

ТРАНСГЕННЫЙ КАРТОФЕЛЬ С ГЕНОМ БЕЛКА ОБОЛОЧКИ Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ.

- I. Риск, связанный с выращиванием трансгенного картофеля.
- II. Риск, обусловленный экспрессией трансгенного гена белка оболочки YВК.

РИСК, СВЯЗАННЫЙ С ВЫРАЩИВАНИЕМ ТРАНСГЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

1. Чужеродные гены будут переданы с пылью близкородственным диким видам и их гибридное потомство приобретет свойство повышенной семенной продуктивности или способность конкурировать с другими растениями.

2. Трансгенные сельскохозяйственные растения станут сорняками и вытеснят произрастающие рядом другие растения.

3. Чужеродные гены будут переданы паразитирующим на растении бактериям.

Картофель - *Solanum tuberosum* L.

Дикие виды в основном произрастают в странах Латинской Америки. Инспекционная служба здоровья животных и растений (APHIS – the Animal and Plant Health Inspection Service) департамента сельского хозяйства США при выдаче разрешения на выращивание и скрещивание новых трансгенных линий NewLeaf_Y (RBMT15-101, SEMT15-02, SEMT15-15) провела анализ биологии возделываемого картофеля и его сородичей на территории США. Дикорастущие сородичи *S.tuberosum* сосуществуют и совместно эволюционируют более тысячелетия. Даже при культивировании трансгенных растений в сельскохозяйственных регионах в центре разнообразия (область Анд в Южной Америке) нет причин ожидать, что они будут приводить к эффектам, значительно отличающимся от возникающих при выращивании любых других сортов картофеля. Заключение основано на том факте, что трансгенные линии *S.tuberosum* не более близки к диким видам, чем полученные традиционным скрещиванием сорта картофеля. Успешное скрещивание трансгенных линий с дикими видами в естественных условиях маловероятно.

Дальним дикорастущим сородичем картофеля является паслен, произрастающий в Европейской части бывшего СССР. В частности паслен сладко-горький - *S.dulcamara* и паслен черный - *S.nigrum*. Сведения об скрещиваемости с *S.tuberosum* противоречивы: а) отсутствие гибридизации в условиях поля (по Т.М-Valkama and J.P.T. Valkonen, 1999), б) перекрестное опыление между трансгенным картофелем и видами *S.dulcamara*, *S.nigrum* с частотой 0,017 % на расстоянии 10 м и его отсутствие на расстоянии 20 м (по Б.А. Левенко, 2000).

За более чем 200-летнюю историю возделывания картофеля не наблюдали случая захвата *S.tuberosum* территории за пределом

возделываемых человеком полей и, следовательно, нет причин подозревать, что трансгенный картофель может стать сорняком.

Картофель в норме самоопыляющееся растение. Сорты картофеля поддерживаются вегетативно, нет необходимости в размножении ботаническими семенами. Среди сортов картофеля нередко встречаются мужская стерильность, раннее опадание цветков, образование функционально неактивной пыльцы. Перечисленные факторы уменьшают риск естественного перекрестного опыления между трансгенным и нетрансгенным картофелем в поле. Пыльца трансгенного картофеля имела ограниченное распространение в поле, как правило на расстояние не больше 10 м (по T.M-Valkama and J.P.T. Valkonen, 1999).

Горизонтальный перенос генов (ГПГ) из трансгенных растений в паразитирующие на картофеле микроорганизмы. Бактерия *Egwinia* spp. инфицируя картофель вызывает лизис его тканей и, следовательно, может контактировать с ядерной ДНК растения и трансгеном. В экспериментах Schlüter et.al., 1995 была определена максимальная частота ГПГ из клубней трансгенного картофеля в *Egwinia*. Одно заражение происходило при $7,5 \times 10^{14}$ инфекциях в течение 2-х часового периода инокуляции. Авторы подсчитали, что для одного события ГПГ необходимо 100 тонн картофеля инокулировать 10^{17} клетками бактерий. С учетом среднего урожая картофеля в Европе и суммарного количества любых бактерий в почве была подсчитана частота, соответствующая ГПГ в одну бактериальную клетку на поле площадью 4,3 га. Следовательно, реальный риск от ГПГ сомнителен (по T.M-Valkama and J.P.T. Valkonen, 1999).

РИСК, ОБУСЛОВЛЕННЫЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ТРАНСГЕННОГО ГЕНА БЕЛКА ОБОЛОЧКИ УВК.

В естественных условиях очень редко наблюдается заражение растения одним вирусом, чаще всего мы имеем дело со смешанной инфекцией. При инфицировании клетки одновременно 2-мя вирусами или разными штаммами одного вируса могут происходить три различных взаимодействия: рекомбинация, транскрипция, синергизм.

РЕКОМБИНАЦИЯ

Рекомбинация определяется как обмен нуклеотидными последовательностями между двумя молекулами нуклеиновой кислоты. Рекомбинация между двумя вирусными геномами приводит к наследуемому изменению. Живучесть рекомбинантного вирусного генома будет зависеть от его способностей: реплицироваться внутри клетки растения-хозяина, реплицироваться в присутствии родительских вирусов, системно распространяться внутри растения-хозяина, к успешной трансмиссии другим растениям-хозяевам.

1. Увеличивается ли темп вирусной рекомбинации в природе при выращивании трансгенных растений и появляются ли новые возможности для рекомбинации ?

2. Какие факторы могут влиять на частоту рекомбинации и будет ли частота рекомбинации пропорциональна концентрации трансгенных молекул РНК ?

3. Могут ли рекомбинанты конкурировать с родительскими вирусами ?

Возможными кандидатами для рекомбинации с трансгенным вирусом являются вирусы, которые обычно инфицируют картофель в естественных условиях. В семеноводстве картофеля Беларуси проводятся диагностика и оздоровление сортов для вирусов: потивирус YVK, потексвирус XVK, карловирусы MBK и SBK, лютеовирус ВСЛК. Реже диагностируются потивирус АВК и потексвирус FBK. В естественных условиях маловероятна генерация совершенно **новых** рекомбинантов по сравнению с теми, которые могут появляться в клетках растения-хозяина при смешанных инфекциях.

В известных трансгенных растениях с устойчивостью к вирусам уровень РНК транскрипта значительно ниже по сравнению с концентрацией вирусной РНК в инфицированных вирусом клетках нетрансгенных растений. По данным компании Монсанто концентрация вирусной мРНК в 12-244 раза выше в нетрансгенных растениях, инфицированных вирусом. Инспекционная служба здоровья животных и растений (APHIS) департамента сельского хозяйства США подвела итог дискуссии вирусологов по данному вопросу «Причастность этих низких уровней экспрессии к рекомбинации не ясна. Даже если предположить, что более высокие концентрации трансгенной мРНК увеличат шанс рекомбинации, мы не знаем, что значит низкая и высокая концентрация трансгенного транскрипта относительно не определяемой частоты рекомбинации в естественных условиях поля». Все известные примеры появления рекомбинантных вирусов в трансгенных растениях описаны для селективного давления, которое значительно превышает реально существующее в поле (Т.М-Valkama and J.P.T. Valkonen, 1999).

Если рекомбинантный вирус образуется в клетке (или в трансгенном растении или во время смешанной инфекции) будет ли он участвовать в репликационном процессе в этой клетке, системно распространяться по растению или вызывать новую болезнь? Для многих вирусов вновь синтезированная РНК быстро покрывается белком оболочки. Синтез вирусной РНК в клетке приостанавливается или снижается до недектируемого уровня. Если вирус не переносится в другое растение вектором или в потомство растения, вирионы гибнут, когда клетка умирает (Matthews, 1991). Вероятность появления новых рекомбинантов зависит от многих факторов, включающих их конкурентоспособность с инфицирующим вирусом и другими вирусами, которые поражают растение в естественных условиях и все дополнительные факторы, которые могут изменить селективное давление (температура, векторы, растения-хозяева). Для того, чтобы предсказать возможность развития новых болезней вследствие

рекомбинации двух вирусов или между естественным и трансгенным вирусом требуется более высокий уровень понимания популяционной биологии вирусов в клетке и движения вирусов внутри растения и механизмов, которыми вирус вызывает болезнь.

При анализе геномов одноцепочечных РНК вирусов было обнаружено, что они существуют не как уникальная нуклеотидная последовательность, но как коллекция близких вариантов основной последовательности. Эта микрогетерогенность всегда присутствует в естественных популяциях (Holland et.al., 1982; Domingo et.al., 1985; Morch et.al., 1988). Микрогетерогенность вирусных последовательностей привела к концепции «квази-видов» для некоторых вирусов (Eigen, 1993). Микрогетерогенность вирусной РНК не сопровождается видимыми различиями в основных симптомах. Несмотря на микрогетерогенность нуклеотидных последовательностей геномов одноцепочечных РНК вирусов в естественных популяциях вирусологи идентифицируют стабильно существующие вирусы и штаммы (Matthews, 1991).

Так как вирусные трансгены получены из вирусов, которые инфицируют картофель в естественных условиях и их концентрация меньше, чем при обычной вирусной инфекции, а рекомбинанты в случае их образования должны выдержать конкуренцию с другими инфицирующими картофель вирусами вероятность новых взаимодействий и образования рекомбинантных вирусов не выше, чем при смешанных инфекциях. «С трансгенами или без них новые вирусные болезни будут развиваться и требовать внимания» - утверждение, сделанное в заключении одной из комиссий по обсуждению данной проблемы в США.

ТРАНСКАПСИДАЦИЯ

В процессе репродукции вирусов в клетке, зараженной смесью вирусов или штаммов вирусов, возможно появление вирусных частиц, у которых РНК одного вируса (штамма) одета субъединицами белка другого. В этом случае возможно одноактное перемещение векторами переносчиками вируса, обычно передающегося только контактным способом. Гетерологичную капсидацию РНК Y^0 -ВК трансгенным белком оболочки Y^N -ВК наблюдали у трансгенного картофеля сорта Bintje (Farinelli et.al., 1992). Маскирование генома – нестабильное явление. При заражении такими вирусными частицами нового растения будет синтезироваться тот белок, который закодирован в молекуле РНК.

СИНЕРГИЗМ

При одновременном инфицировании растения двумя вирусами симптомы вирусной болезни могут быть более тяжелыми, чем при заражении только одним вирусом. Синергизм был впервые описан и лучше всего изучен для картофельных вирусов ХВК и YВК (W.F. Rochow, A.F. Ross, 1955). В

присутствие УВК или ВТМ концентрация частиц ХВК в клетках растений может увеличиваться в 3-5 раз по сравнению с одиночным заражением. Синергические взаимоотношения отмечены для УВК и ВТМ (R.L. Clark et.al., 1980).


 United Nations Environment Program
 The Global Environment Facility
 Национальный координационный центр биобезопасности

Совместный проект Правительства Республики Беларусь и Программы ООН по окружающей среде (UNEP) «Разработка национальной системы биобезопасности для Республики Беларусь»

Пример оценки риска возможных неблагоприятных эффектов генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду: трансгенный картофель, устойчивый к Y-вирусу картофеля.

Г.А. Яковлева
 РУП «Институт картофелеводства НАН Беларуси»

Картофель – Solanum tuberosum L.
 >20 вирусов

Наиболее распространены : YBK, ХВК, МВК, SBK, ВСЛК.

Y-вирус картофеля (YBK), семейство Potyviridae, род Potyvirus

Штаммы: Y⁰, Y^C, Y^N, субгруппа Y^{NTN} (вызывает некроз клубней).

Потеря урожая достигает 80 %.

Распространение тлей неперсистентным образом, реже контактно.

Вирусная частица нитевидной формы, 730×10 нм

Одноцепочечная /+ РНК кодирует 9 белков, в том числе полифункциональный белок оболочки.



ПЕРЕКРЕСТНАЯ ЗАЩИТА

•Растение после заражения слабым штаммом вируса становится устойчивым к последующему заражению другим более суровым его штаммом. (20-30-тг XX века, Мак Кинни и Тунг.)
 •Успешная защита цитрусовых от tristeza closterovirus в Бразилии и томата от ВТМ в Европе и Японии.
 •Идея разработки стратегии защиты от вирусов, опосредованной геном белка оболочки вируса (coat protein gene-mediated protection).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА БЕЛКА ОБОЛОЧКИ ВИРУСА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВИРУСОУСТОЙЧИВЫХ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Внедрение и экспрессия гена, кодирующего вирусный белок оболочки (БО) в самом растении.

•Powell Abal et.al. в 1986 г. защита табака от вируса табачной мозаики (ВТМ).
 •Белок оболочки (БО) вируса должен накапливаться в клетках растения-хозяина.
 •Устойчивость основана главным образом на блокировании освобождения нуклеиновой кислоты от белковой оболочки.
 •Более 30 растений однодольных и двудольных были генетически модифицированы для экспрессии более, чем 50 вирусных генов БО от 10 таксонов (Environmental Health and safety Publications).

ТРАНСГЕННЫЙ КАРТОФЕЛЬ С ГЕНОМ БЕЛКА ОБОЛОЧКИ (БО) Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ

Сорт – Белорусский 3.

Целевой ген – ген БО YBK (русский изолят Y^N)

Регуляторные элементы: 35 S промотор и терминатор ВМЦК, 5'-лидер геномной РНК ХВК.

Маркерный ген: pntII. Отбор трансформантов по способности расти на среде с антибиотиком канамицином.

Агробактериальная трансформация: Agrobacterium tumefaciens LBA 4404

Нуклеотидная последовательность из гена БО Y^N-BK, распространенного в естественных условиях вируса картофеля, регуляторные элементы из обычных растительных патогенов.

Уровень экспрессии чужеродного белка в трансгенных растениях картофеля 1-5 нг на 25 мкг суммарного белка (0,004-0,02 % суммарного белка, 0,0002-0,0005 % от сырого веса листа), а мРНК БО YBK – 50-200 пг на 10 мкг суммарной РНК (0,0005-0,002 %).

Уровень экспрессии БО YBK при естественной инфекции - 24-488 мкг/г сырого веса листа (0,0024–0,0488 %).

Экспрессия гена БО YBK в трансгенных растениях картофеля сорта Белорусский 3 значительно ниже, чем при природной инфекции вирусом.

РИСКИ

Риски, связанные с выращиванием трансгенного картофеля:

1. Чужеродные гены будут переданы с пыльцой близкородственным диким видам и их гибридное потомство приобретет свойство повышенной семенной продуктивности или способность конкурировать с другими растениями.
2. Трансгенные сельскохозяйственные растения станут сорняками и вытеснят произрастающие рядом другие растения.
3. Чужеродные гены будут переданы паразитирующим на растении бактериям.

Дикие виды в основном произрастают в странах Латинской Америки.

Трансгенные линии *S.tuberosum* не более близки к диким видам, чем полученные традиционным скрещиванием сорта картофеля.

Даже при культивировании трансгенных растений в центре разнообразия картофеля (область Анд в Южной Америке) нет причин ожидать, что они будут приводить к эффектам, значительно отличающимся от возникающих при выращивании любых других сортов картофеля.

Паслен сладко-горький - *S.dulcamara* и паслен черный - *S.nigrum* - дальние дикорастущие сородичи картофеля, произрастающие в Европейской части бывшего СССР. Сведения о скрещиваемости с *S.tuberosum* противоречивы:

а) отсутствия гибридизации в условиях поля (по Т.М-Valkama and J.P.T. Valkonen, 1999),

б) перекрестное опыление между трансгенным картофелем и видами *S.dulcamara*, *S.nigrum* с частотой 0,017 % на расстоянии 10 м и его отсутствие на расстоянии 20 м (по Б.А. Левенко, 2000).

Картофель в норме самоопыляющееся растение.

Среди сортов картофеля нередко встречаются мужская стерильность, раннее опадание цветков, образование функционально неактивной пыльцы.

Риск естественного перекрестного опыления между трансгенным и нетрансгенным картофелем в поле незначителен.

Пыльца трансгенного картофеля имела ограниченное распространение в поле на расстояние не больше 10 м (по Т.М-Valkama and J.P.T. Valkonen, 1999).

За более чем 200-летнюю историю возделывания картофеля не наблюдали случая захвата *S.tuberosum* территории за пределом возделываемых человеком полей и, следовательно, нет причин подозревать, что трансгенный картофель может стать сорняком.

Горизонтальный перенос генов (ГПГ)

Бактерия *Erwinia* spp. инфицируя картофель вызывает лизис его тканей и, следовательно, может контактировать с ядерной ДНК растения и трансгеном.

Одно заражение происходит при $7,5 \times 10^{14}$ инфекциях в течение 2-х часового периода инокуляции (Schlüter et al., 1995).

Для одного события ГПГ необходимо 100 тонн картофеля инокулировать 10^{17} клетками бактерий.

Частота ГПГ соответствует переносу одной бактериальной клетки на поле площадью 4,3 га.

РИСК, ОБУСЛОВЛЕННЫЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ТРАНСГЕННОГО ГЕНА БЕЛКА ОБОЛОЧКИ УВК.

В естественных условиях очень редко наблюдается заражение растения одним вирусом, чаще всего мы имеем дело со смешанной инфекцией. При инфицировании клетки одновременно 2-мя вирусами или разными штаммами одного вируса могут происходить три различных взаимодействия: рекомбинация, транскрипция, синергизм.

РЕКОМБИНАЦИЯ

Обмен нуклеотидными последовательностями между двумя молекулами нуклеиновой кислоты.

Рекомбинация между двумя вирусными геномами приводит к наследуемому изменению.

Живучесть рекомбинантного вирусного генома будет зависеть от способности реплицироваться внутри клетки растения-хозяина и в присутствии родительских вирусов, системно распространяться внутри растения-хозяина, успешной трансмиссии другим растениям-хозяевам

1. Увеличивается ли темп вирусной рекомбинации в природе при выращивании трансгенных растений и появляются ли новые возможности для рекомбинации ?

2. Какие факторы могут влиять на частоту рекомбинации и будет ли частота рекомбинации пропорциональна концентрации трансгенных молекул РНК ?

3. Могут ли рекомбинанты конкурировать с родительскими вирусами ?

В семеноводстве картофеля Беларуси проводятся диагностика и оздоровление сортов для вирусов: потексвирус УВК, потексвирус ХВК, карповирусы МВК и СВК, летеовирус ВСЛК. Реже диагностируются потексвирус АВК и потексвирус FBK.

В естественных условиях маловероятна генерация совершенно **новых** рекомбинантов по сравнению с теми, которые могут появляться в клетках растения-хозяина при смешанных инфекциях.

В известных трансгенных вирусостойчивых растениях уровень РНК транскрипта значительно ниже по сравнению с концентрацией вирусной РНК в инфицированных вирусом клетках нетрансгенных растений.

Концентрация вирусной мРНК в 12-244 раза выше в нетрансгенных растениях, инфицированных вирусом.

Геномы одноцепочечных РНК вирусов существуют не как уникальная нуклеотидная последовательность, но как коллекция близких вариантов основной последовательности. Микрогетерогенность вирусной РНК всегда присутствует в естественных популяциях, она не сопровождается видимыми различиями в основных симптомах. Несмотря на микрогетерогенность естественных популяций вирусологи идентифицируют стабильно существующие вирусы и штаммы.

Так как вирусные трансгены получены из вирусов, которые инфицируют картофель в естественных условиях и их концентрация меньше, чем при обычной вирусной инфекции, а рекомбинанты в случае их образования должны выдержать конкуренцию с другими инфицирующими картофель вирусами вероятность новых взаимодействий и образования рекомбинантных вирусов не выше, чем при смешанных инфекциях. «С трансгенами или без них новые вирусные болезни будут развиваться и требовать внимания».

ТРАНСКАПСИДАЦИЯ

В процессе репродукции вирусов в клетке, зараженной смесью вирусов или штаммов вирусов, возможно появление вирусных частиц, у которых РНК одного вируса (штамма) одета субъединицами белка другого. В этом случае возможно одноэтапное перемещение векторами переносчиками вируса, обычно передающегося только контактным способом.

Маскирование генома – нестабильное явление. При заражении такими вирусными частицами нового растения будет синтезироваться тот белок, который закодирован в молекуле РНК.

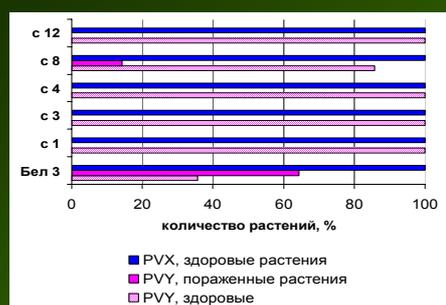
СИНЕРГИЗМ

При одновременном инфицировании растения двумя вирусами симптомы вирусной болезни могут быть более тяжелыми, чем при заражении только одним вирусом.

Впервые описан и лучше всего изучен для картофельных вирусов ХБК и УВК (W.F. Rochow, A.F. Ross, 1955).

В присутствии УВК концентрация частиц ХБК в клетках растений может увеличиваться в 3-5 раз по сравнению с одиночным заражением.

Определение накопления УВК и ХБК в трансгенных растениях картофеля в полевых условиях



БЕЛОРУССКИЙ 3 (Ясень × 1.71.17/6)

Назначение: столовой

Характерные признаки: поздний

Скороплодность: средняя, клубнеобразование позднее, количество клубней 8-12 шт., устойчивы к механическим повреждениям, лежкость хорошая

Клубни: средняя – высокая

Урожайность: 14,0 – 21,0%

Сохраняет крахмал: устойчив к картофельной нематоде (Ro1), обычной патогену рави 1;

Болезни: высокая устойчивость к черной ножке, ризоктонию, вирусам X, I, относительная устойчивость к вирусу Y, средняя к фитофторозу листьев и клубней, парше обыкновенной, вирусам S, M

Морфологические признаки: Куст высокий, прямостоячий. Стебель трехгранный со средней пигментацией в пазухах листьев и в основании стебля; общегустотный, средняя, краля волнистая, зеленая. Лист крупный, слабоборосеченный, темно-зеленый. Длин лист средние, с ровными краями. Ковшевая доля листа овальная. Основание ковшовой доли слабопродливленное. Глубина жилкования листа среднее. Соцветие крупное, многоцветковое, раскидистое. Цветочные имеют слабую антоциановую окраску. Венчик крупный, бледно-розово-фиолетовый, с белыми скрученными средней величины. Тычинки правильные, количество, оранжевой окраски. Столбик возвышается над пыльниками. Ягодообразование хорошее

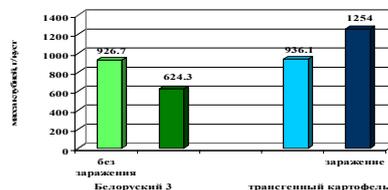
Надземная часть: - ому головчатые, глубина главок средняя. Кожура гладкая, желтая

Клубни

ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСГЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

- Морфологические признаки надземной части - Описано 24 признака. Соответствуют исходному сорту.
- Морфологические признаки клубня - Описано 6 признаков. Соответствуют исходному сорту.
- Интенсивность цветения и ягодообразования - Соответствуют исходному сорту.
- Устойчивость к болезням в поле кроме Y-вируса картофеля - Соответствует исходному сорту
- Устойчивость к Y-вирусу картофеля - Иммуитет и устойчивость по типу сверхчувствительности в отличие от относительной устойчивости у исходного сорта.
- Продуктивность - Соответствует исходному сорту.
- Биохимическая характеристика клубней - Соответствует исходному сорту.
- Белковые профили паренхимы клубней - Соответствуют исходному сорту

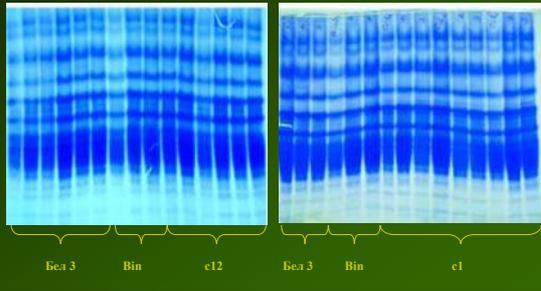
Продуктивность картофеля



Биохимическая характеристика клубней картофеля

Образец	Содержание в % от сырого веса клубней	
	крахмал	суммарный белок
Белорусский 3	14,9-16,0	1,25-1,48
трансгенный картофель	16,2-18,9	1,37-1,50

Электрофореграммы белков клубней картофеля

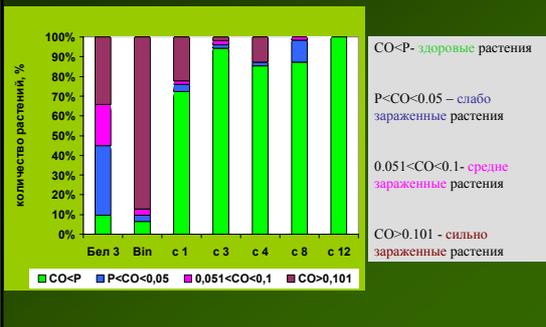


Оценка устойчивости к YBK

Растения в теплице на стадии 3-5 листьев инокулировали смесью штаммов YN и YO. На следующий год заражение повторили. На стадии бутонизации-цветения описывали симптомы поражения вирусом и определяли накопление YBK методом иммуноферментного анализа (ИФА). Чувствительность ИФА – 10-50 нг/мл. Данные представляли как среднее отклонение (CO) значений оптической плотности от порога положительных результатов (P)
 $P = x + 3E$
 где: x – среднее значение для отрицательного коммерческого контроля; 3E – трехкратное значение максимального положительного отклонения отрицательного контроля от среднего.

При сопоставлении результатов визуальной оценки и значений оптической плотности по ИФА для искусственно зараженных YBK растений картофеля была разработана следующая шкала:
 CO < P – здоровые растения, симптомы отсутствуют;
 P < CO < 0,05 – слабо зараженные растения, симптомы отсутствуют либо не выражены;
 0,051 < CO < 0,1 – средне зараженные растения, слабые симптомы;
 CO > 0,101 – сильно зараженные растения, четко выраженные симптомы.

Накопление Y-вируса в растениях картофеля по данным ИФА (6-ой год после искусственного заражения)



Определение типа устойчивости по 3-м тестам:

1. Механическая инокуляция
 2. Тест на индикаторных растениях
 3. Тест прививкой
- Отрицательные результаты по трем биологическим тестам свидетельствуют об иммунности образца.

Заражение исследуемых образцов путем механической инокуляции соком растений, содержащих штаммы YBK; По результатам теста можно судить о наличии устойчивости к Y-вирусу картофеля опытных образцов. Симптомы позволяют предположить возможный тип устойчивости.



Полевые деланки исходного сорта (слева) и трансгенного картофеля (справа) на 5-й год после искусственного заражения YBK

Тест на индикаторных растениях - табак сорта Самсун. Цель – получение информации о наличии в соке исследуемых образцов зрелых, интактных вирусных частиц, способных заражать индикаторные растения



Растение инокулировано соком полевых листьев исходного сорта

Растение инокулировано соком полевых листьев трансгенного картофеля

Тест прививкой на зараженные растения томата
Цель – информация о типе устойчивости опытного образца к УВК.



Устойчивость по типу -- иммунитет



Устойчивость по типу –
сверхчувствительность