

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.294-298

РАЗМНОЖЕНИЕ ИЗОЛЯТОВ Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ *N. TABACUM*

Бейсембина Б., Сияева Л.М.

Картофель в Казахстане является одним из основных продуктов питания и по своей значимости занимает второе место после хлеба [1].

В настоящее время в республике Казахстан средняя урожайность важнейшей сельскохозяйственной культуры картофеля находится в пределах 16 т/га. В то же время в ряде зарубежных стран с развитым картофелеводством (Нидерланды, США, Израиль, Германия) средняя урожайность данной культуры составляет 45-50 т/га [2,3].

Урожайность данной культуры во многом зависит от устойчивости сортов картофеля к грибным, вирусным и бактериальным заболеваниям картофеля [4].

Ущерб, приносимый вирусной инфекцией, колеблется в зависимости от вируса в диапазоне от 15 до 95%. Одним из важнейших вирусов, поражающих картофель и вызывающих сильные потери урожая (50% и более в зависимости от сорта и условий культивирования) является вирус PVY (различные штаммы) [5].

Причиной снижения урожайности картофеля является отсутствие высококачественного семенного материала семеноводческих хозяйств. Одним из факторов повышения урожайности картофеля является его оздоровление от вирусной инфекции. Вирусные болезни играют основную роль в снижении продуктивности картофеля [3].

Целью настоящей научно-исследовательской работы является накопление изолятов Y-вируса картофеля в культуре ткани *N. tabacum* для получения отечественных диагностических тест-систем.

Настоящая научно-исследовательская работа проводилась в рамках бюджетной программы 217 «Развитие науки» по проекту 26Г «Создание банка отечественных штаммов вирусов картофеля для производства высокочувствительных диагностических тестов».

Объектом исследований послужили различные изоляты Y-вируса картофеля, выявленные в результате иммуноферментного анализа.

Тестирование растений-накопителей вирусов картофеля проводили с помощью «сэндвич-варианта» ИФА [5]. Инокуляция растений-накопителей проводилась по стандартной методике механическим способом [6]. Всего было инокулировано по 10 тест-растений *N. tabacum* сорта Samsun на каждый изучаемый изолят Y-вируса картофеля в фазу трех-четырёх листьев, а также в фазу зрелой рассады (образцы №9).

Идентификация штаммовой принадлежности местных изолятов Y-вируса картофеля. Образцы, инфицированные и естественно зараженные местными изолятами PVY, в том числе, предоставленные для сравнения из коллекции ФГБНУ ВНИИКХ им. А.Г. Лорха образцы, *N. tabacum*, Samsun, PVY^O, проверяли на штаммовую принадлежность в «сэндвич-варианте» ИФА (TAS-ELISA) с помощью моноклональных антител (мАТ) наборов фирмы «Agdia». Результаты изучения штаммовой принадлежности PVY в исследуемых сортообразцах представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Идентификация штаммов PVY с помощью мАТ в TAS-ELISA

Сортообразец	PVY ^O			PVY ^N			PVY ^C		
	X Ao	Ao/Ак	* *	X Ao	Ao/Ак	**	X Ao	Ao/Ак	**
<i>N. tabacum</i> , Samsun, Ch., PVY, КАТУ	1,039	10,4	+	0,136	1,77	-	0,082	1,67	-
<i>S. tuberosum</i> , Артемис №79, PVY, КАТУ	1,027	10,3	+	0,070	1,00	-	0,220	4,48	+
<i>S. tuberosum</i> , Аладин №6, PVY, КАТУ	0,939	1,30	+	0,079	1,02	-	0,075	1,53	-
<i>N. tabacum</i> , Samsun, PVY ^O ВНИИКХ	1,037	10,4	+	0,084	1,09	-	0,068	1,38	-
Positive	1,063			0,163			0,144		
Negative	0,100			0,049			0,077		

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что изоляты PVY^{Ch} (*N. tabacum*, Samsun, PVY^{Cherie}), PVY^{Ala} (*S. tuberosum*, Аладин №6) как и контрольный вариант - PVY^O (*N. tabacum*, Samsun, PVY^O) были заражены обычным штаммом PVY^O, а изолят PVY^{Art} (образец *S. tuberosum*, Артемис 79/2) содержал смесь штаммов PVY^{O+C}. Данные штаммы вируса принадлежат к биологической группе штаммов Y^O [7, 8].

Таким образом, на данном этапе проводимых исследований проведена идентификация штаммовой принадлежности местных изолятов Y-вируса картофеля.

Инокуляция тест-растений Y-вирусом картофеля и изучение динамики накопления вируса in vivo

Процесс инокуляции растений *N. tabacum* изучаемыми изолятами Y-вируса картофеля в фазу трех-четырёх листьев, а также в фазу зрелой рассады (образцы №9) показан на рисунке 1.



Рисунок 1. Инокуляция тест-растений *N. tabacum* сорта Samsun местными изолятами Y-вируса картофеля

В таблице 2 представлены результаты изучения динамики накопления изолятов Y-вируса картофеля на растениях *N. tabacum*.

Таблица 2 – Динамика накопления Y-вируса картофеля в тест-растениях *Nicotianatabacum* сорта Samsun

№ образца	Источник инфекции, штамм / изолят	Экстинция, о.е.														
		10-е сутки			14-е сутки			21-е сутки			29-е сутки			45-е сутки		
		X Ao	Ao/Ak	P	X Ao	Ao/Ak	P	X Ao	Ao/Ak	P	X Ao	Ao/Ak	P	X Ao	Ao/Ak	P
2	PVY ^{Ch.}	0,043		+ / -	0,03 7	2,1	+ / -	0,50 6	17,4	+ / -	0,48 1	16,6	+ / -	0,05 5	1,9	-
3	PVY ^{Ch.}	0,897		+ / -	0,02 9	1,7	-	0,42 4	14,6	+ / -	0,24 5	8,5	+ / -	0,69 4	23,9	+
9	PVY ^{Ch.}	0,094		+ / -	0,37 7	22,1	+ / -	0,28 0	9,7	+ / -	0,25 1	8,7	+ / -	0,63 3	21,8	+
2	PVY ^O	1,260		+ / -	0,96 3	56,6	+ / -	0,19 6	6,8	+ / -	0,15 0	5,2	+ / -	0,32 0	11,0	+
3	PVY ^O	1,163		+ / -	0,83 6	49,1	+ / -	0,25 6	8,8	+ / -	0,23 6	8,1	+ / -	0,43 6	15,0	+
4	PVY ^O	0,943		+ / -	0,96 4	56,7	+ / -	0,30 6	10,6	+ / -	0,29 0	10,0	+ / -	0,56 0	19,3	+
5	PVY ^O	0,937		+ / -	0,67 6	39,7	+ / -	0,22 4	7,7	+ / -	0,23 1	7,9	+ / -	0,71 6	24,7	+
6	PVY ^O	1,023		+ / -	0,66 4	39,0	+ / -	0,23 6	8,1	+ / -	0,20 3	7,0	+ / -	0,22 9	7,9	+
9	PVY ^O	0.053		-	0,03 3	1,9	-	0,04 3		+ / -	0,04 7	1,6	-	0,00 2	0.1	-
Positive					1.239						0.563					
Negative					0.017						0.029					

Согласно данным, приведенным в таблице 2, накопление изолята PVY^{Cherie} в ювенильных растениях *N. tabacum* происходило нестабильно, максимум наблюдался преимущественно на 21-29-е сутки. Максимальное содержание PVY^O отмечено на 10-е сутки. Следует отметить, что при инфицировании растений табака изолятом PVY^{Ch} в фазе взрослой рассады наблюдалось 100% заражение, проявляемое в виде сильновыраженных симптомов мозаичной морщинистости листьев, подтверждаемое

положительными результатами ИФА, однако не удалось добиться при инокуляции растений табака изолятом PVY⁰ (рисунок 2).



Рисунок 2. Проявляемые симптомы мозаичной морщинистости Y-вируса картофеля на листьях *N. tabacum*

Известно, что основным показателем, влияющим на выход вирусного препарата является титр вируса в инфекционном соке тест-растения. В этой связи на данном этапе наших исследований определялся рабочий титр PVY в инфекционном соке инокулированных тест-растений *N. tabacum* в сравнении с источником инокуляции «сэндвич-вариантом» ИФА (таблица 3).

Таблица 3 – Титры PVY в тест-растениях, «сэндвич-вариант» ИФА

Вид растения / сорт, линия	Титр вируса в тест-растении															
	native	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	1:8192	1:16384
Positive control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>N. tabacum</i> Y ^{Ch} .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>N. tabacum</i> Y ⁰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Согласно данным таблицы 3, титр PVY в тест-растениях *N. tabacum*Y^{Ch} был равен титру позитивного контроля и составлял 1:2048. Титр вируса в тест-растениях *N. tabacum*Y⁰ (1:256) уступал в 8 раз титру вируса в растениях *N. tabacum*Y^{Ch}.

Таким образом, в изолированных условиях инокулированы Y-вирусом картофеля растения-накопители; проведено выращивание и уход за тест-растениями в изолированных условиях; проведена их оценка на вирусносительство.

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

1) изоляты PVY^{Ch} (*N. tabacum*, Samsun, PVY^{Cherie}), PVY^{Ala} (*S. tuberosum*, Аладин №6) и контрольный вариант - PVY⁰ (*N. tabacum*, Samsun, PVY⁰) были заражены обычным штаммом PVY⁰.

2) накопление изолята PVY^{Cherie} в ювенильных растениях *N. tabacum* происходило нестабильно, максимум наблюдался преимущественно на 21-29-е сутки. Максимальное содержание PVY⁰ отмечено на 10-е сутки. Следует

отметить, что при инфицировании растений табака изолятом PVY^{Ch} в фазе взрослой рассады наблюдалось 100% заражение, проявляемое в виде сильновыраженных симптомов мозаичной морщинистости листьев.

3) титр PVY в тест-растениях *N. tabacum*Y^{Ch} составлял 1:2048. Титр вируса в тест-растениях *N. tabacum*Y^O (1:256) уступал в 8 раз титру вируса в растениях *N. tabacum*Y^{Ch}.

Список литературы

1 Агропромышленный комплекс Казахстана. Производство картофеля [Электронный ресурс], – 2009. – URL: <http://www.agroprom.kz/info/novosti-predpriyatiy/proizvodstvo-kartofelya> (дата обращения: 15.11.2012).

2 Николаева О.В. Современные иммунологические методы в массовой диагностике вирусов растений: обзорная информация. – М., 1986. – 52 с.

3 Сельское, лесное и рыбное хозяйство Казахстана: статистический сборник / под. ред. А. Смаилова. – Алматы, 2001. – С. 32-34.

4 О. Горай Казахстан: Как получить хороший урожай картофеля [Электронный ресурс], – 2011. – URL: <http://www.meta.kz/618354-kazahstan-kak-poluchit-hogoshiy-urozhay-kartofelya.html> (дата обращения: 15.11.2012)

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

6 Швидченко В.К., Созинова Л.Ф. Оздоровление, размножение и диагностика в картофелеводстве. – Астана: КазАТУ им. С. Сейфуллина, 2000. – 163 с.

7 Kehoe, M. A.; Jones, R. A. C. Improving Potato virus Y strain nomenclature: lessons from comparing isolates obtained over a 73-year period // PLANT PATHOLOGY. – 2016. - № 2. – С. 322-333.

8 Отчет о НИР (инв.) № 0216РК01932, № ГР 0115РК00478. Создание банка отечественных штаммов вирусов картофеля для производства высокочувствительных диагностических тестов //-Астана, 2016,-113 с.

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