Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):62-73
DOI 10.18699/VJ17.224

Устойчивость картофеля к вирусам: современное состояние и перспективы

С.С. Макарова[1, 2], В.В. Макаров[1, 3], М.Э. Тальянский[1, 4] ✉, Н.О. Калинина[1, 3]

[1] ООО «Дока-Генные Технологии», Московская область, Дмитровский район, Рогачево, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», биологический факультет, Москва, Россия
[3] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия
[4] Институт Джеймса Хаттона, Инверговри, Данди, Шотландия, Великобритания

Одна из важнейших продовольственных культур в мире, картофель (*Solanum tuberosum*) заражается многими вирусами, девять из которых имеют важное экономическое значение, вызывая существенные потери урожая и заметное снижение качества продукции. Для минимизации последствий вирусных инфекций в странах с высоким уровнем развития сельского хозяйства поддерживаются и совершенствуются санитарные меры, предусматривающие постоянный мониторинг распространения вирусов и сертификацию посадочного материала на основе диагностики и оздоровления сортов картофеля. Однако в долгосрочной перспективе предпочтительным является создание устойчивых к вирусам сортов картофеля. Методами традиционной селекции и генно-инженерными методами с использованием генов природной устойчивости, источником которых, как правило, служат дикорастущие виды *Solanum*, или с помощью вирус-специфических последовательностей к настоящему времени получен ряд сортов/линий картофеля, устойчивых к большинству вирусов. Однако названные подходы имеют существенные ограничения, обусловленные, в частности, тем, что приобретаемая устойчивость специфична (против отдельных вирусов), недолговременна и способна преодолеваться вирусом, а также наличием регуляторных запретов на использование генно-модифицированных растений. На современном этапе новые технологии редактирования генома с целью дизайна генов открывают широкие возможности для создания новой генерации генов устойчивости. Наиболее перспективными представляются: направленный мутагенез генов специфической устойчивости для придания им более широкого спектра действия; использование генов неспецифической или «нехозяйской» устойчивости (non-host resistance), что позволяет получать растения, устойчивые к неродственным вирусам, а в некоторых случаях и к другим патогенам и даже абиотическим стрессам. Идентификация генов, вовлеченных в механизмы «нехозяйской» устойчивости, только начинается. Новым источником неизвестных до настоящего времени факторов, вовлеченных в разнообразные сигнальные пути защитного ответа растения на вирусную инфекцию, является клеточное ядро. Описанию подходов и проблем, связанных с получением устойчивых к вирусным инфекциям растений картофеля, посвящен настоящий обзор.

Ключевые слова: картофель; вирусы картофеля; гены устойчивости; защитный ответ; факторы клеточного ядра.

Resistance to viruses of potato: current status and prospects

S.S. Makarova[1, 2], V.V. Makarov[1, 3], M.E. Taliansky[1, 4] ✉, N.O. Kalinina[1, 3]

[1] "DokaGene Technologies" Company Ltd, Moscow region, Dmitrov disctict, Rogachevo, Russia
[2] Department of Biology Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
[3] Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
[4] The James Hutton Institute, Invergowrie, DD2 5DA, Dundee, UK

The potato (*Solanum tuberosum*), one of the most important food crops in the world, is infected by various viruses, nine of which have great economic significance, causing substantial losses in the yield and quality of the crop. To minimize consequences of virus infections, in developed countries specific phytosanitary measures have been established and are being improved to monitor the spread of viruses and certify seed potato material using virus diagnostics and production of virus-free potato cultivars. However, in the longer-term, the development and deployment of potato cultivars resistant to viruses would be a priority. Some new potato cultivars and lines resistant to many viruses have already been generated using either traditional breeding methods or genetic engineering. For this purpose, natural resistance genes, primarily from wild *Solanum* species, or virus derived nucleotide sequences have been used as sources of resistance. However, these approaches have essential limitations because the acquired resistance is highly specific (against individual viruses only), is not durable, can be overcome by viruses and, finally due to regulatory bans on genetically modified organisms. Recently developed new genome editing technologies with the potential to be a powerful tool for gene design open up broad opportunities for development of next-generation resistance genes. The most promising approaches are (1) site-directed mutagenesis of the genes conferring specific resistance to make their action much broader and (2) the use of non-specific (non-host) resistance to generate plants resistant to unrelated viruses and, in some cases, to other pathogens and even abiotic stresses. Identification of genes involved in mechanisms of non-host resistance is just beginning. The cell nucleus is a new source of novel

Received 21.10.2016
Accepted for publication 12.12.2016
© AUTHORS, 2017

✉ e-mail: Michael.Taliansky@hutton.ac.uk

factors involved in various signaling pathways resulting in defence response to virus infection. This review focuses on the approaches and challenges related to the development of potato plants resistant to virus infections.

Keywords: potato; potato viruses; resistance genes; defense response; factors of cell nucleus.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Макарова С.С., Макаров В.В., Тальянский М.Э., Калинина Н.О. Устойчивость картофеля к вирусам: современное состояние и перспективы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):62-73. DOI 10.18699/VJ17.224

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Makarova S.S., Makarov V.V., Taliansky M.E., Kalinina N.O. Resistance to viruses of potato: current status and prospects. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):62-73. DOI 10.18699/VJ17.224

Картофель (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) – четвертая по значению продовольственная культура в мире (после риса, пшеницы и кукурузы) и первая незерновая. Его суммарная продукция в 2012 г. составила 365 млн т, из них 29.5 млн т было произведено в Российской Федерации (http://faostat.fao.org). Для РФ картофель является одной из основных сельскохозяйственных культур.

Урожайность и качество картофеля зависят от степени его зараженности рядом патогенов, включая бактерии, грибы, вирусы и вироиды. Вирусная инфекция способна наносить этой продовольственной культуре значительный ущерб. Несмотря на то что описано более 40 вирусов, заражающих картофель в естественных условиях, только девять из них имеют важное экономическое значение для мирового картофелеводства. Это вирус скручивания листьев картофеля (potato leafroll virus – PLRV), вирусы картофеля A, M, S, V, X и Y (potato viruses A, M, S, V, X, Y – PVA, PVM, PVS, PVV, PVX и PVY), вирус метельчатости верхушек картофеля (potato mop-top virus – PMTV) и вирус погремковости табака (tobacco rattle virus – TRV). Для РФ карантинными объектами, на которые проводится диагностика элиты и семенного картофеля высоких репродукций, являются восемь вирусов картофеля: PLRV, PVA, PVM, PVS, PVX и PVY (включая некротические штаммы PVY), PMTV и TRV. Следует отметить, что экономический ущерб от перечисленных вирусов варьирует в зависимости от региона (географической территории), штамма вируса, наличия смешанных инфекций, активности переносчиков (векторов), климатических условий и в целом от уровня развития сельского хозяйства.

Современный картофель (*S. tuberosum* ssp. *tuberosum*) представляет собой тетраплоид, полученный путем продолжительной селекции интродуцированного в Европе культивируемого картофеля Andigena (*S. tuberosum* ssp. *andigena*), привезенного в конце XVI в. из Южной Америки. К началу XX в. остро встала проблема прогрессирующего ухудшения/дегенерации культуры картофеля, которая выражалась в значительном снижении его урожайности, качества и сроков хранения и была обусловлена в том числе и вирусными инфекциями (Salaman, Pethybridge, 1921). Для решения этой проблемы были разработаны схемы сертификации посадочного материала, и началась селекция картофеля на устойчивость к вирусным инфекциям. В настоящее время предпочтительным направлением развития высокоэффективного картофелеводства (по сравнению с применяемыми санитарными мерами, которые требуют интенсивной работы специализированных лабораторий по диагностике и оздоровлению сортов и являются затратными и трудно поддерживаемыми) стало создание устойчивых к вирусным инфекциям линий/сортов картофеля с помощью технологий биоинженерии.

В обзоре кратко охарактеризованы наиболее важные вирусы, поражающие картофель, и приведены современные данные о механизмах устойчивости растений к вирусным инфекциям и достижениях по созданию вирусоустойчивых линий/сортов картофеля. Обсуждаются перспективы использования генов неспецифической устойчивости, особое внимание уделено функциям ядра как нового важного источника для идентификации неизвестных ранее ядерных факторов, способных активировать широкий спектр механизмов устойчивости растений к вирусам картофеля и различным патогенам в целом.

Экономически важные вирусы, поражающие картофель: краткая молекулярная характеристика, симптомы инфекции и способы распространения

Наиболее опасными вирусами в настоящее время считаются PLRV и PVY. Они распространены повсеместно и способны вызывать до 80 % потери урожая картофеля в зависимости от региона, сорта и различных факторов окружающей среды (Solomon-Blackburn, Barker, 2001). PLRV – типовой представитель рода *Polerovirus* семейства Luteoviridae. Основным хозяином вируса является картофель, хотя PLRV может заражать и другие виды семейства пасленовых. PLRV относится к флоэмоограниченным вирусам: его инфекционный цикл проходит только в клетках проводящей системы растения (Peter et al., 2008). Вирусные частицы имеют икосаэдрическую форму с диаметром 24 нм. Геном представлен одноцепочечной РНК (оцРНК) положительной полярности длиной около 6 тыс. нуклеотидов (Tacke et al., 1991; Brault et al., 2000). 5′-конец РНК ковалентно связан с небольшим белком VPg, 3′-конец не несет полиА последовательности. В геноме закодировано восемь открытых рамок трансляции (ОРТ), организованных в два генных кластера, разделенных небольшим межгенным участком. Экспрессия генов 5′-кластера происходит с геномной РНК, тогда как экспрессия генов 3′-кластера – с двух субгеномных РНК

(вирус-специфических РНК, считываемых с минус-цепи вирусной РНК для экспрессии генов (ОРТ), дистальных к 5′-концу геномной РНК) (Jaag et al., 2003; Łoniewska-Lwowska et al., 2009). Капсид преимущественно образован белком оболочки (БО) с молекулярной массой 23 кДа, который транслируется с ОРТ3, и белком с молекулярной массой 80 кДа (белок RT – readthrough), образованным в результате проскока слабого стоп-кодона при трансляции гена БО. Домен БО непосредственно участвует в формировании вириона, в то время как домен RT с молекулярной массой 57 кДа, входящий в состав полноразмерного белка RT, находится на поверхности вирусной частицы и необходим для переноса и заражения тлями (Lee et al., 2005; Peter et al., 2008).

У первично зараженных растений обычно наблюдается побледнение и покраснение кончиков верхних молодых листьев, которые скручиваются и становятся твердыми. Растения, выросшие из зараженных клубней (вторично зараженные), отличаются укороченными побегами и скрученными не только верхними, но и нижними листьями. И у первично, и у вторично зараженных растений может развиваться некроз клубней (Schmitz et al., 1997; Warren et al., 2005). Перенос PLRV от зараженного растения к незараженному осуществляется тлями (обычно *Myzus persicae*). Вирус проникает в ткани тлей при кормлении на зараженных растениях, циркулирует в их тканях (хотя и не реплицируется в них), попадает из пищеварительного тракта в слюнные железы и сохраняет способность к переносу в здоровые растения в течение всего оставшегося жизненного цикла тлей (Warren et al., 2005). Считается, что PLRV (наряду с PVY) – наиболее важный и опасный вирус картофеля, который обнаруживается во всех регионах его выращивания. В разных странах ежегодные потери урожая картофеля от PLRV варьируют от 20 до 90 %. Потери зависят от количества зараженных растений на поле, периода заражения и ряда других факторов (Rahman, Akanda, 2010). По некоторым оценкам, PLRV является причиной снижения урожая картофеля во всем мире на 20 млн т ежегодно (Wales et al., 2008).

PVY – типовой представитель рода *Potyvirus* семейства Potyviridae, представлен гибкими нитевидными вирионами со спиральной симметрией длиной 730 нм и диаметром 11 нм. Геном вируса представлен оцРНК положительной полярности длиной около 10 тыс. нуклеотидов. 5′-конец РНК ковалентно связан с белком VPg, на 3′-конце расположена полиА последовательность. Вирусные белки транслируются в виде единого полипротеина-предшественника, который затем процессируется тремя вирусными протеазами с образованием десяти зрелых белков (Karasev, Gray, 2013; Ivanov et al., 2014). Вирус существует как комплекс штаммов, которые индуцируют значительное разнообразие симптомов на листьях и клубнях картофеля, зависящих от сорта растения, штамма/штаммов вируса, времени инфицирования и факторов окружающей среды (Warren et al., 2005; Karasev, Gray, 2013). При заражении растений картофеля PVY снижаются урожайность и качество клубней. При адаптации к новым сортам картофеля в различных экологических условиях PVY способен эволюционировать как медленно – путем накопления мутаций в геноме, так и быстро – через рекомбинации между различными штаммами. Номенклатура штаммов, циркулирующих в картофеле, и их свойства приведены в обзоре (Karasev, Gray, 2013).

PVY^O («обыкновенный» штамм) встречается повсеместно, вызывает слабую мозаичность листьев и задержку роста. В 1950-е гг. был обнаружен новый штамм – PVY^N, заражение которым приводит к некрозу жилок табака и последующей гибели листа. Интересно, что на картофеле, инфицированном этим штаммом, симптомы практически отсутствовали или наблюдалась слабая мозаичность листьев. В Европе штаммы PVY^O и PVY^N рекомбинировали с образованием штамма PVY^{NTN}, который на данный момент считается одним из самых опасных, поскольку вызывает кольцевую гниль клубней картофеля, что в итоге приводит к массовым потерям урожая. Кольцевая гниль клубней была впервые зафиксирована в 1980 г. в Венгрии, а к концу XX в. наблюдалась уже повсеместно. Наличие инфицированных растений в поле может привести даже к полной потере урожая. Кроме гнили клубней, у зараженных растений наблюдаются хлорозы и некрозы листьев уже через несколько дней после механической инокуляции растений вирусом. На вновь образованных (молодых) системно-зараженных листьях появляется морщинистость и развиваются хлорозы (Piche et al., 2004; Baldauf et al., 2006; Kogovšek et al., 2011). В настоящее время рекомбинантные штаммы PVY – PVY^N и PVY^{NTN} – по всему миру стали или становятся основными в регионах, производящих картофель. Вирус распространяется клубнями и с помощью тлей. Он не реплицируется и не циркулирует в тлях, а переносится на поверхности стилета. Заражение происходит в момент прокалывания стилетом тли здорового растения непосредственно после контакта с зараженным растением. Таким образом, инфицирование возможно только в очень короткий период времени (несколько минут). Поскольку стадии репликации и циркуляции вируса в организме тли отсутствуют, то отсутствует и специфическое узнавание вируса его переносчиком через взаимодействие белок-белок. Следствием этого является видонеспецифическое распространение PVY: более 50 видов тлей могут служить переносчиками этого вируса (Warren et al., 2005). Другой важный вирус картофеля, относящийся к роду *Potyvirus*, – PVA. Этот вирус, близкородственный PVY, распространен повсеместно, однако обычно ассоциирован с менее серьезными поражениями картофеля, чем PVY.

PVX является представителем рода *Potexvirus* семейства Alfaflexiviridae. Вирусные частицы гибкие нитевидные со спиральной симметрией, 515 нм длиной и 13 нм в диаметре. Геном представлен оцРНК положительной полярности длиной около 6.5 тыс. нуклеотидов. На 5′-конце РНК находится кэп, 3′-конец полиаденилирован. В геноме закодированы пять открытых рамок трансляции, первая из которых, кодирующая РНК-репликазу, экспрессируется с геномной РНК, остальные, кодирующие три транспортных белка и БО, – с субгеномных РНК (Morozov et al., 1983; Verchot-Lubicz et al., 2007; Scholthof et al., 2011; Massumi et al., 2014). PVX широко распространен в районах выращивания картофеля. Чаще инфекция протекает бессимптомно, но иногда на листьях появляется слабая пятнистость. Вместе с тем вирус может

вызывать заметное снижение в выходе клубней: инфицирование растений в поле в среднем приводит к 15–30 % потерям урожая (Senanayake, Mandal, 2014). Степень развития симптомов зависит от стадии роста растения, штамма вируса и условий окружающей среды (Massumi et al., 2014; Senanayake, Mandal, 2014). Несмотря на относительно слабые симптомы инфекции растений PVX при индивидуальном заражении, его патогенность для картофеля особенно сильно проявляется при совместной инфекции с неродственными вирусами, как правило, с представителями рода потивирусов. Наблюдаемый в этих случаях синергизм приводит к значительно большему накоплению каждого отдельного вируса в растениях и развитию сильных симптомов инфекции, что влечет за собой серьезные потери урожая (Aguilar et al., 2015; Lico et al., 2015). Для PVX не обнаружены насекомые-переносчики, он распространяется только механическим путем через сельскохозяйственные орудия при обработке полей и сборе урожая (Lico et al., 2015).

Вирус PVM входит в состав рода *Carlavirus* семейства Betaflexiviridae. Вирусные частицы представляют собой прямые, слегка изогнутые нити со спиральной симметрией (610–700 нм в длину и 12–15 нм в диаметре) (Brandes et al., 1959). Геном представлен оцРНК положительной полярности длиной около 8.5 тыс. нуклеотидов. РНК вируса полиаденилирована. В геноме закодированы шесть ОРТ, при трансляции которых образуются РНК-репликаза, три транспортных белка, БО и цистеин-богатый белок (Senshu et al., 2011). PVM считается одним из самых распространенных вирусов картофеля на планете. Встречается повсеместно. В некоторых местах зараженность картофеля достигает 100 %. Инфицирование PVM приводит к потерям урожая от 15 до 45 %. Заражение происходит при механической обработке картофеля на полях и с помощью тлей. Выраженность симптомов зависит от сорта картофеля и штамма вируса. Инфицированные растения отличаются укороченными побегами, искривленными скрученными листьями с мозаичной окраской (Xu et al., 2010).

PMTV является представителем рода *Pomovirus* семейства Virgaviridae. Вирионы жесткие палочковидные со спиральной симметрией, включают три молекулы оцРНК положительной полярности (Cerovska et al., 2007). Диаметр вирионов составляет 17 нм, а длина определяется размером молекулы РНК. РНК1 длиной около 6.5 тыс. нуклеотидов кодирует РНК-репликазу. РНК2 длиной около 3 тыс. нуклеотидов кодирует БО с молекулярной массой 20 кДа. При трансляции РНК2 при проскоке слабого стоп-кодона образуется белок с молекулярной массой около 67 кДа. Этот дополнительный домен (молекулярная масса 47 кДа) необходим для распространения вируса грибом *Spongospora subterranean* (Arif et al., 1995). РНК3 длиной около 3 тыс. нуклеотидов кодирует тройной блок транспортных генов и цистеин-богатый белок (Reavy et al., 1998; Latvala-Kilby et al., 2009). В природе вирус распространяется с помощью подвижных зооспор гриба *S. subterranean*, который вызывает мучнистую паршу клубней (Arif et al., 1995). Чаще всего заражение происходит при прорастании клубней, формировании столон и корней в течение первых трех-четырех недель. Высокая влажность почвы и относительно низкие температуры (до 20 °C) способствуют прорастанию зооспор гриба и заражению корней, клубней и столонов молодых растений. Вирус распространяется также благодаря его свойству сохранять инфекционность в покоящихся спорах *S. subterranean* в почве на протяжении достаточно длительного времени (Latvala-Kilby et al., 2009; Canadian Food Inspection Agency, PMTV). На надземной части зараженного растения симптомы появляются при температуре окружающей среды от 5 до 15 °C: на стеблях и листьях появляются ярко-желтые пятна, кольца, линии; реже наблюдаются хлорозы на верхних молодых листьях; у отдельных растений отмечается укорочение междоузлий, скученность листьев, искривление листовой пластинки, что в итоге приводит к метельчатому фенотипу. Внутри клубней зараженных растений обнаруживаются полые некротические пятна или дуги. Причем при сборе урожая выраженность симптомов может быть минимальна, а при хранении клубней некрозы могут увеличиваться в размерах (Canadian Food Inspection Agency, PMTV).

TRV – типовой представитель рода *Tobravirus* семейства Virgaviridae. Геном вируса представлен двумя оцРНК положительной полярности. Каждая молекула РНК отдельно упакована в вирион, имеющий жесткую палочковидную структуру диаметром 22 нм. Длина вириона определяется размером молекулы РНК. Длина РНК1 составляет около 7 тыс. нуклеотидов. В РНК1 закодированы РНК-репликаза, транспортный белок и цистеин-богатый белок. Для РНК2 характерна высокая вариабельность между изолятами вируса как по нуклеотидной последовательности, так и по длине. РНК2 кодирует БО и один или несколько неструктурных белков, которые отвечают за распространение вируса нематодами (Visser et al., 1999; MacFarlane, 2010). TRV впервые был открыт на растениях табака, однако в дальнейшем было обнаружено, что он заражает важные сельскохозяйственные культуры, такие как свекла, бобы, шпинат, перец, а также картофель (MacFarlane, 1999; Robinson et al., 2004). Заражение TRV картофеля в природе происходит с помощью почвенных нематод *Trichodorus* и *Paratrichodorus*, причем разные виды нематод распространяют разные изоляты вируса. Повышенная влажность почвы способствует распространению нематод, а вместе с ними и вируса (Ploeg et al., 1993). На инфицированных растениях появляются хлорозы, некротические поражения листьев, системный некроз. Выраженность симптомов зависит от вида растения, изолята вируса, условий окружающей среды (Robinson et al., 2004). Снижение урожайности картофеля, вызванное заражением TRV, может достигать 55 %. Например, на северо-западном тихоокеанском побережье США TRV является причиной снижения урожая картофеля на 6–55 % (Hafez, Sundararaj, 2009).

Специфическая устойчивость растений к вирусам

Растения обладают динамичной иммунной системой, включающей разные механизмы защиты в ответ на проникновение патогенов, в том числе вирусов (Jones, Dangl, 2006). Различают две основные врожденные системы защиты растения: узнавание рецепторами растения молекулярных паттернов, ассоциированных с патогеном (recognition of pathogen associated molecular patterns –

PAMPs или MAMPs), и индуцированный эффектором иммунитет (effector-triggered immunity – ETI) (Muthamilarasan, Prasad, 2013). PAMPs (MAMPs) представляют собой высококонсервативные молекулы, характерные для целых классов патогенов и узнаваемые врожденной иммунной системой растения. Базовый защитный ответ инициируется на ранних стадиях взаимодействия патогена и растения через узнавание PAMP и определяется как иммунитет, индуцированный PAMP (PAMP-triggered immunity – PTI). Однако многие адаптированные патогены способны избегать узнавания растительными рецепторами и заражать растение. В свою очередь, на этой стадии растения способны узнавать инфицирующие их патогены с помощью белков R (белков устойчивости, или резистентности), взаимодействующих непосредственно или опосредованно с эффекторами патогенов, которые, в отличие от PAMP, являются видо- или штаммоспецифичными. Такое взаимодействие индуцирует ETI – сильный специфический защитный ответ растения, который часто ассоциирован с локальной программируемой клеточной смертью (гиперчувствительным ответом, HR) для ограничения размножения и распространения патогена (Deslandes, Rivas, 2012). Большинство белков R содержат нуклеотид-связывающий сайт и богатые лейцином повторы и обозначаются как белки NBS-LRR. Они участвуют в запуске сигнальных каскадов, приводящих к развитию HR через генерацию активных форм кислорода (ROS). Этот тип хозяйской устойчивости достаточно хорошо изучен, часто рассматривается как устойчивость «ген против гена» и обычно весьма специфичен в отношении определенного генотипа/сорта растения и конкретного патогена (Flor, 1971). Именно гены *NBS-LRR*, кодирующие белки R, на протяжении длительного времени были мишенью для создания сельскохозяйственных культур, устойчивых к болезням, как методами традиционной селекции, так и с применением трансгенных подходов.

H. Barker, M.F.B. Dale (2006) выделили семь основных типов устойчивости к различным вирусам картофеля. К их числу относятся: 1) устойчивость к инфекции (заражению), также известная как горизонтальная или полевая устойчивость; 2) устойчивость к накоплению вируса; 3) ограничение транспорта вируса в растении; 4) устойчивость зрелых растений; 5) толерантность; 6) устойчивость к переносчикам вирусов; 7) гиперчувствительный ответ (HR – см. выше) и сверхустойчивость (ER). Устойчивость к заражению (полевая устойчивость) – это уменьшение числа растений, которые заражаются в полевых условиях. В случае устойчивости к накоплению вируса растения заражаются, но уровень накопления вируса в растениях остается низким. При устойчивости к транспорту блокируется распространение вируса по растению, включая клубни. Устойчивость зрелых растений определяется тем фактом, что на более поздних стадиях развития растения картофеля становятся менее восприимчивыми к широкому спектру вирусов, включая PLRV, PVM, PVX и PVY. В этом случае репликация вирусов в инфицированном участке и распространение по растению, в том числе в клубни, значительно замедляется. Толерантность – это устойчивость, при которой вирус накапливается, но практически не вызывает образования симптомов. Следует отметить, что, хотя толерантность иногда рассматривается как полезный признак и используется в ряде селекционных программ, толерантные сорта картофеля могут быть резервуарами вирусов. Устойчивость картофеля к тлям-переносчикам вирусов – весьма перспективный признак для селекции и семеноводства картофеля, поскольку препятствует переносу вирусов от растения к растению. Кроме того, и тля, свободная от вирусов, вызывает серьезные потери урожая картофеля. Наконец, в основе механизмов действия большинства специфических генов устойчивости, обнаруженных в растениях картофеля и определяющих устойчивость к вирусам, лежит индукция сигнальных каскадов. Последние приводят либо к отсутствию накопления вируса в инфицированном растении (сверхустойчивость, ER), либо к гиперчувствительному ответу (HR), при котором некроз, развивающийся в инокулированном участке листа, блокирует дальнейшее размножение и распространение вируса (Solomon-Blackburn, Barker, 2001).

Далеко не для всех экономически важных вирусов картофеля идентифицированы конкретные гены, отвечающие за устойчивость растений к этим вирусам. Так, создание толерантных и устойчивых к инфицированию PLRV сортов было ограничено в основном нехваткой источников с полной устойчивостью и процедур отбора в поле устойчивых сортов. И хотя позднее источники устойчивости к PLRV были найдены, удалось получить всего несколько сортов, резистентных к данной инфекции. Таким сортом является, например, Pentland Crown, выращиваемый в Великобритании, который проявляет устойчивость как к заражению, так и к накоплению вируса (Palukaitis, 2012). К настоящему времени устойчивость к накоплению PLRV описана для ряда селекционных линий *S. tuberosum*, а полезные для практического применения источники устойчивости выявлены в дикорастущих видах *Solanum*. Однако их использование для создания коммерческих сортов картофеля пока ограничивается лишь несколькими примерами. В целом ряде работ показано, что устойчивость к накоплению PLRV контролируется одним доминантным геном (см. обзор (Palukaitis, 2012)). Устойчивость, контролируемая геном Rlr_{etb} из *S. etuberosum*, была внедрена в культивируемый сорт картофеля, снизив уровень накопления вируса (Novy et al., 2007; Kelly et al., 2009). Устойчивость к инфекции PLRV в некоторых немецких сортах картофеля получена путем интрогрессии генов из *S. demissum* (Ross, 1966; Davidson, 1980). В то же время показано, что иммунитет к PLRV, выявленный в *S. chacoense*, имеет полигенную природу (Marczewski et al., 2001).

Значительное число генов устойчивости к PVY также было идентифицировано в диких разновидностях картофеля (Valkonen, 2015). Эти гены путем селекции переносились в различные культуры картофеля, результатом чего стало появление множества резистентных к PVY сортов. Основными разновидностями устойчивых к PVY генотипов являются генотипы, несущие гены *Ny*, *Nc* и *Nz*, которые отвечают за развитие HR, и ген *Ry*, отвечающий за возникновение ER (Valkonen, 2015). В зависимости от варианта гена, ответственного за HR, который активируется в ответ на инфекцию PVY, выделяют следующие штаммы: PVY^{O} (распознается геном

Ny), PVY^{c} (распознается геном *Nc*), PVY^{z} (распознается геном *Nz*) (Singh et al., 2008). Основными вирусными детерминантами, элиситорами защитного ответа растения на заражение потивирусами, являются БО и протеаза HC-Pro, выполняющая самые разные функции – от супрессии РНК-интерференции до участия в переносе вируса тлями. При этом ген, распознающий штамм PVY^{O} (*Ny*), активируется БО, а гены, узнающие штаммы PVY^{c} (*Nc*) и PVY^{z} (*Nz*), активируются HC-Pro, но «не узнают» БО. Наиболее проблемные изоляты PVY – те, которые способны преодолевать устойчивость, сформированную всеми тремя вышеупомянутыми генами. Большинство из них относятся к штамму PVY^{N} и рекомбинантным штаммам PVY^{NTN}. В последнее время описано большое число новых рекомбинантных штаммов PVY, в том числе штаммы, способные преодолевать эффект всех трех генов, отвечающих за HR картофеля и, в отличие от PVY^{N}, не вызывающие некрозы жилок в табаке. Они объединены в новую группу штаммов, называемую PVY^{E} (Singh et al., 2008; Galvino-Costa et al., 2012; Karasev, Gray, 2013).

Доминантные вирус-специфичные гены *R*, вызывающие ER, ингибируют развитие вирусной инфекции и эффективно защищают растения картофеля. Гены, обозначенные как *Ry*, отвечают за развитие ER в ответ на инфекцию PVY (Ross, 1986). Именно ER является наиболее эффективным типом устойчивости против опасных рекомбинантных штаммов PVY. В растениях, которые содержат ген, отвечающий за ER, PVY реплицируется только в первично инфицированных клетках, вызывая ограниченную некротическую реакцию и полностью блокируя дальнейшее распространение инфекции. Следует отметить, что сверхустойчивость, развивающаяся в ответ на инфекцию PVY, является доминантным или эпистатическим ответом по отношению к HR (Valkonen et al., 1994). В результате в картофеле с генотипом, несущим и ген *Ry* (ER), и ген *Ny* (HR), при инокуляции PVY^{O} проявляется только ER, а классические некротические симптомы не обнаруживаются. Эти наблюдения говорят о том, что гены, вовлеченные в ER, действуют на более ранней стадии и эффективнее, чем гены, отвечающие за развитие HR, что и было показано в сравнительных исследованиях генов *Rx* картофеля и *N* табака (Valkonen, 2015).

Ген картофеля *Rx*, кодирующий белок семейства NBS-LRR, хорошо охарактеризован и участвует в развитии устойчивости к заражению PVX, распознавая БО PVX в качестве элиситора (Bendahmane et al., 1995, 1999). Ген *Rx* обеспечивает развитие ER-устойчивости, эффективно подавляя накопление вируса, но не вызывая некротизации. Тем не менее избыточная экспрессия БО сопровождается проявлением HR (Bendahmane et al., 1999). Таким образом, предполагается, что механизм действия белка Rx сходен с механизмом, свойственным другим белкам из семейства NBS-LRR, которые запускают процесс, приводящий к HR. Действительно, для развития защитного ответа, опосредованного белком Rx, необходимы белки SGT1 и Hsp90, которые связаны с устойчивостью HR-типа (Boter et al., 2007; Mayor et al., 2007). Однако не так давно был выявлен специфический белок RanGAP2, ассоциированный с белком Rx, для которого показано, что снижение его экспрессии приводит к подавлению устойчивости, опосредованной геном *Rx* (Tameling, Baulcombe, 2007). Эти данные свидетельствуют о том, что активация устойчивости, опосредованной белком Rx, связана с нуклеоцитоплазматическим транспортом, поскольку эукариотические белки RanGAP играют важную регуляторную роль в транспорте через ядерные поры (Meier, 2007). Интересно, что ген *Rx* обеспечивает устойчивость не только против PVX, но и против ряда других потексвирусов через узнавание БО. Предполагается, что белок Rx узнает консервативные структурные элементы БО потексвирусов, а не консервативные аминокислотные мотивы, поскольку аминокислотные последовательности этих вирусов гомологичны не более чем на 40 % (Baures et al., 2008; Candresse et al., 2010).

PVS и PVM часто обнаруживаются в картофеле, но в большинстве культурных сортов инфекции бессимптомны. В связи с этим предпринимается гораздо меньше попыток по созданию устойчивых к PVS и PVM сортов картофеля, чем в случае потивирусов, PLRV или PVX. Основной доминантный ген (*Nm*), определяющий развитие гиперчувствительной реакции (HR) в ответ на инфекцию PVM, был идентифицирован в *S. megistracrolobum* (Ross, 1986), в то время как другой доминантный ген (*Gm*), определяющий устойчивость к PVM, был обнаружен в *S. gourlayi* (Dziewonska, Ostrowska, 1978). С развитием HR при инфекции PVS связан также доминантный ген *Ns*, первоначально обнаруженный в *S. tuberosum* ssp. *andigena*. В результате получено несколько сортов картофеля, содержащих ген *Ns*. Так, данный ген был введен в сорта Szignal и Fantasia, созданные в Венгрии и Германии соответственно (Ross, 1986).

Известны несколько сортов картофеля, устойчивых к инфекции TRV. Некоторые из них (например, Record) полностью иммунны к TRV. У других сортов резистентность обусловлена защитным ответом, подобным HR. К таким сортам относятся Pentland Dell и Russet Burbank. Защитный ответ сорта Pentland Dell на инфекцию TRV хотя и напоминает HR, все же отличается от классического HR, вызванного заражением потекс- и потивирусами, когда HR обеспечивает достаточно высокий уровень устойчивости. После инфицирования картофеля TRV некрозы в листьях не возникают, а появляются в клубнях, что является крайне нежелательной формой проявления устойчивости, поскольку вызывает снижение урожайности и качества продукции картофеля, а следовательно, и экономической прибыли. Однако подобная устойчивость в определенной степени препятствует дальнейшему распространению вируса по растению. Очевидно, что устойчивость сорта Pentland Dell и иммунитет сорта Record к TRV контролируются совершенно разными механизмами и, соответственно, определяются различными генами (Palukaitis, 2012). Поиск удобных маркеров, ассоциированных с этими генами, в дальнейшем значительно облегчит создание устойчивых к TRV сортов картофеля.

Устойчивость к PMTV пока не введена в селекционные программы, поскольку до недавнего времени не существовало надежного метода для поиска толерантных или устойчивых видов картофеля в поле (Solomon, Wastie, 1988). Разные сорта картофеля проявляют разную степень восприимчивости к PMTV. К примеру, сорт Saturna,

широко распространенный в Скандинавии, крайне чувствителен к PMTV, в то время как сорта Appell и Desirée более устойчивы. Также разные сорта показывают разную степень восприимчивости и развития симптомов (Palukaitis, 2012).

Последние 20–25 лет было популярным создание трансгенных растений, экспрессирующих отдельные вирусные белки или их домены, а также некодирующие вирусные нуклеотидные последовательности (так называемая трансгенная устойчивость). Индивидуальная устойчивость к большинству основных вирусов, заражающих картофель, получена в модельных растениях табака при гетерологичной экспрессии различных вирусных генов, включая гены БО, РНК-репликазы, транспортных белков и протеиназ, или последовательностей генов, кодирующих отдельные домены этих белков. Однако есть только несколько примеров, когда такие последовательности были перенесены в геном картофеля, а полученные трансгенные растения демонстрировали высокую устойчивость к соответствующим вирусам. Созданы трансгенные растения картофеля с разной степенью устойчивости к вирусам PLRV, PVY, PVA, комбинации PVA и PVY, PVX, комбинации PVY и PVX и TRV (Palukaitis, 2012). Не так давно появилась информация о придании растениям картофеля множественной трансгенной устойчивости против трех основных вирусов (PVY, PVX и PLRV) при одновременном использовании их специфических последовательностей (Arif et al., 2012).

РНК-интерференция, или посттранскрипционное умолкание генов, – один из механизмов врожденной защиты растений от патогенов. Механизмы блокирования размножения вирусов с помощью РНК-интерференции основаны на элиминации вирусной РНК через узнавание ее двуцепочечных форм белком DCL с последующим ее нарезанием на короткие РНК, названные малыми интерферирующими РНК (миРНК/siRNA). Этот процесс обеспечивает активацию индуцированного РНК комплекса RISC, осуществляющего деградацию вирусной РНК при участии миРНК (Aguiar et al., 2016). Предполагается, что такой защитный ответ является одним из важных механизмов, обеспечивающих трансгенную устойчивость, даже если трансгеном была последовательность, кодирующая вирус-специфические белки (Sudarshana et al., 2007; Reddy et al., 2009).

Другой подход состоит в придании растениям устойчивости путем трансгенной экспрессии модифицированного фактора трансляции eIF4E. Так, в случае экспрессии в растениях *S. tuberosum* гена фактора eIF4E, который содержит замены, совпадающие с таковыми в гене *pvr12* стручкового перца, устойчивого к PVY, полученные трансгенные растения также демонстрировали устойчивость к данному вирусу (Cavatorta et al., 2011).

Перспективы использования генов устойчивости для создания растений, резистентных к множественным вирусным инфекциям

Как очевидно из предыдущего раздела, основной подход для создания устойчивых к вирусным инфекциям растений картофеля – использование в селекционных программах растительных генов устойчивости. К сожалению, гены *R* выявлены не для всех экономически важных вирусов, а при их наличии процесс введения генов в высокоурожайные сорта малоэффективен и занимает много времени. К числу очевидных препятствий успешной селекции можно отнести трудности скрещивания элитных линий с дикими видами растений, которые, как правило, являются носителями соответствующих генов устойчивости, длительность процесса и вероятность одновременного внесения нежелательных локусов, снижающих продовольственную ценность культуры. Кроме того, этот тип устойчивости не является долговременным, так как вирусы способны преодолевать устойчивость, обусловленную генами *R*. Существенным ограничением подхода является то, что интродукция отдельных генов *R* в растение делает его устойчивым только к определенному вирусу (штамму вируса). В связи с этим предприняты попытки переноса нескольких генов *R* (пирамидирование – pyramiding). Известно, что гены *R* в хромосомах растений встречаются в виде кластеров крайне похожих генов. Такой кластер генов *R* содержит различные гены-гомологи, сочетание которых определяет тип защитного ответа по отношению к различным вариантам патогенов (Hämäläinen et al., 1998, 2000).

Другой подход заключается в мутагенезе (искусственной эволюции) генов *R*, кодирующих белки NBS-LRR. Однако исследования в этом направлении носят пока единичный характер и проведены на модельных системах. В качестве примера можно привести пионерные работы по мутагенезу генов *Rx* модельных растений *Nicotiana benthamiana* и *N. tabacum*. Мутации в нуклеотид-связывающем участке белка Rx позволили получить линии растений, устойчивые к нескольким вирусам: различным штаммам PVX и отдаленно родственному карлавирусу мозаики тополя (Farnham, Baulcombe, 2006; Harris et al., 2013).

Весьма перспективным представляется подход, состоящий в использовании генов растения, вовлеченных в неспецифическую устойчивость («нехозяйская» устойчивость – non-host resistance, NHR), механизмы которой начинают активно исследоваться. Для практического использования механизма/механизмов «нехозяйской» устойчивости необходимо идентифицировать вовлеченные в эти процессы гены. Некоторые из этих генов были выявлены при инфекциях бактериями и грибами. Многие из идентифицированных генов, вовлеченных в NHR, являются многофункциональными, а кодируемые ими белки участвуют в развитии растения, регуляции работы устьиц, проницаемости плазмодесм и вовлечены не только в сигнальные пути NHR, но и в основной метаболизм растения. Например, гликолат-оксидаза и пролин-дегидрогеназа модулируют пути передачи сигнала, опосредованного ROS, в ответ на различные экзогенные стрессы, и эти же ферменты вовлечены в NHR против бактериальных патогенов. Различают «нехозяйскую» устойчивость двух типов по наличию или отсутствию визуальной гибели клеток. Тип I не демонстрирует симптомов видимой гибели клеток, в то время как для типа II характерен локальный гиперчувствительный ответ на нехозяйский патоген. Гибель клеток опосредована генерацией ROS

и сходна с защитным ответом растения, запускаемым эффектором, основным механизмом специфической хозяйской устойчивости (ETI). Гены растения, отвечающие за первоначальный защитный ответ, сходным образом экспрессируются и при NHR типа II, и при специфической устойчивости в растениях табака (Oh et al., 2006), свидетельствуя о том, что сигнальные пути этих защитных систем перекрываются. NHR против патогенов отдаленно родственных хозяев обычно включает комплексные, многослойные, количественно наследуемые механизмы. Однако NHR против близкородственных видов патогенов может включать механизмы, сходные с механизмами специфической устойчивости. В последнее время растет число данных, свидетельствующих, что кластеризованные гены *R*, особенно гены, кодирующие белки NB-LRR типа, могут приобретать «нехозяйский» статус, т. е. наблюдается опосредованная этими генами устойчивость в отношении неродственных патогенов (Gill et al., 2015; Lee et al., 2016).

Роль ядра и ядерных белков в устойчивости растений к вирусам

Исследования последних лет показали, что клеточное ядро находится на «переднем крае» во взаимодействиях между растениями и патогенами, включая вирусы. Динамичный транспорт ключевых компонентов защитного ответа из цитоплазмы в ядро критичен для иммунного ответа растения на патогены. Такими компонентами являются белки «устойчивости», транскрипционные факторы (ДНК-связывающие белки, которые взаимодействуют со специфическими участками ДНК, стимулируя (активаторы) или ингибируя (репрессоры) транскрипцию), регуляторы транскрипции (другие белки, регулирующие экспрессию генов, но лишенные ДНК-связывающих доменов, например модуляторы структуры хроматина, такие как гистоновые ацетилтрансферазы, киназы и метилазы) и некоторые другие компоненты иммунного ответа. Как правило, эти компоненты находятся в цитоплазме в неактивном состоянии, но в ответ на соответствующие сигналы, узнаваемые иммунной системой растения как чужеродные, активируются и перемещаются в ядро с целью репрограммирования генов растения и активации систем защитного ответа. Существенно, что значительное число белков эффекторов патогенов, в том числе вирусные белки, имеют собственный сигнал ядерной локализации и могут быть непосредственно нацелены на ядерные компоненты или функции растения, участвующие в защитном ответе (Deslandes, Rivas, 2011).

Активное изучение роли ядра и субъядерных структур в вирусной инфекции началось около 15 лет тому назад. Исследования, проведенные на вирусах животных и человека, показали, что не только вирусы, репликационный цикл которых проходит в ядре, но и все изученные так называемые цитоплазматические вирусы (репликационный цикл которых проходит в цитоплазме клетки) активно взаимодействуют с ядром, его компартментами и отдельными ядерными белками, и это взаимодействие является необходимым этапом в цикле вирусной инфекции (Hiscox, 2007; Greco, 2009). Позднее сходные исследования были проведены на вирусах растений. Несмотря на отсутствие очевидных ассоциаций между репликацией РНК-содержащих вирусов растений (содержащих оцРНК положительной полярности) и известных функций клеточного ядра, целый ряд вирусных белков был обнаружен в ядре или субъядерных компартментах (Taliansky et al., 2010; Solovyev, Savenkov, 2014). Первое функциональное доказательство того, что субъядерные домены – ядрышко и тельца Кахаля (ТК) – играют важную роль в инфекционном цикле вирусов растений, было получено М. Тальянским с соавт. (Kim et al., 2007a, b; Canetta et al., 2008). Показано, что способность транспортного белка ORF3 умбравирусов транспортировать вирусную РНК на дальние расстояния через флоэму строго зависит от транспорта этого вирусного белка через ТК-подобные структуры в ядрышко и его взаимодействия с фибрилларином, одним из основных белков ядрышка, нормальная функция которого заключается в метилировании и процессинге прерибосомальных РНК. Это взаимодействие сопровождается частичной релокализацией фибрилларина в цитоплазму и сборкой цитоплазматических рибонуклеопротеидных (РНП) частиц умбравируса, компетентных для системной вирусной инфекции, с участием фибрилларина, вирусного белка ORF3 и вирусной РНК (Kim et al., 2007a, b). Интересно, что частичное выключение гена фибрилларина с помощью вирус-индуцированного умолкания генов (РНК-интерференции) сопровождалось угнетением не только умбравирусной инфекции, но и угнетением инфекции растений PLRV (Kim et al., 2007a).

Другой пример взаимодействия вирусного белка с ядрышком и фибрилларином был описан для PVA. Показано, что VPg домен белка NIa, связывающийся с РНК-геномом вируса, также взаимодействует с фибрилларином, и это взаимодействие играет существенную роль в развитии инфекции PVA (Rajamäki, Valkonen, 2009). Тем не менее механизм участия фибрилларина в данной инфекции не связан с системным распространением инфекции, как в предыдущих случаях, а, вероятно, обусловлен взаимодействием с системой РНК-интерференции. Все эти данные позволили предположить, что ядрышко и один из его основных компонентов, фибрилларин, помимо своих основных функций в биосинтезе рибосомальных РНК и сборке рибосом также выполняют важные функции во взаимодействии с вирусами, в том числе вирусами картофеля, и таким образом могут контролировать устойчивость растений к вирусам (Taliansky et al., 2010).

Тельца Кахаля – это субъядерные структуры, функционально и физически связанные с ядрышком. Основная роль ТК заключается в метаболизме РНК и формировании рибонуклеопротеидных частиц, участвующих в транскрипции, сплайсинге и биогенезе рибосом. Главным структурным (маркерным) белком ТК, абсолютно необходимым для их сборки, является коилин (Love et al., 2016). Для того чтобы понять роль ТК в заражении растений вирусами, были получены трансгенные растения *Nicotiana* с нокдауном (knockdawn) гена коилина (TP-kd), что позволило показать, что этот ядерный белок влияет на ответ растения на вирусную инфекцию, но различно для представителей разных таксономических групп вирусов (Shaw et al., 2014). Это открытие свидетельствовало о новых функциях коилина, который может непосредственно быть вовлечен в инфекционный процесс или опосредо-

ванно участвовать в защитных механизмах растения, подавляя или, напротив, усиливая восприимчивость растения-хозяина к вирусам. В частности, было показано, что коилин усиливает патогенность некоторых вирусов, к числу которых относится потивирус PVY. Так, симптомы просветления жилок и некрозы в системных листьях растений табака дикого типа (ДТ) при инфекции PVY были значительно сильнее, чем в TP-kd. Скорость репликации (накопления вируса) в протопластах из TP-kd, как и уровень накопления PVY в инокулированных листьях TP-kd, были существенно ниже, чем в протопластах и растениях ДТ. Дефицит коилина не влиял на системный транспорт PVY в верхние неинокулированные листья, хотя дальнейшее накопление вируса в системных листьях было также снижено в TP-kd по сравнению с растениями ДТ (Shaw et al., 2014). Можно предположить, что коилин подавляет процесс РНК-интерференции и таким образом усиливает инфекцию. Для проверки этого предположения были использованы три экспериментальных подхода и показано, что (1) в TP-kd не наблюдается увеличения (по сравнению с растениями ДТ) специфичных к PVY миРНК, главного маркера процесса РНК-интерференции; (2) в опытах по агроинфильтрации транзиентное умолкание гена зеленого флуоресцентного белка (ЗФБ) сохраняется в TP-kd на уровне растений ДТ; (3) уровень супрессии РНК-интерференции гена ЗФБ, осуществляемой белком HC-Pro (супрессор, кодируемый PVY), был одинаков в растениях TP-kd и ДТ (Shaw et al., 2014). Таким образом, механизм РНК-интерференции, по-видимому, не затрагивается при инфекции TP-kd PVY. Предполагается, что коилин обеспечивает эффективную продукцию вируса, непосредственно участвуя в процессе репликации вирусной РНК. Однако весьма вероятно, что опосредованный коилином механизм может интерферировать с некоторыми другими путями защиты растения против PVY или с модификацией генов, вовлеченных в механизмы неспецифической защиты растений, например влиять на активность, связанную с комплексом RISC, или на общие механизмы защиты, опосредованные салициловой кислотой.

Напротив, отсутствие коилина в TP-kd значительно усиливало патогенность другого важного вируса, поражающего картофель, – тобравируса TRV (Shaw et al., 2014). TRV заражает растения с высокой эффективностью, однако на поздних стадиях инфекции в зараженных растениях наблюдается так называемый феномен оздоровления: симптомы на вновь образующихся (молодых) системно инфицированных листьях проявляются как более мягкие, а репликация вируса поддерживается на низком уровне (Ratcliff et al., 2001). В отличие от растений *Nicotiana* (*N. tabacum* и *N. benthamiana*) ДТ, инфицированных TRV, TP-kd растения «не выздоравливали» и демонстрировали персистентные суровые симптомы инфекции. Полученные результаты свидетельствовали о том, что только растения ДТ способны входить в фазу «оздоровления» на поздних стадиях инфекции TRV, подавляя размножение вируса во вновь образованных листьях, хотя на ранних стадиях растения ДТ и TP-kd (с дефицитом коилина/отсутствием ТК) были одинаково чувствительны к инфекции (Shaw et al., 2014). Снижение накопления вируса при «оздоровлении» системных листьев ранее было объяснено феноменом РНК-интерференции (Ratcliff et al., 1997). Наши данные (Shaw et al., 2014) показали, что механизм РНК-интерференции функционирует сходным образом в TP-kd в отсутствие коилина и в растениях ДТ. Вместе с тем наблюдаемая разница в симптомах вирусной инфекции говорила об участии коилина в ранее неизвестном защитном механизме, который повышает устойчивость растения к вирусной инфекции. Отсутствие коилина, напротив, сопровождается ослаблением/выключением этого механизма, способствуя накоплению вирусной РНК до уровней, которые могут потенциально насытить механизм РНК-интерференции, что позволяет преодолевать его действие в системных листьях TP-kd. Согласно нашим данным, ядерным белком, вовлеченным в коилин-зависимый ответ на вирусную инфекцию, может быть поли(АДФ-рибозо) полимераза (PARP1), выполняющая важную роль в толерантности организма к генотоксическому стрессу, репарации ДНК, транскрипции, контроле клеточного цикла и клеточных ответах на биотический и абиотический стрессы, включая процессы, относящиеся к механизму программируемой клеточной смерти (Kotova et al., 2009; Briggs, Bent, 2011; Bassett, 2012; Luo, Kraus, 2012; Ji, Tulin, 2013; Schulz et al., 2014). Этот белок осуществляет свои регуляторные функции путем специфической модификации (АДФ-рибозилирования) отдельных белков и автомодификации. Вероятно, сходный механизм устойчивости может запускаться и при инфекции растений другими РНК- и ДНК-содержащими вирусами, в частности вирусом шероховатой мозаики ячменя (barley stripe mosaic virus – BSMV; РНК-геном), вирусом черных колец томатов (tomato black ring virus – TBRV; РНК-геном) и вирусом золотистой мозаики томатов (tomato golden mosaic virus – TGMV; ДНК-геном) (Shaw et al., 2014).

Полученные нами данные позволяют предположить, что ядерные белки, коилин и фибрилларин, имеют новые, ранее неизвестные функции, являясь важными регуляторами/сенсорами, контролирующими вирусный патогенез в растениях, причем эти функции могут быть использованы как для «пользы» вирусов, так и в защитных реакциях растения-хозяина, направленных против вирусов. Поскольку коилин/фибрилларин вовлечены в устойчивость/восприимчивость растений к различным вирусам и даже абиотическим факторам (Love et al., 2016), очевидно, что эти ядерные белки являются компонентами сигнального пути/путей, обеспечивающих общие защитные механизмы растения. Таким образом, клеточное ядро – центральный узел координации ответов на биотические и абиотические стрессы. Это открывает широкие возможности для его использования в качестве нового источника факторов, активирующих широкий спектр механизмов устойчивости растений к вирусам, в частности к вирусам картофеля, и в целом к различным патогенам.

Заключение

В настоящее время становится возможным использовать новые технологии редактирования генома с целью дизайна генов устойчивости против вирусов. Развитие таких технологий, как TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) и CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), открывает широкие возмож-

ности для создания новой генерации генов устойчивости и получения культур, не содержащих вставок гетерологичных последовательностей ДНК, что существенно для стран, в которых использование ГМО законодательно ограничено или запрещено. Детальное знание механизмов защитного ответа растения на вирусную инфекцию и особенностей взаимодействия вируса с клеточными факторами позволит идентифицировать как новые белки растения, вовлеченные в сигнальные пути защиты растений от атаки вирусов, так и ключевые домены взаимодействующих с ними вирусных белков, которые не подвергаются быстрой модификации/эволюции. Предполагается, что модификация известных генов специфической устойчивости или генов, вовлеченных в механизмы неспецифической защиты растений, позволит растению-хозяину «узнавать» новые варианты вируса и уничтожать его при участии иммунной системы. При альтернативном подходе индуцированная в гене растения мутация не будет влиять на рост растения, а хозяйский белок не будет узнавать компоненты вируса и способствовать его размножению. Несмотря на уже сделанные значимые открытия, сложные сети биологических процессов в ядре, определяющие кардинальные изменения в «защитном» ядерном интерактоме, еще предстоит исследовать. Принципиально важными в этой связи являются хорошая изученность генетических ресурсов видов *Solanum* и ставшая недавно доступной полная последовательность генома картофеля, опубликованная международным Консорциумом секвенирования генома картофеля (www.potatogenome.net).

В долгосрочной перспективе эти подходы позволят разработать стратегии создания новых стабильных сортов/линий картофеля, устойчивых к вирусным и бактериальным инфекциям и способных преодолевать экологические стрессы. Успехи в этом направлении с большой вероятностью приведут к высокому уровню защиты растения, поскольку будут основаны на собственном арсенале защиты растения, что сделает устойчивость более эффективной и долговечной.

Acknowledgments

The authors are grateful to Drs. A.M. Chuenko and A.N. Ignatov for the attention to the work and valuable advice. The study was supported by the Russian Science Foundation, project 16-16-04019.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Reference

Aguiar E.R., Olmo R.P., Marques J.T. Virus-derived small RNAs: molecular footprints of host-pathogen interactions. Wiley Interdiscip. Rev. RNA. 2016;7(6):824-837. DOI 10.1002/wrna.1361.

Aguilar E., Almendral D., Allende L., Pacheco R., Chung B.N., Canto T., Tenllado F. The P25 protein of Potato virus X (PVX) is the main pathogenicity determinant responsible for systemic necrosis in PVX-associated synergisms. J. Virol. 2015;89(4):2090-2103. DOI 10.1128/JVI.02896-14.

Arif M., Azhar U., Arshad M., Zafar Y., Mansoor S., Asad S. Engineering broad-spectrum resistance against RNA viruses in potato. Transgenic Res. 2012;21:303-311. DOI 10.1007/s11248-011-9533-7.

Arif M., Torrance L., Reavy B. Acquisition and transmission of potato mop-top furovirus by a culture of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* derived from single cystosorus. Annals Appl. Biology. 1995;126(3):493-503. DOI 10.1111/j.1744-7348.1995.tb05384.x.

Baldauf P.M., Gray S.M., Perry K.L. Biological and serological properties of potato virus Y isolates in northeastern United States potato. Plant Dis. 2006;90:559-566. DOI 10.1094/PD-90-0559.

Barker H., Dale M.F.B. Resistance to viruses in potato. Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses. Ed. by G. Loebenstein, J.P. Carr. Netherlands: Springer, Dordrecht, 2006;341-366.

Bassett C.L. Cajal bodies and plant RNA metabolism. Crit. Rev. Plant Sci. 2012;31(3):258-270. DOI 10.1080/07352689.2011.645431.

Baures I., Candresse T., Leveau A., Bendahmane A., Sturbois B. The *Rx* gene confers resistance to a range of *Potexviruses* in transgenic *Nicotiana* plants. Mol. Plant-Microbe Interactions. 2008;21(9):1154-1164. DOI 10.1094/MPMI-21-9-1154.

Bendahmane A., Kanyuka K., Baulcombe D.C. The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. Plant Cell. 1999;11(5):781-792. DOI 10.1105/tpc.11.5.781.

Bendahmane A., Kohn 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;8:933-941.

Botër M., Amigues B., Peart J., Breuer C., Kadota Y., Casais C., Moore G., Kleanthous C., Ochsenbein F., Shirasu K., Guerois R. Structural and functional analysis of SGT1 reveals that its interaction with HSP90 is required for the accumulation of Rx, an R protein involved in plant immunity. Plant Cell. 2007;19:3791-3804. DOI 10.1105/tpc.107.050427.

Brandes J., Wetter C., Bagnall R.H., Larson R.H. Size and shape of the particles of Potato virus S, Potato virus M, and Carnation latent virus. Phytopathol. 1959;49(7):443-446.

Brault V., Mutterer J., Scheidecker D., Simonis M.T., Herrbach E., Richards K., Ziegler-Graff V. Effects of point mutations in the readthrough domain of the beet western yellows virus minor capsid protein on virus accumulation in planta and on transmission by aphids. J. Virology. 2000;74(3):1140-1148. DOI 10.1128/JVI.74.3.1140-1148.2000.

Briggs A.G., Bent A.F. Poly(ADP-ribosyl)ation in plants. Trends Plant Sci. 2011;16:372-380. DOI 10.1016/j.tplants.2011.03.008.

Canadian Food Inspection Agency, Plant Health Science. Potato mop-top virus PMTV – Fact Sheet. Available at http://www.inspection.gc.ca/plants/plant-pests-invasive-species/diseases/pmtv/fact-sheet/eng/1327452784025/1327452899956.

Candresse T., Marais A., Faure C., Dubrana M.P., Gombert J., Bendahmane A. Multiple coat protein mutations abolish recognition of *Pepino mosaic potexvirus* (PepMV) by the Potato *Rx* resistance gene in transgenic tomatoes. Mol. Plant-Microbe Interactions. 2010;23(4):376-383. DOI 10.1094/MPMI-23-4-0376.

Canetta E., Kim S.H., Kalinina N.O., Shaw J., Adya A.K., Gillespie T., Brown J.W., Taliansky M. A plant virus movement protein forms ring-like complexes with the major nucleolar protein, fibrillarin, *in vitro*. J. Mol. Biol. 2008;376(4):932-937. DOI 10.1016/j.jmb.2007.12.039.

Cavatorta J., Perez K.W., Gray S.M., Van Eck J., Yeam I., Jahn M. Engineering virus resistance using a modified potato gene. Plant Biotechnol. J. 2011;9(9):1014-1021. DOI 10.1111/j.1467-7652.2011.00622.x.

Čeřovská N., Pečenková T., Filigarová M., Dědič P. Sequence analysis of the Czech potato mop-top virus (PMTV) isolate Korneta-Nemilkov. Folia Microbiol. 2007;52(1):61-64.

Davidson T.M.W. Breeding for resistance to virus disease of the potato (*Solanum tuberosum*) at the Scottish Plant Breeding Station. Scottish Plant Breed. Station 59th Annu. Rep. 1980;100-108.

Deslandes L., Rivas S. The plant cell nucleus: a true arena for the fight between plants and pathogens. Plant Signal Behav. 2011;6(1):42-48. DOI 10.4161/psb.6.1.13978.

Deslandes L., Rivas S. Catch me if you can: bacterial effectors and plant targets. Trends Plant Sci. 2012;17(11):644-655. DOI 10.1016/j.tplants.2012.06.011.

Dziewonska M.A., Ostrowska K. Resistance to Potato virus M in certain wild potato species. Potato Res. 1978;21:129-131. DOI 10.1007/BF02361611.

Farnham G., Baulcombe D.C. Artificial evolution extends the spectrum of viruses that are targeted by a disease-resistance gene from potato. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006;103(49):18828-18833. DOI 10.1073/pnas.0605777103.

Flor H.H. Current status of the gene-for-gene concept. Ann. Rev. Phytopathol. 1971;9:275-296. DOI 10.1146/annurev.py.09.090171.001423.

Galvino-Costa S.B.F., Figueira A.D.R., Camargos V.V., Geraldino P.S., Hu X.J., Nikolaeva O.V., Kerlan C., Karasev A.V. A novel type of Potato virus Y recombinant genome, determined for the genetic strain PVY^E. Plant Path. 2012;61:388-398. DOI 10.1111/j.1365-3059.2011.02495.x.

Gill U.S., Lee S., Mysore K.S. Host versus nonhost resistance: distinct wars with similar arsenals. Phytopathol. 2015;105(5):580-587. DOI 10.1094/PHYTO-11-14-0298-RVW.

Greco A. Involvement of the nucleolus in replication of human viruses. Rev. Med. Virol. 2009;19(4):201-214. DOI 10.1002/rmv.614.

Hafez S.L., Sundararaj P. Management of Corky Ringspot Disease of Potatoes in the Pacific Northwest. University of Idaho. Extension. 2009;1-6.

Hämäläinen J.H., Kekarainen T., Gebhardt C., Watanabe K.N., Valkonen J.P.T. Recessive and dominant genes interfere with the vascular transport of Potato virus A in diploid potatoes. Mol. Plant Microbe Interact. 2000;13:402-412. DOI 10.1094/MPMI.2000.13.4.402.

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. Genet. 1998;96:1036-1043. DOI 10.1007/s001220050836.

Harris C.J., Slootweg E.J., Goverse A., Baulcombe D.C. Stepwise artificial evolution of a plant disease resistance gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013;110(52):21189-21194. DOI 10.1073/pnas.1311134110.

Hiscox J.A. RNA viruses: hijacking the dynamic nucleolus. Nat. Rev. Microbiol. 2007;5(2):119-127. DOI 10.1038/nrmicro1597.

Ivanov K.I., Eskelin K., Lohmus A., Makinen K. Molecular and cellular mechanisms underlying potyvirus infection. J. General Virol. 2014;95:1415-1429. DOI 10.1099/vir.0.064220-0.

Jaag H.M., Kawchuk L., Rohde W., Fischer R., Emans N., Prűfer D. An unusual internal ribosomal entry site of inverted symmetry directs expression of a potato leafroll polerovirus replication-associated protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003;100(15):8939-8944. DOI 10.1073pnas.1332697100.

Ji Y., Tulin A.V. Post-transcriptional regulation by poly(ADP-ribosyl)ation of the RNA-binding proteins. Int. J. Mol. Sci. 2013;14:16168-16183. DOI 10.3390/ijms140816168.

Jones J.D., Dangl J.L. The plant immune system. Nature. 2006;444(7117):323-329. DOI 10.1038/nature05286.

Karasev A.V., Gray S.M. Continuous and emerging challenges of Potato virus Y in potato. Annu. Rev. Phytopathol. 2013;51:571-586. DOI 10.1146/annurev-phyto-082712-102332.

Kelly K.B., Whitworth J.L., Novy R.G. Mapping of the potato leafroll virus resistance gene, Rlr_{etb}, from *Solanum etuberosum* identifies interchromosomal translocations among its E-genome chromosomes 4 and 9 relative to the A-genome of *Solanum* L. sect. *Petota*. Mol. Breeding. 2009;23:489-500. DOI 10.1007/s11032-008-9251-x.

Kim S.H., Macfarlane S., Kalinina N.O., Rakitina D.V., Ryabov E.V., Gillespie T., Haupt S., Brown J.W., Taliansky M. Interaction of a plant virus-encoded protein with the major nucleolar protein fibrillarin is required for systemic virus infection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007a;104(26):11115-11120. DOI 10.1073/pnas.0704632104.

Kim S.H., Ryabov E.V., Kalinina N.O., Rakitina D.V., Gillespie T., MacFarlane S., Haupt S., Brown J.W.S., Taliansky M. Cajal bodies and the nucleolus are required for a plant virus systemic infection. EMBO J. 2007b;26:2169-2179. DOI 10.1038/sj.emboj.7601674.

Kogovšek P., Kladnik A., Mlakar J., Žnidarič M.T., Dermastia M., Ravnikar M., Pompe-Novak M. Distribution of Potato virus Y in potato plant organs, tissues, and cells. Phytopathol. 2011;101:1292-1300. DOI 10.1094/PHYTO-01-11-0020.

Kotova E., Jarnik M., Tulin A.V. Poly (ADP-ribose) polymerase 1 is required for protein localization to Cajal body. PLoS Genet. 2009;5(2):e1000387. DOI 10.1371/journal.pgen.1000387.

Latvala-Kilby S., Aura J.M., Pupola N., Hannukkala A., Valkonen J.P.T. Detection of *Potato mop-top virus* in potato tubers and sprouts: Combinations of RNA2 and RNA3 variants and incidence of symptomless infections. Phytopathol. 2009;99:519-531. DOI 10.1094/PHYTO-99-5-0519.

Lee L., Kaplan I.B., Ripoll D.R., Liang D., Palukaitis P., Gray S.M. A surface loop of the *Potato leafroll virus* coat protein is involved in virion assembly, systemic movement, and aphid transmission. J. Virol. 2005;79(2):1207-1214. DOI 10.1128/JVI.79.2.1207–1214.2005.

Lee S., Whitaker V.M., Hutton S.F. Mini review: Potential applications of non-host resistance for crop improvement. Front. Plant Sci. 2016;7:997. DOI 10.3389/fpls.2016.00997.

Lico C., Benvenuto E., Baschieri S. The two-faced Potato virus X: from plant pathogen to smart nanoparticle. Front. Plant Sci. 2015;6:1009. DOI 10.3389/fpls.2015.01009.

Łoniewska-Lwowska A., Chełstowska S., Zagórski-Ostoja W., Pałucha A. Elements regulating *Potato leafroll virus* sgRNA1 translation are located within the coding sequences of the coat protein and read-through domain. Acta Biochim. Polonica. 2009;56(4):619-625.

Love A.J., Yu C., Petukhova N.V., Kalinina N.O., Chen J., Taliansky M.E. Cajal bodies and their role in plant stress and disease responses. RNA Biology. 2016. DOI 10.1080/15476286.2016.1243650.

Luo X., Kraus W.L. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP. Genes Dev. 2012;26:417-432. DOI 10.1101/gad.183509.111.

MacFarlane S.A. Molecular biology of the tobraviruses. J. Gen. Virol. 1999;80(11):2799-2807. DOI 10.1099/0022-1317-80-11-2799.

MacFarlane S.A. Tobraviruses – plant pathogens and tools for biotechnology. Mol. Plant Pathol. 2010;11(4):577-583. DOI 10.1111/j.1364-3703.2010.00617.x.

Marczewski W., Flis B., Syller J., Schafer-Pregl R., Gebhardt C. A major quantitative trait locus for resistance to *Potato leafroll virus* is located in a resistance hotspot on potato chromosome XI and is tightly linked to *N*-gene-like markers. Mol. Plant-Microbe Interact. 2001;14(12):1420-1425. DOI 10.1094/MPMI.2001.14.12.1420.

Massumi H., Poormohammadi S., Pishyar S., Maddahian M., Heydarnejad J., Hosseini-Pour A., Bysterveldt K., Varsani A. Molecular characterization and field survey of Iranian potato virus X isolates. Virus Dis. 2014;25(3):338-344. DOI 10.1007/s13337-014-0222-z.

Mayor A., Martinon F., DeSmedt T., Petrilli V., Tschopp J. A crucial function of SGT1 and HSP90 in inflammasome activity links mammalian and plant innate immune responses. Nature Immunol. 2007;8:497-503. DOI 10.1038/ni1459.

Meier I. Composition of the plant nuclear envelope: theme and variations. J. Exp. Botany. 2007;58:27-34. DOI 10.1093/jxb/erl009.

Morozov S.Y., Zakchariev V.M., Chernow B.K., Prasolov V.S., Kozlov Y.V., Atabekov J.G. The analysis of the primary structure and localization of the coat protein gene on the genomic RNA of Potato virus X. Dokl. Akad. Nauk SSSR. 1983;271:211-215.

Muthamilarasan M., Prasad M. Plant innate immunity: an updated insight into defense mechanism. J. Biosci. 2013;38(2):433-449. DOI 10.1007/s12038-013-9302-2.

Novy R.G., Gillen A.M., Whitworth J.L. Characterization of the expression and inheritance of potato leafroll virus (PLRV) and potato virus Y (PVY) resistance in three generations of germplasm derived from *Solanum etuberosum*. Theor. Appl. Genet. 2007;114:1161-1172. DOI 10.1007/s00122-007-0508-2.

Oh S.K., Lee S., Chung E., Park J.M., Yu S.H., Ryu C.M., Choi D. Insight into Types I and II nonhost resistance using expression patterns of defense-related genes in tobacco. Planta. 2006;223(5):1101-1107. DOI 10.1007/s00425-006-0232-1.

Palukaitis P. Resistance to viruses of potato and their vectors. Plant Pathol. J. 2012;28(3):248-258. DOI 10.1099/vir.0.82477-0.

Peter K.A., Liang D., Palukaitis P., Gray S.M. Small deletions in the potato leafroll virus readthrough protein affect particle morphology,

aphid transmission, virus movement and accumulation. J. General Virol. 2008;89(8):2037-2045. DOI 10.1099/vir.0.83625-0.

Piche L.M., Singh R.P., Nie X., Gudmestad N.C. Diversity among *Potato virus Y* isolates obtained from potatoes grown in the United States. Phytopathol. 2004;94(12):1368-1375. DOI 10.1094/PHYTO.2004.94.12.1368.

Ploeg A.T., Robinson D.J., Brown D.J.F. RNA-2 of tobacco rattle virus encodes the determinants of transmissibility by trichodorid vector nematodes. J. General Virol. 1993;74:1463-1466.

Rahman M.S., Akanda A.M. Effect of PLRV infected seed tuber on disease incidence, plant growth and yield parameters of potato. Bangladesh J. Agril. Res. 2010;35(3):359-366.

Rajamäki M.-L., Valkonen J.P.T. Control of nuclear and nucleolar localization of nuclear inclusion protein a of picorna-like *Potato virus A* in *Nicotiana* species. Plant Cell. 2009;21(8):2485-2502. DOI 10.1105/tpc.108.064147.

Ratcliff F., Harrison B.D., Baulcombe D.C. A similarity between viral defense and gene silencing in plants. Science. 1997;276(5318):1558-1560. DOI 10.1126/science.276.5318.1558.

Ratcliff F., Martin-Hernandez A.M., Baulcombe D.C. Technical advance: tobacco rattle virus as a vector for analysis of gene function by silencing. Plant J. 2001;25(2);237-245. DOI 10.1046/j.0960-7412.2000.00942.x.

Reavy B., Arif M., Cowan G.H., Torrance L. Association of sequences in the coat protein/readthrough domain of potato mop-top virus with transmission by *Spongospora subterranea*. J. General Virol. 1998; 79:2343-2347.

Reddy D.V., Sudarshana M.R., Fuchs M., Rao N.C., Thottappilly G. Genetically engineered virus-resistant plants in developing countries: current status and future prospects. Adv. Virus Res. 2009;75:185-220. DOI 10.1016/S0065-3527(09)07506-X.

Robinson D.J., Dale M.F.B., Todd D. Factors affecting the development of disease symptoms in potatoes infected by *Tobacco rattle virus*. Eur. J. Plant Pathol. 2004;110:921-928. DOI 10.1007/s10658-004-8950-3.

Ross H. The use of wild *Solanum* species in German potato breeding of the past and today. Am. Potato J. 1966;43:64-80.

Ross H. Potato Breeding – Problems and Perspectives. Berlin: P. Parey, 1986.

Salaman R.N., Pethybridge G. Some Recent Work on the Potato Blight. Rep. Intern. Potato Conf. Roy. Hort. Soc., 1921;122.

Schmitz J., Stussi-Garaud C., Tacke E., Prüfer D., Rohde W., Rohfritsch O. *In situ* localization of the putative movement protein (pr17) from potato leafroll luteovirus (PLRV) in infected and transgenic potato plants. Virol. 1997;235(2):11-22. DOI 10.1006/viro.1997.8679.

Scholthof K.-B.G., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G.D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathology. 2011;12(9):938-954. DOI 10.1111/J.1364-3703.2011.00752.X.

Schulz P., Jansseune K., Degenkolbe T., Méret M., Claeys H., Skirycz A., Teige M., Willmitzer L., Hannah M.A. Poly(ADP-ribose) polymerase activity controls plant growth by promoting leaf cell number. PLoS ONE. 2014;9(2):e90322. DOI 10.1371/journal.pone.0090322.

Senanayake D.M.J.B., Mandal B. Expression of symptoms, viral coat protein and silencing suppressor gene during mixed infection of a N–Wi strain of potato virus Y and an asymptomatic strain of potato virus X. Virus Dis. 2014;25(3):314-321. DOI 10.1007/s13337-014-0204-1.

Senshu H., Yamaji Y., Minato N., Shiraishi T., Maejima K., Hashimoto M., Miura C., Neriya Y., Namba S. A dual strategy for the suppression of host antiviral silencing: two distinct suppressors for viral replication and viral movement encoded by potato virus M. J. Virology. 2011;85(19):10269-10278. DOI 10.1128/JVI.05273-11.

Shaw J., Love A.J., Makarova S.S., Kalinina N.O., Harrison B.D., Taliansky M.E. Coilin, the signature protein of Cajal bodies, differentially modulates the interactions of plants with viruses in widely different taxa. Nucleus. 2014;5(1):85-94. DOI 10.4161/nucl.28315.

Singh R.P., Valkonen J.P.T., Gray S.M., Boonham N., Jones R.A.C., Kerlan C., Schubert J. Discussion paper: The naming of *Potato virus Y* strains infecting potato. Arch. Virol. 2008;153(1):1-13. DOI 10.1007/s00705-007-1059-1.

Solomon R.M., Wastie R.L. Management of potato mop-top virus and its vector by breeding and selection. Developments in Applied Biology II. Viruses with Fungal Vectors. Ed. by J.I. Cooper, M.J.C. Asher. UK. Wellesbourne: Assoc. Appl. Biol., 1988;271-279.

Solomon-Blackburn R.M., 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;86:8-16.

Solovyev A.G., Savenkov E.I. Factors involved in the systemic transport of plant RNA viruses: the emerging role of the nucleus. J. Exp. Bot. 2014;65(7):1689-1697. DOI 10.1093/jxb/ert449.

Sudarshana M.R., Roy G., Falk B.W. Methods for engineering resistance to plant viruses. Methods Mol. Biol. 2007;354:183-195. DOI 10.1385/1-59259-966-4:183.

Tacke E., Priifer D., Schmitz J., Rohde W. The potato leafroll luteovirus 17K protein is a single-stranded nucleic acid-binding protein. J. General Virol. 1991;72:2035-2038. DOI 10.1099/0022-1317-72-8-2035.

Taliansky M.E., Brown J.W., Rajamäki M.L., Valkonen J.P., Kalinina N.O. Involvement of the plant nucleolus in virus and viroid infections: parallels with animal pathosystems. Adv. Virus Res. 2010; 77:119-158. DOI 10.1016/B978-0-12-385034-8.00005-3.

Tameling W.I., Baulcombe D.C. Physical association of the NB-LRR resistance protein Rx with a Ran GTPase-activating protein is required for extreme resistance to *Potato virus X*. Plant Cell. 2007; 19:1682-1694.

Valkonen J. Virus-host interactions and breeding for resistance in potato. Breeding Sci. 2015;65(1):69-76. DOI 10.1270/jsbbs.65.69

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;115:433-438.

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 *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*-derived potato genotype. Plant Disease. 1994;78(12):1177-1180.

Verchot-Lubicz J., Ye C-M., Bamunusinghe D. Molecular biology of potexviruses: recent advances. J. General Virol. 2007;88:1643-1655. DOI 10.1099/vir.0.82667-0.

Visser P.B., Brown D.J.F., Brederode F.Th., Bol J.F. Nematode transmission of tobacco rattle virus serves as a bottleneck to clear the virus population from defective interfering RNAs. Virol. 1999; 263(1):155-165. DOI 10.1006/viro.1999.9901.

Wales S., Platt H.W., Cattlin N. Diseases, Pests and Disorders of Potatoes. London: Manson Publ. Ltd., 2008;75-76.

Warren M., Krűger K., Schoeman A.S. Potato Virus Y (PVY) and Potato Leafroll Virus (PLRV): Literature Review for Potatoes South Africa. Pretoria: Univ. of Pretoria, Faculty of Nat. and Agricult. Sci., Department of Zool. and Entomol., 2005.

Xu H., D'Aubin J., Nie J. Genomic variability in *Potato virus M* and the development of RT-PCR and RFLP procedures for the detection of this virus in seed potatoes. Virol. J. 2010;7:25. DOI 10.1186/1743-422X-7-25.