

УДК 635.21:632.38(476.2)

МОНИТОРИНГ *TOBACCO RATTLE-VIRUS*, *POTATO MOP-TOP VIRUS* И *ALFALFA MOSAIC VIRUS* В ПОСАДКАХ КАРТОФЕЛЯ ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**Н.В. Русецкий, В.А. Козлов, А.В. Чашинский**

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству», пос. Самохваловичи, Минский район

E-mail: nicrw@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Изложены результаты проведенного мониторинга по выявлению раттл-вируса, моп-топ вируса и вируса мозаики люцерны в посадках картофеля различных субъектов хозяйствования пяти районов Гомельской области. Установлено, что наибольшее распространение из трех изучаемых вирусов имеет раттл-вирус (9,0–19,0 %), который обнаружен в каждом из исследуемых районов. Наибольшее количество положительных проб выявлено в Ветковском (19,0 %), Жлобинском (18,0) и Житковичском (18,0 %) районах. Пораженность посадок картофеля моп-топ вирусом и вирусом мозаики люцерны носит ограниченный характер.

Ключевые слова: картофель, вирусные болезни, мониторинг, раттл-вирус, моп-топ вирус, вирус мозаики люцерны, ИФА, ПЦР, растение-индикатор.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно более 30 возбудителей заболеваний картофеля вирусной этиологии, которые вызывают различные формы поражения растений и клубней [1]. В Республике Беларусь на картофеле изучено распространение лишь вирусов, имеющих повсеместно широкий ареал (ХВК, СВК, УВК, МВК, АВК, ВСЛК и FBK).

В связи с тем, что в последние годы в республике возросло количество интродуцированных сортов иностранной селекции, ситуация с распространением вирусных болезней может измениться. Недостаточный контроль над развитием отдельных вирусных болезней при сложившихся благоприятных условиях для их развития может привести к распространению редко встречающихся, но являющихся особо вредоносными вирусов. К числу таковых относятся так называемые почвенные вирусы, которые могут инфицировать растения картофеля, распространяясь через почву посредством свободно живущих в ней паразитических нематод и грибов.

По литературным данным известно, что возбудитель пестростебельности картофеля – раттл-вирус (*Tobacco rattle virus*, TRV) передается почвенными нематодами *Trichodorus*, *Paratrichodorus* и *Longidorus ssp.*, а моп-топ ви-

рус (вирус метельчатости верхушки картофеля, potato mop-top virus, PMTV) посредством зооспор гриба *Spongospora subterranea* Walr. – возбудителя порошистой парши. Вредоносность вируса букетообразности картофеля может достигать 80 % и более [1]. Опасность такой инфекции заключается и в том, что при отсутствии растения-хозяина нематоды сохраняют вирофорность до 5 лет, а вирус способен заражать свыше 400 видов однолетних и многолетних сорных растений, являющихся их резерваторами.

К настоящему времени ареал распространения PMTV, TRV и AMV (каликко, вирус мозаики люцерны, alfalfa mosaic virus) на территории Республики Беларусь не установлен, в то время как в ряде соседних стран эти патогены выявлялись. Мониторинг вирусных болезней, проведенный Ф.Ф. Замалиевой в Республике Татарстан, показал, что вирус моп-топ имеет значительный ареал распространения [2]. В Республике Беларусь раттл-вирус был выявлен Ж.В. Блоцкой (1997 г.) на сорте Белорусский 3 в Октябрьском районе Гомельской области [3]. Нами в 2006 г. во время маршрутных обследований посадок картофеля Полоцкого района Витебской области на клубнях картофеля сорта Невский были выявлены симптомы в виде дуг и кольцевых некрозов клубней, схожие с симптомами раттл-вируса [4]. Целенаправленный мониторинг и идентификацию этих патогенов современными чувствительными методами (ИФА, ПЦР) в республике не проводили. Поэтому целью наших исследований являлось проведение мониторинга распространения вирусных болезней: метельчатости верхушки картофеля, пестростебельности картофеля и каликко в посадках картофеля Гомельской области.

Своевременное проведение мониторинга по выявлению очагов инфекции, значительное время сохраняющейся в векторных переносчиках в почве, проведение мероприятий по локализации и ограничению распространения опасных возбудителей вирусных болезней (метельчатость верхушки картофеля и пестростебельность картофеля) являются весьма важной и актуальной задачей в современной стратегии защиты картофеля от патогенных микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Материалом для исследований послужил листовой и клубневой материал растений картофеля, собранный с полей различных субъектов хозяйствования (семеноводческих, товарных, а также личных подсобных хозяйств) пяти районов Гомельской области.

Маршрутные обследования посадок картофеля Гомельской области с визуальным учетом внешних симптомов вирусных болезней, отбором листовых и клубневых проб для последующего инструментального анализа проводили в июле в фазу цветения – конец цветения растений картофеля.

Сложившиеся погодно-климатические условия вегетационного периода 2011 г. благоприятствовали проявлению вирусных болезней на картофеле. Визуальный учет вирусных болезней проводили согласно описанных в литературе симптомов вирусных болезней [1, 5, 7].

В литературе описывается и демонстрируется широкая вариабельность симптомов поражения **раттл-вирусом** в зависимости от генотипа растения-хозяина, условий окружающей среды и штамма вируса. В зависимости от сорта наблюдается мозаика и деформация листьев (обыкновенная, желтая в виде светло-зеленых и светло-желтых пятен), мраморность листьев, волнистость их краев, курчавость. Часто наблюдается некроз жилок листьев, черешков и стеблей. В мякоти клубней обнаруживаются некрозы в виде колец, полуколец и дуг. Они располагаются концентрически, одна за другой. Особенностью является то, что болезнь проявляется не на всех стеблях куста и не на всех клубнях. Проявление симптомов на ботве не всегда сопровождается поражением клубней и наоборот. Нередко отмечается латентное вирусоносительство.

Возбудитель распространяется с помощью нематод *Trichodorus ssp.*, питающихся на корнях однолетних и многолетних растений. Вирус может передаваться семенами и механической инокуляцией сока. Чаще всего встречается на супесчаных и песчаных почвах, где обитают нематоды, проникая на глубину 80–100 см. При отсутствии растения-хозяина нематоды сохраняют вирофорность до 5 лет.

Симптомы заболевания при поражении **моп-топ вирусом** также различаются в зависимости от сортовых особенностей и условий окружающей среды. Болезнь проявляется в укорачивании междоузлий и верхней части стебля, измельчании и курчавости верхних листьев, желтой пятнистости (ложная аукуба-мозаика), междужилковом хлорозе. Хлоротичный рисунок имеет вид елочек. Некрозы на клубнях сходны с некрозами, вызываемыми раттл-вирусом. Пораженные клубни растрескиваются и приобретают уродливую форму.

Вирус передается механической инокуляцией; в поле распространяется зооспорами гриба *Spongospora subterranea* – возбудителя порошистой парши.

Основные симптомы поражения картофеля вирусом **мозаики люцерны** – желтовато-белые пятна на полностью сформировавшихся листьях. Пожелтение начинается с верхушки листа и распространяется к основанию. Развитие болезни зависит от штамма вируса и сорта картофеля. В случае поражения некротическим штаммом на ботве и клубнях развиваются некрозы. Резерваторм инфекции являются многие сорные растения. Вирус распространяется механически и с помощью тлей.

В наших исследованиях экстракцию сока из листовых проб в микропробирки проводили при помощи ручного гомогенизатора. Сок замораживали в морозильной камере при температуре минус 18 °С.

В качестве растений-индикаторов раттл-вируса использовали растения *Nicotiana tabacum* L. (сорт Самсун), *Nicotiana glauca* L. и *Gomphrena globosa* L., для определения вируса мозаики люцерны – паслен черный, моп-топ вируса – *Nicotiana glauca* L.

Инокулюмом из листовых проб растений картофеля, собранных с различных картофельных посадок, имеющих внешние симптомы метельчатости

верхушки картофеля и пестростебельности картофеля, инфицировали рассаду растений-индикаторов в фазе четырех настоящих листочков. Учет развития симптомов проводили каждые пять дней с момента заражения.

Определение скрытой вирусной инфекции и дифференциацию исследуемых вирусов осуществляли с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА) на основе реагентов фирмы «Bioreba» (Швейцария) для определения моп-топ вируса и вируса мозаики люцерны, а для выявления раттл-вируса применяли диагностические наборы фирмы «Loewe» (Германия). Детекцию моп-топ вируса также проводили методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) наборами фирмы «Агродиагностика» (РФ).

В период цветения осуществлены маршрутные обследования посадок картофеля (семеноводческих и товарных хозяйств, а также личных подсобных хозяйств) пяти районов Гомельской области. В каждом районе обследовано по четыре поля, проведена визуальная оценка состояния посадок картофеля по внешним симптомам изучаемых вирусных болезней. С каждого исследуемого поля отобрано по 50 проб для исследования скрытой вирусной инфекции: моп-топ вирус картофеля, раттл-вирус и вирус мозаики люцерны с помощью методов ИФА и ПЦР-анализа. В течение 1–2 суток с момента взятия проб была проведена экстракция из них сока в микропробирки объемом 1,5 мл и закладка на хранение в морозильную камеру при минус 18 °С. В отдельных случаях были отобраны клубневые пробы для оценки проявления внешних симптомов на клубнях во время хранения и вторичной инфекции на следующий год. Для проведения ПЦР-анализа использовали листовой материал от растений с наиболее типичными визуальными симптомами вирусных болезней – метельчатости верхушки картофеля и пестростебельности картофеля.

Соком этих растений в условиях защищенного грунта селекционно-гибридного модуля были инокулированы растения-индикаторы для выявления исследуемых вирусов.

ИФА и ПЦР-анализ проб на наличие вирусной инфекции проводили в лаборатории иммунодиагностики Центра на основе реагентов импортного производства. Статистическая обработка экспериментального материала выполнена по Методике полевого опыта Б.А. Доспехова с использованием ПЭВМ (Microsoft Excel) [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Визуальная оценка состояния посадок картофеля по внешним симптомам вирусных болезней

Маршрутное обследование посадок картофеля проведено в следующих районах Гомельской области: Жлобинском, Ветковском, Мозырском, Октябрьском и Житковичском. Проведена оценка состояния посадок картофеля по внешним симптомам вирусных болезней.

В Жлобинском районе обследованы товарные и семеноводческие посадки картофеля КСУП «Краснобережский», ОАО «АФПК «Жлобинский

мясокомбинат» филиал «Китин», СПК «Агро-Коратковичи» и частного сектора. В товарных хозяйствах по результатам визуальной диагностики выявлены растения с симптомами полосчатой мозаики – 10–15 %, пятнистой мозаики – 15 %. По симптомам, схожим с поражением моп-топ вирусом, выявлено от 4 до 8 % растений, раттл-вирусом – 14–16 % растений. Обнаружено одно растение с симптомами курчавой карликовости, обычно вызываемой ВККК (вирус курчавой карликовости картофеля).

Обследование семеноводческих посадок показало их хорошее состояние, растений с подозрительными симптомами на исследуемые вирусы выявлено не было.

В Ветковском районе обследование картофельных посадок КСУП «Искра-Ветка», СПК «Радужный», ОАО «Хальч» и частного сектора выявило образцы с симптомами, схожими с поражением метельчатостью верхушки картофеля от 8 до 16 % растений, раттл-вирусом – 18–36 % растений, два растения с симптомами круглолистности картофеля и одно растение с симптомами AMV (рис. 1).

В одном из хозяйств отмечена значительная пораженность полосчатой мозаикой – до 20 %, 6 % растений с некротическими кольцеобразными симптомами на поверхности листа и симптомами по типу пестростебельности.

В Мозырском районе обследованы посадки ЧПУП «Мозырь-Агросервис», СПК им. Ленина, КСУП «Мозырская овощная фабрика». В ЧПУП «Мозырь-Агросервис», по данным визуальной оценки, выявлено до 4 % (каждым в отдельности) растений с симптомами вируса мозаики люцерны, курчавой карликовости и пестростебельности.

На картофельных полях СПК им. Ленина отмечена значительная степень поражения посадок морщинистой мозаикой – до 25 %, до 15 % растений с симптомами по типу метельчатости верхушки и пестростебельности.



Рисунок 1 – Симптомы поражения вирусом мозаики люцерны, выявленные на растении картофеля в СПК «Хальч» Ветковского района

В одной из товарных посадок на отдельных растениях выявлены типичные симптомы поражения моп-топ вирусом картофеля (рис. 2). Также в посадках отмечены растения с симптомами поражения AMV и круглолистности.

В Октябрьском районе обследованы товарные и семеноводческие посадки картофеля ОАО «Поречье-Оресса», КСУП «Краснослободское», КСУП «Ломовичи» и частного сектора. Почвы супесчаные, засоренность от слабой до средней степени. В товарных посадках отмечены внешние симптомы поражения вирусными болезнями: метельчатостью верхушки картофеля – от 2,0 до 4,0 %, пестростебельностью картофеля – от 4,0 до 12,0 % растений.

Обследование семеноводческих посадок картофеля показало хорошее состояние полей. Растений с симптомами метельчатости, пестростебельности и калико не выявлено.

В посадках частного сектора выявлено до 20,0 % растений с симптомами, схожими с пестростебельностью, и 2,0 % – с метельчатостью верхушки картофеля.

В Житковичском районе в результате обследования картофельных посадок КСУП «Коленское», КСУП «Морохоровский», КСУП «Дяковичи» и частного сектора выявлены растения с симптомами поражения по типу метельчатости верхушки – 2,0–4,0 %, раттл-вирусом – 2,0–10,0 и калико 0–2,0 % растений. Симптомы поражения вирусом мозаики люцерны выявлены также на сорняке – паслене черном. В посадках частного сектора выявлено 4,0 % растений с симптомами по типу поражения моп-топ вирусом и 2,0 % – AMV. Пораженность посадок картофеля Гомельской области вирусами метельчатости верхушки, пестростебельности и калико представлена в таблице 1.



Рисунок 2 – Симптомы поражения моп-топ вирусом, выявленные в посадках картофеля Мозырского района

Таблица 1 – Результаты визуальной диагностики посадок картофеля Гомельской области по пораженности вирусными болезнями, 2011 г.

Исследуемый район	Поражено растений вирусными болезнями, %		
	метельчатость верхушки картофеля	пестростебельность картофеля	калико
Жлобинский	7,5	3,0	0
Ветковский	15,0	6,0	0,5
Мозырский	3,5	4,0	2,0
Октябрьский	9,0	2,0	0
Житковичский	3,0	2,5	1,0
Среднее	7,6	3,5	0,7

Из представленных данных видно, что наибольшее распространение метельчатости верхушки картофеля и пестростебельности отмечено для Ветковского района (15,0 %), наименьшее – для Житковичского (3,0 %).

Биотест на растениях-индикаторах

Для проведения биотеста по определению раттл-вируса и вируса метельчатости верхушки картофеля, в условиях стеллажной теплицы, в подготовленный грунт (смесь 2/3 торфа с 1/3 песка и добавлением минеральных удобрений – хлористый калий, сульфат аммония и суперфосфат из расчета 0,002, 0,015, 0,002 кг д. в/кг грунта соответственно) высевались семена и затем пикировали в отдельные горшочки рассаду растений-индикаторов *Nicotiana tabacum* L. (сорт Самсун), *Nicotiana sylvestris* L., *Solanum nigrum* L. и *Gomphrena globosa* L.

Приготовленным инокулюмом от растений картофеля с симптомами исследуемых вирусов проводили механическую инокуляцию растений-индикаторов: *N.sylvestris* L., *N.tabacum* L., *Gomphrena globosa* L. и *Solanum nigrum* L.

Как показали проведенные исследования, визуальные симптомы на растениях-индикаторах варьировали как по внешнему проявлению, так и по времени их появления.

Так, при проведении биотеста на растениях-индикаторах *N.tabacum* L. (сорт Самсун), инокулированных соком проб, отобранных с полей Мозырского района с симптомами кольцевых некрозов на листьях картофеля, проявились симптомы дуго- и кольцеобразных некрозов на инокулированных листьях табака через 10 дней после инокуляции (рис. 3).

При последующих визуальных учетах эти симптомы не развивались и не появлялись на вновь отрастающих молодых листьях, что указывает на локальную реакцию проявления при искусственной инокуляции.

На других индикаторных растениях (рис. 4–6) также получены типичные симптомы, соответствующие описанию в учебно-методическом пособии ВИЗР, 2001 [7].

Значительная часть растений-индикаторов *N.tabacum* L. и *N.sylvestris* L. реагировала на заражение инокулюмом, от листовых проб с симптомами поражения раттл-вирусом, отмиранием листьев или полной гибелью растений.



Рисунок 3 – Симптомы некротических дуго- и кольцеобразных узоров поражения моп-топ вирусом при инокуляции *N.tabacum* L. (сорт Samsun)



Рисунок 4 – Некротические пятна на листьях табака *N.sylvestris* L. при инокуляции соком от листовых проб картофеля с симптомами поражения раттл-вирусом



Рисунок 5 – Симптомы метельчатости на *N.tabacum* L. при заражении инокулятом растений картофеля с симптомами поражения моп-топ вирусом



Рисунок 6 – Симптомы хлорозно-некротических узоров на растениях *N.sylvestris* L. при инокуляции соком от листовых проб картофеля с симптомами поражения раттл-вирусом

Иммуноферментный анализ отобранных проб

Для идентификации вирусов: моп-топ вирус картофеля (PMTV), раттл-вирус (TRV) и вирус мозаики люцерны (AMV) с помощью ИФА и ПЦР-диагностики (моп-топ вирус картофеля) использовали пробы замороженного сока картофеля и свежавыжатого сока, полученного из листового материала растений-индикаторов.

Результаты проведенного инструментального анализа позволили выявить, что наибольшее распространение из трех изучаемых вирусов имеет раттл-вирус, который обнаружен в каждом из исследуемых районов. Наибольшее количество положительных проб выявлено в Ветковском, Жлобинском и Житковичском районах (табл. 2).

Таблица 2 – Результаты диагностики картофеля на пораженность моп-топ вирусом картофеля, раттл-вирусом и вирусом мозаики люцерны, Гомельская область, ИФА, 2011–2012 гг.

Исследуемый район	Поражено растений вирусами, %		
	PMTV	TRV	AMV
Жлобинский	4,0	18,0	0
Ветковский	4,0	19,0	3,0
Мозырский	2,0	9,0	5,0
Октябрьский	0	14,0	4,0
Житковичский	0	18,0	3,0
Среднее	2,6	15,6	3,0

Пораженность моп-топ вирусом картофеля носит ограниченный характер. Наличие положительных реакций при детекции отобранных проб с помощью иммуноферментного анализа было отмечено в трех из пяти исследованных районов – Жлобинском (4,0 %), Ветковском (4,0) и Мозырском (2,0 %). Растений картофеля, пораженных вирусом мозаики люцерны, не было выявлено в Жлобинском районе как по результатам визуального обследования, так и по данным проведенного ИФА. В остальных районах распространенность инфекции ВМЛ составляла от 3,0 до 5,0 %.

Иммуноферментный анализ сока из свежесобранного листового материала растений-индикаторов *Nicotiana tabacum* L. с системными симптомами поражения подтвердил наличие раттл-вируса в пробах Ветковского и Октябрьского районов, вируса мозаики люцерны – Мозырского района.

Положительная реакция на моп-топ вирус картофеля подтверждена методом ПЦР-анализа, проведенном в лаборатории иммунодиагностики в FLASH-формате на растениях табака с системными симптомами инфицирования, полученными при инокулировании пробами от вирусных растений, отобранных в Жлобинском районе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной визуальной диагностики на товарных посадках и посадках частного сектора выявлены растения с симптомами, схожими

с такими вирусными болезнями, как метельчатость верхушки картофеля, пестростебельность картофеля, калико, встречаемость которых во многом зависела от репродукционного состава и категории хозяйства. Наибольшее количество растений со схожими симптомами поражения пестростебельностью отмечено в посадках картофеля СПК им. Ленина и частного сектора Мозырского района.

В целом, по данным визуальных наблюдений и по результатам проведенного биотеста на растениях-индикаторах, наибольшее распространение метельчатости верхушки картофеля и пестростебельности отмечено для Ветковского района, наименьшее – для Житковичского.

Проведенный инструментальный анализ (ИФА и ПЦР) отобранных проб с посадок картофеля Гомельской области в большинстве случаев подтвердил результаты, полученные при визуальной диагностике и использовании растений-индикаторов. Наибольшее распространение из трех изучаемых вирусов имеет раттл-вирус (9,0–19,0 %), который обнаружен в каждом из исследуемых районов. Наибольшее количество положительных проб выявлено в Ветковском (19,0 %), Жлобинском и Житковичском районах – по 18,0 %.

Пораженность моп-топ вирусом картофеля носит ограниченный характер. Наличие положительных реакций при детекции отобранных проб с помощью иммуноферментного анализа было отмечено в трех из пяти исследованных районов – Жлобинском (4,0 %), Ветковском (4,0), Мозырском (2,0 %). Растений картофеля, пораженных вирусом мозаики люцерны, не было выявлено в Жлобинском районе как по результатам визуального обследования, так и по данным проведенного ИФА. В остальных районах распространенность инфекции AMV составляла от 3,0 до 5,0 %.

Список литературы

1. Блоцкая, Ж.В. Вирусные, виroidные и фитоплазменные болезни картофеля / Ж.В. Блоцкая. – Минск: Тэхналогія, 2000. – 120 с.
2. Замалиева, Ф.Ф. Биологическое обоснование защиты от заражения вирусами оздоровленного семенного картофеля в Республике Татарстан: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.11, 06.01.05 / Ф.Ф. Замалиева, Укр. с.-х. акад. – Киев, 1989. – 45 с.
3. Блоцкая, Ж.В. Вирусные болезни картофеля / Ж.В. Блоцкая. – Минск: Навука і тэхніка, 1993. – 222 с.
4. Русецкий, Н.В. Изучение распространенности вирусных болезней картофеля в Витебской области / Н.В. Русецкий, В.А. Козлов, А.В. Чашинский // Земляробства і ахова раслін. – 2007. – № 4 (53). – С. 44–47.
5. Mulder, A. Potato diseases (diseases, pests and defects) / A. Mulder & L.J. Turkensteen // NIVAP, Holland. – 2005. – 280 p.
6. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Колос. – 1985. – 416 с.

7. Самсонова, Л.Н. Диагностика вирусных и фитоплазменных болезней овощных культур и картофеля / Л.Н. Самсонова, А.Е. Цыпленков, Т.А. Якут-кина. – ВИЗР. – 2001. – 47 с.

MONITORING OF TOBACCO RATTLE VIRUS, POTATO MOP-TOP VIRUS AND ALFALFA MOSAIC VIRUS IN THE POTATO PLANTING IN GOMEL REGION

N.V. RUSETSKIJ, V.A. KOZLOV, A.V. CHASHINSKIJ

SUMMARY

The monitoring results of identification of tobacco rattle virus, potato mop-top virus and alfalfa mosaic virus in the planting of potato at various management agriculture of five districts of Gomel region are present in the article. It is established that the greatest distribution from three studied viruses has a Rattle-virus (9.0–19.0 %) which is found out in each investigated areas. The greatest quantity of positive tests is revealed in Vetkovsky (19.0 %), Zhlobinsky (18.0) and Zhitkovichsky (18.0 %) areas. The incidence potato plantings of mop-top and alfalfa mosaic viruses has the limited character.

Key words: potato, virus diseases, monitoring, tobacco rattle virus, mop-top virus, alfalfa mosaic virus, ELISA, PCR, indicator plant.

Поступила в редакцию 27.10.2014 г.