

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің 60 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары– 13: дәстүрлерді сақтай отырып, болашақты құру» атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 13: сохраняя традиции, создавая будущее», посвященная 60-летию Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина. - 2017. - Т.1, Ч.1. - С.291-294

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КАЗАХСТАНСКИХ ИЗОЛЯТОВ Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ

Бейсембина Б.

Одним из важнейших вирусов, поражающих картофель и вызывающих сильные потери урожая (50% и более в зависимости от сорта и условий культивирования) является вирус PVY [1, 2]. В условиях эксперимента вирус способен поражать 400 видов растений из 36 ботанических семейств [3]. Известно, что PVY на картофеле вызывает полосчатую и морщинистую мозаики [4]. Морщинистая мозаика проявляется при сильном вздутии поверхности листовых долей между жилками, в свертывании верхушечной и боковых частей поверхности долей листа сверху вниз. Растения отстают в росте и развитии, листья, верхушечные, приобретают мозаичную окраску [5]. Характер проявления заболеваний, вызываемой Y-вирусом картофеля, зависит от сортовых особенностей культуры, от вирулентности штаммов вируса, внешних условий, при которых протекает инфекционный процесс. Кроме того, степень проявления симптомов зависит от фазы развития заболевания [4, 6].

Без применения в семеноводческой практике методов диагностики растений на вирусоносительство практически невозможно получение высоких урожаев картофеля. Ключевым звеном при разработке современных методов диагностики и внедрении их в сельскохозяйственную практику является наличие качественного антигена. Как известно, для производства специфичных антител применяются высокоочищенные вирусные антигены, которыми иммунизируют животных. В то же время специфические антитела являются важными компонентами диагностических наборов для проведения иммунодиагностики вирусных заболеваний картофеля.

От физико-химических свойств вируса зависит чувствительность диагностических тестов.

Целью настоящей научно-исследовательской работы является изучение физических свойств казахстанских изолятов Y-вируса картофеля. Работа проводилась в рамках бюджетной программы 217 «Развитие науки» по теме 26Г «Создание банка отечественных штаммов вирусов картофеля для производства высокочувствительных диагностических тестов».

Объектом исследований послужили изоляты Y-вируса картофеля PVY^{Cherie} и PVY^{Артемис-79}, которые ранее были проверены методами иммуноферментного анализа и ОТ-ПЦР [7].

Определение точки термической инактивации (ТТИ), предельного разведения сока (ПРС) и периода сохранения инфекционности (ПСИ) проводили по стандартным методам [8, 9]. Диапазон прогрева составлял 52-

67° С для определения ТТИ Y-вируса картофеля, интервал - 1°С. При изучении физических свойств вирусов в качестве индикатора PVY использовали растения *N. tabacum* сорта Samsun [10, 11]. Для сравнительного изучения физических свойств нами была апробирована методика определения ТТИ и ПРСметодом иммуноферментного анализа. Тестирование проводили диагностическими иммуноферментными наборами ФГБНУ Всероссийского НИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорхас помощью «сэндвич-варианта» ИФА в соответствии со стандартной методикой [12].

Инокулированные, выдержанными в соответствующих температурных интервалах изолятами PVY^{Cherie} и PVY^{Артемис-79}, индикаторные растения спустя сутки (рисунок 1).



Рисунок 1. Определение ТТИ изолятов PVY^{Cherie} (А) и PVY^{Артемис-79} (Б)

Через 10 дней после заражения индикаторных растений проводили визуальную – на наличие симптомов поражения вирусом, и иммуноферментную диагностику листовых проб на вирусоносительство (рисунок 2, таблица 1).

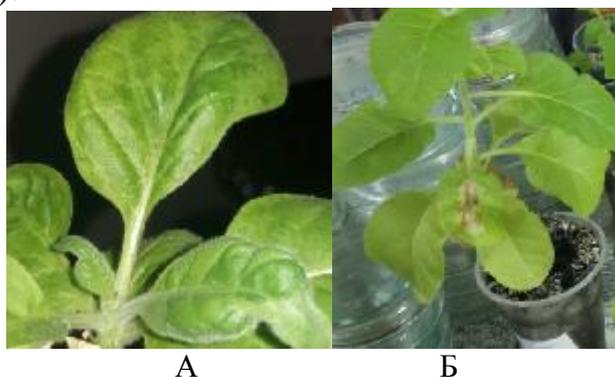


Рисунок 2. Симптомы проявления изолятов PVY^{Cherie} (А) и PVY^{Артемис-79} (Б) на листьях *N. tabacum* Samsun на 10-е сутки

Таблица 1 – Результаты определения ТТИ на индикаторных растениях в ИФА

Температура, С°	Экстинция, о.е.					
	PVY ^{Артемис-79}			PVY ^{Cherie}		
	X Ao	Ao/Aк	**	X Ao	Ao/Aк	**
52	0,525	6,0	+	0,473	5,4	+

53	0,428	4,9	+	0,644	7,3	+
54	0,455	5,2	+	0,619	7,0	+
55	0,251	2,9	+	0,697	7,9	+
56	0,433	4,9	+	0,478	5,4	+
57	0,643	7,3	+	0,456	5,2	+
58	0,399	4,5	+	0,335	3,8	+
59	0,347	3,9	+	0,314	3,6	+
60	0,253	2,9	±	0,304	3,5	+
61	0,220	2,5	±	0,206	2,3	±
62	0,208	2,4	±	0,192	2,2	±
63	0,196	2,2	±	0,129	1,5	-
64	0,195	2,2	±	0,095	1,1	-
65	0,191	2,2	±	0,054	0,6	-
66	0,183	2,1	±	0,087	1,0	-
67	0,149	1,7	-	0,066	0,8	-
Позитивный контроль	0,613					
Негативный контроль	0,088					
Примечание: «Ао»– среднее значение экстинции образца; «Ак»– среднее значение экстинции отрицательного контроля; «-» – отсутствие вируса (Ао/Ак < 2,0); «+» – достоверное наличие вируса (Ао/Ак > 3,0); «±» – недостоверное наличие вируса (Ао/Ак=2,0-3,0).						

По данным, представленным в таблице 1 следует, что вирус инактивируется при 67°C у изолята PVY^{Артемис-79}, 63°C – у изолята PVY^{Cherie}.

Результаты определения физических свойств местных изолятов PVY представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Изучение физических свойств местных изолятов вирусов картофеля

Изоляты	ТТИ, °С		ПСИ (сут.)		ПРС	
	По данным метода растений-индикаторов	По данным метода ИФА	По данным метода растений-индикаторов	По данным метода ИФА	По данным метода растений-индикаторов	По данным метода ИФА
PVY ^{Cherie} (N.	63	63	38	7	10 ⁻³	10 ⁻³

<i>tabacum</i> , Samsun)						
PVY ^{Артемис-79}	67	67	45	10-11	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴

Согласно полученным результатам, изолят PVY^{Артемис-79} был более термостабилен с ТТИ 67°C и имел предел разведения сока 10⁻⁴, что свидетельствует о большей патогенности изолята в сравнении с PVY^{Cherie}.

В результате проведенной научно-исследовательской работы можно сделать следующие выводы:

1) на основе изучения физико-химических свойств изолятов вирусов установлено, что изолят PVY^{Артемис-79} более термостабилен по сравнению с PVY^{Cherie}.

2) PVY^{Артемис-79} является более патогенным изолятом в сравнении с PVY^{Cherie}, период сохранения инфекционности 10-11 суток и 7 суток, предельное разведение сока 10⁻⁴ и 10⁻³ соответственно.

Список литературы

- 1 Kogovsek, Polona; Pompe-Novak, Marusa; Petek, Marko et al. Primary Metabolism, Phenylpropanoids and Antioxidant Pathways Are Regulated in Potato as a Response to Potato virus Y Infection // PLOS ONE. – 2016. – V.11. – e0146135.
- 2 Бобкова А.Ф., Чирков С.Н. Применение иммуноферментного анализа для диагностики вирусных заболеваний картофеля: обзор // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – №5. – С. 32-35.
- 3 Jeffries C.K. Potato. FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm. – 1998. – № 19. – P. 24-31.
- 4 Блоцкая Ж.В. Вирусы картофеля. – Мн.: Ураджай, -1989. – 72 с.
- 5 Сухов К.С. Вирусные болезни раннего картофеля в Московской области и борьба с ними. – М.: Знание, -1964. – 77 с.
- 6 Шелабина Т.А. Устойчивость к вирусам районированных сортов картофеля и особенности защиты их Северо-Западном регионе Нечерноземья: автореф. ... канд. с.-х. наук. – Л., 1989. – 19 с.
- 7 Козловская З.Н. Диагностика, штаммовое разнообразие, вредоносность и профилактика вируса огуречной мозаики на дальнем востоке: диссертация. – Владивосток, 2002. – С. 26-27.
- 8 Отчет о НИР (инв.) № 0216РК01932, № ГР 0115РК00478. Создание банка отечественных штаммов вирусов картофеля для производства высокочувствительных диагностических тестов // -Астана, 2016, -113 с.
- 9 Блоцкая Ж.В. Вирусные болезни картофеля. – Мн.: Навука и тэхніка, 1993. – 222 с.
- 10 Hooker W.J. Compendium of Potato Diseases. – American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, -1981. – 25 p.
- 11 Report of the planning conference on Developments in the Control of Potato Virus Diseases. – International Potato Center, Lima. Peru, -1977. – 171 p.

12 Бобкова А.Ф., Чирков С.Н. Применение иммуноферментного анализа для диагностики вирусных заболеваний картофеля: обзор // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – №5. – С. 32-35.

Научный руководитель: Хасанов В.Т. - к.б.н., доцент