

КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ ТЕРМОТЕРАПИИ, ВЛИЯЮЩИЕ НА УСПЕХ ОЗДОРОВЛЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОТ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Папихин Роман Валериевич¹

кандидат с.-х. наук, доцент

Муратова Светлана Александровна²

кандидат биол. наук, доцент

Дубровский Максим Леонидович³

кандидат с.-х. наук, доцент

Никонов Кирилл Геннадьевич⁴

аспирант

Комарова Елена Викторовна⁵

аспирант

Мичуринский государственный аграрный университет,
Мичуринск, Российская Федерация

Аннотация. В статье описана проблема заражения вирусной инфекцией сельскохозяйственных культур. Рассмотрены ключевые факторы термотерапии, влияющие на успех оздоровления растений от вирусной инфекции в условиях *in vitro*. В публикации приводятся сведения о современных способах оздоровления растений с помощью термотерапии в культуре ткани.

Ключевые слова: садовые культуры, культура *in vitro*, вирусная инфекция, термотерапия.

¹Папихин Р.В. parom10@mail.ru

²Муратова С.А., smuratova@yandex.ru

³Дубровский М.Л., element68@mail.ru

⁴Никонов К.Г., parom10@mail.ru

⁵Комарова Е.В., grigorieva-elena1615@yandex.ru

Борьба с грибными, бактериальными и вирусными заболеваниями растений имеет жизненно важное значение и относится к большинству отраслей земледелия, таким как садоводство, овощеводство, виноградарство, лесное хозяйство и др. [3, 9]

Хорошо известно, что вирусные и виroidные заболевания у разных культур вызывают огромные потери количества и качества продукции [2, 7]. Из-за серьезного ущерба, которые они наносят сельскому хозяйству, вирусные болезни приобрели большое значение в области патологии растений и требуют эффективных мер защиты против них. Эти заболевания не поддаются контролю прямыми методами. В отличие от фунгицидов и бактерицидов, нет разработанных коммерческих эффективных противовирусных препаратов для масштабного применения в производстве. Однако был разработан ряд косвенных мер контроля вирусных патогенов различных культур, подходящих для различных агроэкосистем, с целью избежать негативного действия возбудителя или минимизировать его воздействию на урожайность.

Особенно важно проводить тестирование и выявлять инфекцию у новых современных гибридов и сортов, которые благодаря наличию наилучших хозяйственно-биологических признаков в перспективе должны заменить устаревшие промышленные сорта растений [5, 8, 12].

Применение современных методик введения в культуру ткани, а именно, использование высокоэффективных химических стерилизаторов и физических факторов обеззараживания, а также применение оригинальных способов регенерации [17], микроразмножения, укоренения с добавлением в питательную среду инновационных регуляторов роста [4, 6], способных подавлять грибную, бактериальную и вирусную инфекцию, позволит, в конечном счете, значительно расширить сортимент и производство оздоровленного посадочного материала.

При термотерапии термолабильных вирусов иногда удается излечить растение целиком. Однако чаще от вирусов освобождаются только верхушки

побегов, отросшие во время термотерапии. Этот прием с успехом используется в сочетании с культурой меристемы для получения безвирусного посадочного материала плодовых и цветочно-декоративных культур. Для объяснения механизма освобождения растений от вирусов в процессе термотерапии существуют различные гипотезы. Согласно одной из них высокие температуры воздействуют непосредственно на вирусные частицы через их рибонуклеиновую кислоту и белковую оболочку, вызывая физическое разрушение и лишая вирусные частицы инфекционности. Вторая гипотеза состоит в том, что высокая температура действует на вирусы через метаболизм растений [1]. Под влиянием высоких температур нарушается равновесие между синтезом и деградацией вирусов. Если преобладает синтез, то концентрация вируса в зараженных тканях растет, и наоборот.

Термообработка горячей водой одревесневших черенков смородины проводят при температуре +42...+46°C, земляники при +48°C в течение 15 мин. для обеззараживания от почкового и земляничного клещей, стеблевой и земляничной нематод. Как следует из литературных данных, это способ далеко не всегда эффективен.

Для освобождения от вирусных и микоплазменных заболеваний применяют суховоздушную термотерапию – воздушное прогревание растений при температуре +37...+38°C и влажности воздуха 85-90% в течение 4-5 недель. Метод термотерапии основан на подавлении репродукции вирусов или предотвращении продвижения вирусных частиц во вновь отрастающие части растений с помощью высокой температуры.

Поскольку эти заболевания обычно вызывают системную инфекцию и имеют очень эффективные методы передачи, предотвратить их распространение является серьезной проблемой. Некоторые заболевания, такие как вирус табачной мозаики (TMV), картофельный вирус X (PVX), вирус мозаичной зеленой крапчатости огурца (CGMMV), вириод экзокортиса цитрусовых (CEVd) и вириод веретеновидности клубней картофеля (PSTVd) являются очень заразными и влияют на большое количество хозяйств,

принадлежащих к нескольким родам и видам.

Известно, что при термотерапии растений, культивируемых *in vitro*, высокая температура и её длительность воздействия вызывают стресс у растений, и он усиливается по мере увеличения обоих этих показателей [19].

В связи с этим снижается уровень выживаемости обработанных побегов и меристем, выделенных из растительного материала, а также их регенеративная способность и эффективность микроразмножения. Однако повышенные температуры и продолжительность терапии приводит к элиминации вирусов [21].

Г. Ху коллегами [14] применил комбинирование химиотерапии с термотерапией для уничтожения вируса у яблони. Исследователями было установлено, что после повышения температуры с 34°C до 38°C выживаемость обработанных *in vitro* побегов и апикальных меристем, выделенных из обработанных побегов, уменьшились со 100% до 40% и с 70% до 8% соответственно. Химиотерапия яблони с последующей термотерапией при 36°C позволяет получать больше растений без ACLSV, ASPV и ASGV, чем при 34°C.

Аналогичные результаты неоднократно получены при сочетании химиотерапии с термотерапией на картофеле, чесноке и лилии; после термотерапии и культуры меристем – у чеснока, хрена, маниоки, нектарина, сливы и груши; при комбинации термотерапии с криотерапией – у побегов малины и яблони, а также после термотерапии путем микропрививки у цитрусовых [20].

В работе над сочетанием термотерапии с культурой меристем для оздоровления груши, Р. Тан с коллегами [18] обнаружили, что частота выживаемости, длина побегов и эффективность их пролиферации *in vitro* уменьшилась, в то время как возросла доля микрорастений без вирусов ACLSV и ASPV, поскольку длительность термотерапии увеличилась с 10 до 50 дней. Отрицательные эффекты длительной продолжительности термотерапии *in vitro* побегов и апикальных меристем, выделенных из

обработанных побегов, часто встречаются у древесных культур, таких как абрикос, персик, вишня, груша, слива, а также у некоторых других растений, например, черная малина и картофель [20].

Увеличение длительности термотерапии приводит также к изменению частоты встречаемости в разных комбинациях вирусов и хозяев. Данный эффект отмечен у ряда плодовых и ягодных культур: абрикоса, инфицированного вирусом хлоротической пятнистости листьев яблони ACLSV; персика, инфицированного PNRSV и ACLSV; вишни инфицированной вирусом сливы (PDV) и ACLSV [13]; малины, инфицированной RBDV; груши, инфицированной ACLSV, ASPV, ASGV, ACLSV, ASGV и яблони, инфицированной ASGV [15, 20].

Культура зараженных вирусом *in vitro* побегов, содержащая 10^{-5} мкл салициловой кислоты (SA), в течении 4 недель увеличила выживаемость термически обработанных побегов (42°C , 30 дней) с 58% до 64%, и среди семи генотипов картофеля частота растений без PVX варьировала от 75% до 98% [11, 15]. Аналогичные результаты были также получены и М. Агуилар-Камачо с коллегами [10], которые применили методы, основанные на термотерапии для уничтожения вируса в побегах картофеля *in vitro*. Обработка SA снижала каталазную активность и увеличивала уровень перекиси водорода (H_2O_2) в побегах картофеля *in vitro*, тем самым повышая их толерантность к термотерапии [10]. SA вызвала защиту растений от вирусной инфекции и повышала эффективность при уничтожении вируса [16], т.к. SA имела двойной положительный эффект при термотерапии для ликвидации вируса и повышению устойчивости растений к этой стрессовой нагрузке, т.е. в подобных случаях реализуется SA-опосредованная биотическая и абиотическая стресс-сигнализация у растений.

Таким образом, термотерапия растений в сочетании с клональным микроразмножением дает возможность в 1,5-2 раза ускорить процесс обеззараживания и получать растения, свободные от термостойких вирусов. Развившиеся в период термотерапии побеги наиболее эффективно

использовать для клонального микроразмножения с целью дальнейшего тиражирования оздоровленных микрорастений.

Список литературы

1. Журавлев Ю.Н. Фитовирусы в целом растений и модельных системах. – М.: Наука, 1979. - 246 с.
2. Засухо-и жароустойчивость сортов семечковых плодовых культур / Н.И. Савельев, А.Н. Юшков, В.В. Чивилев, Н.Н. Савельева // В сборнике: Совершенствование сортимента плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда в современных условиях хозяйствования : материалы международной научно - практической конференции. - 2007. - С. 27-32.
3. Инсектициды против яблонной плодовой жорки / Н.Я. Каширская, А.М. Каширская, Ю.А. Медведева, Т.В. Раскатова // Защита и карантин растений. - 2012. - № 5. - С. 26.
4. Муратова С.А. Влияние различных углеводов на регенерацию, размножение и рост растений *in vitro* / С.А. Муратова, М.Б. Янковская, Р.В. Папихин // Плодоводство и ягодоводство России. – М., 2012. – Том XXXI, № 2. – С. 86-94.
5. Папихин Р.В. Устойчивость клоновых подвоев яблони к парше на естественном инфекционном фоне / Р.В. Папихин, М.В. Маслова // Плодоводство и виноградарство Юга России. - 2016. - № 42 (06). - С. 13-22.
6. Патент на изобретение RU 2679077 С1. Российская Федерация. Способ повышения эффективности ризогенеза растений *in vitro* с помощью кофеина: № 2017135007: заявл. 05.10.2017: опубл. 05.02.2019. / Р.В. Папихин, С.А. Муратова
7. Ресурсосберегающая технология переработки яблок / О.В. Перфилова, В.А. Бабушкин, В.В. Ананских и др. // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК - продукты здорового питания. - 2017. - № 6 (20). - С. 21-28.

8. Соломатин Н.М. Новые слаборослые клоновые подвои яблони / Н.М. Соломатин, Р.В. Папихин, Л.В. Григорьева, И.М. Зуева, Д.Ю. Честных, Н.Л. Чурикова Л.В. Скороходова // Вестник МичГАУ. - 2012.- № 1. - Ч. 1. - С. 58-61.

9. Состояние и продуктивность насаждений яблони и груши после суровой зимы 2005-2006 годов / А.Н. Юшков, В.В. Чивилев, Н.И. Савельев, А.С. Земисов, Н.Н. Савельева // В сборнике: Современные проблемы и перспективы отечественного садоводства : материалы Межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Е. С. Черненко. - 2009. - С. 183-188.

10. Aguilar-Camacho M. Potato virus X (PVX) elimination as short and long term effects of hydrogen peroxide and salicylic acid is differentially mediated by oxidative stress in synergism with thermotherapy / M. Aguilar-Camacho, M.E. Mora-Herrera, H.A. Lypez-Delgado // Am. J. Potato Res. 2016. V. 93. P. 360–367.

11. Carvalho M.S. Cleaning cassava genotypes infected with cassava frog skin disease via *in vitro* shoot tip culture / M.S. Carvalho, E.J. Oliveira, A.S. Souza, J.S. Pereira, M. Diamantino, S. Oliveira // Genet Mol Res. 2017. <https://doi.org/10.4238/gmr16029556>.

12. Dubrovsky M.L., Papikhin R.V. Analysis of the karyotype of the Russian apple tree clonal rootstocks bred at the Michurinsk State Agrarian University / M.L. Dubrovsky, R.V. Papikhin // Revista Amazonia Investiga, 2019. Vol. 8 Núm. 21. P. 688-698.

13. Gella R., Errea P. Application of *in vitro* therapy for ilar virus elimination in three *Prunus* species / R. Gella, P. Errea // J Phytopathol. 1998. V. 146. P. 445–449.

14. Hu G.J. Efficiency of virus elimination from potted apple plants by thermotherapy coupled with shoot-tip grafting / G.J. Hu, Z.P. Zhang, Y.F. Dong, X.D. Fan, F. Ren, H.J. Zhu // Australas Plant Pathol. 2015. V. 44. P. 167–173.

15. Li B.Q. Shoot tip culture and cryopreservation for eradication of Apple

stem pitting virus (ASPV) and Apple stem grooving virus (ASGV) from apple rootstocks 'M9' and 'M26' / B.Q. Li, C.H. Feng, L.Y. Hu, M.R. Wang, Q.C. Wang // *Ann Appl Biol.* 2016. V. 168. P. 142–150.

16. Lypez-Delgado H., Mora-Herrera M.E., Zavaleta-Mancera H.A., Cadena-Hinojosa M., Scott I.M. Salicylic acid enhances heat tolerance and potatovirus X (PVX) elimination during thermotherapy of potato microplants / H. Lypez-Delgado, M.E. Mora-Herrera, H.A. Zavaleta-Mancera, M. Cadena-Hinojosa, I.M. Scott // *Am. J. Potato Res.* 2004. V. 81. P. 171–176.

17. Muratova S.A., Papikhin R.V. The Effect of Ultrasound Irradiation on Induction of Callus Formation and Morphogenesis from the Leaf Discs of Apple Clonal Rootstocks / S.A. Muratova, R.V. Papikhin // *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol. 10(10), 2018, 2592-2596.

18. Tan R.R. Enhanced efficiency of virus eradication following thermotherapy of shoot-tip cultures of pear / R.R. Tan, L.P. Wang, N. Hong, G.P. Wang // *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 2010. V. 101. P. 229–235.

19. Wahid A. Heat tolerance in plants: an overview / A. Wahid, S. Gelani, M. Ashraf, M.R. Foolad // *Environ Exp Bot.* 2007. V. 61. P. 199–223.

20. Wang M.R. *In vitro* thermotherapy based methods for plant virus eradication / M.R. Wang, Z.H. Cui, W. Li J, X.Y. Hao, L. Zhao, Q.C. Wang // *Plant Methods.* 2018. V. 14. P. 87.

21. Zhao L. Combining thermotherapy with cryotherapy for efficient eradication of *Apple stem grooving virus* (ASGV) from infected apple in vitro shoots / L. Zhao, M.R. Wang, Z.H. Cui, L. Chen, Q.C. Wang // *Plant Dis.* 2018. V. 102. P.1574–1580.

KEY FACTORS OF THERMOTHERAPY THAT AFFECT THE SUCCESS OF PLANT HEALING FROM VIRAL INFECTIONS

Papikhin Roman Valeriyevich¹

Candidate of agricultural sciences, associate Professor

Michurinsk State University, Michurinsk, Russia

Muratova Svetlana Aleksandrovna²

Candidate of biological sciences, associate Professor

Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia

Dubrovsky Maxim Leonidovich³

Candidate of agricultural sciences, associate Professor

Michurinsk State University, Michurinsk, Russia

Nikonov Kirill Gennadievich⁴

post graduate study

Michurinsk State University, Michurinsk, Russia

Komarova Elena Viktorovna⁵

post graduate study

Michurinsk State University, Michurinsk, Russia

Annotation. The article describes the problem of infection of a viral infection of crops. The key factors of thermotherapy affecting the success of plant healing from viral infection in vitro are considered. The publication provides information on modern methods of healing plants using thermotherapy in tissue culture.

Key words: garden crops, in vitro culture, viral infection, thermotherapy.

¹Papikhin R.V., parom10@mail.ru

²Muratova S.A., smuratova@yandex.ru

³Dubrovsky M.L., element68@mail.ru

⁴Nikonov K.G., parom10@mail.ru

⁵Komarova E.V., grigorieva-elena1615@yandex.ru