

ПОЛУЧЕНИЕ ОЗДОРОВЛЕННОГО КАРТОФЕЛЯ И ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В УСЛОВИЯХ ЭНГЕЛЬСКОГО РАЙОНА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

RECEIVING IMPROVED POTATOES AND DIAGNOSTICS OF VIRAL DISEASES UNDER THE CONDITIONS OF THE ENGELS AREA OF THE SARATOV REGION

Григорян М.А., Ткаченко О.В.

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова
410012, Россия, г. Саратов, Театральная пл., д. 1
E-mail: grigoryan.mika@yandex.ru

В Нижнем Поволжье важным негативным фактором при выращивании картофеля является инфекционная нагрузка, определяемая высокой численностью переносчиков вирусных заболеваний вследствие погодных-климатических особенностей региона. Целью исследования являлась фитосанитарная оценка состояния посадок картофеля при выращивании оздоровленного материала в условиях Саратовской области. Для достижения цели провели контроль содержания вирусов при выращивании оздоровленного картофеля в полевых условиях и изучение темпов повторного инфицирования вирусами картофеля при использовании в качестве посадочного материала товарного картофеля и оздоровленных семян. Материалом для изучения служили 4 сорта картофеля: Сильвана, Лабелла (семена категории элита), Ред Скарлетт, Невский (мини-клубни, полученные аэропным способом из микроклонов, оздоровленных методом вычленения апикальных меристем в биотехнологической лаборатории ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ). Оценка содержания вирусов в лабораторных и полевых образцах картофеля осуществлялась путем визуальной оценки растений, а также на основе выявления РНК вирусов методом ПЦР-РВ. Установлено, что примененный уровень химической обработки инсектицидами не обеспечил полной защиты посевов от переносчиков вирусных заболеваний. Основными переносчиками в данных условиях являлись большая картофельная тля и цикадки, способствовавшие заражению растений вирусами. Анализ растительных образцов методом ПЦР в реальном времени установил наличие скрытого инфицирования вирусами PVY и PVM. Для обеспечения производства качественного посадочного материала клубней картофеля в условиях Саратовской области необходим тщательный контроль содержания вирусов методами анализа нуклеиновых кислот, в том числе ПЦР в реальном времени.

Ключевые слова: картофель, оздоровленные микрорастения, мини-клубни, вирусные болезни, ПЦР в реальном времени.

Для цитирования: Григорян М.А., Ткаченко О.В. ПОЛУЧЕНИЕ ОЗДОРОВЛЕННОГО КАРТОФЕЛЯ И ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В УСЛОВИЯХ ЭНГЕЛЬСКОГО РАЙОНА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ. Аграрная наука. 2019; (3): 60–63.
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-60-63>

Вирусные болезни считаются наиболее опасными болезнями картофеля в связи с особенностями биологии и трудностью защиты от них растений. Симптомы вирусных заболеваний могут сильно варьировать в зависимости от сорта картофеля, штамма (или смеси) вирусов и условий выращивания. Даже в отсутствии признаков поражения может наблюдаться сильная потеря урожая. Наиболее опасными считаются семь вирусов (PLRV, Y, X, A, S, M, AMY) и вириод веретеновидности клубней PSTV, из них самые большие потери урожая вызывают четыре вируса: PLRV, Y, X и PSTV [1].

X-вирус (Potato virus X) часто не вызывает видимых симптомов, но снижение урожая при этом может до-

Grigoryan M.A., Tkachenko O.V.

Saratov State Agrarian University. N.I. Vavilov
410012, Russia, Saratov, Teatralnaya Square, 1

In the Lower Volga region, an important negative factor in the cultivation of potatoes is the infectious load, determined by the high number of carriers of viral diseases due to the climatic features of the region. The aim of the study was a phytosanitary assessment of the status of potato planting when growing a healthy material in the conditions of the Saratov region. To achieve the goal, the virus content was monitored when growing healthy potatoes in the field and the rates of re-infection with potato viruses were used when using commercial potato and healthy seeds as planting material. 4 varieties of potatoes served as materials for the study: Silvana, Labella (seeds of the elite category), Red Scarlett, Nevsky (mini-tubers obtained by the aeropon method from microclones, improved by isolating the apical meristems in the biotechnological laboratory of Saratov State Agrarian University). Evaluation of viruses in laboratory and field samples of potatoes was carried out by visual assessment of plants, as well as based on the detection of virus RNA by PCR-RV. It has been established that the applied level of chemical treatment with insecticides did not provide complete protection of crops against vectors of viral diseases. The main carriers in these conditions were large potato aphids and cicadas, which contributed to the infection of plants with viruses. Analysis of plant samples by real-time PCR revealed the presence of latent infection with PVY and PVM viruses. To ensure the production of high-quality planting material for potato tubers in the conditions of the Saratov region, careful control of the virus content using nucleic acid analysis methods, including real-time PCR, is necessary.

Key words: potato, improved micro plants, mini tubers, viral diseases, real-time PCR.

For citation: Grigoryan M.A., Tkachenko O.V. RECEIVING IMPROVED POTATOES AND DIAGNOSTICS OF VIRAL DISEASES UNDER THE CONDITIONS OF THE ENGELS AREA OF THE SARATOV REGION. Agrarian science. 2019; (2): 60–63. (In Russ.)
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-60-63>

стигать 15%. Y-вирус (Potato virus Y) считается главным вирусом картофеля из-за легкого распространения и снижения урожайности до 80%. Потери урожая колеблются в зависимости от сорта и штамма. В сочетании с другими вирусами он может вызывать серьезные заболевания, нередко уничтожающие урожай. При поражении S-вирусом (Potato virus S) урожайность снижается примерно на 10–15–20% в зависимости от сорта растения и штамма вируса. Зараженные растения картофеля дают урожай, но с преобладанием мелких клубней. Вирусы M и A (Potato virus M, Potato virus A) часто не проявляют симптомов при заражении картофеля и нередко не вызывают заметных снижений урожая. По-

тери урожая значительно увеличиваются при заражении растений совместно с другими вирусами. Растения, зараженные вирусом скручивания листьев (*Potato Leaf Roll Virus (PLRV)*), образуют более мелкие клубни. Вирус значительно влияет на их качество и количество. Урожайность снижается в зависимости от условий среды, сорта растения и штамма вируса. При заражении вириоидом веретеновидности (*Potato Spindle Tuber Viroid (PSTVd)*) урожайность клубней снижается на 20–55% по весу, наблюдается их деформация, из-за чего ухудшается качество (табл. 1) [2].

Применение современных биотехнологических приемов культивирования апикальных меристем, термо- и хемотерапии позволяют эффективно оздоровить от большинства инфекций посадочный материал вегетативно размножаемых растений, в том числе картофеля [3]. Следующей важной задачей является соблюдение агротехнических и защитных мероприятий в процессе выращивания семенного материала для возможно более длительного сохранения фитосанитарной чистоты картофеля.

В Саратовской области важным негативным фактором при выращивании картофеля является инфекционная нагрузка, определяемая высокой численностью переносчиков вирусных заболеваний вследствие погодно-климатических особенностей региона [4].

Целью исследования являлась фитосанитарная оценка состояния посадок картофеля при выращивании оздоровленного материала в условиях Саратовской области.

Методика

Изучали 4 сорта картофеля: наиболее распространенный в России сорт Ред Скарлетт (HZPC, Holland B.V.), который характеризуется как устойчивый к картофельной нематоде, раку, а также вирусам A и Yn (или PVYn); сорт Сильвана (HZPC Sadokas, Нидерланды), среднеустойчивый к парше обыкновенной и вирусам; сорт Лабелла (Solana GmbH & Co. KG, Германия), обладающий повышенной устойчивостью к вирусам; сорт Невский (ЗАО «Всеволожская селекционная станция», Россия). Последний — единственный районированный по 8 региону из всех сортов, взятых в изучение. Этот сорт был получен еще в 1976

году, но по-прежнему невосприимчив к фитофторозу и раку, но вирусные болезни представляют для него большую опасность.

Исследование проводили на участках картофеля заложенных оздоровленными семенами различного происхождения. Семена сортов Сильвана и Лабелла представляли собой элиту. Мини-клубни картофеля сортов Ред Скарлетт и Невский получены аэропным способом из микроклонов, оздоровленных методом вычленения апикальных меристем в биотехнологической лаборатории ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ.

Растения выращивали в К(Ф)Х Щеренко, расположенном в Энгельсском районе Саратовской области. Почва участка темно-каштановая. Применялось орошение с учетом поливных норм, рекомендованных для картофеля. Площадь учетных делянок составляла не менее 400 м². Защита картофеля во время вегетации от вредителей осуществлялась по схеме: протравливание клубней перед посадкой препаратом Престиж 0,7–1 л/га, обработка по вегетирующим растениям препаратом Карате Зеон в норме 0,1 л/га. На контрольных делянках обработка препаратами не проводилась.

В период полного цветения растений картофеля проводилась фитосанитарная оценка посадок на наличие насекомых с колюще-сосущим ротовым аппаратом, являющихся переносчиками вирусов. Учет проводили методом кошения сачком [5]. По намеченному маршруту делали 100 взмахов (по 25 в 4 точках поля). В каждой из 4 проб подсчитывали количество отдельных видов насекомых.

Оценка содержания вирусов в лабораторных и полевых образцах картофеля осуществлялась путем визуальной оценки растений, а также на основе выявления РНК вирусов методом ПЦР анализа в реальном времени. Исследование вирусов проводили с использованием оборудования и тест-систем производства ООО «НПФ СИНТОЛ». В ходе исследований определяли вирусы картофеля: вириод веретеновидности клубней картофеля (PSTVd), X и Y вирусы, M и L вирусы, S и A вирусы. Все вирусы определяли методом обратной транскрипции, совмещенной с полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). ПЦР в реальном времени проводили на оборудовании АНК-32 производства ООО «НПФ СИНТОЛ» [6].

Таблица 1.

Основные вирусы, поражающие картофель

Вирус	Симптомы	Действие	Распространение	Снижение продуктивности, %
PVX	Пожелтение жилок, мозаичность	Общее снижение урожая	Сильное	15%
PVY	Морщинистость, полосатость листьев, некроз жилок с нижней стороны листа, легкое обламывание листьев	Снижение размеров клубней и содержания крахмала	Очень сильное	60–80%
PVS	Посветление листьев, отклонение кончика листьев	Общее снижение урожая	Сильное	15–20%
PVM	Закручивание, мозаичность верхних листьев	Общее снижение урожая	Сильное	Слабое, до 20%
PVA	Сильная мозаичность, пожелтение между жилок	Общее снижение урожая	Сильное	До 40%
PLPV	Скручивание листьев вдоль центральной жилки, кожистость листьев, общий хлороз, антоциановая окраска краев листьев	Снижение массы и количества клубней	Очень сильное	20–30%
PSTVd	Изменение цвета листьев, уменьшение размера клубней и их веретеновидное удлинение.	Общее снижение урожая и его качества	Сильное	Нарастает в генерациях до 70–90%

Результаты

Результаты анализа заселенности растений картофеля насекомыми переносчиками показали, что, не смотря на обработку посевов химическими препаратами, насекомые присутствовали как на контрольных, так и на опытных делянках. При этом видовой и количественный состав насекомых-вредителей зависел от сорта картофеля (табл. 2).

Визуальная оценка растений не выявила явного поражения растений вирусами. Для более точной диагностики скрытой инфекции необходимо применять современные методы, такие как ОТ-ПЦР-РВ [6].

В ходе лабораторных исследований используемое оборудование и тест-системы позволили обнаружить наличие вирусной инфекции в ряде образцов (рис. 1).

Ни в одном образце не были обнаружены виоиды PSTVd, а также вирусы PVA, PVS и PVL. В контрольных растениях были найдены вирусы PVY и PVM у сорта Сильвана. Растения устойчивого к вирусам сорта Лабелла частично содержали вирус PVY (табл. 3).

Сорта Невский и Ред Скарлет были представлены несколькими вариантами проб: пробирочные микрорастения, мини-клубни, листья вегетирующих растений и полевые клубни. В микрорастениях и мини-клубнях обоих сортов вирусы не установлены, тогда как в листьях и клубнях, полученных в поле, обнаружился вирус PVM (табл. 3).

Исследования показали, что вредоносность X, Y, S и M-вирусов зависит от биологических особенностей картофеля. Причем с увеличением числа репродукций вредоносность вирусов на всех исследуемых сортах картофеля возрастала. Однако у относительно устойчивого сорта Сильвана она была значительно ниже, чем у восприимчивого сорта Невский.

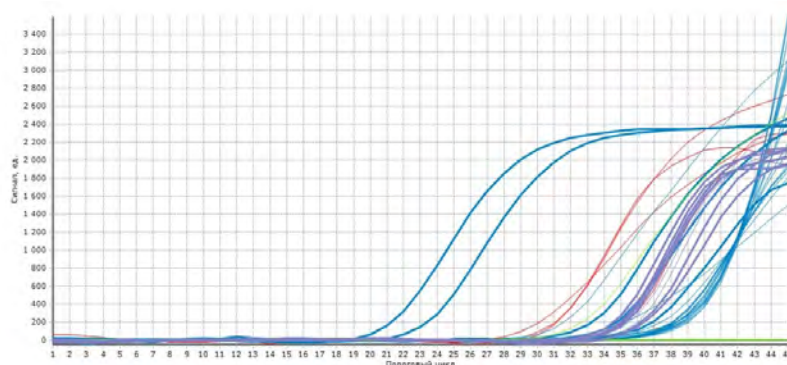
Таким образом, при анализе посевов картофеля, полученных из оздоровленного посадочного материала, визуальная оценка растений не выявляла зараженности вирусами, что позволяет признать партии картофеля соответствующими своей категории. Снижения продуктивности в результате болезней на данном этапе не установлено. Однако, примененный уровень химической обработки инсектицидами не обеспечил полной защиты посевов от переносчиков вирусных заболеваний. Основными переносчиками в данных условиях являлись большая картофельная тля и цикадки, способствовав-

Таблица 2.

Видовой и количественный состав насекомых-вредителей

Сорт/опыт	Вариант	Большая картофельная тля, шт./м ²	Цикадки, шт./м ²
Сильвана	контроль	43	60,5
	опыт	19	14,5
Лабелла	контроль	31	51
	опыт	17	22,5
Невский	контроль	36	47
	опыт	24	41
Ред Скарлет	контроль	20	53
	опыт	20	27

Рис. 1. Результат анализа растительных образцов методом ПЦР в реальном времени (стрелками отмечены кривые, отображающие положительный результат на вирус PVM в листьях и полевых клубнях картофеля сорта Невский)



шие заражению растений вирусами. Анализ раститель-

Таблица 2.

Результаты ОТ-ПЦР-РВ

Сорт	Материал	Вирусы						
		PSTVd	PVX	PVY	PVM	PVL (PLRV)	PVS	PVA
Сильвана	листья и клубни, полученные в поле	-	-	+	+	-	-	-
Лабелла	листья и клубни, полученные в поле	-	-	+	-	-	-	-
Невский	микрорастения и мини-клубни	-	-	-	-	-	-	-
	листья и клубни, полученные в поле	-	-	-	+	-	+	-
Ред Скарлет	микрорастения и мини-клубни	-	-	-	-	-	-	-
	листья и клубни, полученные в поле	-	-	-	+	-	-	-

ных образцов методом ПЦР в реальном времени установил наличие скрытого инфицирования вирусами PVY и PVM. Для обеспечения производства качественного посадочного материала клубней картофеля в условиях Саратовской области необходим тщательный контроль содержания вирусов методами анализа нуклеиновых кислот, в том числе ПЦР в реальном времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов Б.В. Вирусные болезни и их контроль в семеноводстве картофеля // Защита и карантин растений, 2010. №5. С.12–15.
2. Блоцкая Ж.В. Вирусы картофеля. Мн.: Ураджай, 1989. 18 с.
3. Григорян М.А., Ткаченко О.В. Опыт определения вирусов картофеля методом ПЦР в реальном времени // Сборник статей международной конференции. Саратов: Амирит, 2017. 54 с.
4. Григорян М.А., Ткаченко О.В.: Контроль содержания вирусов при выращивании оздоровленного картофеля в условиях Саратовской области // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. 254 с.
5. Методика фитосанитарного контроля и программа производственной практики: учеб. пособие / Н.А. Емельянов [и др.]. Саратов, 2004. 59 с.
6. ПЦР в реальном времени / Д.В. Ребриков [и др.]; под ред. д.б.н. Д.В. Ребрикова. 3-е изд. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 223 с.

ОБ АВТОРАХ:

Григорян М.А., магистр 1 года обучения

Ткаченко О.В., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

REFERENCES

1. Anisimov B.V. Viral diseases and their control in potato seed production // Protection and quarantine of plants, 2010. №5. P.12–15.
2. Blotskaya J.V. Potato viruses. Minsk: Urajay, 1989. 18 p.
3. Grigoryan M.A., Tkachenko O.V. Experience in the detection of potato viruses by real-time PCR // Collection of articles of the international conference. Saratov: Amirit, 2017. P. 54.
4. Grigoryan M.A., Tkachenko O.V. Controlling the virus content in growing healthy potatoes in the conditions of the Saratov region // Actual problems of potato growing: fundamental and applied aspects: materials of the All-Russian scientific-practical conference with international participation. Tomsk: Publishing House of Tomsk State University, 2018. P.254.
5. Methodology of phytosanitary control and the program of industrial practice: studies, allowance / N.A. Yemelyanov [et al.]. Saratov, 2004. P.59.
6. Real-time PCR / D.V. Rebrikov [and others]; by ed. Dr. Sc. D.V. Rebrikova. 3-d ed. M.: BINOM. Laboratory of Knowledge, 2011. 223 p.

ABOUT THE AUTHORS:

Grigoryan M.A., Master of 1 year of study

Tkachenko O.V., Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor