

---

## НОВЫЙ ПЕРЕНОСЧИК ВИРУСА X КАРТОФЕЛЯ — ГРИБ *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY

Х.Х. Али<sup>1</sup>, М.А. Келдыш<sup>2</sup>, Ю.И. Помазков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра ботаники, физиологии, патологии растений и агробиотехнологии  
Российский университет дружбы народов  
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

<sup>2</sup>Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН  
Российский университет дружбы народов  
ул. Ботаническая, 4, Москва, Россия, 127276

В статье рассматриваются доказательства участия зооспор гриба *Phytophthora infestans* в распространении X вируса картофеля. Также рассматриваются условия передачи вируса X картофеля. Минимальный период времени для приобретения вирофорности составил 12 часов, для передачи инфекции — 72 часа; после экспозиции суспензии зооспор на доноре в течение 24 часов эффективность передачи возростала. Найдено, что активность передачи и скорость распространения инфекции варьируют в зависимости от инфицируемого сорта и температуры почвы. В лабораторных экспериментах показано, что содержание нитратов в среде влияет на рост гриба *Ph. infestans* и на численность образующихся зооспор.

**Ключевые слова:** X вирус картофеля, грибы — переносчики вирусов, *Phytophthora infestans*.

Ввиду способности к массовому развитию и быстрому расселению грибов при благоприятных условиях на значительные территории их роль как переносчиков вирусов приобретает большое значение в связи с эпифитотийным характером таких инфекций. Однако существующие методические сложности изучения особенностей взаимоотношений вирусов с грибами, оценки их состояния, циркуляции и патогенных свойств в почве создают ограничения для соответствующих исследований. Более того, наиболее сложно контролировать распространение и защиту оздоровленных посадок картофеля от повторного заражения при участии именно почвенной инфекции [1].

В настоящее время способность к передаче почвенными грибами показана более чем для 30 вирусов из 11 родов (*Aureusvirus*, *Benyvirus*, *Bymovirus*, *Carmovirus*, *Dianthovirus*, *Furovirus*, *Necrovirus*, *Pecluvirus*, *Pomovirus*, *Tombusvirus* и *Varicosavirus*) [2]. К наиболее изученным можно отнести таких возбудителей, как вирус некроза табака (*Tobacco necrosis virus*), вирус некротического пожелтения жилок свеклы (*Beet necrotic yellow virus*), вирус мозаики петунии (*Petunia mosaic virus*) [3]. Среди доминирующих вирусов на картофеле, переносимых грибами, следует отметить вирус метельчатости верхушки картофеля (*Potato mop-top*). В Российской Федерации к изучению этой проблемы приступили совсем недавно [4]. Более того, до сегодняшнего дня остается спорным вопрос о передаче вируса X картофеля векторами грибной этиологии [5].

Вирус X картофеля, обычно вызывающий умеренную мозаику на листьях, распространен повсеместно: в Московской области поражение различных сортов

картофеля достигает 90% [6]. Важно отметить, что вирус способен снижать урожай даже при отсутствии внешних симптомов поражения. Потери урожая при этом могут достигать 25%, а при комплексных инфекциях и на восприимчивых сортах картофеля — 50% и выше.

Первое сообщение о передаче вируса Х картофеля грибами относится к 1965 г. В работе Nienhaus и Stille [7] показана возможность передачи возбудителя зооспорами *Synchytrium endobioticum* (Schilb.). В дальнейшем этот факт получил подтверждение в исследованиях Lange [8]. По данным Richardson и French [9], к переносчикам вируса можно отнести также *Spongospora subteranea* (Wallr.) Lagerh.

*Phytophthora infestans* поражает более 90 видов растений, однако основной вред возбудитель наносит двум продовольственным культурам — картофелю и томатам [10]. Именно поражение картофеля повсеместно распространенным возбудителем грибной этиологии *Ph. infestans* является одной из причин низкой урожайности этой культуры в нашей стране (9—12 т/га): в отдельные годы недобор продукции при отсутствии мер борьбы может превышать 60—70% [11].

Развитие большинства видов *Phytophthora* по сравнению, например, с *Olpidium* проходит в определенном диапазоне экологических факторов и условий окружающей среды [1]. В частности, заражение растений вирусами при участии грибов-векторов в природе осуществляется посредством их подвижных стадий — зооспор, распространяющихся с почвенной влагой. Среди абиотических факторов, способных влиять на сроки формирования зооспорангиев и, в конечном итоге, на выход зооспор, особое место занимает температура. Активное инфицирование клубней картофеля зооспорами проходит при температуре 13—20 °С. При близких значениях (15—22 °С) отмечена передача вируса желтой мозаики ячменя грибом *Polymyxa graminis* Led. [12]. Зооспоры активно движутся в течение часа, после чего их активность заметно падает. При более высоких температурах почвы (более 30 °С) отмечено резкое снижение активности зооспор видов *Phytophthora*.

Сравнительный анализ степени поражения картофеля Х вирусом и распространения фитофтороза на ряде сортов свидетельствует о том, что между этими показателями существует коррелятивная связь [13; 14]. Более того, установлена способность вируса передаваться через почву [15]. Однако следует отметить, что ряд исследователей считают подобную взаимосвязь всего лишь результатом повышения восприимчивости инфицированных вирусом растений картофеля к грибу *Ph. infestans* [14].

**Материалы и методы исследования.** Суспензию зооспор *Ph. infestans* получали в условиях высокой относительной влажности (> 80%) после предварительного (на 40 мин.) погружения мицелия гриба, содержащего зооспорангии, в стерильную воду (10—14 °С). Для экспериментов по передаче вируса Х картофеля использовали суспензию в концентрации  $1 \times 10^3$  зооспор/мл. Концентрация зооспор рассчитывалась по числу зооспорангиев в поле зрения микроскопа при увеличении 400× (0 — контроль, 0,5 — 5—15, 1 — 16—35, 1,5 — 36—50, 2 — 51—70, 2,5 — 71—95, 3 — 96—125, 3,5 — 126—150). Несколько (3—5) капель

суспензии наносили на половинки клубней картофеля, инфицированных вирусом (сорт Малиновка), размещенные для сохранения режима высокой влажности в чашки Петри. Через 6, 12 и 24 час. пастеровской пипеткой часть суспензии отсасывали и переносили на половинку клубня здорового картофеля (остов Малиновка и Жуковский), которые инкубировали при температуре 15—18 °С при высокой влажности. В контроле использовали зооспоры после экспозиции на безвирусных клубнях. Спустя 3 и 6 дней клубни тестировали на содержание вируса «сэндвич»-методом ELISA (иммуоферментный анализ, ИФА).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ поражаемости ряда сортов картофеля вирусом X картофеля и грибом *Ph. infestans* в полевых условиях, проведенный нами (табл. 1), показывает, что уровень инфицирования возбудителями практически совпадает.

Таблица 1

**Распространение вируса X картофеля и гриба *Ph. infestans* на сортах картофеля**

Сорт	% поражения растений	
	вирусом X картофеля	фитофторозом
Малиновка	48	68
Жуковский	27	34
Ильинский	40	60,5
Романо	23	49
Луговской	83,5	50
Невский	50,2	47

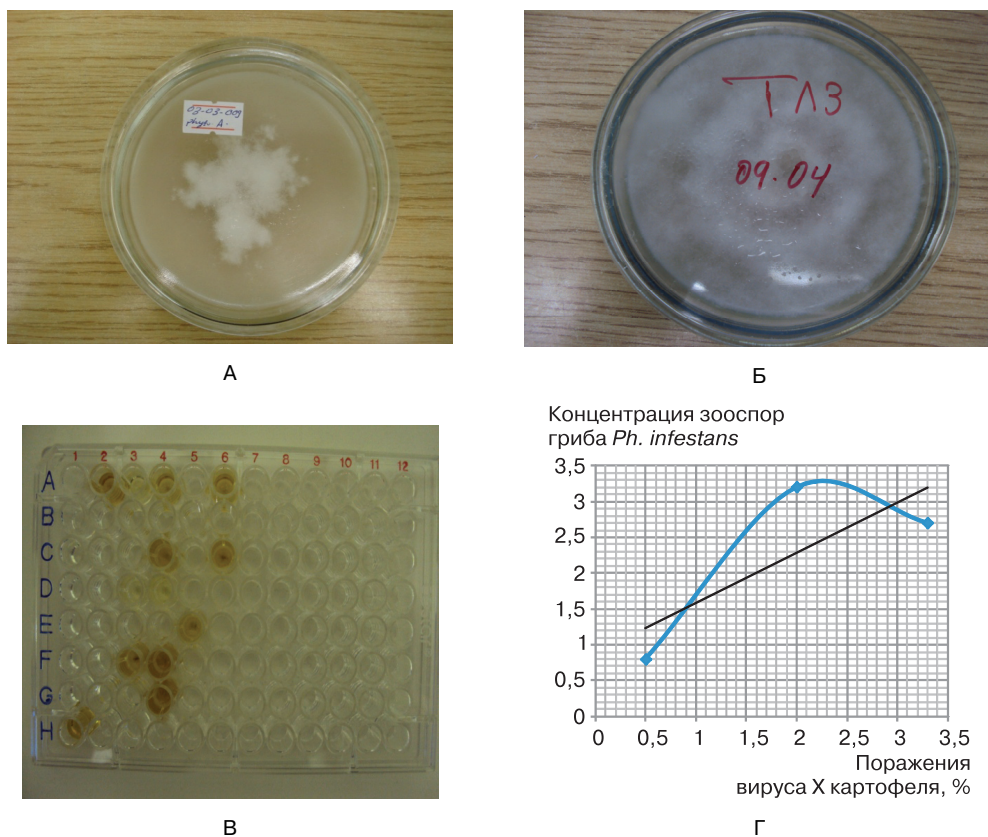
Оценка влияния температурного фактора на интенсивность формирования зооспор *Ph. infestans* показала, что оптимальным является режим в пределах 10—15 °С. Найдено, что в этих условиях образуется наибольшее количество зооспор гриба (табл. 2). Путем культивирования гриба на овсяном агаре удастся получать суспензии, содержащие до  $1 \times 10^3$  зооспор/мл. Как показали наши исследования, численность образующихся зооспор зависит также от содержания в питательной среде нитратов, в частности, азотнокислого натрия ( $\text{NaNO}_3$ ). Установлено, что при оптимальных условиях в присутствии нитратов (рис. 1, А, Б) и в зависимости от их концентрации (рис. 1, Г) рост мицелия фитофторы ускоряется, значительно увеличивается биомасса гриба. Очевидно, нитраты, которые являются элементами питания не только для почвенной микрофлоры [16], способствуют развитию патогенных форм микроорганизмов.

Таблица 2

**Влияние температуры на формирование зооспор *Ph. infestans***

Температура	Уровень выхода зооспор из зооспорангиев*
5°	–
5°	+
10°	+++
15°	+++
20°	++
25°	+
25°	–

\*Примечание: – отсутствие зооспор, + слабый, ++ сильный и +++ интенсивный уровень выхода.



**Рис. 1.** Влияние нитрата натрия на рост гриба *Ph. infestans*:

А — контроль без  $\text{NaNO}_3$ , Б контроль с 8 г/л  $\text{NaNO}_3$ . В — результаты ИФА клубней на зараженность вирусом X картофеля, заселенных инфицированными зооспорами *Ph. infestans* (лунка Н1 — контроль, G1 — отрицательный контроль, лунки А-2, 4, 6, С-4, 6, Е-5, F-3, 4, G-4 — положительные реакции); Г — активность заражения клубней картофеля (сорт Малиновка) вирусом в зависимости от концентрации зооспор

С помощью ИФА зарегистрирован факт передачи вируса X картофеля от больных к здоровым тканям клубня посредством *Ph. infestans* (рис. 1, В). Более того, в результате проведенных исследований векторных свойств различных биологических стадий гриба на 2-х безвирусных сортах картофеля — Малиновка и Жуковский — выявлена способность подвижной стадии гриба — зооспор — переносить инфекцию от больного растения к здоровому (табл. 3). Минимальный период времени для приобретения вирофорности составил 12 часов, для передачи инфекции — 72 часа, после экспозиции суспензии зооспор на доноре в течение 24 часов эффективность передачи возрастала. Найдено, что сорта различаются по своей чувствительности к возбудителю: в частности, эффективность заражения растений сорта Малиновка почти в 2 раза выше, чем растений сорта Жуковский. При этом положительная реакция ИФА наблюдалась уже через 3 дня после начала заселения здоровых тест-растений зооспорами, инфицированными на доноре. Показано, что активное заражение клубней картофеля и передача вируса X картофеля с помощью зооспор осуществляется при температуре 13—20 °С.

**Передача вируса X картофеля с помощью гриба *Phytophthora infestans* на здоровые клубни картофеля**

Вектор	Образцы с положительной реакцией ИФА, через 72 часа, кол-во; %*	
	Сорт картофеля	
	Малиновка	Жуковский
Зооспоры	7; 41	4; 23
Мицелий	0	0
Контроль	0	0

\*Примечание: кол-во тестируемых образцов — 17 для каждого сорта.

Таким образом, впервые показано, что с помощью почвенной стадии гриба *Phytophthora infestans* происходит передача и распространение вируса X-картофеля. Активность инфицирования зависит от температуры почвы, численности подвижных стадий гриба — зооспор и чувствительности сорта.

**ЛИТЕРАТУРА**

- [1] *Campbell R.N.* // Ann. Rev. Phytopathol. — 1996. — № 34. — P. 87—108.
- [2] *Kegler H.* The occurrence and behavior of plant pathogenic viruses in soil and waters / *Guertero R., Pe'dros-Alio`C.* Trends in microbial ecology. — Span. Soc. Microbiol. — 1993. — P. 623—626.
- [3] *Власов Д.Ю.* К вопросу о выделении грибов рода *Olpidium* — переносчиков вирусов / Сб. ст. Теория и практика использования иммунитета сельскохозяйственных культур к вирусным болезням. — Вильнюс, 1984. — С. 206—207.
- [4] *Замалиева Ф.Ф.* Почвенные вирусные инфекции на картофеле в Республике Татарстан // Информ. листок Тат. ЦНТИ. — Казань, 1995. — № 58—95.
- [5] *Власов Ю.И., Ларина Э.И.* Сельскохозяйственная вирусология. — М.: Колос, 1982.
- [6] *Козырова Н.И., Романенко Н.Д.* Распространение нематод семейства *Trichodoridae* — переносчиков Тобравивирусов в Московской области // Паразитология. — 2008. — Т. 11. — В. 42. — № 5. — С. 428—434.
- [7] *Nienhaus F., Stille B.* Ubertragung des Kartoffel-X-Virus durch Zoosporen von *Synchytrium endobioticum* // Phytopathologische Zeitschrift. — 1965. — № 54. — P. 335—337.
- [8] *Lange L.* *Synchytrium endobioticum* and potato virus X // Phytopathologische Zeitschrift. — 1978. — № 92. — P. 132—142.
- [9] *Richardson D.E., French W.M.* Evidence for the possible transmission of PVX by *Spongopora subterranea* (Abstr.) / 7th Triennial Conf. Europ. Ass. Potato Res.. — Warschawa, 1978. — P. 254—255.
- [10] *Erwin D.C., Ribeiro O.K.* *Phytophthora Diseases Worldwide.* — St. Paul, Minnesota, USA, American Phytopathological Society Press, 1996
- [11] *Стиглазова С.Ю.* Вредоносность и патогенные свойства возбудителя фитофтороза картофеля (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) в различных регионах Российской Федерации: Дисс. ... канд. биол. наук. — Большие Вяземы, 2004.
- [12] *Власов Д.Ю.* Особенности развития грибов родов *Polytuxa* и *Olpidium* в тканях сахарной свеклы // Бюлл. ВИЗР. — 1987. — № 68. — С. 66—68.
- [13] *Dowley L.J.* Effects of primary and secondary infection with potato virus X (PVX) on yield, size, chemical composition, blight resistance and cooking quality of potato variety Kerr's Pink // Potato Res. — 1973. — № 16. — P. 3—9.
- [14] *Kalra A., Grover R.K., Rishi N., Khurana S.M.* Interaction between *Phytophthora infectans* and potato viruses X and Y in potato // J. agric. Sci. — 1989. — № 112. — P. 33—37.

- [15] Salazar L.F. Potato Viruses and their Control. — Lima, Peru.-International Potato Center, 1996.
- [16] Гумаргалиева К.З., Калинина И.Г., Миронова С.Н., Мусеев Ю.В. Влияние нитратов на рост и развитие *Phytophthora infestans* (Mont.) D By. // Микология и фитопатология. — 1991. — Т. 25. — В. 1. — С. 53—56.

## NEW VECTOR OF THE POTATO VIRUS X — PHYTOPHTHORA INFESTANS (MONT.) DE BARY

Н.Н. Ali<sup>1</sup>, М.А. Keldish<sup>2</sup>, U.I. Pomaskov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of botany, plant physiology, plant pathology and agrobiotechnology  
Russian People's Friendship University  
*Miklucho-Maklay str., 8/2, Moscow, Russia, 117198*

The Main Botanical Garden, Russian Academy of Sciences  
Russian People's Friendship University  
*Botanical str., 4, Moscow, Russia, 127276*

Prove participation in the dissemination of the potato virus X zoospores of the fungus *Phytophthora infestans*. The minimum period for the acquisition viroformos was 12 hours of infection 72 hours after exposure to suspensions, zoospores at a donor within 24 hours, the efficiency of transmission increased. We found that the activity of transmission varies depending on the infected variety and soil temperature. And also influence of nitrates on growth and on number zoospores fungi Ph. *infestans*.

**Key words:** Potato virus X, Fungi-vectors viruses, *Phytophthora infestans*.