

На правах рукописи

КОЛЫЧИХИНА МАРИЯ СЕРГЕЕВНА

**ЗАЩИТА КАРТОФЕЛЯ ОТ ВИРУСОВ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДУКТОРОВ БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТИ**

Шифр и наименование научной специальности:

4.1.3. Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре защиты растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Научный руководитель: **Белошапкина Ольга Олеговна**
доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
профессор кафедры защиты растений ФГБОУ
ВО «Российский государственный аграрный
университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Официальные оппоненты: **Белов Григорий Леонидович**,
доктор сельскохозяйственных наук, старший
научный сотрудник отдела агротехнологий
ФГБНУ «Федеральный исследовательский
центр картофеля имени А. Г. Лорха»

Шнейдер Юрий Андреевич,
кандидат биологических наук, ведущий
научный сотрудник – начальник научно-
методического отдела вирусологии ФГБУ
«Всероссийский центр карантина растений»

Ведущая организация: ФГБУН «Федеральный исследовательский
центр «Казанский научный центр Российской
академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН)

Защита состоится 24.12.2024 г. в 14 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета 35.2.030.05 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет–МСХА имени К.А. Тимирязева», по адресу: 127434, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 19, тел/факс: 8 (499) 976-17-14.

Юридический адрес для отправки почтовой корреспонденции (отзывов): 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте Университета www.timacad.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 35.2.030.05,
кандидат биологических наук, доцент



И. М. Митюшев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Согласно современным данным, на долю вирусных болезней приходится около 47% от общего объема потерь урожая сельскохозяйственных культур от болезней растений (Dutta et al., 2022). Проблема вирусных патогенов остается актуальной для вегетативно размножаемых культур, таких как картофель, поскольку передача инфекции продолжается из поколения в поколение, что приводит к снижению урожайности, к ухудшению качества клубней и дальнейшему вырождению сортов (Лорх, 1968; Лебенштейн и др., 2005; Защита картофеля..., 2009; Стрельцова и др., 2014, Жевора и др., 2019).

Как в России, так и во всем мире, наиболее распространенной практикой решения задачи оздоровления картофеля и получения посадочного материала свободного от вирусов, является сочетание биотехнологических методов оздоровления и полевого клонового отбора. Указанная технология хорошо зарекомендовала себя на этапах оригинального и элитного семеноводства картофеля, но ее результаты существенно ослабевают на этапе семеноводства репродукционного. Это связано как с возможностью сохранения вирусов в зоне апикальной меристемы и их дальнейшего накопления в растениях, так и с реинфицированием посадочного материала в поле (Бабоша, Ладыгина, 1989; Лебенштейн и др., 2005; Гавриленко, 2005; Анисимов, 2010; Замалиева, 2013, 2016). Одним из возможных путей поддержания оздоровленного материала в исходном продуктивном состоянии в полевых условиях кроме контроля насекомых-переносчиков, является использование веществ, либо обладающих прямой антивирусной активностью, либо способных индуцировать естественные защитные механизмы растения (Колычихина, Белошапкина, 2018). В качестве таких соединений рассматриваются как вещества биогенной, так и абиогенной природы, например, производные азотистых оснований, фенолов, мочевины, арахиноновая, салициловая и янтарные кислоты, хитозансодержащие соединения, интерфероны и т.п. (Огарков, 1984; Постников и соавт., 1989; Pospieszny et al., 1991; Чирков, 2002; Гаспарян, 2013; Рябцева, 2014; Тютюрев, 2015; Павлова, 2016; Максимов и соавт., 2020).

Поскольку эти препараты не обладают универсальным действием на разных сортах против различных вирусов, необходимо продолжать поиски соединений наиболее эффективных на современном ассортименте сортов картофеля против доминирующих вирусных патогенов и их комплексов. Одним из таких перспективных соединений является Фармайод (Anson, 1941; Fraenkel-

Conrat, 1955; Келдыш, 2013; Kolychikhina, Beloshapkina, 2016), антивирусная активность которого на картофеле в полевых условиях практически не была изучена.

Степень разработанности темы. Результаты химиопрофилактики большого ряда вирусных болезней разных растений впервые наиболее полно были описаны в монографии А.Д. Бобыря (1976). Одними их первых в нашей стране работы с антивирусными препаратами на картофеле были проведены В.А. Шмыглей и К.В. Попковой (1980), впоследствии были продолжены Н.Ф. Кинякиным и Д.А. Постниковым (Шмыгля, 1985, 1990, 1991; Постников, 1990; Постников и соавт., 1989, 1993).

За рубежом подобные исследования были начаты в конце 1940-х годов (Mathews, 1953). Производные 2,4-диоксогексагидро-2,5-триазина (ДГТ), 2-хлорэтилфосфоновой кислоты (Кампозан), Рибавирин, хитозан, салициловая кислота, арахидоновая кислота, 2-тиоурацил и интерферон человека получили широкое распространение, как средства защиты картофеля от вирусов (Огарков, 1984; Бабоша, Ладыгина, 1989; Pospieszny et al., 1991; Pospieszny, 1995; Трофимец и др., 1997, РФ № 2072779; Чирков, 2002; Рябцева, 2011, 2014; Гаспарян, 2013; Тютерев, 2015; Николаев и соавт., 2016; Ким и соавт., 2022). Их добавляли как в питательные среды для выращивания регенератов из апикальных меристем, так и для обработки ими растений-доноров меристем (Baglioni, 1979; Cassels, Long, 1982; Klein, Livingston 1982; Rosenberg et al., 1985; Vicente et al., 1987; Bittner et al., 1989; Лебенштейн и др., 2005; Mahmoud et al., 2009; Panattoni et al., 2013; Karan et al., 2021). Были проведены единичные исследования по взаимодействию вируса табачной мозаики и соединений йода *ex vitro* (Anson, 1941; Fraenkel-Conrat, 1955).

Очень малая часть работ была посвящена исследованиям в полевых условиях для оздоровления исходных материнских растений или в качестве профилактических мер. С.Л. Тютеревым, Н.А. Павловой и Т.А. Евстигнеевой был проведен ряд исследований по изучению антивирусных свойств хитозана, салициловой кислоты, азоксистробина и их сочетаний против У-вируса не только путем добавления в питательную среду, но и при обработке вегетирующих растений (Евстигнеева, 2010, 2012; Павлова, 2015; Тютерев, 2015). Поскольку вредоносными являются и другие вирусы, поражающие как отечественные, так и зарубежные сорта картофеля, необходимо проводить расширенный поиск подобных препаратов и уточнять их свойства, в том числе

влияние на урожайность культуры и возможность внедрения в существующие на производствах технологии защиты растений.

Целью исследований была оценка биологической эффективности многоцелевых препаратов с противовирусными свойствами и их влияния на заражённость вирусами растений и на продуктивность и урожайность картофеля в полевых условиях.

В соответствии с поставленной целью решали следующие задачи:

1. Уточнить динамику проявления симптомов вирусов и их вредоносности на инфицированных растениях картофеля в зависимости от погодных условий и особенностей сорта.

2. Изучить влияние индукторов болезнеустойчивости в мелкоделяночных и производственных опытах на распространённость вирусных болезней и динамику содержания вирусов в растениях для защиты картофеля в полевых условиях.

3. Определить влияние индукторов на урожайность картофеля в мелкоделяночных и производственных опытах.

4. Оценить экономическую эффективность применения препарата Фармайод, ГР в системе защитных мер от вторичной вирусной инфекции.

Научная новизна. Впервые доказана биологическая эффективность применения препаратов Фармайод и Иммуноцитифит, как индукторов болезнеустойчивости против Y- и M-вирусов, а также комплексов вирусов картофеля в полевых условиях. Получены новые знания об изменении содержания Y- и M-вирусов картофеля под действием исследуемых препаратов: Фармайод, Иммуноцитифит, Вирон, Зерокс, Экогель, Амулет. Приоритетно уточнен механизм действия йода на вирусные болезни, рост и развитие растений картофеля. Уточнена динамика проявления симптомов разных вирусов под влиянием погодных условий и особенностей сорта. Показано, что уровень скрытой зараженности растений вирусами был значительно выше, чем визуально наблюдаемый уровень распространённости болезней, особенно в отношении моноинфекции S-вируса. Приоритетно экспериментально доказана возможность повышения урожайности заражённых растений в результате применения препаратов Фармайод и Иммуноцитифит.

Теоретическая и практическая значимость результатов проведенных исследований. Усовершенствованы элементы технологии защиты посадок картофеля от вирусной реинфекции Y-, M- и S- вирусов и их сочетаний применением препаратов разных химических классов против на вегетирующих

растениях современных сортов картофеля. Разработаны регламенты применения препарата Фармайод в качестве средства защиты растений от Y- и M-вирусов, а также комплексной вирусной инфекции картофеля в полевых условиях в наиболее оптимальные сроки с учетом исходной зараженности посадочного материала и возможного инфицирования растений в поле.

На основе полученных данных препарат Фармайод внесен в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории Российской Федерации. Включение препарата Фармайод в систему защиты картофеля от болезней способствовало увеличению рентабельности производства продовольственного картофеля в среднем на 9-12%, использование Иммуноцитифита – на 7-10% в зависимости от региона. Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе при изучении дисциплин, связанных с растениеводством и защитой картофеля, также в производстве семенного и товарного картофеля.

Методология и методы диссертационного исследования. При проведении работы использованы полевые и лабораторные методы вирусологических исследований, общепринятые методики: ГОСТ 59551-2021; Доспехов, 1985, а также методики проведения биохимических анализов растительных образцов, которые подробно изложены в разделе «Материалы и методы» соответствующей главы диссертации.

Положения, выносимые на защиту:

1. Как при явной вирусной симптоматике, так и при латентном течении заболевания происходит ухудшение биометрических показателей, снижение урожайности и потеря качества продукции на современных сортах картофеля в полевых условиях.

2. Препараты различных химических классов проявляют антивирусные свойства, а также выполняют роль индукторов неспецифического иммунитета растений разных сортов картофеля в полевых условиях

3. Препараты с антивирусным действием способствуют повышению урожайности низких репродукций картофеля в производственных посадках.

Степень достоверности и апробации результатов. Результаты и выводы работы обоснованы, достоверны и подтверждены статистической обработкой экспериментальных данных в программе Microsoft Excel. Основные результаты работы доложены на Всероссийской научной конференции с международным участием «Растениеводство и луговое хозяйство» (18-19 ноября 2020 г., РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва), конференции «Система питания и

интегрированная защита сельскохозяйственных культур на основе биологических препаратов» (30 января 2019 г., ЦАС-АГРОХИМ, г. Майкоп), конференции «Органическое сельское хозяйство и биологизация земледелия – состояние и перспективы» (21 ноября, 2019 г., организатор – ФГБНУ ВНИИБЗР, ВКК «Экспоград Юг», г. Краснодар), Международной научной конференции, посвященной 175-летию со дня рождения К.А. Тимирязева (4-6 декабря, 2018 г., РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва), VIII Международной научно-практической конференции «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» (20-22 апреля, 2016 г., РУДН, г. Москва). Результаты исследований были использованы для разработки регламентов применения пестицида Фармайод, ГР для включения его в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории Российской Федерации, 2022 г. (свидетельство о государственной регистрации № 3696 от 25 мая 2022 г., регистрант – ООО «НБЦ «Фармбиомед»).

Личный вклад соискателя. Работа является результатом оригинальных исследований. На 90% этапы работы были выполнены лично автором (обзор и анализ литературы по теме исследований, запланированные опыты и исследования, сбор и анализ, включая статистическую обработку, данных). Разработка программы исследований и выбор необходимых методов исследований выполнены при участии научного руководителя.

Публикации материалов исследований. По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 2 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 1 – в издании, входящем в международную реферативную базу данных Scopus.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 184 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), методической главы (глава 2), экспериментальной главы (главы 3), заключения, приложений (12), включает 20 таблиц и 27 рисунков. Библиографический список состоит из 240 наименований, в том числе 95 иностранных.

Глава 1. Вирусные болезни картофеля: современное состояние проблемы и меры борьбы (обзор литературы)

В главе приведен обзор вирусных болезней картофеля: изменений их патоконтекста, распространенности и вредоносности, роль векторов в условиях изменения климата; приведена характеристика распространенных в РФ вирусов картофеля, описаны методы диагностики и защиты от них растений, сделан обзор перспективных в качестве индукторов вирусоустойчивости соединений.

Глава 2. Условия, объекты и методы исследований

На участке лаборатории защиты растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в 2014-2019 гг. была заложена серия лабораторных и мелкоделяночных опытов. Полевые производственные опыты проводили в хозяйствах Астраханской (2016 г.), Липецкой (2015-2016 гг.) и Московской областей (2018 г.). В качестве растительных объектов в лабораторных и мелкоделяночных опытах были использованы растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) зарубежных и отечественных сортов, в том числе: Ред Скарлетт, Адретта, Ильинский. В полевых опытах использовали сорта, имеющиеся в хозяйствах: в Астраханской области – сорт Импала (II репродукция), в Липецкой области – сорт Рамос (II репродукция), в Московской области – сорт ВР 808 (I репродукция).

В мелкоделяночных экспериментах использовали репродукции изолятов моно-инфекций Y-вируса картофеля, M-вируса картофеля, S-вируса картофеля, полученные при искусственном заражении растений отдельных сортов методом прививки в 2001-2003 гг. с ежегодным подтверждением наличия вирусов методом ИФА, а также для сравнения – оздоровленные (сертифицированные) растения сортов Ред Скарлетт, Ильинский, Адретта.

Испытывали следующие препараты: Фармайод, ГР (100 г/л йода); Иммуноцитопит, ТАБ (20 г/кг этилового эфира арахидоновой кислоты); Экогель, ВР (30 г/л лактата хитозана); Амулет, ТАБ (композиция линейных полиаминосахаридов (хитозана) в растворе янтарной кислоты); Зерокс, ВКР (3000 мг/л коллоидного серебра); Вирон, ВРК (биостимулятор на основе мочевины и лимонной кислоты с добавлением эфирных масел).

Для оценки влияния вирусов на динамику роста и развития опытных растений проводили биометрические учеты в соответствии с методикой Государственного сортоиспытания с.-х. культур (1985). Визуальный учет каждого вида или комплекса исследуемых вирусов проводили в фазы полных всходов, бутонизации и по окончанию цветения растений картофеля. В мелкоделяночных опытах учитывали все растения каждого варианта каждого сорта, в производственных испытаниях осматривали совокупно по 100 растений, выбранных рендомизированно на площади каждого варианта.

Учеты распространенности (Р, %) и развития (R, %) вириозов проводили перед каждой обработкой препаратами и через 10 дней после выполнения заключительной обработки с предварительным отбором листовых проб для ИФА. Биологическую эффективность (БЭ, %) препаратов рассчитывали,

учитывая результаты визуальной оценки и метода ИФА по данным оптической плотности образцов (в производственных испытаниях выборочно).

Выявление и идентификацию вирусов проводили методами ИФА в модификации DAS-ELISA (double-antibody sandwich), а также выборочно – ОТ-ПЦР-РВ (ГОСТ 59551-2021) на базе Испытательной лаборатории «АгросервисДиагностика (ООО «НБЦ «Фармбиомед»)), в отделе биотехнологии и иммунодиагностики ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха» и в лаборатории вирусологии ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений».

Определение количества основных фотосинтетических пигментов и динамику их изменения под действием вирусов проводили на кафедре физиологии растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (Гавриленко, 1975). Основные биохимические показатели клубней определяли на базе ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха» (ГОСТ 28561-90; ГОСТ 7194-81; Р 4.1.1672-03, 2004).

В опытах в РГАУ-МСХА в период вегетации проводили трехкратные опрыскивания посадок изучаемыми препаратами по схеме (табл. 1): первая обработка – спустя 3 недели после появления всходов, последующие – с интервалом 7-10 дней. Контрольные растения опрыскивали водой. Учитывали по 15 растений каждого сорта в каждом варианте с 3-я повторностями.

Таблица 1. Схемы мелкоделяночных опытов с учетом включения/исключения отдельных препаратов в разные годы, 2014-2019 гг.

Вариант опыта	Норма расхода, л/га, г/га, кг/га	Год проведения испытаний					
		2014	2015	2016	2017	2018	2019
Фармайод, ГР	0,15	+	-	-	-	-	-
Фармайод, ГР	0,3	+	+	+	+	+	+
Иммуноцитифит, ТАБ	0,5	+	+	+	+	+	+
Экогель, ВР	3	-	-	+	+	-	-
Амулет, ТАБ	0,36	-	-	+	+	-	-
Вирон, ВР	0,45	-	-	-	-	+	+
Зерокс, ВКР	3	-	-	-	-	+	+
Контроль (вода)	300	+	+	+	+	+	+

В условиях 1-й, 2-й и 3-й почвенно-климатических зон РФ, соответственно, в хозяйствах Московской (2018 г.), Астраханской (2016 г.) и Липецкой (2015-2016 г.) областей в полевых условиях проводили изучение антивирусной активности и влияние на урожайность картофеля разных сортов препаратов

Фармайод, ГР и Иммуноцитифит, ТАБ. Ими трехкратно опрыскивали растения в фазу полных всходов, последующие – с интервалом 10-14 дней. В хозяйстве Московской области дополнительно был включен вариант с предпосадочной обработкой клубней и с 4-м опрыскиванием вегетирующих растений сразу после цветения. Контрольные участки обрабатывали согласно стандартной схеме, принятой в хозяйствах.

Статистическую обработку данных проводили методом дисперсионного анализа и рассчитывали коэффициенты вариации и корреляции (Доспехов, 1985) и с помощью пакета анализа Excel. Экономическая оценка эффективности применения препарата Фармайод проведена на основании технологических карт по общепринятой методике.

Глава 3. Результаты и обсуждения.

3.1. Симптоматика изучаемых вирусов на сортах картофеля в полевых условиях

Y-вирус картофеля на растениях сорта Ред Скарлетт проявлялся в виде характерной морщинистой мозаики листьев практически на протяжении всех лет исследований на полях лаборатории защиты растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Также часто встречались растения с сильным угнетением роста, недоразвитием и деформацией листьев. Кроме того, в отдельные годы (2017, 2018) у 18-27% клубней, полученных от пораженных растений этого сорта, отмечали в мякоти различные чаще округлые некрозы коричневого-ржавого цвета. Многие клубни были деформированы, имели уродливую форму и низкую массу, визуально сильно отличались от требуемого стандарта. В производственном опыте в хозяйстве Московской области на растениях картофеля сорта ВР 808 Y-вирус вызывал слабое развитие хлоротической мозаики на верхних листьях, многовершинность и деформацию листьев, общее угнетение. На картофеле сорта Рамос (Липецкая область) на растениях, пораженных PVY, отмечали морщинистость и деформации листьев, недоразвитость растений, карликовость.

На пораженных M-вирусом растениях картофеля сорта Адретта отмечали мозаичность большинства листьев, а также скручивание и волнистость краев верхних листьев, особенно сильно проявившихся в первый год (2014) закладки мелкоделяночного полевого опыта. В последующие годы такие четкие симптомы наблюдали на единичных растениях в период бутонизации. На старых листьях симптомы вируса заметно ослабевали или исчезали вовсе, таким образом M-вирус находился в растениях преимущественно в форме латентной

инфекции. При этом клубни мельчали, встречались единичные деформированные клубни, но внутренних некрозов не было.

На протяжении всего периода исследований визуальные признаки заражения растений сорта Ильинский практически отсутствовали или проявлялись очень слабо. Для достоверного подтверждения наличия S-вируса в опытных растениях использовали метод ИФА. На референсных растениях отмечали следующие симптомы: общее осветление листьев, слабая морщинистость и складчатость, измельчение клубней. Только в 2014 году, который отличался особо засушливым вегетационным периодом, вирус проявился в виде уменьшения размера долей листьев с краевым некрозом на них.

В производственных опытах был обнаружен комплекс M и S вирусов на растениях картофеля сортов Рамос (Липецкая область) и Импала (Астраханская область). Среди сопутствующих симптомов были отмечены неровность и волнистость краев долей, в большей степени верхушечных, листьев, слабый межжилковый хлороз и осветление их, скручивание листьев по главной жилке. На обоих сортах встречались отдельные растения, сильно отстающие в росте.

Комплекс из трёх вирусов картофеля (Y, M, S) был обнаружен в хозяйстве Астраханской области на сорте Импала. Среди симптомов на листьях наиболее часто встречались: волнистость краёв листьев, скручивание и слабая складчатость долей листьев, хлоротическая мозаика. Отмечены раскидистость, нехарактерная для сорта, и общее недоразвитие растений.

В мелкоделяночных опытах нами была установлена тенденция по снижению высоты и общей облиственности зараженных вирусами растений в течение всего периода исследований.

Наибольшая разница в росте между зараженными PVY и оздоровленными контрольными растениями сорта Ред Скарлетт составила 27,78% (2014 г.) и 19,67% (2019 г.), что подтверждает общее отрицательное влияние Y-вируса. Так, в 2019 году средняя высота растений составила 0,49 м, что в 1,25 раза ниже значения, характерного для здоровых растений данного сорта. Кроме угнетения роста у зараженных вирусом растений отмечено сокращение числа продуктивных стеблей в среднем на 1,18.

На высоту растений, количество стеблей и общую облиственность кроме вирусов большое влияние оказывали и погодные условия, которые различались по годам. При учете количества стеблей на 1 кусте нам не удалось установить четкую зависимость между изменчивостью указанного признака и видом вируса (исключение – PVY), но была отмечена его взаимосвязь с метеорологическими

условиями вегетационного периода. Наиболее благоприятные условия для выращивания картофеля сложились в 2015 году, а самые значительные отклонения от контрольных параметров были зафиксированы в засушливом 2014 году.

3.2. Выявленная вредоносность вирусов картофеля

В результате нашей работы мы выяснили, что урожайность зараженных вирусами растений во все годы была меньше, чем у здоровых растений тех же сортов, выращиваемых в тех же условиях с одинаковой агротехникой (табл. 2). В среднем за период испытаний 2014-2019 гг. в мелкоделяночных опытах урожайность инфицированных вирусами растений сорта Ильинский снизилась на 48,8%, сорта Ред Скарлетт – на 54,9%, сорта Адретта – на 52,3% от максимальных значений, полученных в 2015 г.

Начиная с 2016 года, мы наблюдали последовательное снижение урожайности всех опытных сортов при незначительном варьировании погодных условий следующих лет. Таким образом, прямой негативный эффект воздействия вирусов на урожайность был отмечен на третьем году выращивания картофеля из посадочных клубней, полученных от зараженных растений.

Таблица 2. Динамика снижения урожайности зараженных вирусами растений, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014-2019 гг.

Сорт картофеля	Вирус	Урожайность, кг/м ²					
		2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.
Ред Скарлетт	PVY	1,51	2,35	1,93	1,36	1,20	1,06
Ред Скарлетт	-	3,20	3,76				3,51
НСР ₀₅ = 0,45							
Адретта	PVM	3,03	3,53	3,29	2,73	2,34	2,16
Адретта	-	3,57	4,12				4,02
НСР ₀₅ = 0,40							
Ильинский	PVS	1,80	2,15	1,46	1,40	1,15	1,10
Ильинский	-	2,05	2,77				2,56
НСР ₀₅ = 0,47							

При учете продуктивности с 1 куста и подсчете количества клубней было установлено, что пораженность сорта вирусами практически не влияет на их количество. Оно является устойчивым показателем сорта, и незначительно изменяется в зависимости от климатических условий года исследований. Общее количество клубней слабо варьировало по годам как у зараженных, так и у оздоровленных растений. Коэффициент вариации в общем по сортам составил 2,79-6,90%.

У сорта Ред Скарлетт вследствие негативного влияния Y-вируса существенно снизилось число товарных клубней, которое в среднем по годам составило 3,6 шт./куст при 8,1 шт./куст в оздоровленном контроле. Полученные от зараженных растений клубни сильно отличались по размеру, что повысило коэффициент вариации по показателю массы клубней с 1 куста до 32,82% при норме 7,52% в варианте с оздоровленными растениями.

На растениях сорта Ильинский, зараженных S-вирусом картофеля, коэффициент вариации средней массы клубней с 1 куста составил 36,41%. Это обусловлено формированием более мелких клубней в каждой последующей репродукции, что является основным фактором вредоносности указанного вируса. В результате вредное воздействие PVS отразилось на выходе товарных клубней сорта – 5,5 шт./куст при 8,9 шт./куст в контрольном варианте.

M-вирус не оказал значительного влияния на общее количество клубней на 1 кусте, но доля товарных клубней снизилась до 71,57%, при коэффициенте вариации по годам – 20,39%.

Согласно результатам проведенных нами учетов, наибольшее негативное влияние исследуемых вирусов на продуктивность картофеля было выражено в существенном снижении массы и сокращении числа товарных клубней.

К 2019 году доля клубней весом <40 г на сорте Ред Скарлетт увеличилась до 20,08%. И хотя доля клубней средней фракции не претерпела существенных изменений, общее увеличение процента клубней весом <60 г. достигло 34%. Кроме того, большинство клубней весом 40-60 г. имели отклонения от стандартной характерной для сорта удлинено-овальной формы клубня. Вредоносность Y-вируса на сорте Ред Скарлетт проявилась как в снижении средней массы 1 клубня во всех фракциях, так и в снижении выхода товарных клубней при незначительном изменении соотношения фракционного состава.

Негативное влияние M-вируса на сорте Адретта проявилось не увеличением числа мелких клубней, а снижением массы 1 клубня средней и крупной фракций. Итоговое значение средней массы 1 клубня с 2014 по 2019 гг. составило 75,10 г против 86,3 г, полученного в период 2014-2016 гг.

При анализе структуры урожая на сорте Ильинский наблюдали стабильный рост доли мелких клубней весом менее 60 г на фоне уменьшения количества клубней весом >80 г. Количество клубней весом 60-80 г к 2019 году составляло 45,99%, при этом доля общего числа клубней весом <80 г. в последний год испытаний достигла 25%. S-вирус картофеля не оказывал влияния на морфологию клубней, которые сохраняли характерную для сорта округло-

овальную форму, не отмечалось и существенного снижения средней массы 1 клубня средней фракции. Снижение урожайности и выхода товарных клубней на сорте Ильинский в первую очередь было связано с возросшей долей клубней весом <60 г. Таким образом, зараженные растения формировали все большее число мелких клубней.

Наблюдаемые нами нарушения окраски листьев по типу межжилкового хлороза и мозаики, указывали на гибель хлоропластов в клетках растений. Для подтверждения этого предположения в 2014, 2015 и 2019 гг. нами была проведена серия определений содержания основных фотосинтетических пигментов в листьях больных и оздоровленных растений. Максимальное снижение содержания основных фотосинтетических пигментов в листьях наблюдали на растениях, зараженных Y-вирусом. При этом содержание общего хлорофилла снизилось на 30,89%, хлорофилла *b* снизилось на 36,39%.

В наших опытах была установлена достоверная зависимость между концентрацией хлорофилла *b* и урожайностью картофеля в 2014 и 2019 гг., но такую же зависимость наблюдали и для концентрации каротиноидов (табл. 3). Мы предполагаем, что это было связано с ролью данных пигментов в механизме адаптации растений к неблагоприятным абиотическим факторам, таким как засуха. Следовательно, при снижении хлорофилла *b* и каротиноидов, в результате негативного влияния фитопатогенных вирусов, снижается засухоустойчивость растений, что также влияет и на их урожайность.

Таблица 3. Корреляционная зависимость между урожайностью картофеля сортов Ред Скарлет, Ильинский, Адретта и концентрациями основных фотосинтетических пигментов, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Год исследований	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a</i> / Хлорофилл <i>b</i>
2014	0,7465	0,8202*	0,8645**	-0,9171
2015	0,3069	0,5393	0,4114	-0,8437
2019	0,6565	0,8150*	0,8465*	-0,9727

* значения достоверны на 5%-ном уровне значимости

** значения достоверны на 1%-ном уровне значимости

Один из основных показателей качества картофеля, влияющий на его пищевую ценность, выход и качество различных картофелепродуктов – количество в клубнях сухого вещества, в котором содержится 70-80% крахмала, а оставшиеся 20-30% приходятся на сахара, общий азот, белок, жиры, целлюлозу и золу (Гумеров, 2016).

В 2019 году в варианте с зараженными Y-вирусом растениями сорта Ред Скарлетт содержание белка снизилось до 1,2% при неизменном содержании крахмала и сухого вещества. Биохимический анализ клубней сорта Адретта (PVM) показал снижение количества сырого протеина с 2% до 1,4%, при этом показатели количества крахмала (13,7%) и сухого вещества (22,68%) находились на уровне средних сортовых значений. S-вирус не оказал влияния на биохимические показатели картофеля сорта Ильинский.

Согласно полученным данным, в наших испытаниях исследуемые вирусы не вызвали достоверного снижения содержания сухого вещества и крахмала в исследуемых сортах и, несмотря на небольшие варьирования, все значения находились в пределах допустимых для сортов.

3.3. Изучение эффективности ряда препаратов против PVY, PVM и PVS вирусов картофеля в мелкоделяночных опытах

Нами были проведены испытания ряда многоцелевых препаратов-индукторов разных химических классов для установления их противовирусного действия и оценки их биологической эффективности на зараженных растениях картофеля.

По данным визуальных учетов биологическая эффективность трехкратной обработки растений Фармайодом с нормой расхода 0,3 л/га против Y-вируса картофеля на сорте Ред Скарлетт составила в среднем по годам 73,7%. Биологическая эффективность применения Иммуноцитифита (эталон) – 46,9%. Прочие испытываемые регуляторы роста показали недостаточную биологическую эффективность: Амунет – 29,2%, Экогель – 35,9%, Зерокс – 31,3%, Вирон – 27,8%. Мы также установили, что средняя (по годам) биологическая эффективность испытываемых препаратов против M-вируса картофеля составила: Фармайода – 63,8% при норме расхода 0,3 л/га, Иммуноцитифита – 46,9%, Амунета – 39,9%, Экогеля – 47,6%, Зерокса – 35,8%, Вирона – 33,6%. На протяжении всех лет испытаний с 2014 по 2019 гг. средний уровень биологической эффективности обработок Фармайодом в дозе 0,3 л/га против S-вируса был 13,7%, Иммуноцитифитом – 8,8%, Вироном – 6,2%. Для Амунета, Экогеля и Зерокса это значение составило 7,2% в каждом случае.

Результаты ИФА показали, что уровень скрытой зараженности растений исследуемыми вирусами был значительно выше, чем визуально наблюдаемый уровень распространенности болезней. Была проведена дополнительная оценка биологической эффективности изучаемых препаратов по изменению процента

скрыто зараженных растений. Полученные данные сравнивали между собой (рис. 2, 3, 4).

Согласно результатам анализа листовых проб, против Y- и M-вирусов картофеля наиболее эффективным в течение всего периода проведения испытаний было трехкратное применение препарата Фармайод с нормой расхода 0,3 л/га. Биологическая эффективность данного варианта на растениях сорта Ред Скарлет против PVY в среднем по годам составила – 92,6%, на сорте Адретта против PVM – 70,9%. Биологическая эффективность Иммуноцитифита против Y-вируса составила 44,7%, против M-вируса – 54,5%, Амулета – 27,3 и 22,2%, Экогеля – 29,7 и 14,8%, Зерокса – 37,3 и 33,5%, Вирона – 26,1 и 22,3%, соответственно.

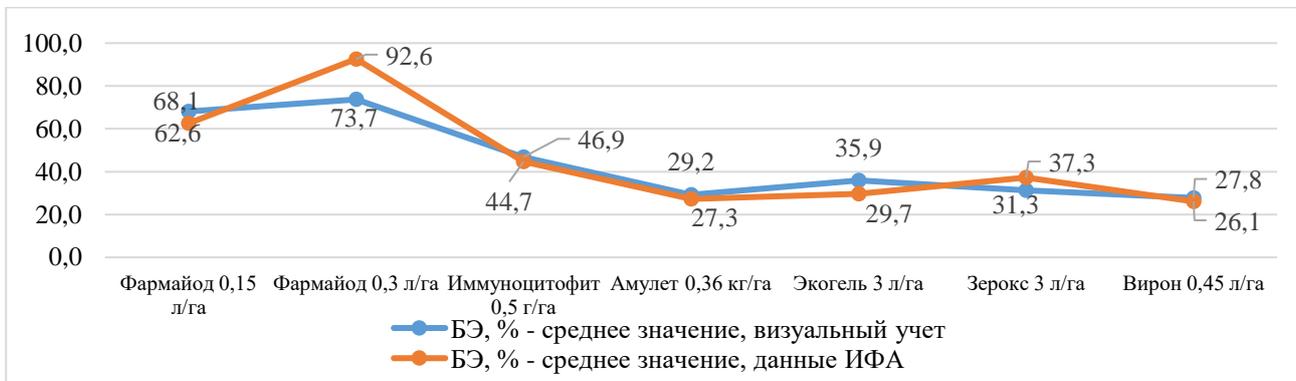


Рисунок 1 – Показатели биологической эффективности препаратов на сорте Ред Скарлетт (PVY) в мелкоделеляночных полевых опытах, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014-2019 гг.

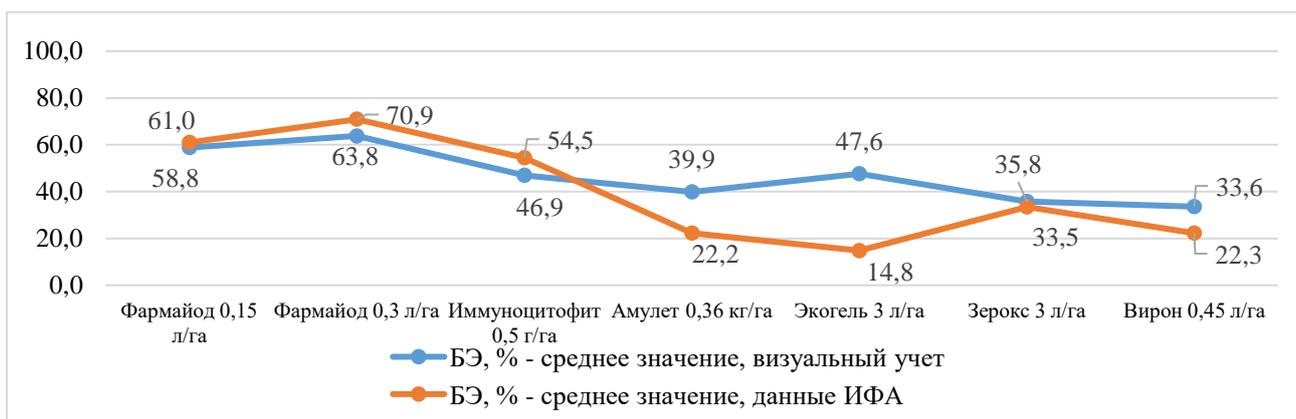


Рисунок 2 – Показатели биологической эффективности препаратов на сорте Адретта (PVM) в мелкоделеляночных полевых опытах, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014-2019 гг.

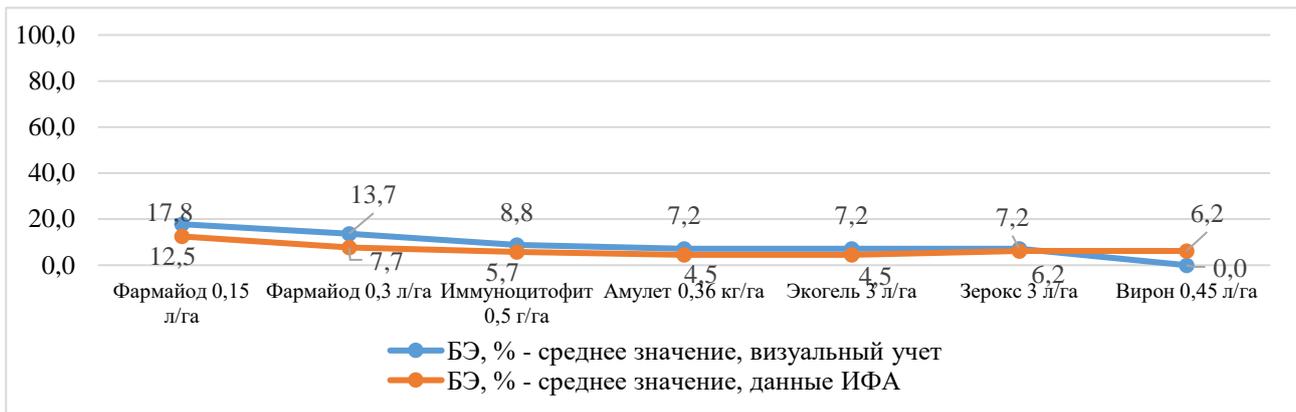


Рисунок 3 – Показатели биологической эффективности препаратов на сорте Ильинский (PVS) в мелкоделяночных полевых опытах, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014-2019 гг.

Ни один из испытываемых препаратов не оказал существенного влияния на элиминацию S-вируса картофеля. Средняя биологическая эффективность на основе анализа проб всех опытных вариантов составила 6,8%. Мы предполагаем, что это явление непосредственно связано с особенностью локализации вируса в клетке растения, поскольку основная масса вирусных частиц сконцентрирована в непосредственной близости от ядра (Hiruki, Shukla, 1973). Вероятно, активные компоненты препаратов не способны туда проникнуть или не способны проникнуть в необходимом для подавления вируса количестве (Kolychikhina, Beloshapkina, 2016).

3.4. Изучение влияния ряда препаратов на урожайность оздоровленных растений картофеля в мелкоделяночных опытах

Несмотря на неодинаковую биологическую эффективность в отношении снижения вирусной нагрузки в растениях, все испытываемые препараты демонстрировали положительную тенденцию к сохранению/увеличению урожайности картофеля на всех опытных сортах (рис 4.).

Прибавка урожая клубней в вариантах с применением Фармайода в среднем по сортам составляла 1,3 кг/м², Иммуноцитифита – 0,9 кг/м², Вирона – 0,74 кг/м², Амулета – 0,57 кг/м², Экогеля – 0,46 кг/м², Зерокса – 0,42 кг/м².

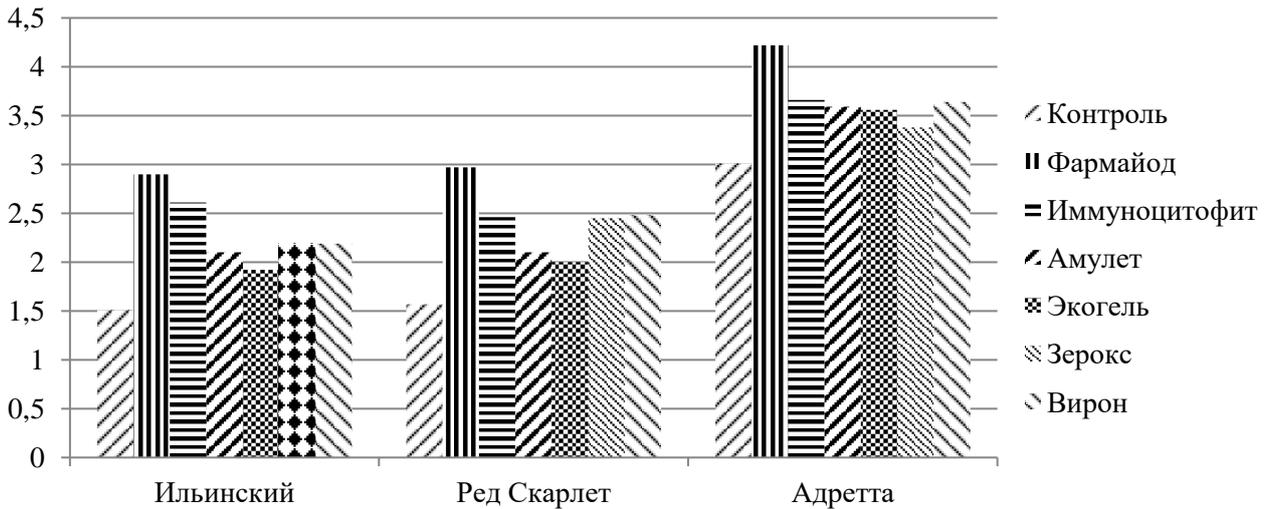


Рисунок 4 – Влияние антивирусных препаратов на среднюю урожайность (кг/м²) зараженных вирусами растений картофеля за период испытаний, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014-2019 гг.

3.5. Оценка биологической эффективности индукторов болезнеустойчивости против вирусов картофеля в полевых условиях и экономическая оценка рентабельности их применения

В 2015-2016 гг., 2018 г. в хозяйствах Астраханской, Липецкой и Московской областей нами были проведены производственные испытания препаратов Фармайод и Иммуноцитифит, которые продемонстрировали высокую антивирусную активность в мелкоделяночных опытах.

В Липецкой области на испытываемом сорте Рамос доминировал Y вирус картофеля (PVY). Его распространенность в целом на поле в 2015 г. составила 10%, в 2016 г. – 15%. Также был выявлен комплекс вирусов PVM+PVS с распространенностью 19% в 2015 г. и 27% в 2016 г. За 2015-2016 гг. испытаний средняя биологическая эффективность применения Фармайода составила 73,1%, Иммуноцитифита – 52,4%. Прибавка урожайности в Липецкой области в 2015 году в варианте с применением Фармайода составила 9,1 т/га, Иммуноцитифита – 3,8 т/га при урожайности в контрольном варианте – 24,0 т/га. В 2016 г. прибавка валовой урожайности составила 6,8 т/га и 3,3 т/га для Фармайода и Иммуноцитифита соответственно, при урожайности в контроле – 19,5 т/га.

В Астраханской области по результатам ИФА было установлено, что доминирующими вирусными комплексами на сорте Импала практически в равных долях были PVM+PVS – 24% и PVM+PVS+PVY – 21% (моноинфекция обнаружена не была). Биологическая эффективность применения препарата

Фармайод на сорте Импала составила 73,2%, Иммуноцитифита – 53,3%. Прибавка от применения Фармайода была 8,6 т/га, от Иммуноцитифита – 5,2 т/га при средней урожайности без обработок – 18,9 т/га.

В хозяйстве Московской области по результатам ИФА исходный процент заражения Y-вирусом посадочного материала картофеля сорта ВР 808 составлял 23,3%. В фазу полных всходов распространенность вируса возросла до 31%. Зараженность вегетирующих растений Y-вирусом картофеля после проведения трех обработок препаратом Фармайод уменьшилась в опытном варианте до 16%, оставаясь в контроле на уровне 31%. По результатам ИФА листовых проб, биологическая эффективность препарата Фармайод после 3-й обработки составила 74,9%, после проведения 4-й обработки – 81,8%. После уборки урожая был проведен ИФА тканей этиолированных проростков клубней нового урожая, который показал, что в образцах после применения Фармайода выявлено 6% заражённых клубней, с контрольной делянки Y-вирус выявлен в 14% клубней.

При проведении оценки экономической эффективности рентабельность применения Фармайода составила 26,22%, превысив рентабельность стандартной технологии на 9,65%, Иммуноцитифита – 26,56%, что на 9,99% было выше контроля (табл. 4).

Таблица 4. Экономическая эффективность применения препаратов Фармайод и Иммуноцитифит на примере технологической карты производства картофеля в Астраханской области, 2016 г.

№	Показатель	Фармайод	Иммуноцитифит	Стандартная технология
1	Урожайность, ц/га	274	241	189
2	Цена реализации 1 ц, руб.	1 056	1 056	1 056
3	Выручка от реализации с 1 га, руб.	289 344	254 496	199 584
4	Прямые затраты труда на 1 га, чел.-ч	74,8	74,8	66,21
5	Прямые затраты труда на 1 ц, чел.-ч:	0,27	0,27	0,35
6	Производственные затраты, руб.	209 884,00	194 330,81	155 834,28
8	Производственная себестоимость 1 ц, руб.	766,94	806,35	824,52
7	Полная себестоимость, руб.	855,14	899,08	919,34
9	Прибыль на 1 га, руб.	55 035,64	48 966,38	25 828,74
10	Уровень рентабельности, %	26,22	26,56	16,57

Заключение

В ходе многолетних полевых и лабораторных исследований, целью которых была оценка перспектив применения ряда препаратов против вирусных болезней картофеля в полевых условиях, были получены следующие **выводы**:

1. Уточнена симптоматика вирусов на разных сортах картофеля. В мелкоделяночных опытах Y-вирус картофеля вызывал на зараженных растениях четко идентифицируемые симптомы как на надземных органах, так и на клубнях. Наиболее типичные симптомы проявления M-вируса наблюдали в засушливые годы на бедном агрофоне, в отдельные годы признаки поражения растений этим вирусом отсутствовали. Визуальные признаки поражения растений картофеля S-вирусом в моноинфекции отсутствовали или проявлялись в короткий период времени отрастания листьев. Сходные симптомы наблюдали на растениях в производственных опытах.

В Липецкой и Астраханской областях внешних проявлений вирусных болезней в фазу полных всходов не выявили, они появились в фазу цветения. Анализ методом ИФА показал наличие на картофеле сорта Рамос (Липецкая область) Y-вируса картофеля ($P = 10-15\%$), а вирусы M и S встречались не в моноинфекции, а в комплексе друг с другом ($P = 19-27\%$). В Астраханской области на сорте Импала вирусные патогены встречались только в комплексах: PVM+PVS ($P = 24\%$) и PVM+PVS+PVY ($P = 21\%$).

2. Установлена тенденция по снижению высоты и общей облиственности зараженных Y-вирусом растений в течение всего периода исследований в мелкоделяночных опытах. Вирусы M и S не оказывали существенного влияния на данные показатели. Наибольшее снижение высоты, практически в 1,5 раза, отмечали у зараженных Y-вирусом растений сорта Ред Скарлетт в сравнении с оздоровленными растениями. Облиственность в среднем по годам снизилась на 17,7%. На фоне заражения Y-вирусом снижалось содержание основных фотосинтетических пигментов в листьях: содержание общего хлорофилла – на 30,89%, хлорофилла *b* – на 36,39%.

В результате негативного влияния вирусов достоверно снижалась урожайность опытных растений. Максимальная разница между урожайностью оздоровленных и больных растений была отмечена в 2019 году на картофеле сорта Ред Скарлетт, зараженного PVY – 69,9%, M-вирус вызывал снижение урожайности на 46,3%, а S-вирус – на 57,0%. В среднем за период 2014-2019 гг. урожайность инфицированных вирусами растений сорта Ильинский снизилась на 48,8%, Адретта – на 52,3%, Ред Скарлетт – на 54,9%. На сорте Ред Скарлетт

Y-вирус вызвал снижение средней массы 1 клубня на 43,5%; M-вирус на сорте Адретта – на 30,7%; на сорте Ильинский S-вирус увеличил долю клубней мелкой фракции на 23,1%.

3. В условиях мелкоделяночного опыта наибольшая биологическая эффективность против PVY выявлена у препарата Фармайод при трехкратном опрыскивании растений – 92,6%, что в среднем по годам на 47,9% выше, чем у эталонного препарата Иммуноцитифит. Эффективность Фармайода против PVM составила 70,9%, Иммуноцитифита – 54,5%. Биологическая эффективность препаратов Амулет, Экогель, Зерокс и Вирон против Y-вируса была, соответственно: 27,3, 29,7, 37,3 и 26,1%, а против M-вируса – 22,2, 14,8, 33,5 и 22,3 %. Ни один из изучаемых препаратов не оказал значимого влияния на содержание S-вируса в анализируемых растениях.

В производственных условиях Липецкой области (2016 г.) биологическая эффективность препарата Фармайод против Y-вируса составила 79,1%, эталона – 47,9%. В хозяйстве Московской области в варианте с трехкратным опрыскиванием этот показатель был равен 74,9%. В Липецкой области эффективность Фармайода против комплекса вирусов в целом на поле составила 75,2% (2015 г.) и 71% (2016 г.), эталона – 53,3 и 51,5%, соответственно. В Астраханской области этот показатель был равен 73,2%, у Иммуноцитифита – 53,2 %.

4. Испытываемые препараты оказали положительное влияние на повышение урожайности обработанных растений. После обработки Иммуноцитифитом средняя прибавка урожайности по годам на всех сортах картофеля в мелкоделяночных опытах составила 0,9 кг/м², в производственных опытах в Липецкой и Астраханской областях возросла на – 15,8-16,9 и 27,5%, соответственно. Средняя прибавка урожайности на всех сортах после трехкратного применения Фармайода была 1,3 кг/м², в производственных условиях Липецкой области урожайность возросла на 37,9-34,9%, в Астраханской области – на 45,5%.

5. Установлено, что в полевых условиях Фармайод и Иммуноцитифит имели устойчивую тенденцию к сохранению/увеличению урожайности зараженных растений разных сортов картофеля, как в мелкоделяночных опытах, так и в производственных условиях и повысили рентабельность производства низких репродукций картофеля до 26,5%.

Рекомендации производству

При выращивании семенного (посадочного материала, начиная с поколения «суперэлита», «элита») и для снижения накопления вирусов в более низких репродукциях картофеля, реализуемого на товарные цели, для защиты от вирусной реинфекции, рекомендуется включение в технологический процесс проведение трехкратной обработки вегетирующих растений 0,05-0,1%-ным раствором Фармайода, ГР (100 г/л йода) в указанные сроки: фаза всходов высотой 10-15 см, далее двукратно с интервалом между обработками 10-14 дней.

Список опубликованных работ по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Колычихина М.С. Оценка биологической эффективности индукторов устойчивости к вирусным болезням и их влияния на урожайность картофеля в полевых условиях / М.С. Колычихина, О.О. Белошапкина // Картофель и овощи. – 2021. – №10. – С. 32-36.

2. Колычихина М.С. Защита картофеля от вирусов в полевых условиях / М.С. Колычихина, О.О. Белошапкина // Картофель и овощи. – 2017. – №4. – С. 27-30.

Статьи, опубликованные в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных:

3. Kolychikhina M.S. Change in potato productivity under the impact of viral diseases / Kolychikhina M.S., Beloshapkina O.O. and Phiri C. / IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 663 (2021) (МБД – Scopus).

Статьи в других изданиях:

4. Kolychikhina M.S. Use of an iodine-based product against potato viruses / Kolychikhina M.S., Beloshapkina O.O. / Инновационные процессы в сельском хозяйстве: Сб. статей VIII Международной научно-практической конференции (Москва, 20-22 апреля 2016 г.); на англ. языке. – М.: Издательство "Спутник+". – 2016. – С. 31-33.

5. Колычихина М.С. Амулет, Иммуноцитопит, Фармайод и Экогель в защите картофеля от вирусов /М.С. Колычихина, О.О. Белошапкина/ Современные тенденции в научном обеспечении АПК Верхневолжского региона. Коллективная монография / под ред. Л.И. Ильина / ФГБНУ «Верхневолжский аграрный научный центр». – Иваново: ПресСто. – 2018. – Т.2. – С. 69-72.

6. Колычихина М.С. Положительное влияние препаратов с противовирусной активностью на продуктивность картофеля /М.С. Колычихина, О.О. Белошапкина/ Растениеводство и луговое хозяйство: материалы Всероссийской науч. конф. с международным участием/ под ред. А.В. Шитиковой. – М.: Изд-во РГАУ–МСХА. – 2020. – С. 501-505.

7. Колычихина М.С. Применение йодсодержащего препарата и регуляторов роста в защите картофеля от вирусных патогенов / М.С. Колычихина, О.О. Белошапкина / Становление и развитие науки по защите и карантину растений в Республике Казахстан: Сб. материалов Международной науч. конференции (Алматы, 6 декабря 2018 г.). – Алматы: ТОО «Казахский НИИ защиты и карантин растений им. Ж. Жиембаева». – 2018. – С. 384-388.