

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5>ИЗУЧЕНИЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭЛИСИТОРНОГО БЕЛКА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ PSEUDOMONAS
FLUORESCENS ВКПМ В-1138 ПРОТИВ ВИРУСНЫХ ПАТОГЕНОВ

Научная статья

Карташов М.И.^{1,*}, Глаголева Е.В.², Джавахия В.В.³¹ ORCID : 0000-0001-6766-8409;² ORCID : 0000-0002-3894-0255;³ ORCID : 0000-0002-5161-5051;¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Одинцово, Российская Федерация^{2,3} Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (maki505[at]mail.ru)

Аннотация

В последнее время одним из перспективных направлений биоконтроля является использование стратегии, основанной на активации естественных защитных механизмов растений при помощи так называемых элиситорных белков. К настоящему времени известны элиситоры, выделенные из патогенных или не патогенных для растений микроорганизмов и представленные олигосахаридами, гликопротеинами, пептидами и белками. Цель работы состояла в выделении элиситорного белка из биомассы *P. fluorescens* ВКПМ В-1138 и начальной оценке ее противовирусной активности по отношению к PVX и PVY на фоне естественного заражения клубней картофеля в условиях поля. Для выделения элиситорного белка штамм *P. fluorescens* ВКПМ В-1138 выращивали глубинным способом в ферментационной установке объемом 100 л. Первоначальная оценка против вируса табачной мозаики (ВТМ) на листьях табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта *Xanthi* показала, что при обработке листьев раствором элиситорного белка в концентрациях 25,0 и 50,0 мг/л происходило практически полное 99-100% подавление ВТМ. При уменьшении концентрации белка в 20 раз с 50 до 2,5 мкг/мл степень защиты снизилась до 90%. Полевые испытания биологической активности элиситорного белка *P. fluorescens* проводили в 2022 г в Плавском районе Тульской области. Установлено, что при обработке клубней и вегетирующих растений раствором элиситорного белка снижается распространение PVY в листьях на 34,6%, в клубнях на 10%. Проведенный анализ опытных и контрольных образцов не выявил наличие вируса PVX. Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что применение элиситорного белка *P. fluorescens* способно ограничивать распространение PVY в условиях поля. Тем не менее полученных данных недостаточно для того, чтобы сделать однозначный вывод об эффективности элиситорного белка. Поэтому в дальнейшем предполагается расширенное изучение противовирусной активности в нескольких климатических зонах.

Ключевые слова: биометоды защиты картофеля, элиситорные белки, *Pseudomonas fluorescens*, вирусы картофеля X и Y.

A STUDY OF THE PROTECTIVE EFFECT OF ELICITOR PROTEIN ISOLATED FROM PSEUDOMONAS
FLUORESCENS VKPM B-1138 AGAINST VIRAL PATHOGENS

Research article

Kartashov M.I.^{1,*}, Glagoleva Y.V.², Dzhavakhiya V.V.³¹ ORCID : 0000-0001-6766-8409;² ORCID : 0000-0002-3894-0255;³ ORCID : 0000-0002-5161-5051;¹ All-Russian Research Institute of Phytopathology, Odintsovo, Russian Federation^{2,3} Fundamentals of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (maki505[at]mail.ru)

Abstract

Currently, one of the promising directions of biocontrol is the use of a strategy based on the activation of natural defence mechanisms of plants with the help of so-called elicitor proteins. At present, elicitors isolated from plant pathogenic or non-pathogenic microorganisms and represented by oligosaccharides, glycoproteins, peptides and proteins are known. The aim of the work was to isolate the elicitor protein from the biomass of *P. fluorescens* VKPM B-1138 and to initially evaluate its antiviral activity against PVX and PVY against the background of natural infection of potato tubers under field conditions. To isolate the elicitor protein, *P. fluorescens* strain VKPM B-1138 was grown in depth in a 100 litre fermentation unit. Initial evaluation against tobacco mosaic virus (TMV) on leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cultivar *Xanthi* showed that treatment of leaves with elicitor protein solution at concentrations of 25.0 and 50.0 mg/L resulted in almost complete 99-100% suppression of TMV. When the protein concentration was reduced 20-fold from 50 to 2.5 µg/ml, the degree of protection decreased to 90%. Field tests of biological activity of elicitor protein of *P. fluorescens* were carried out in 2022 in Plavskiy district of Tula Oblast. It was established that treatment of tubers and vegetative plants with elicitor protein solution reduced the spread of PVY in leaves by 34.6% and in tubers by 10%. The analysis of experimental and control samples did not detect the presence of PVY virus. Thus, based on the data obtained, it can be assumed that the application of *P. fluorescens* elicitor protein is able to limit the spread of PVY in field conditions. Nevertheless, the data obtained are not sufficient to draw a

definite conclusion about the efficacy of the elicitor protein. Therefore, an extended study of antiviral activity in several climatic zones is expected in the future.

Keywords: biomethods of potato protection, elicitor proteins, *Pseudomonas fluorescens*, potato viruses X and Y.

Введение

Вирусные и виroidные болезни картофеля представляют особую опасность в связи с вегетативным размножением культуры, при котором инфекция передается через семенные клубни [1], [2]. Кроме того, они легко передаются от больных растений картофеля к здоровым контактным путем, а также при помощи переносчиков – насекомых, грибов, нематод [1], [3]. Некоторые фитовирусы, такие, как вирусы картофеля X и Y, моп-топ вирус, вирус скручивания листьев, а также вириод веретеновидности клубней, способны привести к значительным потерям урожая (до 80%) и существенному ухудшению товарных свойств картофеля [4]. Вследствие того, что в отношении ряда вирусов картофеля выполняется правило нулевой толерантности, их обнаружение в посадках или выращенных клубнях семенного картофеля приводит к выбраковке всей партии и значительному финансовому ущербу семеноводов [4]. Эффективных средств противовирусной обработки вегетирующих растений к настоящему моменту не существует; основной мерой борьбы с такими заболеваниями остается уничтожение переносчиков инфекции и тщательный контроль уровня зараженности семенного материала. Следует также отметить, что для разных патогенов этой группы характерны разные переносчики, требующие различных стратегий их контроля, что усложняет необходимые профилактические меры [1], [2].

В связи с чем чрезвычайно актуальным является поиск эффективных средств и методов защиты сельскохозяйственных культур от вирусных инфекции [5]. В последние годы одним из наиболее привлекательных направлений представляется стратегия, основанная на активации естественных защитных механизмов растений при помощи так называемых элиситорных белков, стимулирующих развитие у растений индуцированной устойчивости растений [6], [7], [8]. Уникальность и привлекательность таких индукторов устойчивости заключается в том, что защитный ответ является неспецифическим и не экспонируется конститутивно, а реализуется только после внедрения патогена. К достоинствам такого метода защиты можно отнести экологическую безопасность, пролонгированный системный ответ, а также минимизацию возможности развития резистентности у патогенов и безопасность сельскохозяйственных рабочих и потребителей сельхозпродукции. Выгодным практическим преимуществом использования биогенных элиситоров является их широкий спектр действия, т.е. индукция неспецифической устойчивости к целому ряду патогенов различной природы [8].

К настоящему времени исследован довольно широкий спектр элиситоров биогенного происхождения, таких как интактные споры бактерий, фрагменты клеточных стенок микроорганизмов, поли- и олигосахариды, гликопротеины, липиды, органические кислоты, а также белки и пептиды. Однако выведенные к настоящему времени на рынок коммерческие препараты этого класса разработаны главным образом на основе бактериальных культур (Агат-25К, Фитоспорин, Экстрасол, Алирин, Гамаир), хитозана (Хитозар, Нарциссус, Фитохит, Агрохим, Экогель) и органических кислот (Иммуноцитопит, Оберег, Новосил, Циркон, Янтарная кислота). В то же время следует отметить, что пептиды и белки являются важными компонентами иммунной системы растений, участвующими в развитии защитных ответов. Поскольку синтез антимикробных пептидов представляет собой один из наиболее общих защитных механизмов врожденного иммунитета живых организмов, возможность их использования с целью активации механизмов индуцированной устойчивости к фитопатогенам представляется достаточно перспективной. Одним из преимуществ использования белков и пептидов в качестве элиситоров может служить специфичность их действия, связанная с взаимодействием с клеточными рецепторами.

В последние годы был описан ряд белков и пептидов, проявляющих элиситорную активность (различные гликопротеины, флагеллин, фактор элонгации Tu, элиситины и трансглутаминазы видов *Phytophthora*, харпины и т.п.) [6], [7], [8]. Тем не менее вплоть до настоящего времени элиситоры белковой или пептидной природы практически не использовались для производства коммерческих препаратов для защиты растений, что может быть связано с высокой температурной чувствительностью большинства белков и пептидов и необходимостью решения проблемы сохранения активности белковых препаратов в процессе производства, транспортировки и хранения, а также после нанесения на растения.

Анализ данных литературы показал, что штаммы рода *Pseudomonas* продуцируют широкий спектр соединений (феназины, антибиотики пирролидинового ряда, беталактоны, производные индола, пептиды, гликолипиды, липиды и др.), обладающих антибиотической активностью и способных индуцировать иммунные реакции в растительном организме (SAR или ISR) [9], [10], [11]. В связи с чем препараты на основе вторичных метаболитов *Pseudomonas* spp. могут быть использованы в сельском хозяйстве в качестве эффективных и безопасных агентов биоконтроля.

Учитывая вышесказанное, цель работы состояла в выделении элиситорного белка из биомассы *P. fluorescens* ВКПМ В-1138и начальной оценке ее противовирусной активности по отношению к PVX и PVY на фоне естественного поражения клубней картофеля в условиях поля.

Методы и принципы исследования

Объектом исследования являлся элиситорный белок *P. fluorescens*. Экспериментальная работа состояла из нескольких последовательных этапов. Сначала методом глубинного культивирования в ферментационной установке объемом 100 л была получена биомасса *P. fluorescens*. Затем из полученной биомассы выделяли элиситорный белок, активность которого оценивали по степени ингибирования ВТМ в опытах *in vivo*. Полевые испытания биологической активности элиситорного белка *P. fluorescens* против X- и Y-вируса картофеля (PVX и PVY) проводили в 2022 г на картофеле сорта Лабадия.

Наработку биомассы *P. fluorescens*, выделение, очистку элиситорного белка и оценку противовирусной активности проводили в ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва.

Штамм *P. fluorescens* ВКПМ В-1138 получен из рабочей коллекции ООО «Алтбиотех». Культуру поддерживали на агаризованной среде следующего состава (г/л): бакто-триптон – 10,0; дрожжевой экстракт – 5,0; хлористый натрий – 10,0; рН 7,0-7,2 при 4°C в течение месяца с последующим пересевом на свежую среду. Культуру хранили при температуре от (- 20°C) до (- 30°C) в виде 25%-ной глицериновой суспензии в течение 1 года.

Для получения посевного материала *P. fluorescence* использовали жидкую питательную среду следующего состава (г/л): сахара – 20,0; мясной пептон – 20,0; KH_2PO_4 – 2,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 1,0; рН – 7,0 - 7,2. Среду разливали в 500 мл колбы Эрленмейера по 100 мл среды и стерилизовали при 121°C в течение 30 мин. Затем, в колбы с охлажденной средой переносили биомассу *P. fluorescence*, полученную на агаризованной среде. Колбы помещали на качалочную установку «Иппова 44» при 250 об./мин (эксцентриситет 5 см) и выращивали в течение 24 ч при температуре (28±1)°C. Культивирование *P. fluorescence* вели в ферментационной установке объемом 15 л и рабочим объемом не более 10 л в среде аналогичного состава. Приготовление и стерилизацию питательной среды осуществляли непосредственно в ферментере. Сначала среду в аппарате нагревали до 100-110°C путем подачи в рубашку ферментера пара давлением 0.28-0.3 МПа. Затем повышали температуру нагрева среды до (121±1) °C. Продолжительность стерилизации – 1 ч. Перед засевом отбирали пробу среды для микробиологического и биохимического контроля. Засев ферментера со стерильной питательной средой, охлажденной до температуры (28 ± 1)°C, производили посевным материалом *P. fluorescence*, поступающим по посевной линии. Условия культивирования представлены в таблице 1. Через 20 - 24 ч отбирали пробу для контроля стерильности процесса. Полученный посевной материал, объемом 10 л, использовали для засева ферментационной установки объемом 100 л, содержащего 70 л питательной среды аналогичного состава. Культивирование *P. fluorescence* вели в аналогичных условиях (таблица 1).

Таблица 1 - Условия культивирования в ферментационной установке объемом 15 и 100 л

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.1>

Параметр	Значение
температура	(28 ± 1) °C;
аэрация	от 0 до 4 часов роста – 35 л/мин от 4 часов роста до конца ферментации – 70 л/мин;
рН среды	не корректируется;
перемешивание	от 100 до 350 об/мин. При снижении рО ₂ менее 50% от насыщения - увеличивают обороты мешалки;
продолжительность культивирования	20-24 часа

По окончании ферментации культуральную жидкость сливали в приемник и центрифугировали. Полученную биомассу суспендировали в равноценном объеме 0,05 М калий-фосфатного буфера рН 7.4 с добавлением 2 мМ ЭДТА (в виде двуназиевой соли). Суспензию нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут, охлаждали и центрифугировали при 10000 об./мин. К полученному супернатанту добавляли $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в количестве 40% и выдерживали в течение 12–16 ч при 4-8°C. Полученный осадок отделяли центрифугированием, промывали 0,05 М калий-фосфатном буфером рН 7.4 и вновь центрифугировали в аналогичных условиях. Полученную белковую фракцию лиофильно сушили. Подлинность элиситорного белка определяли, используя методы электрофореза в полиакриламидном геле.

После лиофилизации навеску белка растворяли в 500 мкл очищенной воды до получения концентрации 2 мг/мл в пересчете на элиситорный белок. Затем, аликвоту раствора объемом 20 мкл смешивали с 10 мкл загрузочного буфера и прогревали при 95°C в течение 5 минут. По окончании полимеризации удаляли гребенку и помещали гель в прибор для электрофореза с добавлением электродного буферного раствора. В соответствующие лунки концентрирующего геля вносили 10 мкл образца и 3 мкл маркера. Напряжение в концентрирующем геле – 90 вольт, в разделяющем – 150 вольт. При достижении фронта основания геля, электрофорез останавливали.

Гель извлекали из ячейки и опускали в большой избыток красящего раствора Кумасси, выдерживая его в течение 1 ч при температуре 50 °C на шейкере 50 об./мин. Предварительно проводили фиксирование геля в фиксирующем растворе в течение 1 ч перед погружением в окрашивающий Кумасси раствор. Обесцвечивали гель избытком обесцвечивающего раствора. Заменяли порции обесцвечивающего раствора несколько раз до тех пор, пока окрашенные полосы белка не стали ясно различимы на прозрачном фоне. После обесцвечивания гель промывали водой и либо высушивали, либо оставляли в воде для хранения при температуре от 2 до 8°C.

Для качественной оценки присутствия белка в препарате использовали предварительно окрашенный белковый маркер BlueRay, содержащий смесь белков с молекулярной массой от 11 до 180 кДа. Полоса на дорожке образца, соответствующая молекулярной массе 17-18 кДа, указывает на наличие элиситорного белка в препарате (рис. 1).

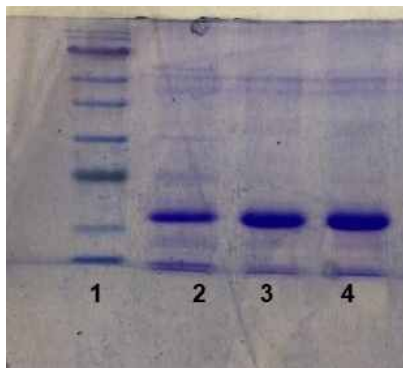


Рисунок 1 - Электрофорез образцов элиситорного белка *P. fluorescens*
DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.2>

Примечание: 1 – маркеры Blue Ray, 2 – концентрация белка 2 мг/л, 3 – 4 мг/л, 4 – 5 мг/л

Оценку противовирусной активности проводили на примере вируса табачной мозаики (ВТМ), вызывающего некрозы на листьях табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта *Xanthi*. Растения табака выращивали при 16-часовом световом дне и температуре 22 °С днем и 20 °С ночью. Для опытов использовали растения в фазе 3-4 настоящих листьев. В опыте использовали отделённые листья растений среднего яруса, так как реакция на вирус ВТМ может различаться в зависимости от яруса листьев. На правые половинки листьев наносили растворы белка-элиситора в концентрациях 2,5 – 5,0 – 10,0 – 25,0 – 50,0 мг/л, на их правые половинки наносили воду и аккуратно натерли листья карборундом. В контроле обе половинки других листьев обрабатывали аналогичным способом дистиллированной водой. Листья помещали во влажную камеру и инкубировали сутки при 22°С. Для заражения листьев использовали сок растения табака, инфицированного ВТМ, разбавленный в 10–20 тысяч раз дистиллированной водой. Предварительно подбирали концентрацию инокулюма так, чтобы при нанесении 60 мкл водной суспензии вируса на листе образовывалось от 100 до 200 некрозов. Для эффективного заражения листья натерлись суспензией вируса совместно с небольшим количеством карборунда. Инокулированные листья помещали во влажную камеру при 22°С и через 3-4 дня отдельно для каждой половины листа подсчитывали количество некрозов, образовавшихся в ответ на инокуляцию ВТМ. Для каждой исследуемой концентрации отбирали по 3 листа. Опыт по оценке защитной активности повторяли не менее 3 раз.

Степень защиты определяли по формуле:

$$A = \left(1 - \frac{N_o}{N_k}\right) \times 100\% \quad (1)$$

где

A – степень защиты, %

N_o – число некрозов на обработанной раствором элиситорного белка половине листа;

N_k – число некрозов на контрольной половине листа.

Полевые испытания эффективности элиситорного белка *P. fluorescence* проводили в Плавском районе Тульской области на фоне естественного заражения клубней картофеля Лабадия X- и Y-вирусами (PVX и PVY) в период 19.05.2022-12.10.2022. Площадь опытной делянки составляла около 50 м². Схема опыта включала следующие варианты: контроль (без обработки) и опыт (обработка препаратом элиситорного белка). Перед посадкой клубни обрабатывали раствором элиситорного белка (0,28 г препарата/кг клубней). Посадка производилась механизировано. Обработку по вегетации начинали в фазе появления 2–4 настоящих листьев и далее с интервалом 8-12 дней. Всего по вегетации провели 3 обработки. Концентрация элиситорного белка *P. fluorescence* в первом опрыскивании составила 5 г/50м², для двух последующих – 7,5 г/50м². Для обработки использовали ранцевый опрыскиватель «PALISAD». Урожай убирали вручную, путем выкопки клубней со всей площади делянки. Сбор образцов листьев осуществляли перед каждой обработкой. Количество листьев в 1 образце – 3 шт. Закладку опыта, наблюдения и сбор образцов проводили согласно ГОСТ 33996.

Исследования образцов на наличие/отсутствие PVX и PVY проводились в ООО ИЦ «ФитоИнженерия». Метод испытаний: полимеразная цепная реакция в режиме реального времени по ГОСТ 33996¹.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 («SoftStat», Inc., США). Определяли среднее стандартное отклонение и стандартную ошибку среднего арифметического. Различия между вариантами, согласно t-тесту, везде, где это не оговорено специально, достоверны при $p \geq 0,05$.

Основные результаты

В результате серии ферментаций был получен белок *P. fluorescens*, представляющий собой порошок светло бежевого цвета без постороннего запаха. Для оценки противовирусной активности элиситорного белка *P. fluorescens* использовали модель ВТМ-некрозообразующий сорт табака *Xanthi*. Данная модель удобна тем, что позволяет получить точную количественную оценку степени индуцируемой устойчивости путем прямого подсчета числа некрозов на листьях.

Результаты оценки противовирусной активности элиситорного белка *P. fluorescens* против ВТМ представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Влияние обработки листьев табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта Xanthi растворами элиситорного белка *P. fluorescens* на образование некрозов при заражении ВТМ

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.3>

Концентрация (мг/л)	Число некрозов на половинке листа		Степень защиты, %
	Контроль	Опыт	
50	83,6±1,1	0	100
25	75,6±10,8	0,66±0,4	99
10	69,7±10,8	2,6±1,7	96,2
5	65,5±13,1	3±1,8	95,4
2,5	62,6±13,1	6,3±1,5	90

Как следует из данных таблицы 2, при обработке листьев раствором элиситорного белка 25,0 и 50,0 мг/л происходило практически полное 99-100% подавление ВТМ (рис. 2). При снижении количества белка в растворе происходило незначительное уменьшение степени защиты. Так, например, при сокращении в 20 раз концентрации белка в растворе с 50 до 2,5 мг/л степень защиты снижалась всего на 10%.

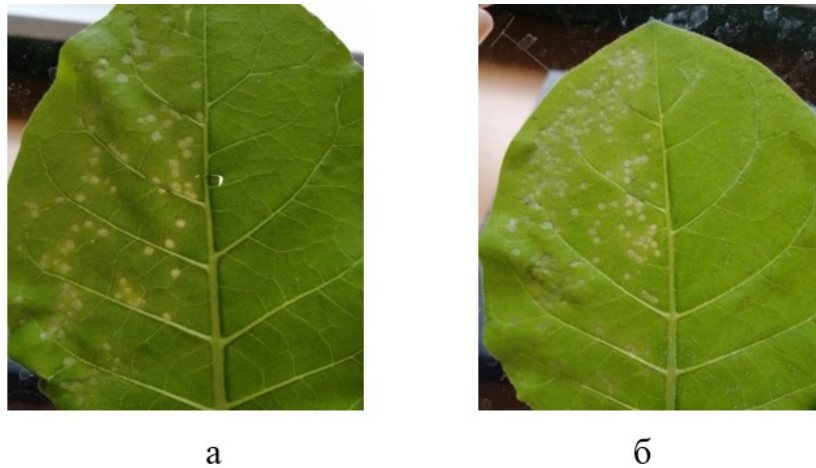


Рисунок 2 - Результаты обработки листьев табака элиситорным белком *P. fluorescens*

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.4>

Примечание: (а) с концентрацией белка 50 мг/л, (б) с концентрацией белка 25 мг/л

Полевые испытания элиситорного белка *P. fluorescens* против X- и Y-вируса картофеля проводили на опытных делянках в Плавском районе Тульской области на картофеле сорта Лабадия в 2022 г. Результаты анализа образцов листьев и клубней на наличие X- и Y-вирусов представлены в соответствующих таблицах 3 и 4.

Таблица 3 - Анализ образцов листьев картофеля сорта Лабадия на наличие пары вирусов методом ОТ-ПЦР

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.5>

Образец*	Объём образца, шт.	Количество образцов, шт.	Наличие вируса, %	
			PVY	PVX
Опыт 0	3	35	37,14	0
Контроль 0	3	35	31,43	0
Опыт 2	3	35	48,57	0
Контроль 2	3	35	74,29	0

Примечание: опыт 0 – отбор проб перед первой обработкой по вегетации; опыт 2 – отбор проб перед 3-й (заключительной) обработкой по вегетации

Таблица 4 - Анализ образцов клубней картофеля сорта Лабадия на наличие пары вирусов методом ОТ-ПЦР

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.6>

Образец	Объём образца, шт.	Количество проб, шт.	Наличие вируса, %	
			PVY	PVX
Опыт	50	50	72	0
Контроль	50	50	82	0

Согласно полученным данным, проведенные полевые испытания элиситорного белка *P. fluorescens* на картофеле сорта Лабадия показали, что обработка клубней и вегетирующих растений раствором элиситорного белка снижает распространение PVY в листьях на 34,6%, (таблица 3), а в клубнях на 10% (таблица 4). В то же время, анализ образцов показал отсутствие вируса PVX.

Заключение

На основании полученных данных, при обработке листьев табака раствором элиситорного белка в концентрациях 25,0 и 50,0 мг/л происходило практически полное 99-100% подавление распространения ВТМ. В полевых условиях при обработке картофеля применение элиситорного белка *P. fluorescens* ограничивало распространение PVY в листьях на 34,6%, в клубнях – на 10%. Тем не менее для выбора более точной дозировки и кратности обработок в дальнейшем предполагается изучение противовирусной активности белка в нескольких климатических зонах при обработке картофеля и других овощных культур.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Сообщество рецензентов Международного научно-исследовательского журнала
DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.7>

Conflict of Interest

None declared.

Review

International Research Journal Reviewers Community
DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.38.5.7>

Список литературы / References

1. Рогозина Е.В. Широко распространенные и потенциально опасные для Российского агропроизводства возбудители вирусных болезней картофеля / Е.В. Рогозина, Н.В., Мироненко, О.С. Афанасенко [и др.] // Вестник защиты растений. — 2016. — 4. — с. 24-33. [in Russian]
2. Молявко А.А. Приемы снижения вирусной инфекции на семенном картофеле / А.А. Молявко, А.В. Марухленко, Н.П. Борисова [и др.] // Вестник ФГОУ ВПО Брянская ГСХА. — 2021. — 87. — с. 15-22. — DOI:10.52691/2500-2651-2021-87-5-15-22
3. Молявко А.А. Мониторинг переносчиков вирусов картофеля / А.А. Молявко, С.В. Жевора, А.В. Марухленко [и др.] // Вестник ФГОУ ВПО Брянская ГСХА. — 2022. — 2(90). — с. 27-34. — DOI: 10.52691/2500-2651-2022-90-2-27-34.
4. Liu J. Strategies for Engineering Virus Resistance in Potato / J. Liu, J. Yue, H. Wang [et al.] // Plants (Basel). — 2023. — 9(12). — p. 1736. — DOI:10.3390/plants12091736.
5. Sorokan A. Endophytic Bacillus spp. as a Prospective Biological Tool for Control of Viral Diseases and Non-vector Leptinotarsa decemlineata Say. in Solanum tuberosum L. / A. Sorokan, E. Cherepanova, G. Burkhanova // Front Microbiol. — 2020. — 11. — p. 569457. — DOI:10.3389/fmicb.2020.569457.
6. Джавахия В.Г. Поиск активного центра пептидил-пролил-цис/транс-изомеразы из *Pseudomonas fluorescens*, ответственного за индукцию устойчивости к вирусу табачной мозаики у растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) / В.Г. Джавахия, Т.М. Воинова, Д.В. Шумилина // Сельхозбиология. — 2016. — 51(3). — с. 392-400. — DOI: 10.15389/agrobiology.2016.3.392rus.
7. Щербакова Л.А. Микробные белки и пептиды, представляющие интерес для разработки экологически безопасных технологий защиты растений от фитопатогенов / Л.А. Щербакова, В.Г. Джавахия // Известия Самарского научного центра РАН. — 2013. — 151(3-5). — 1705-1709.
8. Wiesel L. Molecular Effects of Resistance Elicitors from Biological Origin and Their Potential for Crop Protection / L. Wiesel, A. C. Newton, I. Elliott [et al.] // Front Plant Sci. — 2014. — 5. — p. 655. — DOI:10.3389/fpls.2014.00655
9. Martin-Rivilla H. Identifying the Compounds of the Metabolic Elicitors of *Pseudomonas fluorescens* N 21.4 Responsible for Their Ability to Induce Plant Resistance / H. Martin-Rivilla, F. J. Gutierrez-Mañero, A. P. Gradillas [et al.] // Plants. — 2020. — 9. — p. 1020. — DOI:10.3390/plants9081020
10. Choudhary D.K. Induced Systemic Resistance (ISR) in Plants: Mechanism of Action / D.K. Choudhary, A. Prakash, B.N. Johri // Indian J. Microbiol. — 2007. — 47: — p. 289-297. — DOI: 10.1007/s12088-007-0054-2.

11. Neidig N. Secondary Metabolites of *Pseudomonas Fluorescens* CHA0 Drive Complex Non-trophic Interactions with Bacterivorous Nematode / Neidig N., J.P. Rüdiger, S. Scheu // *Microb. Ecol.* — 2011. — 61. — p. 853-859. — DOI: 10.1007/s00248-011-9821-z.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Rogozina E.V. SHiroko rasprostranennye i potencial'no opasnye dlya Rossijskogo agroproizvodstva vozбудiteli virusnyh boleznej kartofelya [Widespread and Potentially Dangerous Pathogens of Potato Virus Disease for Russian Agricultural Production] / E.V. Rogozina, N.V., Mironenko, O.S. Afanasenko [et al.] // *Vestnik zashchity rastenij* [Bulletin of Plant Protection]. — 2016. — 4. — p. 24-33. [in Russian]
2. Molyavko A.A. Priemy snizheniya virusnoj infekcii na semennom kartofele [Techniques for Reducing Viral Infection on Seed Potatoes] / A.A. Molyavko, A.V. Maruhlenko, N.P. Borisova [et al.] // *Vestnik FGOU VPO Bryanskaya GSKHA* [Bulletin of Bryansk State Agricultural Academy]. — 2021. — 87. — p. 15-22. — DOI:10.52691/2500-2651-2021-87-5-15-22 [in Russian]
3. Molyavko A.A. Monitoring perenoschikov virusov kartofelya [Monitoring of Potato Virus Vectors] / A.A. Molyavko, S.V. Zhevora, A.V. Maruhlenko [et al.] // *Vestnik FGOU VPO Bryanskaya GSKHA* [Bulletin of Bryansk State Agricultural Academy]. — 2022. — 2(90). — p. 27-34. — DOI: 10.52691/2500-2651-2022-90-2-27-34 [in Russian].
4. Liu J. Strategies for Engineering Virus Resistance in Potato / J. Liu, J. Yue, H. Wang [et al.] // *Plants* (Basel). — 2023. — 9(12). — p. 1736. — DOI:10.3390/plants12091736.
5. Sorokan A. Endophytic *Bacillus* spp. as a Prospective Biological Tool for Control of Viral Diseases and Non-vector *Leptinotarsa decemlineata* Say. in *Solanum tuberosum* L. / A. Sorokan, E. Cherepanova, G. Burkhanova // *Front Microbiol.* — 2020. — 11. — p. 569457. — DOI:10.3389/fmicb.2020.569457.
6. Dzhavahiya V.G. Poisk aktivnogo centra peptidil-prolil-cis/trans-izomerazy iz *Pseudomonas fluorescens*, otvetstvennogo za indukciyu ustojchivosti k virusu tabachnoj mozaiki u rastenij tabaka (*Nicotiana tabacum* L.) [Active Center of Peptidyl-Prolyl-Cis / Trans-Isomerase from *Pseudomonas Fluorescence*, Open to Induce Resistance to Tobacco Mosaic Virus in Tobacco Plants (*Nicotiana tabacum* L.)] / V.G. Dzhavahiya, T.M. Voinova, D.V. SHumilina // *Sel'hozbiologiya* [Agricultural Biology]. — 2016. — 51(3). — p. 392-400. — DOI: 10.15389/agrobiol.2016.3.392rus [in Russian].
7. SHCHerbakova L.A. Mikrobnye belki i peptidy, predstavlyayushchie interes dlya razrabotki ekologicheski bezopasnyh tekhnologij zashchity rastenij ot fitopatogenov [Microbial Proteins and Peptides of Interest for the Development of Environmentally Friendly Technologies for Protecting Plants from Phytopathogens] / L.A. SHCHerbakova, V.G. Dzhavahiya // *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra RAN* [Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]. — 2013. — 151(3-5). — 1705-1709. [in Russian]
8. Wiesel L. Molecular Effects of Resistance Elicitors from Biological Origin and Their Potential for Crop Protection / L. Wiesel, A. C. Newton, I. Elliott [et al.] // *Front Plant Sci.* — 2014. — 5. — p. 655. — DOI:10.3389/fpls.2014.00655
9. Martin-Rivilla H. Identifying the Compounds of the Metabolic Elicitors of *Pseudomonas fluorescens* N 21.4 Responsible for Their Ability to Induce Plant Resistance / H. Martin-Rivilla, F. J. Gutierrez-Mañero, A. P. Gradillas [et al.] // *Plants*. — 2020. — 9. — p. 1020. — DOI:10.3390/plants9081020
10. Choudhary D.K. Induced Systemic Resistance (ISR) in Plants: Mechanism of Action / D.K. Choudhary, A. Prakash, B.N. Johri // *Indian J. Microbiol.* — 2007. — 47: — p. 289-297. — DOI: 10.1007/s12088-007-0054-2.
11. Neidig N. Secondary Metabolites of *Pseudomonas Fluorescens* CHA0 Drive Complex Non-trophic Interactions with Bacterivorous Nematode / Neidig N., J.P. Rüdiger, S. Scheu // *Microb. Ecol.* — 2011. — 61. — p. 853-859. — DOI: 10.1007/s00248-011-9821-z.