии с данными таблицы 2, освобождение от МВК произошло в одном случае на 2-м варианте опыта с концентрацией рибавирина в среде 20 мг/л и у двух растений на 3-м варианте опыта с концентрацией рибавирина- 40 мг/л. Концентрация 10 мг/л 1-го варианта опыта оказалась неэффективной для оздоровления растений от МВК.

Полученные результаты соответствуют ранее опубликованным работам отечественных исследователей, свидетельствующих об эффективности применения рибавирина для оздоровления от МВК в концентрации 40 мг/л [7] и данным зарубежных авторов, где максимальная эффективность оздоровления растений рибавирином от исследуемого вируса отмечалась при концентрации препарата –35-50 мг/л [8].

Таблица 2–Результаты тестирования культуральных растений картофеля сорта Альянс на наличие МВК методом ИФА после химиотерапии в динамике

Название варианта опыта	№ растения	1 цикл микрочеренкования			2 цикл микрочеренкования			Результат химиотерапии
		Ао	Ао/ОК	Р	Ао	Ао/ОК	Р	
1 вариант (10 мг/л рибавирина)	1	0,105	3,5	+	0,418	3,1	+	инфицирован
	2	0,093	3,1	+	2,969	22	+	инфицирован
	3	0,135	4,5	+	1,891	14	+	инфицирован
	4	0,126	4,2	+	0,715	5,3	+	инфицирован
	5	0,150	5,0	+	1,336	9,9	+	инфицирован
	6	0,117	3,9	+	2,295	17	+	инфицирован
	7	0,105	3,5	+	3,105	23	+	инфицирован

	8	0,141	4,7	+	0,688	5,1	+	инфицирован
	9	0,132	4,4	+	2,161	16	+	инфицирован
	10	0,126	4,2	+	2,565	19	+	инфицирован
2 вариант (20 мг/л рибавирина)	1	0,150	5,0	+	0,634	4,7	+	инфицирован
	2	0,117	3,9	+	1,012	7,5	+	инфицирован
	3	0,069	2,3	-	0,351	2,6	-	оздоровлен
	4	0,141	4,7	+	2,700	20	+	инфицирован
	5	0,108	3,6	+	3,105	23	+	инфицирован
	6	0,216	7,2	+	0,688	5,1	+	инфицирован
	7	0,237	7,9	+	2,160	16	+	инфицирован
	8	0,228	7,6	+	0,405	3	+	инфицирован
	9	0,225	7,5	+	3,105	23	+	инфицирован
	10	0,195	6,5	+	1,890	14	+	инфицирован
3 вариант (40 мг/л рибавирина)	1	0,135	4,5	+	1,655	13	+	инфицирован
	2	0,126	4,2	+	0,162	1,2	-	на изучении
	3	0,063	2,1	-	0,310	2,3	-	оздоровлен
	4	0,105	3,5	+	0,783	5,8	+	инфицирован
	5	0,141	4,7	+	2,700	20	+	инфицирован
	6	0,126	4,2	+	1,755	13	+	инфицирован
	7	0,084	2,8	-	0,337	2,5	-	оздоровлен
	8	0,090	3,0	+	1,620	12	+	инфицирован
	9	0,093	3,1	+	0,715	5,3	+	инфицирован
	10	0,132	4,4	+	0,675	5	+	инфицирован
Исходное растение	1	0,126	4,2	+	0,648	4,8	+	
ПК		0,108	3,6	+	2,295	17	+	
ОК		0,030	1,0	-	0,135	1	-	

Таким образом, установлено, что концентрации препарата «Рибавирин» 40 мг/л является оптимальной для оздоровления растений картофеля сорта Альянс от МВК invitro с эффективностью 20%.

#### Список литературы

- 1 Wang, B., Y. Ma, Z. Zhang, Z. Wu, Y. Wu, Q. Wang, and M. Li. Potato viruses in China. [Text] / Crop Protection, - 2011. - № 30 (9). – P.1117–1123.
- 2 Анисимов, Б.В. Фитопатогенные вирусы и их контроль в семеноводстве картофеля. [Текст]: М.: ФГНУР осинформагротех, 2004.-80 с.
- 3 Бейсембина Б. Молекулярно-биологическое обоснование устойчивости сортов картофеля к штаммам PVY [Текст] / Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD). - Нур-Султан, 2021. - С. 59-60.
- 4 Александрова А.М., Карпова О.В., Наргилова Р.М. и др. Распространение вирусных болезней картофеля *Solanum tuberosum* на территории Казахстана [Текст] / Биология – XXI века: матер. 22-й междунар. студ. конф. – Пущино, 2018. – С. 274-279.

5 Нетесова М.А., Швидченко В.К., Хасанов В.Т. Биотехнология сельскохозяйственных растений. [Текст]: Астана, 2006. – 156 с.

6 User Guide: DAS-ELISA Reagent Set. Agdia, Inc. Elkhart, 2021. –P. 2. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://d163axztg8am2h.cloudfront.net/static/doc/07/39/fdd1977169416fa3b5eab46361ba.pdf>

7 Daurov, D., Daurova, A., Karimov, A. et al. Determining Effective Methods of Obtaining Virus-Free Potato for Cultivation in Kazakhstan [Text] / Am. J. PotatoRes. 2020.–P. 367–375.

8 Danci, Oana Viorica et al. “Influence of ribavirin on potato plants regeneration and virus eradication [Text] / Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology 2009. – P. 421-425.

*Научный консультант, к.б.н., доцент Хасанов В.Т.*