УДК 635.21:632.38:57.083

ОЗДОРОВЛЕННЯ НАСІННЄВОГО МАТЕРІАЛУ КАРТОПЛІ ТА ЙОГО ДІАГНОСТИКА В СИСТЕМІ БІОТЕХНОЛОГІЙ

Олійник Т.М., Слободян К.А., Слободян С.О., Грицай Р.В.

Інститут картоплярства НААН,
вул. Чкалова, 51/32, смт. Немішаєве, Бородянський р-н,
Київська обл., 07853
E-mail: upri@visti.com

Наведено результати досліджень з оздоровлення сортів картоплі методом хіміотерапії з використанням антивірусних препаратів: РНК-ази, ацикловіру, ізатізону та гідрохлориду. Висвітлено результати щодо молекулярної діагностики Х- та М-вірусів у рослинах in vitro, отриманих у результаті оздоровлення. Виділено 3 лінії, вільні від Х-вірусу, та 4 лінії, вільні від М-вірусу картоплі, одна з яких після перевірки сортотиповості та за господарсько цінними показниками в польових умовах буде занесена до Банку in vitro оздоровлених сортів.

Ключові слова: *картопля, оздоровлення, термотерапія, хіміотерапія, культура меристем, віруси, діагностика, імуноферментний аналіз, полімеразна ланцюгова реакція, зворотна транскрипція.*

Однією з найгостріших проблем у насінництві картоплі є вірусні хвороби. Сьогодні відомо біля 40 фітопатогенних вірусів, ідентифікованих на картоплі в різних країнах і регіонах з різними природно-кліматичними умовами. На основі сучасних уявлень і свідчень, що опубліковані в світовій літературі в останні роки [1–8], до числа найважливіших фітопатогенних вірусів картоплі відносяться: вірус скручування листя картоплі, ВСЛК (*Potato leafroll virus*); Y-вірус (*Potato virus Y*); Х-вірус, ХВК (*Potato virus X*); S-вірус, SВК (*Potato virus S*); М-вірус, МВК (*Potato virus M*); А-вірус (*Potato virus A*); аукуба-мозаїки картоплі (*Potato aucuba mosaic virus*); вірус щіткоподібності верхівки (*Potato mop-top virus*); вірус чорної кільцевої плямистості томатів (*Tomato black ring virus*); вірус жовтої карликовості картоплі (*Potato yellow dwarf virus*). Серед перерахованих до найбільш поширених і шкідливих в Україні відносять: Х-, Y-, М-, S -віруси картоплі, ВСЛК [9–14].

При виявленні вірусної інфекції, в тому числі й прихованої, застосовують декілька наукових підходів. Один із них – імуноферментний аналіз, ІФА (*Enzym-Linked Immuno-Sorbent Assay – ELISA*), запропонований у 1977 р. М. Кларком та А. Адамсом. Цей метод включає тестування на присутність специфічних білків вірусного капсиду із використанням специфічного зв'язування між експресованим антигеном та антитілом. Інший підхід – високочутливий метод *RT-PCR* (*Reverse-Transcription-Polimerase Chain Reaction* – полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією – ЗТ-ПЛР) для детекції РНК-вмісних вірусів [15] і віроїдів [16–19]. В основу методу покладено полімеразну ланцюгову реакцію, яку відкрив К. Мюлліс у 1983 р [20, 21]. При цьому якість і чистота стартової нуклеїнової кислоти (РНК) є критичною для успішної ЗТ-ПЛР. Загальна і полі-А РНК можуть бути використані як матриця, але обидві повинні бути інтактними і вільними від забруднення геномною ДНК. Специфічне зв'язування полі-А РНК буде збагачувати цільові повідомлення, тому менше реакцій зворотної транскрипції потрібно для подальшої ампліфікації. Ефективність реакції синтезу першого ланцюга, який пов'язаний з якістю РНК матриці, буде також значно впливати на результати подальшої ампліфікації [22].

Одним із найважливіших способів боротьби з вірусними хворобами картоплі є отримання високопродуктивного, оздоровленого насіннєвого матеріалу і його прискорене розмноження в культурі *in vitro* [23]. При цьому обов'язковим етапом біотехнології оздоровлення рослин картоплі є вірусологічний контроль з використанням сучасних методів діагностики, які забезпечують надійність результатів, особливо в латентний період інфекції [24, 25].

На даний час оздоровлення, як біотехнологічний метод, ефективно використовується для отримання якісного посадкового матеріалу різних сільськогосподарських культур. Вагомою перевагою даного методу є отримання здорового посадкового матеріалу, вільного від фітопатогенних вірусів, грибів, нематод, бактерій та мікоплазм. При сильному, інколи 100 %-му, ураженні рослин вірусами, метод оздоровлення є єдиним і найрадикальнішим методом отримання безвірусних рослин. Позитивний результат спостерігається у розвитку рослин та підвищенні урожайності від 30 до 50 % [26–29].

Основним етапом одержання здорового вихідного матеріалу залишається добір [30]. У практиці елітного насінництва застосування клонового добору дає змогу звільнити посіви від хворих, мутантних рослин, зразків з іншими аномаліями, вироджених бульб, що погіршують сорт [31–33]. Проте метод добору візуально здорових рослин, згідно з даними імунодіагностики, не завжди ефективний.

Для вирішення питання боротьби з вірусними хворобами картоплі Ф.Р. Уайт [34] та Р.І. Готре [35] запропонували метод культури тканин, який заснований на явищі тотіпотентності, тобто здатності до відновлення цілісності рослин із збереженням геному. Рядом авторів [36, 37] доведено, що віруси присутні у меристемі, але концентрація їх у різних ділянках апексу різна. Так, найбільша зона верхівкової меристеми (300 мкм) вільна від таких вірусів, як ВСЛК, УВК, АВК, менша (200 мкм) – від ХВК та найменша (100 мкм) – від S- і М-вірусів картоплі.

Поряд з великими досягненнями метод культури верхівкових меристем має свої недоліки, якими не слід нехтувати. По-перше, окремі зразки меристемної тканини можуть носити вірусну інфекцію. По-друге, вірус, який присутній у меристемі, накопичується у рослині протягом культивування на штучному поживному середовищі. Найефективнішим оздоровлення є тоді, коли метод культури верхівкових меристем поєднують з термо- та хіміотерапією. Проведення оздоровлення за допомогою хіміотерапії дає можливість використати меристему більшого розміру (200 мкм) та досягти оздоровчого результату. Використання вірусінгібіторних сполук стимулює приживання меристем на 10–35 %, а вихід безсимптомних меристемних рослин складає 80–100 % в залежності від сорту [38].

Методи біотехнологічних досліджень набули широкого впровадження в багатьох країнах, але в Україні на сучасному етапі в біотехнологічній науці відчутно відстає розробка нових універсальних узагальнюючих методик та положень, що стримує розвиток цього експериментального напряму для вирішення завдань генетики, селекції та насінництва. Тому вивчення теоретичних основ окремих елементів системи «рослина-живитель – вірус-патоген» та удосконалення елементів технології оздоровлення у напрямах підвищення їх надійності та зниження витрат на виробництво вихідного матеріалу для первинного насінництва

картоплі є актуальною і досить складною проблемою.

Метою досліджень є встановлення ефективності оздоровлення сортів картоплі Оберіг, Луговська, Базис, Билина та Щедрик за використання антивірусних препаратів; оптимізація методики та проведення діагностики оздоровленого матеріалу на наявність Х- та М-вірусів картоплі з використанням полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією; виділення лінії для занесення до Банку *in vitro* оздоровлених сортів.

Матеріали і методи. Матеріалом для досліджень слугували лінії сортів картоплі селекції Інституту картоплярства НААН: Оберіг, Луговська, Базис, Билина та Щедрик. Добір вихідного матеріалу проводили в розсаднику клонового добору насінницьких насаджень інституту.

Оздоровлені лінії отримували методом культури меристеми у поєднанні з хіміотерапією [39, 40]. Меристему виділяли у ламінар-боксі під бінокуляром SZM4512 з 30-кратним збільшенням з масштабною сіткою. Для регенерації рослин з експлантів використовували середовище Мурасіге-Скуга в модифікації Інституту картоплярства [39]. Хіміотерапію починали застосовувати з другого пасажу культивування меристем. Як антивірусні препарати використовували РНК-азу, ацикловір, ізатізон у концентрації 0,01 % та гідрохлорид у концентрації 3,2 μМ.

Фітовірусологічний аналіз клонів та пробіркових рослин проводили за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). ЗТ-ПЛР для діагностики Х-вірусу картоплі проводили згідно методики X. Nie та R.P. Singh [41, 42]. Діагностику М-вірусу картоплі проводили з використанням тест-системи, розробленої на базі кафедри вірусології Національного університету ім. Т.Г. Шевченка.

Полімеразну ланцюгову реакцію зі зворотною транскрипцією проводили на ампліфікаторі «Eppendorf» (Німеччина). Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації проводили у 1,5 %-му агарозному гелі, що містив бромистий етидій (0,5 мкг/мл), протягом 2 годин, при напрузі 3 В/1 см довжини гелю. Для фотографування використовували цифрову фотосистему. Розміри продуктів ампліфікації визначали за допомогою маркера молекулярної маси GeneRuller 100 bp («Fermentas») та комп'ютерної програми BioTest Color (Росія).

Результати та обговорення. Результати діагностики відібраних клонів показали ураженість МВК на 61,9 %, SВК – на 23,8 % та ХВК – на 9,5 %, що зумовило застосування для оздоровлення досліджуваних сортів методу культури меристеми у поєднанні з хіміотерапією. Оздоровлення сортів Луговська та Оберіг проводили за використання антивірусних препаратів РНК-аза та ацикловір. За результатами досліджень встановлено, що РНК-аза підвищує ефективність регенерації на 22–26 %, а ацикловір на 28–30 % у порівнянні з контролем (культура меристеми). Можна зазначити, що РНК-аза підвищує ефективність оздоровлення досліджуваних сортів на 11,7–18,4 %, ацикловір – на 19,2–32,8 %. Найбільшу кількість оздоровлених рослин отримано по сорту Луговська на середовищі з ацикловіром – 22 лінії.

Оздоровлення сортів Базис, Билина та Щедрик проводили за допомогою фізіологічно активних речовин ізатізон та гідрохлорид. За результатами досліджень спостерігається досить висока регенерація меристем, а саме, 60–88 %, залежно від сорту та діючої речовини. Найбільший відсоток регенерантів (88 %) отримали по сорту Щедрик на середовищі з ізатізоном. За даними ІФА ефективність оздоровлення коливається в межах 6,6–15,6 %. Найбільшу кількість оздоровлених рослин (6 од.) отримали по сорту Щедрик на середовищі з ізатізоном (табл.).

Важливим етапом роботи в системі оздоровлення є діагностика вірусної інфекції. Правильне поєднання існуючих тест-систем забезпечує своєчасне видалення інфікованих рослин із числа регенерантів та в подальшому фітосанітарний контроль за станом отриманого матеріалу, який має проводитися на всіх стадіях виробництва насіннєвого матеріалу.

Нами відпрацьовано умови проведення полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією з метою діагностики Х-вірусу картоплі. В дослідженнях використовували лінії сортів Оберіг та Луговська. Як позитивний контролю використовували лінію сорту Оберіг, яка за результатами ІФА була уражена даним вірусом. Негативним контролем була вода.

Критерієм наявності ХВК у зразках є флуоресценція продуктів ЗТ-ПЛР в гелі при ультрафіолетовому світлі відповідно до очікуваних розмірів, що встановлюється при порівнянні з маркером молекулярної маси ДНК та відповідних контрольних зразків. За результатами ПЛР-аналізу в гелі виявлено продукти ампліфікації,

які свідчать про наявність у зразках 3, 4 Х вірусу картоплі (рис. 1). Виділено три безсимптомні лінії (2, 6, 7).

Таблиця. ***Регенерація меристем та вихід оздоровлених ліній залежно від методу оздоровлення***

Кількість виділених меристем, од.	Культура меристеми		Хіміотерапія							
			РНК-аза		ацикловір		ізатізон		гідрохлорид	
	регенерантів, од.	оздоровлених ліній, од.	регенерантів, од.	оздоровлених ліній, од.	регенерантів, од.	оздоровлених ліній, од.	регенерантів, од.	оздоровлених ліній, од.	регенерантів, од.	оздоровлених ліній, од.
Сорт Луговська										
50	20	6	31	15	35	22				
Ефективність, %: регенерації	40		62		70					
оздоровлення		30,0		48,4		62,8				
Сорт Оберіг										
50	10	2	23	5	24	7				
Ефективність, %: регенерації	20		46		48					
оздоровлення		10,0		21,7		29,2				
Сорт Базис										
50	20	5					32	5	35	4
Ефективність, %: регенерації	40						64		70	
оздоровлення		25,0						15,6		11,4
Сорт Билина										
50	15	2					37	4	30	2
Ефективність, %: регенерації	30						74		60	
оздоровлення		13,0						10,8		6,6
Сорт Щедрик										
50	35	10					44	6	32	4
Ефективність, %: регенерації	70						88		64	
оздоровлення		28,6						13,6		12,5

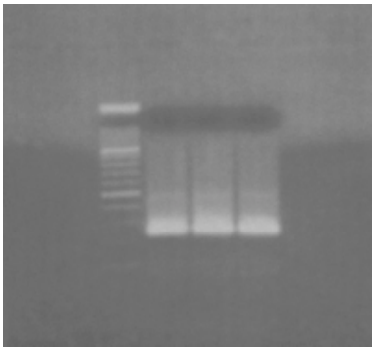


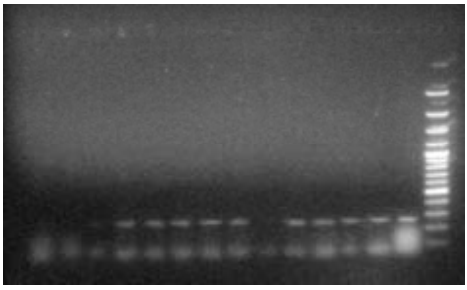
Рис. 1. Детекція ХВК за допомогою ЗТ-ПЛР:

1 – негативний контроль,
2 – Луг70; 3 – Луг78;
4 – Обг 2/5; 5 – ОБг 3/7
(позитивний контроль),
6 – Луг66; 7 – Луг37;
М – маркер молекулярної маси.

Дану технологію молекулярної діагностики ми використовуємо для детекції найбільш поширених та шкодочинних груп вірусної інфекції при одержанні оздоровлених ліній картоплі. Особливо актуальною є молекулярна діагностика для виявлення вірусних хвороб у латентний період інфекції. Тому використання комплексного підходу при вірусологічному контролі на кожному з етапів оздоровлення дає можливість вибракувати хворий матеріал.

При діагностиці М-вірусу картоплі ми використовували оздоровлені лінії сортів Базис, Билина та Щедрик, які за результатами ІФА були вільні від М-вірусу картоплі. Дослідження проводили з використанням праймерів до М-вірусу картоплі.

Після проведення ПЛР-реакції в гелі виявлено продукти ампліфікації, які свідчать про наявність МВК в зразках 4–8 та 10–13 (рис. 2). Зразки 1–3 та 9 виявилися вільними від вірусної інфекції.



1 – 62 Бз; 2 – 69 Бз; 3 – 21 Бз; 4 – 84 Бз; 5 – 39 Бз; 6 – 9 Бз;
7 – 19 Бз; 8 – 34 Бл; 9 – 15 Бл; 10 – 31 Бл; 11 – 39 Бл; 12 – 5 Бл;
13 – 92 Щед; 14 – позитивний контроль;
М – маркер молекулярної маси

Рис. 2. Продукти ампліфікації М-вірусу картоплі

Отже, в ході досліджень встановлено, що РНК-аза підвищує ефективність оздоровлення сорту Луговська на 18,4 %, ацикловір – 32,8 %, сорту Оберіг – відповідно на 11,7 % та 19,2 %. Ефективність оздоровлення сорту Щедрик з ізатізоном становить 13,6 %, з гідрохлоридом – 12,5 %, сорту Билина – відповідно 10,8 % та 6,6 %, сорту Базис – 15,6 % та 11,4 %, відповідно.

Оптимізовано методику молекулярної діагностики ХВК. У результаті оздоровлення виділено 3 лінії, вільні від Х-вірусу, та 4 лінії, вільні від М-вірусу картоплі, сортів Луговська, Базис, Билина, одна з яких після вивчення в польових умовах буде занесена до Банку *in vitro* оздоровлених сортів картоплі.

1. Potato diseases: Diseases, Pest and Defects /Ed. by Dr. D.E. van der Zaag [et al.] /NIVAA (Netherlands Potato consultative Institute). – Copyringht, 1996 – 180 p.

2. Struik H.C. Seed potato technology /Struik H.C. and S.G. Wiersema. – Wageningen (The Netherlands): Wageningen Pres, 1999. – 383 p.

3. Potato, Global Research and Development /Eds: S.M. Paul Khurana, G.S. Shekhawat, B.P. Singh and S.K. Pandey. – Shimla: Indian Potato Association, 2000. – Vol. 1. – 733 p.

4. Potato virus vectors and treir management //Potato, Global Research and Development /Editors: Paul Khurana S.M., Verma K. and V.K. Chandla. – Shimla: Indian Potato Association, 2000. – Vol. 1. – P. 352–362.

5. Salasar L.F. Potato Viruses and theis control. International Potato Centr /L.F. Salasar. – Lima, Peru, 1996. – 214 p.

6. Борьба с вирусными болезнями растений /[Кеглер Х., Кляйнхемпель Х., Эртель Г. и др.]. – М.: Агропромиздат, 1986. – 479 с.

7. Integrated pest menagament for potatoes in the western United States /University of California, Devision of Agriculture and Natural Resources publication, 1986. – 146 p.

8. Картофель: селекция, семеноводство, технология возделывания /[Альсмик П.И., Шевелуха В.С., Ортель Х. и др.]. – Минск: Ураджай, 1988. – 304 с.

9. Анисимов Б.В. Фитопатогенные вирусы и их контроль в семеноводстве картофеля: практическое руководство /Б.В. Анисимов. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2004. – 80 с.

10. Трофимец Л.Н. Вирусные болезни картофеля: Приложение к журналу «Защита растений» /Л.Н. Трофимец. – М.: Агропромиздат, 1990. – 79 с.

11. Московець С.Н. Вірусні хвороби сільськогосподарських культур /Московець С.Н., Бобир А.Д., Л.Е. Глушко. – К.: Урожай, 1975.

– С. 72–80.

12. Московець С.М. Віруси і вірусні хвороби картоплі /Московець С.М., Грама Д.П., Л.К. Жеребчук. – К.: Наук. думка, 1973. – 166 с.

13. Мельничук М.Д. Фітовірусологія /М.Д. Мельничук. – К.: Поліграфконсалтинг, 2005. – 200 с.

14. Картопля. Практична енциклопедія /За ред. П.С. Теслюка, М.Ю. Власенка, М.Й. Шевчука. – Луцьк: Надстир'я, 2003. – 300 с.

15. Henson J.M. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis /Henson J.M. and French R. //Ann. Rev. Phytopathol. – 1993. – Vol. 31. – P. 81–109.

16. Hadidi A. Detection of pome fruit viroids by enzymatic cDNA amplification /Hadidi A., Yang X. //J. Virological Methods. – 1990. – Vol. 30. – P. 261–270.

17. Yang Y.S. Numerical simulation of plasma transport driven by the Iotorus /Yang Y.S., R.A. Wolf, R.W. Spiro and A.J. Dessler //Geophys. Res. Lett. – 1992. – Vol. 19. – P. 957–960.

18. Rezaian M.A. Common identity of grapevine viroids from USA and Australia revealed by PCR analysis /Rezaian M.A., Krake L.R., Golino D.A. //Intervirol. – 1992. – Vol. 34. – P. 38–43.

19. Levy A.Y. Towards efficient information gathering agents /A.Y. Levy, Y. Sagiv, and D. Srivastava //Software Agents (Papers from the 1994 Spring Symposium Technical Report SS-94-03) /ed. O. Etzioni. – AAAI Press, 1994. – P. 64–70.

20. Mullis K.B. Methods in Enzymology /Mullis K.B., Faloona F.A., Wu R. (ed.). – NY: Acad. Press, 1987. – Vol. 155. – 335 p.

21. Saiki R.K. Science /[Saiki R.K., Scharf S., Faloona F. et al.]. – 1985. – P. 230, 1350.

22. Источник для открытия. Путеводитель по методикам и способам применения. – [третье издание]. – Promega, 1996. – С. 193–206.

23. Morel G. Guerison de Dahles attaints de une maladie a virus /Morel G., Martin C. //Compt. Rend. – 1952. – Vol. 235, № 20. – P. 1324–1325.

24. Nie X. Detection of multiple potato viruses using an oligo (dT) as a common cDNA primer in multiplex RT-PCR /Nie X., Singh R.P. //J. Virological methods. – 2000. – Vol. 86, № 2. – P. 179–185.

25. Sinijärv R. Detection of Potato Virus X by One Incubation Europium Time-resolved Fluoroimmunoassay and ELISA /Sinijärv R., Järvekülg L., Andreeva E. and Saarma M. //J. gen. Virol. – 1988. – Vol. 69. – P. 991–998.

26. Оздоровлення сортів картоплі з використанням синтетичних речовин, похідних імідазотріазолу /О.М. Петренко, І.В. Демчук, М.М. Зарицький //Вісник Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2005. – № 44. – С. 26–31.

27. Мельничук М.Д. Біотехнологія рослин: Підручник для студентів вищих навчальних закладів /М.Д. Мельничук, Т.В. Новак, В.А. Кунах. – К.: Поліграфконсалтінг, 2003. – 513 с.

28. Новые технологии производства оздоровленного исходного материала в элитном семеноводстве картофеля: рек. /ВНИИКХ. – М., 2000. – 80 с.

29. Семеноводство картофеля. Контроль качества. Сертификация: метод. пособие /РАСХН, ВНИИКХ; под ред. А.В. Коршунова, Б.А. Анисимова. – М., 2002. – С. 26–27.

30. Онищенко О.Й. Насінництво картоплі на Україні /О.Й. Онищенко. – К.: Урожай, 1966. – 110 с.

31. Селекція і насінництво картоплі /за ред. В.А. Вітенко. – К.: Урожай, 1988. – 240 с.

32. Перспективи первинного насінництва фітофторостійких сортів картоплі /І.І. Тимошенко, З.М. Майщук, М.Г. Коновалюк, Р.С. Добровольський //Вісник аграрної науки. – 1991. – № 4. – С. 36–39.

33. Максимович М.М. Индивидуальный или клоновый отбор как метод улучшения семенных качеств картофеля /М.М. Максимович //Семеноводство картофеля. – М.: Сельхозиздат, 1951. – С. 64–78.

34. White P.R. Influence of some environmental conditions on the growth of excised root tips of wheat seedlings in liguid media /P.R. White //Plant Physiol. – 1932. – Vol. 4. – P. 613–628.

35. Gautheret R.J. Manuel technigue de culture des tissues vegetaux /R.J. Gautheret. – Paris: Masson at Cie, 1942. – P. 231–243.

36. Mac Kinnon J.P. Comparative rates of movement of potato virus X into tubers and eyes of there protato variates /J.P. Mac Kinnon, J. Munro //Am. Potato J. – 1959. – № 36. – P. 485–486.

37. Иванова Н.И. Клональное микроразмножение некоторых декоративних растений /Н.И. Иванова //Сб. науч. тр. Никитского бот. сада. – 1997. – Т. 1. – 119 с.

38. Современные методы получения безвирусного картофеля /Л.Н. Трофимец //Вестн. с.-х. науки. – 1976. – № 3. – С. 150–153.

39. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею /УААН, Ін-т картоплярства /[В.С. Куценко, А.А. Осипчук, А.А. Подгаєцький та ін.]. – Немішаєве, 2002. – 182 с.

40. Оптимизация прийомов оздоровления, размножения и защиты семенного картофеля от вирусной инфекии: метод. указ. /БелНИИЗР /[Ж.В. Блоцкая, Н.Н. Тимофеев, О.Н. Зубкевич и др.]. – Минск, 1996. – 16 с.

41. Boonham N. The detection of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in individual thrips using real time fluorescent RT-PCR (TagMan) /Boonham N., Smith P., Walsh K. [et al.] //J. Virological Methods, 2001. – Vol. 101. – P. 37.

42. Nie X. A novel usage of random for multiplex RT-PCR detection of virus and viroid in aphids, leaves, and tubers /X. Nie, R.P. Singh //J. Virological Methods. – 2001. – Vol. 91. – P. 37–49.

ОЗДОРОВЛЕНИЕ СЕМЕННОГО МАТЕРИАЛА КАРТОФЕЛЯ И ЕГО ДИАГНОСТИКА В СИСТЕМЕ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Олейник Т.М., Слоблодян К.А., Слободян С.А., Грицай Р.В.
Институт картофелеводства НААН, Немешаево

Приведены результаты исследований по оздоровлению сортов картофеля методом химиотерапии с использованием антивирусных препаратов: РНК-азы, ацикловира, изатизона и гидрохлорида. Представлены исследования по молекулярной диагностике Х- и М-вирусов в растениях in vitro, полученных в результате оздоровления. Выделено 3 линии, свободные от Х-вируса, и 4 линии, свободные от М-вируса картофеля, одна из которых после проверки сортовой изменчивости и по хозяйственно-ценным показателям в полевых условиях будет внесена в Банк in vitro оздоровленных сортов.

Ключевые слова: *картофель, оздоровление, термотерапия, химиотерапия, культура меристем, вирусы, диагностика, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, обратная транскрипция.*

IMPROVEMENT OF POTATO SEED MATERIAL AND ITS DIAGNOSTICS IN SYSTEM OF BIOTECHNOLOGY

Oleynik T.M., Sloblodyan K.A., Slobodyan S.A., Gricay R.V.
Institute of potato research NAAS, Nemeshaevo

The results of improvement studies of potato varieties by chemotherapy along with the use of antiviral drugs: RNA-ase, acyclovir, izatizon, and hydrochloride as well as data on the molecular diagnosis of X-and M-viruses in vitro plants, resulting from the recovery are presented. 3 lines free from virus X and 4 lines free from potato virus M were allocated. After the testing of variety changeability and its economically valuable characteristics in field conditions one of them will be selected and submitted to the Bank in vitro redeveloped varieties.

Key words: *potato, rehabilitation, chemotherapy, thermotherapy, meristem culture, virus, diagnostic, immunoassay, polymerase chain reaction, reverse transcription.*