

Выявление вируса метельчатости верхушек картофеля методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени

* ПРУЧКИНА М.А.¹, ШНЕЙДЕР Ю.А.², ЖИВАЕВА Т.С.³

^{1,2,3} ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

¹ e-mail: anadiamena@gmail.com

² ORCID 0000-0002-7565-1241,

e-mail: yury.shneyder@mail.ru

³ e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Картофель (*Solanum tuberosum*) является важнейшей сельскохозяйственной культурой. В настоящее время в мире картофель выращивают на территории более 18 млн га. Объектом исследования представленной статьи является вирус метельчатости верхушек картофеля (Potato mop-top virus), опасный патоген, причиняющий ущерб картофелеводству во всем мире. Данный вредный организм снижает урожайность картофеля, вызывает характерные повреждения мякоти и поверхности клубней, что сказывается на товарном качестве и возможности использования их для переработки. Климатические условия в странах распространения вируса схожи с климатическими условиями выращивания картофеля на территории Российской Федерации. Кроме того, его переносчик, гриб *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*, вызывающий порошистую паршу картофеля, широко распространен в России. Надежные методы борьбы с вирусом метельчатости верхушек картофеля отсутствуют, поэтому существует вероятность того, что вирус также может акклиматизироваться и распространиться на территории нашей страны. В связи с этим важно иметь действенные методы выявления и идентификации данного организма.

В исследовании был проведен сравнительный анализ коммерческого набора для полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) и видоспецифичных праймеров для идентификации вируса метельчатости верхушек картофеля. Также была проведена оценка применимости коммерческих наборов реактивов для постановки обратной транскрипции. Наиболее удачные комбинации реактивов для синтеза кДНК, праймеров и режимов амплификации для выявления Potato mop-top virus были апробированы на образцах картофеля, отобранных в Иркутской, Волгоградской и Ростовской областях, а также Приморском крае.

Detection of Potato mop-top virus by real-time RT-PCR

* MARIA A. PRUCHKINA¹, YURI A. SHNEYDER², TATIANA S. ZHIVAeva³

^{1,2,3} FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIKCR"), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150

¹ e-mail: anadiamena@gmail.com

² ORCID 0000-0002-7565-1241,

e-mail: yury.shneyder@mail.ru

³ e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

ABSTRACT

Potato (*Solanum tuberosum*) is the most important agricultural crop. Currently, potatoes are cultivated on more than 18 million hectares in the world. The object of study of the presented article is Potato mop-top virus (PMTV), a serious pathogen causing damage to potato all over the world. This pest reduces the yield, causes characteristic damage to the pulp and tuber surface, which affects the commercial quality and the possibility of using them for processing. Climatic conditions in the countries where the virus is spreading are similar to those for potato cultivation in the Russian Federation. Besides, its vector, fungus *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*, causing powdery scab of potato, is widespread in Russia. There are no reliable methods to control PMTV, so the virus can also adapt and spread throughout Russia. In this regard, it is important to have effective methods for detecting and identifying this organism.

The study compared a commercial real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) kit with species-specific primers for the identification of PMTV. The applicability of commercial reverse transcription kits was also evaluated. The most successful combinations of reagents for cDNA synthesis, primers, and amplification modes for the detection of PMTV were tested on potato samples taken in the Irkutsk Oblast, Volgograd Oblast and Rostov Oblast, as well as Primorsky Krai.

Ключевые слова. PMTV, фитопатогены картофеля, молекулярная диагностика, обратная транскрипция, фитосанитарная безопасность, *Spongospora subterranea*.

ВВЕДЕНИЕ



Картофель (*Solanum tuberosum*) является ценной культурой, которую широко возделывают на территории Российской Федерации. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (ФАО), картофель входит в 10 самых производимых культур мира (FAOSTAT, 2023). Производство семенного картофеля регулируется международными и национальными стандартами. Кроме этого, картофель должен быть свободен от карантинных вредных организмов. Вирусы и бактерии картофеля вызывают одни из самых экономически значимых заболеваний этой культуры, поражая как семенной, так и продовольственный материал. Часто вредные организмы сохраняются в клубнях в латентной форме, а при изменении условий выращивания становятся причиной экономического ущерба для производителей данной культуры. В связи с этим необходимо разрабатывать и использовать в лабораторной практике наиболее чувствительные и специфичные диагностикумы (Шнейдер и др., 2017; Тихомирова, Шнейдер, 2018; Shneyder et al., 2023).

Один из вирусов, часто передающийся в латентном состоянии и проявляющий симптомы в конце вегетации, – вирус метельчатости верхушек картофеля (Potato mop-top virus, PMTV; род *Potomovirus*). Он регулируется странами Азиатско-Тихоокеанской комиссии по карантину и защите растений, Комитета по здоровью растений Южного конуса, Североамериканской организации по карантину и защите растений, а также Стандартом 4/28 (1) Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) для семенного картофеля (EPPO, 1999).

PMTV вызывает некротические дуги и кольца на мякоти и поверхности клубней картофеля, что портит его товарное качество, а симптоматические клубни становятся невозможно использовать для переработки (Santala et al., 2010). Кроме того, снижается урожайность. Несмотря на то, что селекция сортов, комплекс фитосанитарных мер и борьба с вектором PMTV, возбудителем порошистой парши (грибом *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*), дают определенную защиту, пока не существует надежных методов борьбы с этим вирусом (Sandgren et al., 2002).

Вирус метельчатости верхушек картофеля не передается естественным путем тлями или другими переносчиками, но с поля на поле распространяется в инфицированных семенных клубнях,

Key words. PMTV, potato phytopathogens, molecular diagnostics, reverse transcription, phytosanitary safety, *Spongospora subterranea*.

INTRODUCTION

Potato (*Solanum tuberosum*) is a valuable crop widely cultivated on the territory of the Russian Federation. According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), potatoes are among the 10 most produced crops in the world (FAOSTAT, 2023). Seed potato production is regulated by international and national standards. In addition, potatoes must be free from quarantine pests. Potato viruses and bacteria cause some of the most economically significant diseases of this crop, affecting both seed and food material. Often, pests remain in tubers in a latent form, and when growing conditions change, they cause economic damage to producers of this crop. In this regard, it is necessary to develop and use in laboratory practice the most sensitive and specific diagnostics (Schneyder et al., 2017; Tikhomirova, Schneyder, 2018; Shneyder et al., 2023).

One of the viruses, often transmitted in a latent state and showing symptoms at the end of the growing season is Potato mop-top virus (PMTV; genus *Potomovirus*). It is regulated by the countries of the Asia and Pacific Plant Protection Commission, the Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur, the North American Plant Protection Organization, and the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) Standard 4/28 (1) for seed potatoes (EPPO, 1999).

PMTV causes necrotic arcs and rings on the pulp and surface of potato tubers, which reduces its commercial quality, and symptomatic tubers cannot be used for processing (Santala et al., 2010). In addition, the yield decreases. Despite the fact that the selection of varieties, a set of phytosanitary measures and controlling the PMTV vector, the causative agent of powdery scab (fungus *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*), provide some protection, there are still no reliable methods to control this virus (Sandgren et al., 2002).

PMTV is not naturally transmitted by aphids or other vectors, but spreads from field to field in infected seed tubers, as well as in soil contaminated with dormant spores of the vector fungus (Calvert and Harrison, 1966), which is distributed in almost all parts of the world (CABI, 2023). It is believed that in the absence of the vector fungus, plants can self-curing from PMTV after several reproductions, since the virus is unevenly distributed throughout the plant and in a plant grown from an infected tuber, not all stems and daughter tubers will be infected (Kirk, 2008). However, in dormant spores of the fungus *S. subterranea* in the soil, PMTV

а также с почвой, зараженной покоящимися спорами гриба-вектора (Calvert, Harrison, 1966), который распространен практически во всех частях света (CABI, 2023). Считается, что в отсутствие гриба-вектора растения могут самоизлечиться от PMTV через несколько репродукций, поскольку вирус неравномерно распределяется по растению и у растения, выращенного из зараженного клубня, не все стебли и дочерние клубни будут инфицированы (Kirk, 2008). Однако в покоящихся спорах гриба *S. subterranea* в почве PMTV выживает в течение многих лет (Jones, Harrison, 1972). Как только PMTV адаптируется на поле, выращивание чувствительных сортов становится невозможным, поскольку покоящиеся споры вектора долго сохраняются и устойчивы к засухе и агрохимикатам (Sandgren et al., 2002).

Поскольку PMTV, как и его переносчик, распространен в странах с климатом, схожим с климатом в регионах выращивания картофеля в Российской Федерации, существует вероятность того, что PMTV также может здесь акклиматизироваться и распространиться. Своевременное выявление – одна из основных мер, необходимых для предупреждения распространения PMTV на территории Российской Федерации (Шнейдер и др., 2017; Шнейдер и др., 2021; Shneyder et al., 2021).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках оценки применимости молекулярно-генетических методов диагностики вируса метельчатости верхушек картофеля были использованы образцы положительных контролей PMTV производства Bioreba (PMTV 113053), Adgen (PMTV 1040-11), ООО «АгроДиагностика», а также зараженных клубней из коллекции ФГБУ «ВНИИР». Кроме того, для оценки специфичности были применены близкородственные вирусы рода *Pomovirus*: Beet soil-borne virus (BSBV 1214-11 (Adgen, Великобритания), BSBV PV-0576 (DSMZ, Германия)), Beet virus Q (BVQ PV-0961 (DSMZ, Германия)), а также вегетативные части картофеля сорта Гала, не зараженного PMTV. Во всех анализах использовался отрицательный контроль со стерильной дистиллированной водой.

Выделение РНК из образцов было выполнено набором «Проба-НК» («АгроДиагностика», Россия) согласно инструкции производителя.

Для синтеза кДНК использовали набор для обратной транскрипции (ОТ) производства фирмы «АгроДиагностика» (Россия) и набор «MMLV RT Kit» (ЗАО «Евроген», Россия), обратную транскрипцию проводили согласно инструкциям производителей.

При постановке ОТ набором «MMLV RT Kit» («Евроген») использовали смесь, состоящую из праймеров oligo (dT)15 и dN20 random, по 1 мкл на реакцию. Сравнивали 2 варианта объема РНК-матрицы – 3 мкл и 5 мкл.

ПЦР в режиме реального времени проводили коммерческим набором фирмы «АгроДиагностика» согласно инструкции производителя, а также набором для ПЦР «qPCR mix-HS» («Евроген»), с праймерами PMTV-1948F, PMTV-2017R и зондом 1970P (Mumford et al., 2000). ПЦР проводили на амплификаторе Real-time CFX96 Touch (Bio-Rad,

remains viable for many years (Jones and Harrison, 1972). Once PMTV adapts to the field, growing susceptible varieties becomes impossible as the vector's dormant spores remain viable for a long time and resist the drought and agrochemicals (Sandgren et al., 2002).

Since PMTV, like its vector, is common in countries with climates similar to those in the potato-growing regions of the Russian Federation, there is a possibility that PMTV may also adapt and spread there. Timely detection is one of the main measures necessary to prevent the spread of PMTV in the territory of the Russian Federation (Shneyder et al., 2017; Shneyder et al., 2021; Shneyder et al., 2021).

MATERIALS AND METHODS

As part of the assessment of the applicability of molecular genetic methods for diagnosing PMTV, samples of PMTV positive controls produced by Bioreba (PMTV 113053), Adgen (PMTV 1040-11), AgroDiagnostica, as well as infected tubers from the FGBU "VNIIR" collection were used. In addition, closely related viruses of *Pomovirus* genus were used to assess the specificity: Beet soil-borne virus (BSBV 1214-11 (Adgen, UK), BSBV PV-0576 (DSMZ, Germany)), Beet virus Q (BVQ PV-0961 (DSMZ, Germany)), as well as vegetative parts of potatoes of the Gala variety, not infected with PMTV. All tests used a negative control with sterile distilled water.

RNA isolation from the samples was performed using the Proba-NK kit (AgroDiagnostica, Russia) according to the manufacturer's instructions.

For cDNA synthesis, a reverse transcription kit manufactured by AgroDiagnostica (Russia) and a MMLV RT Kit (Evrogen, Russia) were used; reverse transcription was performed according to the manufacturer's instructions.

When setting up reverse transcription with the MMLV RT Kit (Evrogen), a mixture consisting of primers oligo (dT)15 and dN20 random was used, 1 µl per reaction. We compared 2 variants of the volume of the RNA template – 3 µl and 5 µl.

Real-time PCR was performed using a commercial AgroDiagnostica kit according to the manufacturer's instructions, as well as a PCR kit qPCR mix-HS (Evrogen), with primers PMTV-1948F, PMTV-2017R and probe 1970P (Mumford et al., 2000). PCR was carried out on a Real-time CFX96 Touch amplifier (Bio-Rad, USA) according to the modes indicated in the publication of Bastidas et al., 2013, with an increase in the denaturation time: 95 °C – 5 min, then 40 cycles (95 °C – 25 sec and 60 °C – 1 min) (Bastidas et al., 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

Table shows the values of the threshold cycles (Cq Value) of the fluorescence curve of the studied samples.

During the tests, it was shown that the AgroDiagnostica kit, as well as the reaction mixture with primers and a probe from Mumford et al., 2000, make it possible to detect the genetic material of all analyzed PMTV isolates. No non-specific reactions with non-target closely related species were noted. However,

США) по режимам, указанным в публикации Bastidas et al., 2013, с увеличением времени денатурации: 95 °C – 5 мин, затем 40 циклов (95 °C – 25 сек и 60 °C – 1 мин) (Bastidas et al., 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице приведены значения пороговых циклов (Cq Value) кривой флуоресценции исследуемых образцов.

the best result can be achieved when carrying out the reaction with the primers described by Mumford et al., 2000, both when synthesizing cDNA with the MMLV RT Kit (Evrogen) with 5 µl of the RNA template, and with the AgroDiagnostica kit for reverse transcription.

Subsequently, potato samples from Irkutsk Oblast, Volgograd Oblast and Rostov Oblast were analyzed using the selected method with primers and a probe described in Mumford et al., as well as Primorsky Krai. All

Таблица. Пороговые циклы кривой флуоресценции при ОТ-ПЦР-РВ* на выявление PMTV в положительных контролях и образцах картофеля

Table. Threshold cycles of the real time RT-PCR fluorescence curve for the detection of PMTV in positive controls and potato samples

Образец Sample	ПЦР-РВ, «АгроДиагностика» Real time PCR, AgroDiagnostica			ПЦР-РВ, «qPCR mix-HS», праймеры Mumford et al., 2000 Real time PCR, qPCR mix-HS, primers Mumford et al., 2000		
	ОТ ¹ , «Евроген», 3 мкл Reverse transcription ¹ , Evrogen 3 µl	ОТ, «Евроген», 5 мкл Reverse transcription, Evrogen, 5 µl	ОТ, «Агро- Диагностика» Reverse transcription, AgroDiagnostica	ОТ, «Евроген», 3 мкл Reverse transcription, Evrogen, 3 µl	ОТ, «Евроген», 5 мкл Reverse transcription, Evrogen, 5 µl	ОТ, «Агро- Диагностика» Reverse transcription, AgroDiagnostica
Клубень картофеля PMTV ⁺³ Potato tuber PMTV ⁺³	35,08	35,17	34,84	32,63	33,25	32,17 ²
PMTV (positive control, Bioreba 113053)	28,04	27,14	28,07	26,61	25,33	25,83
PMTV (positive control, Adgen 1040-11)	38,70	37,36	36,36	22,58	22,32	24,55
PMTV (positive control, «АгроДиагностика») PMTV (positive control, AgroDiagnostica)	31,83	31,83	30,81	31,07	31,14	28,46
BSBV (positive control, Adgen 1214-11)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BVQ (DSMZ PV-0961)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BSBV (DSMZ PV-0576)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Отрицательный контроль (картофель с. Гала) Negative control (potato v. Gala)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Отрицательный контроль выделения Negative isolation control	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Отрицательный контроль амплификации Negative amplification control	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

¹ ОТ – реакция обратной транскрипции.

² Зеленым в таблице указаны ячейки с наименьшим значением порогового цикла (Cq Value).

³ Красным шрифтом обозначены положительные образцы и контроли целевого вируса.

¹ Reverse transcription – reverse transcription reaction.

² Green in the table indicates the cells with the lowest value of the threshold cycle (Cq Value).

³ Red indicates positive samples and controls of the target virus.

В ходе испытаний было показано, что набор производства ООО «АгроДиагностика», как и реакционная смесь с праймерами и зондом авторов Mumford et al., 2000, позволяют выявлять генетический материал всех проанализированных изолятов PMTV. Неспецифических реакций с нецелевыми близкородственными видами не отмечено. Однако наилучшего результата удастся достичь при проведении реакции с праймерами, описанными Mumford et al., 2000, как при синтезе кДНК набором «MMLV RT Kit» («Евроген») с 5 мкл РНК-матрицы, так и набором для обратной транскрипции производства компании «АгроДиагностика».

В дальнейшем выбранным методом с праймерами и зондом, описанными в публикации Mumford et al., 2000, при синтезе кДНК набором «MMLV RT Kit» («Евроген») с 6 мкл РНК-матрицы были проанализированы образцы картофеля из Иркутской, Волгоградской и Ростовской областей, а также Приморского края. Все образцы по результатам данного исследования были свободны от вируса метельчатости верхушек картофеля, однако необходимо продолжить проверку материала, чтобы убедиться в отсутствии PMTV в других регионах России.

Стоит заметить, что на территории Российской Федерации вирус метельчатости верхушек картофеля выявлялся только в 2019 г. (Malko et al., 2019), при этом авторы публикации использовали для тестирования образцов экспериментальную систему на основе ПЦР в микроципах. В ходе исследования было протестировано более 1700 образцов картофеля и только в 6 образцах вирус был выявлен. Подтверждение другими методами или секвенированием не проводилось, в связи с чем результаты могут быть сомнительными, так как ни до, ни после исследования в образцах картофеля, отобранных в различных регионах Российской Федерации, вирус не был выявлен. Необходимо также отметить, что в 2020 г. в импортном материале из Египта был выявлен образец картофеля, зараженный PMTV (Шнейдер и др., 2020; Shneyder et al., 2023) (см. рисунок).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты приведенных в статье исследований по изучению вируса метельчатости верхушек картофеля с использованием метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени послужили основой для составления методических рекомендаций по выявлению данного патогена и его идентификации.

Благодарность. Авторы выражают свою признательность сотрудникам научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР» за помощь в проведении



Рисунок. Картофель с симптомами PMTV (фото Н.А. Хориной)

Fig. Potato with PMTV symptoms (photo by N.A. Khorina)

samples from this study were free from PMTV, however, further testing of the material is necessary to ensure the absence of PMTV in other regions of Russia.

It should be noted that in the territory of the Russian Federation, PMTV was detected only in 2019 (Malko et al., 2019), while the authors of the publication used an experimental system based on PCR in microtests to test samples. More than 1,700 potato samples were tested during the study, and the virus was detected in only 6 samples. Confirmation by other methods or sequencing was not carried out, and therefore the results may be doubtful, since neither before nor after the study in potato samples taken in various regions of the Russian Federation, the virus was detected. It should also be noted that in 2020, a PMTV-infected potato sample was detected in imported material from Egypt (Shneyder et al., 2020; Shneyder et al., 2023) (see Fig.).

CONCLUSION

The results of the studies presented in the article on the study of PMTV using the real-time reverse transcription polymerase chain reaction method served as the basis for the preparation of guidelines for the detection of this pathogen and its identification.

Acknowledgement. The authors express their gratitude to the staff of the Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU «VNIICR», for their help in conducting research, as well as to the junior researcher of the Primorsky Branch of FGBU «VNIICR» N.A. Khorina for providing a photo of tubers with PMTV symptoms.

REFERENCES

1. Tikhomirova M.A., Shneyder Yu.A. Development of methods for diagnosing American potato viruses that pose a danger to potato growing in the Russian

исследований, а также младшему научному сотруднику Приморского филиала ФГБУ «ВНИИКР» Н.А. Хориной за предоставленное фото клубней с симптомами PMTV.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тихомирова М.А., Шнейдер Ю.А. Разработка методов диагностики американских вирусов картофеля, создающих опасность для картофелеводства Российской Федерации // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Томск, 10–13 апреля 2018 г. Томск: Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2018. С. 232–234.
2. Шнейдер Ю.А., Каримова Е.В., Приходько Ю.Н., Лозовая Е.Н., Живаева Т.С. Вирусы томата, особо опасные для овощеводства России // Картофель и овощи. 2021. № 6. С. 3–8.
3. *Candidatus Liberibacter solanacearum* – опасный патоген, вызывающий полосатость чипсов картофеля / Шнейдер Ю.А., Каримова Е.В., Приходько Ю.Н., Смирнова И.П., Шероколава Н.А., Мазурин Е.С., Абасов М.М., Магомедов Р.К., Орцханов Б.Г., Астарханова Т.С. // Защита и карантин растений. 2017. № 9. С. 39–41.
4. Шнейдер Ю.А., Приходько Ю.Н., Каримова Е.В., Живаева Т.С., Лозовая Е.Н. Разработка методов диагностики вируса метелчатости верхушки картофеля и вируса желтой карликовости картофеля в Российской Федерации // Современные подходы и методы в защите растений: Материалы II Международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 16–18 ноября 2020 г. Екатеринбург: ООО «Издательство АМБ», 2020. С. 118–119.
5. Bastidas N.G., Sánchez P.G., Montoya M.M. Detection and quantification of Potato mop-top virus (PMTV) in Colombia using qRT-PCR // Acta Agronomica. 2013. Vol. 62 (2). P. 120–128.
6. Calvert E.L., Harrison B.D. Potato Mop-Top, a soil-borne virus // Plant Pathology. 1966. Vol. 15 (3). P. 134–139.
7. EPPO (1999). EPPO Standard PM 4/28 (1). Seed potatoes. Certification schemes // EPPO Bulletin. Vol. 29. P. 253–267.
8. Jones R.A.C., Harrison B.D. Ecological studies on Potato Mop-Top Virus in Scotland // Annals of Applied Biology. 1972. Vol. 72. P. 47–57.
9. Kirk H.G. Mop-top Virus, Relationship to Its Vector // American Journal of Potato Research. 2008. Vol. 85 (4). P. 261–265.
10. Malko A., Frantsuzov P., Nikitin M., Statsyuk N., Dzhavakhiya V., Golikov A. Potato Pathogens in Russia's Regions: An Instrumental Survey with the Use of Real-Time PCR/RT-PCR in Matrix Format // Pathogens. 2019. Vol. 8. № 1. 18 p.
11. Mumford R.A., Walsh K., Barker I., Boonham N. Detection of Potato mop top virus and Tobacco rattle virus Using a Multiplex Real-Time Fluorescent Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Assay // Phytopathology. 2000. Vol. 90 (5). P. 448–453.
12. Sandgren M., Plaisted R.L., Watanabe K.N., Olsson S., Valkonen J.P.T. Evaluation of some North and South American potato breeding lines for resistance to

Federation [Razrabotka metodov diagnostiki amerikanskikh virusov kartofelya, sozdayushchikh opasnost dlya kartofelevodstva Rossiyskoy Federatsii] // Actual problems of potato growing: fundamental and applied aspects: Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference with international participation, Tomsk, April 10–13, 2018. Tomsk: National Research Tomsk State University, 2018; 232–234. (In Russ.)

2. Shneyder Yu.A., Karimova E.V., Prikhodko Yu.N., Lozovaya E.N., Zhivaeva T.S. Tomato viruses, especially dangerous for vegetable growing of Russia [Virusy tomata, osobo opasnyye dlya ovoshchevodstva Rossii] // Potatoes and vegetables. 2021; 6: 3–8. (In Russ.)

3. *Candidatus Liberibacter solanacearum* – a dangerous pathogen causing zebra chip disease of potato [*Candidatus Liberibacter solanacearum* – opasnyy patogen, vyzyvayushchiy polosatost chipsov kartofelya] / Shneyder Yu.A., Karimova E.V., Prikhodko Yu.N., Smirnova I.P., Sherokolava N.A., Mazurin E.S., Abasov M.M., Magomedov R.K., Orskhanov B.G., Astarkhanova T.S. // Plant Protection and Quarantine. 2017; 9: 39–41. (In Russ.)

4. Shneyder Yu.A., Prikhodko Yu.N., Karimova E.V., Zhivaeva T.S., Lozovaya E.N. Development of diagnostic methods for potato mop-top virus and potato yellow dwarf virus in Russia [Razrabotka metodov diagnostiki virusa metelchatosti verkhushki kartofelya i virusa zheltoy karlikovosti kartofelya v Rossiyskoy Federatsii] // Modern approaches and methods in plant protection: Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference, Yekaterinburg, November 16–18, 2020. Yekaterinburg: AMB Publishing House LLC, 2020; 118–119. (In Russ.)

5. Bastidas N.G., Sánchez P.G., Montoya M.M. Detection and quantification of Potato mop-top virus (PMTV) in Colombia using qRT-PCR // Acta Agronomica. 2013; 62 (2): 120–128.

6. Calvert E.L., Harrison B.D. Potato Mop-Top, a soil-borne virus // Plant Pathology. 1966; 15 (3): 134–139.

7. EPPO (1999). EPPO Standard PM 4/28 (1). Seed potatoes. Certification schemes // EPPO Bulletin. Vol. 29. P. 253–267.

8. Jones R.A.C., Harrison B.D. Ecological studies on Potato Mop-Top Virus in Scotland // Annals of Applied Biology. 1972; 72: 47–57.

9. Kirk H.G. Mop-top Virus, Relationship to Its Vector // American Journal of Potato Research. 2008; 85 (4): 261–265.

10. Malko A., Frantsuzov P., Nikitin M., Statsyuk N., Dzhavakhiya V., Golikov A. Potato Pathogens in Russia's Regions: An Instrumental Survey with the Use of Real-Time PCR/RT-PCR in Matrix Format // Pathogens. 2019. Vol. 8. № 1. 18 p.

11. Mumford R.A., Walsh K., Barker I., Boonham N. Detection of Potato mop top virus and Tobacco rattle virus Using a Multiplex Real-Time Fluorescent Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Assay // Phytopathology. 2000; 90 (5): 448–453.

12. Sandgren M., Plaisted R.L., Watanabe K.N., Olsson S., Valkonen J.P.T. Evaluation of some North and South American potato breeding lines for resistance to

Potato mop-top virus in Sweden // American Journal of Potato Research. 2002. Vol. 79. P. 205–210.

13. Santala J., Samuilova O., Hannukkala A., Latvala S., Kortemaa H., Beuch U., Kvarnheden A., Persson P., Topp K., Ørstad K., Spetz C., Nielsen S.L., Kirk H.G., Budziszewska M., Wiczorek P., Obrępańska-Stęplowska A., Pospieszny H., Kryszczuk A., Sztangret-Wisniewska J., Yin Z., Chrzanowska M., Zimnoch-Guzowska E., Jackeviciene E., Taluntytė L., Pūpola N., Mihailova J., Lielmane I., Järvekūlg L., Kotkas K., Rogozina E., Sozonov A., Tikhonovich I., Horn P., Broer I., Kuusiene S., Stanilius J., Uth J.G., Adam G., Valkonen J.P.T. Detection, distribution and control of Potato mop-top virus, a soil-borne virus, in northern Europe // Annals of Applied Biology. 2010. Vol. 157 (2). P. 163–178. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00423.x>.

14. Shneyder Y., Karimova E., Bashkirova I., Zhivaeva T., Pruchkina M., Prikhodko Y. Development and testing of diagnostic methods for Potato mop-top virus and other potato viruses // Acta Horticulturae, 2023 (в печати). URL: <https://elibrary.ru/contents.asp?id=51651869>.

15. Shneyder Y., Prikhodko Y., Karimova E., Zhivaeva T., Lozovaya E. Development of diagnostic methods for potato mop-top virus and potato yellow dwarf virus in Russia // AIP Conference Proceedings: 4th International Conference on Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials, MOSM 2020, Yekaterinburg, 2020. American Institute of Physics Inc.: American Institute of Physics Inc., 2021. Vol. 2388, Issue 1. P. 020027. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0069283>.

16. CAB International. *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/51088> (дата обращения: 12.05 2023).

17. EPPO Global Database. Potato mop-top virus (PMTV00) [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PMTV00> (дата обращения: 12.05 2023).

18. FAOSTAT. Value of Agricultural Production [Электронный ресурс]. URL: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV> (дата обращения: 12.05 2023).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Пручкина Мария Александровна, аспирант, агроном отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; e-mail: anadiamena@gmail.com.

Шнейдер Юрий Андреевич, кандидат биологических наук, начальник научно-методического и экспериментального центра, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7565-1241, e-mail: yury.shneyder@mail.ru.

Живаева Татьяна Степановна, научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru.

Potato mop-top virus in Sweden // American Journal of Potato Research. 2002; 79: 205–210.

13. Santala J., Samuilova O., Hannukkala A., Latvala S., Kortemaa H., Beuch U., Kvarnheden A., Persson P., Topp K., Ørstad K., Spetz C., Nielsen S.L., Kirk H.G., Budziszewska M., Wiczorek P., Obrępańska-Stęplowska A., Pospieszny H., Kryszczuk A., Sztangret-Wisniewska J., Yin Z., Chrzanowska M., Zimnoch-Guzowska E., Jackeviciene E., Taluntytė L., Pūpola N., Mihailova J., Lielmane I., Järvekūlg L., Kotkas K., Rogozina E., Sozonov A., Tikhonovich I., Horn P., Broer I., Kuusiene S., Stanilius J., Uth J.G., Adam G., Valkonen J.P.T. Detection, distribution and control of Potato mop-top virus, a soil-borne virus, in northern Europe // Annals of Applied Biology. 2010. Vol. 157 (2). P. 163–178. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00423.x>.

14. Shneyder Y., Karimova E., Bashkirova I., Zhivaeva T., Pruchkina M., Prikhodko Y. Development and testing of diagnostic methods for Potato mop-top virus and other potato viruses // Acta Horticulturae, 2023 (in press). URL: <https://elibrary.ru/contents.asp?id=51651869>.

15. Shneyder Y., Prikhodko Y., Karimova E., Zhivaeva T., Lozovaya E. Development of diagnostic methods for potato mop-top virus and potato yellow dwarf virus in Russia // AIP Conference Proceedings: 4th International Conference on Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials, MOSM 2020, Yekaterinburg, 2020. American Institute of Physics Inc.: American Institute of Physics Inc., 2021. Vol. 2388, Issue 1. P. 020027. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0069283>.

16. CAB International. *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/51088> (last accessed: 12.05 2023).

17. EPPO Global Database. Potato mop-top virus (PMTV00) [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PMTV00> (last accessed: 12.05 2023).

18. FAOSTAT. Value of Agricultural Production [Electronic resource]. URL: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV> (last accessed: 12.05 2023).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria Pruchkina, PhD student, Agronomist of Phytosanitary Risks and International Cooperation Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; e-mail: anadiamena@gmail.com.

Yuri Shneyder, PhD in Biology, Head of Research and Methodology and Experimental Center, Leading Researcher, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7565-1241, e-mail: yury.shneyder@mail.ru.

Tatiana Zhivaeva, Researcher, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru.