

Сәкен Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университетінің Ғылым жаршысы: пәнаралық = Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета имени Сакена Сейфуллина: междисциплинарный. – Астана: С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, 2025. -№ 4 (128). - Р.34-43. - ISSN 2710-3757, ISSN 2079-939X

doi.org/ 10.51452/kazatu.2025.4(128).2062

УДК 635.21:632.3

Исследовательская статья

### Создание коллекции основных распространённых вирусов картофеля для изучения эффективности методов оздоровления

Канапина М.М. , Хасанов В.Т. , Әжімахан М.Ә. , Бейсембина Б. 

Казахский агротехнический исследовательский университет им.С. Сейфуллина  
Астана, Казахстан

**Автор-корреспондент:** Канапина М.М.: mahanova.meruert@mail.ru

**Соавторы:** (1: ВХ) vadim\_kazgatu@mail.ru; (2: МӘ) miss\_moli\_92@mail.ru  
(3: ББ) bika\_kz\_2712@mail.ru

**Получено:** 15.10.2025 **Принято:** 19.12.2025 **Опубликовано:** 30.12.2025

#### Аннотация

**Предпосылки и цель.** Картофель является одной из наиболее значимых продовольственных культур, однако его урожайность и качество существенно снижаются под воздействием вирусных заболеваний. Вирусы картофеля накапливаются в клубнях, что делает их контроль затруднительным и требует разработки эффективных методов оздоровления посадочного материала. Целью работы было создание коллекции основных вирусов картофеля, выявленных в коллекции *in vitro* лаборатории биотехнологии растений Института сельского и лесного хозяйства (ИСЛХ) Казахского агротехнического исследовательского университета имени С.Сейфуллина (КАТИУ им. С.Сейфуллина) и проведение их молекулярной идентификации для последующего использования в исследованиях по оздоровлению исходного материала картофеля.

**Материалы и методы.** Диагностика на вирусоносительство проводилась методами иммуноферментного анализа (ИФА) и мультиплексной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией нуклеиновых кислот (ОТ-ПЦР) на Х-вирус (PVX), Y-вирус (PVY), S-вирус (PVS), М-вирус (PVM) и вирус скручивания листьев картофеля (PLRV).

**Результаты.** В результате диагностики 34 образцов картофеля методами ИФА и мультиплексной ОТ-ПЦР установлено, что 8 образцов инфицированы, вирусами PVX и PVM. Выявлены как моно-, так и смешанные инфекции, что позволяет использовать коллекцию для изучения эффективности методов оздоровления и изучения вирусоустойчивости селекционного материала картофеля.

**Закключение.** Сформирована коллекция основных вирусов картофеля, выявленных в отечественных и зарубежных сортах из *in vitro* коллекции лаборатории биотехнологии растений. С помощью ИФА и мультиплексной ОТ-ПЦР определён вирусный статус 36 образцов, у 8 из которых зафиксированы моно- и смешанные инфекции, преимущественно PVX и PVM. Созданная коллекция с подтверждённой молекулярной идентификацией является основой для изучения и совершенствования методов оздоровления растений.

**Ключевые слова:** вирус картофеля; иммуноферментный анализ; картофель; коллекция *in vitro*; полимеразная цепная реакция.

#### Введение

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) занимает значимое место среди сельскохозяйственных культур благодаря своей универсальности и широкому спектру применения. Прежде всего, его ценят как важнейший продукт питания, который справедливо считается «вторым хлебом» [1].

Согласно статистическим данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединённых Наций (ФАОСТАТ) на 2023 год, в Казахстане картофель возделывался на

площади 94,7 тыс. га. с урожайностью 21,6 т/га [2]. В 2024 году в Республике Казахстан посевная площадь под картофель составила 122,6 тыс. га. Согласно данным Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан, валовый сбор картофеля в том же году достиг 2,9 млн тонн картофеля, включая 300 тыс. тонн раннего урожая. При этом, в соответствии с приказом Министра национальной экономики Республики Казахстан от 9 декабря 2016 года № 503 «Об утверждении научно обоснованных физиологических норм потребления продуктов питания», рациональная среднедушевая норма потребления картофеля составляет 100 кг в год на одного человека. Исходя из численности населения страны, внутренние потребности в картофеле оцениваются примерно в 2 млн тонн в год (МСХ РК, 2025, Бюро национальной статистики, 2016, Приказ Министра национальной экономики, 2024).

Картофель относится к числу наиболее поражаемых болезнями культур, на которой широко распространены вирусные, грибные, бактериальные болезни. Потенциальные потери от насекомых-вредителей, патогенов и вирусов на картофеле составили 44,9% [3]. Картофель восприимчив ко многим вирусам: не менее 37 разновидностей инфицируют культивируемый картофель в естественных условиях. Часто встречаемые *Potyvirus* (А, Y вирусы картофеля), *Potexvirus* (Х вирус картофеля), *Carlavirus* (М, S вирус картофеля), *Polerovirus* (вирус скручивания листьев картофеля) [4]. Степень снижения урожайности картофеля для наиболее распространенных вирусов зависит от их вида, сорта и условий выращивания. Ущерб от Х-вируса составляет в среднем 25%, от Y-вируса – до 80%, от скручивания листьев до 50%. На долю S-вируса картофеля приходится 10-25% общих потерь урожая, на долю М-вируса – 15-45%. При комплексных инфекциях потери резко возрастают. У растений, пораженных одновременно Х и М вирусами, продуктивность снижается на 53,5-60,8, а комплексам Х, М и Y-вируса – на 83,7%, т.е. они практически не дают урожая [5].

Приведённые данные свидетельствуют о том, что вирусные болезни картофеля представляют собой одни из самых трудно искореняемых заболеваний, поскольку поражённые растения не поддаются лечению, а возбудители продолжают накапливаться в последующих поколениях клубней. Чаще всего растения заражены вирусной инфекцией, состоящей из нескольких компонентов; моноинфекция является редким явлением и наблюдается лишь у некоторых вирусов, встречающихся на отдельных сортах картофеля. Ситуация усугубляется тем, что вирусы могут передаваться через семенные клубни – вегетативное размножение способствует как сохранению, так и распространению вирусов и болезней, которые они вызывают [6].

Таким образом, изучение и сохранение вирусных патогенов является актуальным и важным направлением. Сохранение изолятов вирусов в коллекциях позволяет проводить дальнейшие исследования и могут быть использованы для создания эффективных методов диагностики и контроля вирусных заболеваний.

Своевременная диагностика и определение вирусных инфекций способствует предотвращению распространения и снижению количества поражённых участков. В лабораторных условиях крайне важно поддерживать коллекцию для диагностики и изучения вирусных инфекций. Исходя из вышеизложенного, цель данного исследования заключается в создании, изучении и сохранении коллекции основных распространённых вирусов картофеля.

### Материалы и методы

Объектами исследования послужили образцы картофеля отечественной и зарубежной селекции из коллекции *in vitro* лаборатории биотехнологии растений ИСЛХКАТИУ им.С.Сейфуллина: Ardeche, Demon, Katica, Maris Bard, Queen Anne, Shepody, White Lady, Z 872-3, Альпинист, Болашак, Диар, Егемен 25, Жуалы, Нур-Алем, Памяти Боброва, Самба, Тамыр, Чародей, Юленька.

Для проведения тестирования растений картофеля применялся «сэндвич-вариант» ИФА (метод двойного наслоения антител) [7] с использованием диагностических наборов для определения вирусов картофеля компании Loewe (Германия) согласно стандартной методике [8] в соответствии с инструкцией производителя.

Для ПЦР-исследования выделение РНК осуществляли с использованием набора FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit, согласно инструкции (Nanjing Vazyme Biotech Co, KHP),

обратную транскрипцию (ОТ) проводили набором «Hifair III 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix» (YEASEN, США).

Для амплификации маркерного участка готовили смесь в общем объеме 25 мкл, содержащую 12,5 мкл 2×Taq Master Mix (Nanjing Vazyme Biotech Co, КНР), 1 мкл каждого праймера. Программа ПЦР [9] выполнялась на амплификаторе SimpliAmp (Thermo Fisher Scientific, США). ПЦР-смесь включала в себя праймеры для детекции 6 основных вирусов [10] последовательность которых приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Праймеры, используемые для детекции основных вирусов картофеля

Название вируса	Название праймера	Последовательность праймера (5'-3')	Длина продукта амплификации ПЦР (п.н.)
PVS	PVS – F	TCTCCTTTGAGATAGGTAGG	602
	PVS – R	CAGCCTTTCATTTCTGTAG	
PVX	PVX – F	ATGTCAGCACCAGCTAGCA	711
	PVX – R	TGGTGGTGGTAGAGTGACAA	
PVM	PVM – F	ACATCTGAGGACATGATGCGC	520
	PVM – R	TGAGCTCGGGACCATTTCATAC	
PVY	PVY – F	GGCATACGGACATAGGAGAACT	447
	PVY – R	CTCTTTGTGTTCTCCTCTTGTGT	
PLRV	PLRV – F	CGCGCTAACAGAGTTCAGCC	336
	PLRV – R	GCAATGGGGGTCCAATCAT	
PVA	PVA – F	GATGTCGATTTAGGTACTGCTG	273
	PVA – R	TCCATTCTCAATGCACCATAC	

Электрофорез проводили в 1,6% агарозном геле в камере для горизонтального электрофореза Max HU10 и источником тока «Consort EV 243». Для визуализации ПЦР-продукта в агарозный гель добавляли бромистый этидий. Детекцию результатов осуществляли с помощью системы гель-документирования Gel Doc EZ Imager (BioRad, США). Размер амплифицированных фрагментов определяли относительно маркера молекулярного размера Trans2K Plus DNA Marker (TransGen, КНР).

### Результаты и обсуждение

На первом этапе проводимых исследований изучаемые образцы картофеля были диагностированы методом ИФА (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты диагностики изучаемых образцов картофеля методом ИФА

Название образца	Номер образца	PVX (X Ao)	Ao/Ok	P	PVY (X Ao)	Ao/Ok	P	PVS (X Ao)	Ao/Ok	P	PVM (X Ao)	Ao/Ok	P	PLRV (X Ao)	Ao/Ok	P	PVA (X Ao)	Ao/Ok	P
Жуалы 2	1	0,167	1,7	-	0,129	1,1	-	0,161	1,5	-	0,123	0,8	-	0,101	0,9	-	0,040	0,4	-
Нур-Алем 2,	2	0,167	1,7	-	0,236	2,0	-	0,201	1,8	-	0,107	0,7	-	0,105	1	-	0,102	1,0	-
Самба 1,	3	0,194	1,9	-	0,231	1,9	-	0,170	1,5	-	0,414	2,7	-	0,104	1	-	0,078	0,8	-
White Lady 2	4	0,178	1,8	-	0,298	2,5	-	0,127	1,2	-	0,394	2,5	-	0,109	1	-	0,067	0,7	-
Юленька 1	5	0,124	1,2	-	0,256	2,1	-	0,242	2,2	-	0,389	2,5	-	0,111	1	-	0,087	0,9	-
Альпинист 1,	6	0,198	2,0	-	0,298	2,5	-	0,213	1,9	-	0,125	0,8	-	0,089	0,8	-	0,102	1,0	-
Памяти Боброва 1	7	0,170	1,7	-	0,339	2,8	-	0,278	2,5	-	0,700	4,5	+	0,102	1	-	0,098	1,0	-
Queen Anne 1	8	0,103	1,0	-	0,283	2,4	-	0,185	1,7	-	0,347	2,2	-	0,090	0,8	-	0,056	0,6	-

Продолжение таблицы 2

Нур-Алем 1	9	0,189	1,9	-	0,270	2,3	-	0,151	1,4	-	0,364	2,3	-	0,109	1	-	0,101	1,0	-
Katica 1	10	0,232	2,3	-	0,221	1,8	-	0,301	2,7	-	0,123	0,8	-	0,107	1	-	0,129	1,3	-
Болашақ 1	11	0,208	2,1	-	0,237	2,0	-	0,202	1,8	-	0,315	2	-	0,108	1	-	0,098	1,0	-
Жуалы 1	12	0,600	6,0	+	0,225	1,9	-	0,316	2,9	-	0,398	2,6	-	0,104	1	-	0,106	1,1	-
Demon 2	13	0,104	1,0	-	0,187	1,6	-	0,128	1,2	-	0,404	2,6	-	0,109	1	-	0,089	0,9	-
Егемен 25 1	14	0,109	1,1	-	0,107	0,9	-	0,233	2,1	-	0,439	2,8	-	0,101	0,9	-	0,063	0,6	-
Самба 2	15	0,106	1,1	-	0,187	1,6	-	0,178	1,6	-	0,124	0,8	-	0,096	0,9	-	0,047	0,5	-
Shepody 2	16	0,124	1,2	-	0,127	1,1	-	0,234	2,1	-	0,145	0,9	-	0,104	1	-	0,059	0,6	-
Альпинист 2,	17	0,132	1,3	-	0,337	2,8	-	0,271	2,5	-	0,397	2,5	-	0,102	1	-	0,108	1,1	-
Болашақ 2	18	0,149	1,5	-	0,093	0,8	-	0,269	2,4	-	0,380	2,4	-	0,109	1	-	0,104	1,0	-
Тамыр 1	19	0,790	7,9	+	0,178	1,5	-	0,238	2,2	-	0,890	5,7	+	0,090	0,8	-	0,139	1,4	-
Тамыр 2	20	0,890	8,9	+	0,156	1,3	-	0,237	2,2	-	0,956	6,1	+	0,087	0,8	-	0,044	0,4	-
Памяти Боброва 2	21	0,200	2,0	-	0,183	1,5	-	0,078	0,7	-	0,895	5,7	+	0,067	0,6	-	0,089	0,9	-
Z 872-3 2,	22	0,184	1,8	-	0,178	1,5	-	0,103	0,9	-	0,203	1,3	-	0,064	0,6	-	0,087	0,9	-
Диар 2,	23	0,109	1,1	-	0,125	1,0	-	0,239	2,2	-	0,301	1,9	-	0,077	0,7	-	0,109	1,1	-
Queen Anne 2,	24	0,286	2,9	-	0,259	2,2	-	0,222	2,0	-	0,298	1,9	-	0,089	0,8	-	0,101	1,0	-
Katica 2,	25	0,072	0,7	-	0,146	1,2	-	0,006	0,1	-	0,181	1,2	-	0,078	0,7	-	0,106	1,1	-
Ardeche 2	26	0,088	0,9	-	0,241	2,0	-	0,025	0,2	-	0,193	1,2	-	0,088	0,8	-	0,103	1,0	-
Z 872-3 1,	27	0,108	1,1	-	0,287	2,4	-	0,125	1,1	-	0,108	0,7	-	0,106	1	-	0,098	1,0	-
Юленька 2	28	0,167	1,7	-	0,267	2,2	-	0,111	1,0	-	0,127	0,8	-	0,123	1,1	-	0,072	0,7	-
Жуалы 2	29	0,525	5,3	+	0,273	2,3	-	0,239	2,2	-	0,274	1,8	-	0,089	0,8	-	0,091	0,9	-
Ardeche 1	30	0,230	2,3	-	0,266	2,2	-	0,233	2,1	-	0,555	3,6	+	0,108	1	-	0,073	0,7	-
Диар 1	31	0,123	1,2	-	0,276	2,3	-	0,264	2,4	-	0,381	2,4	-	0,106	1	-	0,038	0,4	-
Егемен 25	32	0,100	1,0	-	0,256	2,1	-	0,285	2,6	-	0,378	2,4	-	0,078	0,7	-	0,101	1,0	-
Чародей Казань	33	0,107	1,1	-	0,212	1,8	-	0,009	0,1	-	0,980	6,3	+	0,066	0,6	-	0,033	0,3	-
Китай	34	0,989	9,9	+	0,222	1,9	-	0,023	0,2	-	0,251	1,6	-	0,089	0,8	-	0,089	0,9	-

Примечание:  $X_{Ao}$  – Среднее значение экстинкции образца;  $A_k$  – среднее значение экстинкции отрицательного контроля;  $P$  – результат тестирования; «-» – отсутствие вируса ( $A_o/A_k < 2,0$ ); «+» – достоверное наличие вируса ( $A_o/A_k > 3,0$ ); +/- – недостоверное наличие вируса ( $A_o/A_k = 2,0-3,0$ ).

По данным ИФА, в исследованных образцах преобладающим вирусом оказался PVM, обнаруженный у сортов Памяти Боброва, Ardeche, Чародей. Наличие PVX подтверждено у сорта Жуалы. У сорта Тамыр выявлена смешанная инфекция, включающая PVX и PVM. Для вирусов PVY, PVS и PLRV положительных результатов в исследованных сортах не выявлено, так как их оптические показатели не превышали значения отрицательного контроля более чем в три раза.

Детекция вирусов мультимплексной ОТ-ПЦР. На следующем этапе исследований с целью создания коллекции инфицированных и безвирусных образцов картофеля для последующего изучения эффективности методов оздоровления, был проведён ПЦР-анализ 36 образцов различных сортов и клонов. Диагностика проводилась на наличие шести наиболее распространённых вирусов картофеля: PVX, PVY, PVM, PVS, PLRV, PVA.

В результате анализа были выявлены как моно-, так и полиинфицированные образцы. Отдельные образцы оказались безвирусными, что позволило использовать их как отрицательные контроли при тестировании, а также в перспективе в качестве исходного оздоровленного материала для первичного семеноводства картофеля.

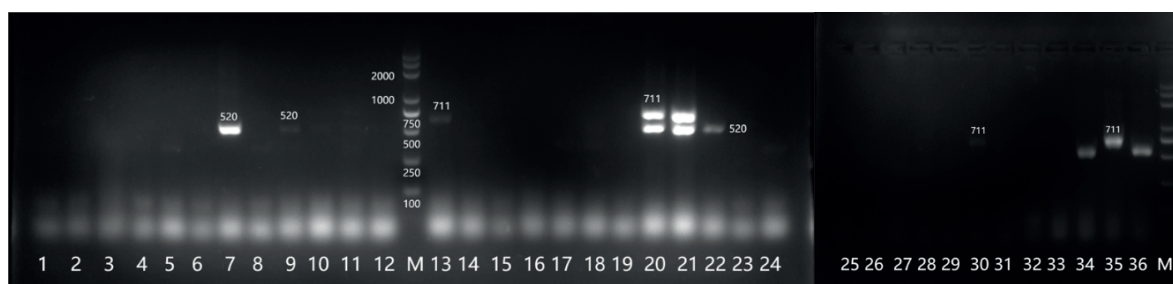
Данные по молекулярно-генетической детекции вирусов в каждом образце представлены в таблице 3 и рисунке 1.

Таблица 3 – Результаты тестирования образцов картофеля ОТ-ПЦР на вирусоносительство

№	Образец	Результат заражения вирусной инфекцией
1	Shepody 1	Не выявлено
2	Нур-Алем 2	Не выявлено
3	Самба 1	Не выявлено
4	White Lady 2	Не выявлено
5	Юленька 1	Не выявлено
6	Альпинист 1	Не выявлено
7	Памяти Боброва 1	PVM
8	Maris Bard 1	Не выявлено
9	Queen Anne 1	PVM
10	Нур-Алем 1	Не выявлено
11	Katica 1	Не выявлено
12	Болашак 1	Не выявлено
13	Жуалы 1	PVX
14	Demon 2	Не выявлено
15	Егемен 25 1	Не выявлено
16	Самба 2	Не выявлено
17	Shepody 2	Не выявлено
18	Альпинист 2	Не выявлено
19	Болашак 2	Не выявлено
20	Тамыр 1	PVX, PVM
21	Тамыр 2	PVX, PVM
22	Памяти Боброва 2	PVM
23	Z 872-3 2	Не выявлено
24	Диар 2	Не выявлено
25	Queen Anne 2	Не выявлено
26	Katica 2	Не выявлено
27	Ardecche 2	Не выявлено
28	Z 872-3 1	Не выявлено
29	Юленька 2	Не выявлено
30	Жуалы 2	PVX
31	Ardecche 1	Не выявлено
32	Диар 1	Не выявлено
33	Егемен 25 2	Не выявлено
34	Чародей	PVM
35	PVX K+	PVX
36	PVM K+	PVM

Примечание: K+ – положительный контроль, заведомо известные изоляты, поддерживаемые в коллекции инфицированных культуральных растений картофеля.





М – Trans2K Plus DNA Marker. Нумерация на электрофореграмме соответствует образцам, представленным в таблице 3. Длина продукта амплификации ПЦР: PVS – 602 п.н., PVX – 711 п.н., PVM – 520 п.н., PVY – 447 п.н., PLRV – 336 п.н., PVA – 273 п.н.  
Рисунок 1 – Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных при диагностике вирусов картофеля

Согласно данным ПЦР-диагностики, у 8 из 36 исследованных образцов картофеля была выявлена вирусная инфекция. Наиболее часто определялись PVX и PVM, встречающиеся как в форме моноинфекции, так и в составе смешанных инфекций. Так, вирус PVM был обнаружен у сортов Памяти Боброва, Queen Anne и Чародей. Вирус PVX зафиксирован у сорта Жуалы. У обоих образцов сорта Тамыр отмечена смешанная инфекция (PVX + PVM), что делает его особенно ценными для оценки эффективности методов оздоровления.

Полученные данные о преобладании вирусов PVX и PVM в *in vitro*-коллекции соответствуют результатам недавнего обзора, в котором перечисляются наиболее часто выявляемые вирусы картофеля в Казахстане: PVM, PVS, PVX, PVY и PLRV [11]. Кроме того, тенденция встречаемости вирусов группы Carlavirus в республике [12, 13] находит подтверждение в сравнении с полученными результатами специалистов данной области. По опубликованным данным исследований А.М. Александровой с соавторами, образцы картофеля содержали моноинфекцию только по трем вирусам: MBK – 36,13%, SBK – 0,84%, YBK – 5,88% на юго-востоке Казахстана. В северном регионе MBK являлся единственным примером моноинфекции (28,74%). Распространенность смешанного заражения вирусами в образцах картофеля варьирует между двумя регионами (Алматинская область 47,91% посадок картофеля, Костанайская – 52,1%). Наиболее распространена комбинация вирусов PVM + PVS: 26,89% в Алматинской и 43,11% – в Костанайской областях. Соотношение смешанной инфекции MBK + YBK оценивается в 10,08% в Алматы и 4,19% – в Костанайске. Общее количество образцов растений картофеля свободного от вирусного поражения составила 9,24% в Алматинской области и 19,16% в Костанайской области. На территории Костанайской области лидирует по заражению растений картофеля PVM, а PVS – занимает второе место [14].

Результаты ИФА и ПЦР-диагностики продемонстрировали высокий уровень совпадения около 85%, что свидетельствует о взаимодополняемости этих методов и их надёжности при определении вирусного статуса растений картофеля. Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым метод ПЦР обладает более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с ИФА, особенно при низкой концентрации вируса в растительных тканях. Указано, что использование поликлональных антител в ИФА может приводить к ложноположительным реакциям, что подчёркивает необходимость разработки иммунологических тестов нового поколения на основе моноклональных антител [15].

Диагностика *in vitro* коллекции позволила определить вирусный статус каждого клона, что является ключевым этапом перед проведением оздоровления.

### Заключение

В ходе проведённых исследований была сформирована коллекция основных вирусов картофеля, выявленных в образцах отечественных и зарубежных сортов из *in vitro* коллекции лаборатории биотехнологии растений. Диагностика методами ИФА и мультиплексной ОТ-ПЦР позволила определить вирусный статус 36 образцов картофеля, среди которых у 8 зафиксированы моно- и смешанные инфекции. Наиболее часто встречающимися оказались вирусы PVX и PVM.

Созданная коллекция вирусов с подтвержденной молекулярной идентификацией является важной научной базой для дальнейших исследований по апробации и оптимизации современных методов оздоровления растений, включая культуру апикальных меристем, териотерапию, химиотерапию, электротерапию, магнитотерапию, криотерапию. Выявленные безвирусные клоны казахстанских и зарубежных сортов картофеля могут послужить исходным материалом для первичного семеноводства картофеля.

#### **Вклад авторов**

МК, МӨ, ББ: ведение коллекции *in vitro*, выполнение ИФА, ПЦР диагностики, подготовка рукописи, анализ данных. ВХ: концептуализация, методическое руководство, рецензирование и редактирование текста.

#### **Информация о финансировании**

Настоящие исследования проводились в рамках проекта AP19676907 «Разработка технологии эффективного использования экстрактов и отработанных субстратов грибов как средство защиты картофеля от фитопатогенов с изготовлением кормовой добавки», 2023-2025 гг., AP23485559 «Картофель с цветной мякотью для Северного Казахстана: подбор сортов и гибридов, создание биологизированной технологии защиты», 2024-2026 гг. в рамках докторской диссертационной работы «Разработка эффективной технологии оздоровления перспективного селекционного материала картофеля от вирусных заболеваний», источник финансирования – Комитет науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

#### **Список литературы**

- 1 Токбергенова, ЖА. (2015). *Инновационные технологии в семеноводстве картофеля Казахстана*. Монография, Алматы: 3.
- 2 FAOSTAT. (n.d.). *Продукты животноводства и сельскохозяйственных культур: картофель*. <https://www.fao.org/faostat/ru/#data/QCL>
- 3 Caruana, BM, Rodoni, BC, Constable, F., Slater, AT, Cogan, NOI. (2021). Genome enhanced marker improvement for potato virus Y disease resistance in potato. *Agromy*, 11(5), 832. DOI:10.3390/agronomy11050832.
- 4 Лебенштейн, Г., Бергер, ФХ, Брант, АА, Лоусон, РХ. (2000). *Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля*. Санкт-Петербург: Пушкин: ВИЗР. 13, 194.
- 5 Ахатов, АК, Ганнибал, ФБ, Мешков, ЮИ, Джалилов, ФС. (2013). *Болезни и вредители овощных культур и картофеля*. Москва: Товарищество научных изданий КМК. 386-388.
- 6 Tessema, L., Kakuhenzire, R., Seid, E., Tafesse, S., Tadesse, Y., Negash, K., McEwan, M. (2024). Detection of six potato viruses using double antibody sandwich ELISA from in vitro, screen house and field grown potato crops in Ethiopia. *Discover Applied Sciences*, 6(3), 79. DOI: 10.1007/s42452-024-06832-9.
- 7 Tabatabaei, MS, Ahmed, M. (2022). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In *Methods in Molecular Biology* Springer. 2508, 115-134. DOI:10.1007/978-1-0716-2376-3\_10.
- 8 LOEWE. (2023). *Product Manual: Complete Kit Standard DAS-ELISA*. <https://loewe-info.com/wp-content/uploads/2023/10/Complete-Standard-ELISA-Rev-150121-.pdf>
- 9 Li, R., Hartung, JS. (2007). Reverse transcription-polymerase chain reaction-based detection of plant viruses. *Current Protocols in Microbiology*, 6(1), 16C.1.1-16C.1.24. DOI: 10.1002/9780471729259.mc16c01s6.
- 10 Министерство сельского хозяйства КНР. (2015). *Методы обнаружения вирусов картофеля. Детекция шести вирусов картофеля – метод ОТ-ПЦР* (NY/T 2678-2015) (12 с.). Пекин.
- 11 Argynbayeva, AM, Daurov, DL, Sapakhova, ZB, Zhambakin, KZ, Shamekova, MK. (2023). Potato viruses in Kazakhstan and methods for obtaining virus-free seed material. *Bulletin of the LN Gumilyov Eurasian National University. Bioscience Series*, 144(3), 54-68. DOI: 10.32523/2616-7034-2023-144-3-54-68.

12 Хасанов, ВТ, Бейсембина, Б., Сидорик, АИ. (2017). *Диагностика вирусных заболеваний, оздоровление и размножение семенного картофеля в Республике Казахстан*. Астана: Издательство КАТУ им. С. Сейфуллина.

13 Хасанов, ВТ. (2017). Создание банка отечественных штаммов вирусов картофеля для производства высокочувствительных диагностических тестов (Отчет о НИР, заключительный, инв. № 0217РК01685, № ГР 0115РК00478). Астана: АО «КазАТУ им. С. Сейфуллина».

14 Alexandrova, AM, Karpova, OV, Nargilova, RM, et al. (2018). Distribution of potato (*Solanum tuberosum*) viruses in Kazakhstan. *International Journal of Biology and Chemistry*, 11(1), 33–40.

15 Швидченко, ВК, Хасанов, ВТ, Фида, МА, Бейсембина, Б., Харченко, ПН, Алексеев, ЯИ, Минакова, НЮ. (2014). Сравнение методов иммуноферментного анализа и ПЦР в реальном времени для диагностики зараженности сортообразцов картофеля вирусами. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*, 2, 47-49.

## References

1 Tokbergenova, ZHA. (2015). *Innovacionnye tekhnologii v semenovodstve kartofelya Kazahstana*. Monografiya: Almaty: 3.

2 FAOSTAT. (n.d.). *Produkty zhivotnovodstva i sel'skohozyajstvennyh kul'tur: kartofel'*. <https://www.fao.org/faostat/ru/#data/QCL>

3 Caruana, BM, Rodoni, BC, Constable, F., Slater, AT, Cogan, O. I. (2021). Genome enhanced marker improvement for potato virus Y disease resistance in potato. *Agronomy*, 11(5), 832. DOI: 10.3390/agronomy11050832.

4 Lebenshtejn, G., Berger, FH, Brant, AA, Louison, RH. (2000). *Virusnye i viru-sopodobnye bolezni i semenovodstvo kartofelya*. Sankt-Peterburg: Pushkin VIZR, 13, 194.

5 Ahatov, AK, Gannibal, FB, Meshkov, YUI, Dzhalilov, FS. (2013). *Bolezni i vrediteli ovoshchnyh kul'tur i kartofelya*. Moskva: Tovarishestvo nauchnyh izdaniy KMK, 386-388.

6 Tessema, L., Kakuhenzire, R., Seid, E., Tafesse, S., Tadesse, Y., Negash, K., McEwan, M. (2024). Detection of six potato viruses using double antibody sandwich ELISA from in vitro, screen house and field grown potato crops in Ethiopia. *Discover Applied Sciences*, 6(3), 79. DOI:10.1007/s42452-024-06832-9.

7 Tabatabaei, MS, Ahmed, M. (2022). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In *Methods in Molecular Biology*. Springer, 2508, 115-134. DOI:10.1007/978-1-0716-2376-3\_10.

8 LOEWE. (2023). *Product Manual: Complete Kit Standard DAS-ELISA*. <https://loewe-info.com/wp-content/uploads/2023/10/Complete-Standard-ELISA-Rev-150121-.pdf>

9 Li, R., Hartung, JS. (2007). Reverse transcription-polymerase chain reaction-based detection of plant viruses. *Current Protocols in Microbiology*, 6(1), 16C.1.1-16C.1.24. DOI:10.1002/9780471729259.mcl6c01s6.

10 Ministerstvo sel'skogo hozyajstva KNR. (2015). *Metody obnaruzheniya virusov kar-tofelya. Detekciya shesti virusov kartofelya – metod OT-PCR* (NY/T 2678-2015) (12 s.). Pekin.

11 Argynbayeva, AM, Daurov, D., Sapakhova, ZB, Zhambakin, KZ, Shamekova, MK. (2023). Potato viruses in Kazakhstan and methods for obtaining virus-free seed material. *Bulletin of the LN Gumilyov Eurasian National University. Bioscience Series*, 144(3), 54-68. DOI:10.32523/2616-7034-2023-144-3-54-68.

12 Hasanov, VT, Bejsembina, B., Sidorik, AI. (2017). *Diagnostika virusnyh zabolevanii, ozdorovlenie i razmnozhenie semennogo kartofelya v Respublike Kazahstan*. Aстана: Izdatel'stvo KATU im. S. Seifullina.

13 Hasanov, VT. (2017). Sozdanie banka otechestvennyh shtammov virusov kartofelya dlya proizvodstva vysokochuvstvitel'nyh diagnosticheskikh testov (Otchet o NIR, zaklyuchitel'nyi, inv. № 0217RK01685, № GR 0115RK00478). Aстана: АО «KazATU im. S. Seifullina».

14 Alexandrova, AM, Karpova, OV, Nargilova, RM, et al. (2018). Distribution of potato (*Solanum tuberosum*) viruses in Kazakhstan. *International Journal of Biology and Chemistry*, 11(1), 33-40.

15 SHvidchenko, VK, Hasanov, VT, Fida, MA, Bejsembina, B., Harchenko, PN, Alekseev, YAI, ... Minakova, NYU. (2014). Sravnenie metodov immunoferment-nogo analiza i PCR v real'nom vremeni dlya diagnostiki zarazhennosti sortoobrazcov kartofelya virusami. *Vestnik Rossijskoj akademii sel'skohozyajstvennyh nauk*, 2, 47-49.



## Картоптың кеңінен таралған негізгі вирустарының коллекциясын құру және оларды сауықтыру әдістерінің тиімділігін зерттеу

Канапина М.М., Хасанов В.Т., Әжімахан М.Ә., Бейсембина Б.

### Түйін

Алғышарттар мен мақсат. Картоп – ең маңызды азық-түлік дақылдарының бірі, алайда оның өнімділігі мен сапасы вирустық аурулардың әсерінен едәуір төмендейді. Картоп вирустары түйнектерде жиналып, оларды бақылауды қиындатады және отырғызу материалын сауықтырудың тиімді әдістерін жасауды талап етеді. Жұмыстың мақсаты – С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университетінің (бұдан әрі - ҚАТЗУ) Өсімдік биотехнологиясы зертханасының *in vitro* коллекциясындағы картоптың негізгі вирустарын жинақтап, олардың молекулалық идентификациясын жүргізу және картоптың бастапқы материалын сауықтыру бойынша зерттеулерде пайдалану.

Материалдар мен әдістер. Вирустарды анықтау үшін иммуноферменттік талдау (ИФТ) және кері транскрипция негізіндегі мультиплекстік полимеразды тізбекті реакция (ОТ-ПТР) қолданылды. Зерттелген вирустар: Х-вирус (PVX), Y-вирус (PVY), S-вирус (PVS), M-вирус (PVM) және жапырақтардың бұралу вирусы (PLRV).

Жаңалығы. Молекулалық идентификациясы расталған картоп вирустарының изоляттарының коллекциясы құрылды. Бұл коллекция картоп селекциялық материалын сапасын арттыруға және сауықтырудың қазіргі әдістерінің (электротерапия, криотерапия, апикальді меристемалар мәдениеті) тиімділігін бағалауға негіз болып табылады.

Нәтижелер. ИФА және мультиплекстік КТ-ПТР әдістерімен 34 картоп үлгісі талданып, олардың 8-інде PVX және PVM вирустары анықталды. Бір және аралас инфекциялар анықталды, бұл коллекцияны сауықтыру әдістерінің тиімділігін және картоптың селекциялық материалының вирустарға төзімділігін зерттеу үшін пайдалануға мүмкіндік береді.

Қорытынды. Өсімдіктер биотехнологиясы зертханасының *in vitro* коллекциясындағы отандық және шетелдік сорттардан анықталған картоптың негізгі вирустарының коллекциясы қалыптастырылды. ИФТ және мультиплексті ОТ-ПТР әдістері арқылы 36 үлгінің вирус статусы анықталып, олардың 8-інде моно және аралас инфекциялар, негізінен PVX және PVM, тіркелді. Молекулалық сәйкестігі расталған бұл вирус коллекциясы өсімдіктерді сауықтыру әдістерін зерттеу мен жетілдірудің негізі болып табылады.

**Кілт сөздер:** картоп вирусы; иммуноферменттік талдау; картоп; *in vitro* коллекциясы; полимеразды тізбекті реакция.

## Creation of a collection of major common potato viruses for studying the effectiveness of virus elimination methods

Meruyert M. Kanapina, Vadim T. Khassanov, Moldir A. Azhimakhan, Bibigul Beisembina

### Abstract

Background and Aim. Potato is one of the most important food crops; however, its yield and quality are significantly reduced by viral diseases. Potato viruses accumulate in tubers, making their control difficult and necessitating the development of effective methods for virus elimination from seed material. The aim of the study was to establish a collection of the main potato viruses detected in the *in vitro* collection of the Plant Biotechnology Laboratory of S. Seifullin Kazakh AgroTechnical Research University (KATRU) and to perform their molecular identification for further use in studies on virus elimination in potato material.

Materials and Methods. Virus detection was carried out using enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) and multiplex reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for Potato virus X (PVX), Potato virus Y (PVY), Potato virus S (PVS), Potato virus M (PVM), and Potato leafroll virus (PLRV) was carried out.

**Novelty.** A collection of the most widespread potato virus isolates with confirmed molecular identification was created. This collection serves as a basis for evaluating the effectiveness of modern virus elimination methods (electrotherapy, cryotherapy, and apical meristem culture) and for improving the quality of potato breeding material.

**Results.** Diagnosis of 34 potato samples by ELISA and multiplex RT-PCR revealed eight samples infected with PVX and PVM. Both mono- and mixed infections were detected, allowing the collection to be used in subsequent research on potato virus eradication.

**Conclusion.** A collection of the main potato viruses identified in domestic and foreign varieties from the *in vitro* collection of the Plant Biotechnology Laboratory was established. Using ELISA and multiplex RT-PCR, the viral status of 36 samples was determined, with mono- and mixed infections (mainly PVX and PVM) detected in eight of them. The created virus collection with confirmed molecular identification serves as a basis for studying and improving plant recovery methods.

**Keywords:** potato virus; enzyme-linked immunosorbent assay; potato; *in vitro* collection; polymerase chain reaction.