

УДК 632.38.07:633.491

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ДОСТОВЕРНОСТЬ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСОВ КАРТОФЕЛЯ

В. А. ШМЫГЛЯ, П. И. ЛОДОЧКИН

(Кафедра фитопатологии, станция защиты растений)

С расширением масштабов выращивания свободного от вирусов семенного картофеля и селекции устойчивых к вирусам сортов возрастают требования к практическим методам диагностики зараженности растительного материала. Главные из этих требований — достоверность результатов, небольшие затраты труда и времени.

По объему применения в семеноводстве и селекции картофеля второе место после визуальной диагностики занимает серологический метод. Ежегодно в нашей стране проводятся миллионы серологических анализов для обнаружения наиболее распространенных вирусов картофеля — X, S, M, в меньшем объеме — вируса Y.

С первых шагов практического применения серодиагностики вирусов в семеноводстве и селекции картофеля было отмечено, что возможности его ограничены рядом объективных закономерностей, среди которых главную роль играют концентрация вирусного антигена в соке испытуемых растений и серологическая специфичность штаммов вирусов [6, 8]. Указания на изменения концентрации вирусного антигена не объясняют действительных причин ошибок в серодиагностике, поскольку сами эти изменения являются следствиями многих внешних и внутренних факторов. За последних два десятилетия установлены некоторые из этих факторов:

- возрастно-физиологическое состояние растений [1, 3, 4];
- состояние диагностируемого вируса в растении: нормальное, ингибированное или дефектное по белку [2, 7];
- освещенность растений и температура окружающей среды [1, 3];
- интерференция между вирусами при смешанной инфекции [10];
- специальные приемы агротехники, например двуурожайная культура, размножение черенкованием и др. [5].

Действие этих и других, возможно, еще не известных факторов приводило и приводит к ошибкам в оценке материала, отобранного только с применением серодиагностики. Зараженность образцов может быть значительной либо полностью или частично «исчезать» в год посадки или в последующих вегетативных репродукциях. Причем повышение чувствительности серодиагностики решает проблему лишь отчасти, не устраняя вероятности ошибок.

Поэтому одним из наиболее надежных путей повышения достоверности серодиагностики наряду с повышением ее чувствительности следует считать изучение, учет и использование факторов и взаимосвязей, влияющих на достоверность анализа.

Ниже приводятся результаты двухлетних опытов, в которых сравнивалась серодиагностика вирусов X, S, M и Y в растениях картофеля различного возраста и в разных условиях.

Исследования проводили на станции защиты растений Тимирязевской академии. Для анализа взяли 100 растений сорта Гатчинский, выращиваемых в открытом грунте. Сроки определения следующие: через 60, 77 и 92 дня после появления всходов по три раза в течение дня — в 8, 12 и 17 ч. Через 92 дня после появления всходов анализ проводили в трех вариантах: немедленно после отбора проб и после выдерживания их в холодильнике при 3—4° в течение 30 мин и 2 ч. При уборке урожая от каждого опытного растения отбирали по одному клубню среднего размера, высаживали весной

следующего года и анализировали растения в те же сроки. В исследованиях использовали обычный капельный метод, без осветления сока. Для анализа брали листья среднего яруса.

Максимальные значения процента положительных реакций были близкими или соответствовали действительной зараженности данного материала, установленной путем многократных анализов в предшествующих репродукциях (таблица). Отклонения от максимальных значений составили по вирусам X, S, M и Y соответственно 48,8; 77,7; 46,3 и 86,7 %.

Полученные результаты позволяют отметить следующее:

— количество положительных реакций в течение дня при анализе одних и тех же растений существенно изменяется, при этом общей закономерности не отмечено. По вирусу X максимальные значения получены утром, по вирусам X и S — днем, по вирусу Y — вечером.

— наибольший процент положительных реакций вирусов X, S и M отмечен в первый срок анализа (бутонизация), наименьший — в третий срок (начало отмирания нижних листьев). Максимальный процент обнаружения вируса Y был получен во второй срок (конец цветения);

— выдерживание проб листьев в холодильнике при 3—4° в течение 2 ч вызвало увеличение процента положительных реакций вируса X на 21, а вируса S — в 2 раза по сравнению с максимальным результатом в тот же день без охлаждения проб. Реакция вируса M повысилась незначительно. Пробы, выдержанные в холодильнике, не дали реакций на вирус Y.

Изменения результатов серодиагностики в течение дня и вегетации имеют различную направленность, вероятно, вследствие разнородного действия многих факторов, в том числе не поддающихся учету, и поэтому не могут быть однозначно объяснены. Однако можно отметить, что результаты серодиагностики в общем более достоверны до цветения, чем во второй половине вегетации, по-видимому, вследствие изменения активности синтетических процессов, с которыми связана и концентрация вирусов в соке. Отношение вирусов к температуре различно: результаты диагностики вирусов X и M в течение дня различа-

Влияние возраста растений, времени дня и охлаждения листьев на результаты серологической диагностики вирусов картофеля сорта Гатчинский (% положительных реакций). Средние данные за 2 года

Возраст и фаза развития растений	Время суток, ч	X	S	M	Y	
60 дней, бутонизация	8	79	5	71	3	
	12	84	17	60	8	
	17	77	7	59	4	
77 дней, конец цветения	8	78	5	67	13	
	12	72	11	60	4	
	17	75	10	57	15	
92 дня, начало отмирания нижних листьев	8	47	9	36	8	
	12	48	4	45	2	
	17	43	5	40	7	
В т. ч. после охлаждения:						
	0,5 ч	12	60	6	66	0
	2 ч	12	58	18	48	0

лись несущественно, в то же время определяемость вируса Y резко (в 3—4 раза) падала в середине дня во второй и третий сроки анализа.

Имеющиеся в настоящее время сведения о факторах, влияющих на достоверность серодиагностики вирусов, позволяют предположить, что существует общая закономерность, которую можно сформулировать следующим образом: у сортов, не обладающих относительной устойчивостью к какому-либо вирусу, наибольшая серологическая определяемость последнего совпадает с максимальной активностью синтеза нуклеопротеидов в растениях. У культурных сортов картофеля при благоприятных условиях температуры, освещенности, влагообеспеченности и почвенного питания наиболее достоверные результаты серодиагностики отмечаются в начале бутонизации [11]. Данная закономерность часто нарушается по причине воздействия других факторов, о которых говорилось выше. В частности, жаркая погода в период бутонизации может резко подавить накопление вирусов, особенно термолабильных (S, Y).

Сорт Гатчинский, использованный в опыте, описанном выше, относительно устойчив к вирусу Y. Вероятно, именно этим объясняется позднее накопление вируса и падение его концентрации во второй половине вегетации.

Известно, что серологическая определяемость вируса M в большой мере зависит от относительной устойчивости сорта к этому вирусу. У восприимчивых к нему сортов-носителей (Столовый 19, Сако и др.) вирус обнаруживается, как правило, во всех растениях. У сортов, относительно устойчивых, с помощью серологической и индикаторной диагностики можно обнаружить три категории растений: с положительной реакцией на вирус M, с отрицательной серореакцией, но содержащие вирус, и свободные от него. При вегетативной репродукции клоны из первой категории могут переходить во вторую и наоборот [7]. В этой связи представляют интерес данные серодиагностики вируса M в трех последовательных клубневых репродукциях относительно устойчивого сорта Лорх.

В результате серологического анализа партии растений сорта Лорх выделили две группы: I — с четкой положительной реакцией на вирус M и II — с отрицательной реакцией. Растения второй группы проверили затем путем заражения чилийского томата (*Lycopersicon chilense* Dup.). Клубни, полученные от растений первой группы, высадили весной в вегетационном домике. Развившиеся из них растения дважды в течение вегетации анализировали серологическим методом. В следующей клубневой репродукции, кроме серодиагностики, был проведен индикаторный анализ растений с отрицательной серореакцией на вирус M. Одновременно анализировали селекционный сеянец 156 — носитель вируса M (100 % положительных реакций).

При серодиагностике вируса M в растениях первой и второй репродукций сорта Лорх (I группа) процент положительных реакций составил соответственно 69,3 и 42,9, а у сеянца 156 — по 100. Индикаторный анализ растений второй репродукции сорта Лорх показал 100 % -ную зараженность.

Растения с отрицательной серологической реакцией на вирус M, отобранные в начале опыта (II группа), дали 25 % положительных реакций при заражении чилийского томата.

Эти данные показывают, что относительная устойчивость анализируемого образца может очень существенно снижать достоверность серодиагностики соответствующих вирусов. Вероятно, при высокой относительной устойчивости сорта серологическая реакция может полностью отсутствовать, однако растения могут оставаться источниками инфекции для восприимчивых сортов. Неизвестно, происходит ли в этих случаях подавление накопления вируса в целом или только его белково-

го компонента, но, вероятно, состояние вируса подобно тому, которое наблюдается в сеянцах от зараженного картофеля, когда вирус длительное время (часто в течение всей вегетации) не обнаруживается серологическим методом, но может быть диагностирован на растениях-индикаторах [7].

При испытании селекционных образцов на устойчивость к вирусам (иммунитет и сверхчувствительность) отсутствие серологической реакции после искусственного заражения также может быть связано с относительной устойчивостью образца.

Число известных факторов, влияющих на достоверность серологической диагностики вирусов растений, непрерывно увеличивается, однако имеющиеся сведения в большинстве случаев недостаточно точны для их практического использования. Несомненно, серологическая диагностика вирусов и в дальнейшем будет применяться в практике фитопатологических исследований, селекции и семеноводстве различных культур в возрастающих масштабах. Поэтому для эффективного ее применения наряду с разработкой новых, более чувствительных методов необходимо дальнейшее изучение биологических закономерностей, определяющих взаимоотношения вируса и растения-хозяина, ход инфекционного процесса и накопление вируса в растении. Методика серодиагностики должна быть скорректирована применительно к свойствам сорта, характеру зараженности материала, условиям вегетации растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амбросов А. Л., Блоцкая Ж. В. Влияние температуры на серодиагностику Y-вируса картофеля. — Изв. АН БССР, серия с-х. наук, 1972, № 2, с. 74—76.
2. Нурмисте Б. Х. О серологической определяемости вирусных инфекций у картофеля. — В кн.: Вирусолог. исследования на Дальнем Востоке. Владивосток, 1969, с. 183—185. — 3. Соболев Я. В. Серодиагностика вирусных болезней картофеля и пути повышения ее эффективности. — Автореф. канд. дис. Минск, 1975. — 4. Харламова М. И. Сроки серодиагностики вирусных болезней на картофеле сорта Гатчинский. — В кн.: Селекция и семеноводство картофеля. Л.: 1979, с. 135—137. — 5. Шмыгля В. А., Войтех А. Д. О возможности «оздоровления» картофеля в дву-урожайной культуре. — Докл. ВАСХНИЛ, 1970, № 8, с. 11—12. — 6. Шмыгля В. А., Герасимова К. Ф., Русинова Е. Я. Некоторые данные о серологических различиях M и S вирусов картофеля. — В кн.: Штаммы вирусов. Владивосток, 1977, с. 175—179. — 7. Шмыгля В. А., Русинова Е. Я., Лодочкин П. И. Диагностика вируса M картофеля. — Докл. ВАСХНИЛ, 1975, № 6, с. 13—15. — 8. Bercks R. — Mitt. DLG, 1959, Jg. 74, H. 41, S. 1195—1196. — 9. Mierzwa Z., Skórko B. — Biul. Inst. ziemniaka, 1974, № 13, S. 123—126. — 10. Neitzel K. — Arch. Züchtungsforsch., 1977, Bd 7, № 2, S. 79—83. — 11. Schick R., Klinkowski M. — Die Kartoffel. Berlin, 1962.

Статья поступила 9 июля 1981 г.