

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт информации
и технико-экономических исследований по инженерно-техническому
обеспечению агропромышленного комплекса»
(ФГБНУ «Росинформагротех»)

ПЕРЕДОВЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ

Научный аналитический обзор



Москва 2019

ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ НА ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЮЛЛЕТЕНЬ МИНСЕЛЬХОЗА РОССИИ

Информационный бюллетень Минсельхоза России выпускается ежемесячно тиражом более 4000 экземпляров и распространяется во всех регионах страны, поступает в органы управления АПК субъектов Российской Федерации. В журнале публикуются материалы информационно-аналитического характера о деятельности Министерства по реализации государственной аграрной политики, отражаются приоритеты, цели и направления развития сельского хозяйства и сельских территорий, материалы о мероприятиях, проводимых с участием первых лиц государства по вопросам развития отрасли, освещается ход реализации Госпрограммы на 2013-2020 годы.

Вы прочтете проблемные статьи и интервью с руководителями регионов, ведущими учеными-аграрниками, руководителями сельхозпредприятий и фермерами. Широко представлены новости АПК регионов.

В приложении к Информационному бюллетеню публикуются официальные документы – постановления Правительства России, законодательные и нормативные акты по вопросам АПК, приказы Минсельхоза России.

**Подписку можно оформить через Роспечать (индекс 37138)
и редакцию с любого месяца и на любой период,
перечислив деньги на наш расчетный счет.**

**Стоимость подписки на второе полугодие 2019 г. с учетом доставки
по Российской Федерации – 2256 руб. с учетом НДС (10%);
376 руб. с учетом НДС (10%) за один номер.**

Банковские реквизиты: УФК по Московской области
(Отдел №28 Управления Федерального казначейства по МО)
ИНН 5038001475 / КПП 503801001 ФГБНУ «Росинформагротех»,
л/с 20486Х71280, р/с 40501810545252000104 в ГУ Банка России
по ЦФО БИК 044525000 в назначении платежа указать

**Журнал уже получают тысячи сельхозтоваро-
производителей России и стран СНГ**

В Информационном бюллетене Минсельхоза России
Вы можете разместить свои аналитические
и рекламные материалы, соответствующие целям
и профилю журнала. Размещение рекламы
можно оформить через ФГБНУ «Росинформагротех»
перечислив деньги на наш расчетный счет.

Телефоны для справок: 8 (496) 531-19-92,
(495) 993-55-83,
(495) 993-44-04.

Факс 8 (496) 531-64-90

e-mail: market-fgnu@mail.ru, ivanova-fgnu@mail.ru



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Российский научно-исследовательский институт информации и технико-
экономических исследований по инженерно-техническому обеспечению
агропромышленного комплекса»
(ФГБНУ «Росинформагротех»)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха»

ПЕРЕДОВЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ

Научный аналитический обзор

2019

УДК 632.08

ББК 44.9

П 27

Авторы:

**С.В. Жевора, В.Н. Зейрук, Г.Л. Белов, С.В. Васильева, М.К. Деревягина,
Б.В. Анисимов, В.И. Старовойтов, О.А. Старовойтова (ФГБНУ ВНИИКС);
Н.П. Мишуров, Л.А. Неменушая (ФГБНУ «Росинформагротех»);
А.А. Манохина, Н.А. Пискунова
(ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)**

Рецензенты:

**С.Н. Еланский, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. каф. микологии и альгологии
биологического факультета (МГУ имени М.В. Ломоносова);
В.П. Елизаров, д-р тех. наук, гл. науч. сотрудник (ФГБНУ ФНАЦ ВИМ)**

Передовые методы диагностики патогенов картофеля:
П 27 науч. анал. обзор. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – 92с.

ISBN 978-5-7367-1504-6

Рассмотрены современное состояние и основные направления развития защиты картофеля от болезней. Особое внимание уделено преимуществам и недостаткам наиболее распространённых методов диагностики патогенов этой культуры. Описаны передовые технологии выявления и идентификации болезней картофеля, в том числе на ранних довизуальных стадиях заражения и находящихся в латентной форме.

Предназначен для руководителей и специалистов сельскохозяйственных организаций, консультантов информационно-консультационных служб, студентов и преподавателей отраслевых колледжей и вузов.

Advanced methods for the diagnosis of potato pathogens: scientific analytic overview. – М.: Rosinformagrotekh, 2019. – 92 pp.

The current state and the main directions of development of the protection of potatoes from diseases are discussed. Particular attention is paid to the advantages and disadvantages of the most common methods for the diagnosis of pathogens of this culture. Advanced technologies for the reveal and identification of potato diseases, including the early pre-visual stages of infection and in latent form are described.

It is intended for managers and specialists of agricultural organizations, consultants, information and consulting services, and students and teachers of industry colleges and universities.

УДК 632.08

ББК 44.9

ISBN 978-5-7367-1504-6

© ФГБНУ «Росинформагротех», 2019

© ФГБНУ ВНИИКС, 2019



ВВЕДЕНИЕ

Картофель – одна из важнейших в России сельскохозяйственных культур. Из-за наиболее часто используемого вегетативного размножения это растение сильно подвержено заражению различными грибковыми, бактериальными и вирусными патогенами. Инфекционные болезни картофеля распространены повсеместно, их вредоносность постоянно возрастает, что отрицательно сказывается на урожайности. Расчетная потенциальная продуктивность культуры в оптимальных условиях может составлять 60-100 т/га, но практически никогда не достигается [1].

По данным, опубликованным Организацией по сельскохозяйственным вопросам и продовольствию при ООН (ФАО), мировые потери урожая картофеля от болезней ежегодно составляют 88,9 млн т на сумму 3,4 млрд долл., или 11,6% валового сбора, что в 2 раза превышает потери зерновых культур, овощей и сахарной свеклы [2].

В России фитофтороз, альтернариоз, вирусные и бактериальные болезни уничтожают в среднем 20-40% урожая картофеля, из них в зависимости от погодных условий 25-75% приходится на долю бактериозов, около 7% – вирусных болезней [3-7]. Поэтому своевременное выявление и борьба с патогенами, вызывающими болезни картофеля, являются важным резервом увеличения его производства.

Чтобы не допустить или существенно снизить развитие опасных фитосанитарных ситуаций, необходимы изучение формирования патогенных комплексов, влияния антропогенных и климатических воздействий на технологические процессы выращивания картофеля; исследование действия патогенов на иммунные статусы фитоценозов и эпидемической опасности новых видов, ввозимых или заносимых из-за рубежа; разработка и внедрение современных технологий мониторинга, прогноза и диагностики болезней картофеля с использованием достижений научно-технического прогресса; разработка эффективных методов профилактики и защиты картофеля от эпифитотий: новые пестициды, иммунномодуляторы, регуляторы роста картофеля, технологии применения средств защиты от патогенов, управление защитой и др. [8].



В издании проанализированы характеристики и практические примеры применения технологий диагностики патогенов картофеля, разработанных и используемых различными научными и производственными организациями. Подготовленные материалы будут способствовать улучшению информированности сельскохозяйственных производителей о передовых методах диагностики патогенов, а следовательно, повышению продуктивности картофелеводства, уровня конкурентоспособности отрасли и качества сельскохозяйственной продукции.

Отзывы и замечания по изданию просьба направлять в ФГБНУ «Росинформагротех» по адресу: 141261, Московская обл., Пушкинский р-н, пос. Правдинский, ул. Лесная, 60. Тел.: (495) 993-44-04, 993-42-92. Факс (496) 531-64-90. E-mail: fgnu@rosinformagrotech.ru



1. ОСНОВНЫЕ БОЛЕЗНИ КАРТОФЕЛЯ

Болезни картофеля обычно разделяют на инфекционные (паразитарные) и неинфекционные. Инфекционные болезни вызываются различными организмами: грибами, оомицетами, актиномицетами, бактериями, вирусами, виридами, фитоплазмами, нематодами.

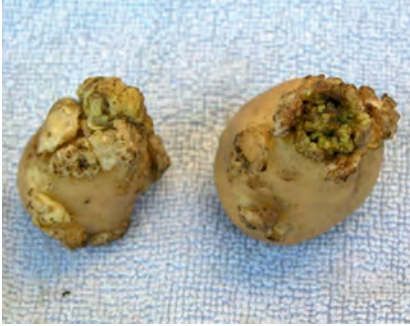
1.1. Инфекционные болезни

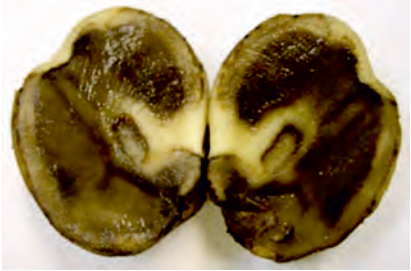
Картофель поражается с заметным экономическим ущербом примерно 54 видами фитопатогенных грибов, 39 видами вирусов, 19 видами нематод, 3 видами фитоплазм, 11 видами бактерий [6]. В табл. 1 представлены основные инфекционные болезни этой культуры и их краткая характеристика [9-25].

Таблица 1

Характеристика инфекционных болезней и различных групп патогенов картофеля

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
	Фитофтороз Возбудитель – оомицет <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary. <i>P. infestans</i> поражает листья, стебли и клубни. Очень вредоносное грибковое заболевание, быстро распространяется спорами, мицелии зимуют в клубнях и почве. Активно развивается при дождливой и теплой погоде. Материалы сайта: https://www.fermeru.pro/bolezni-kartofelya-foto-lecheniye.html
Материалы сайта: https://static.ogorodniki.com/ogorod/6b/xl_cc94ba10-0ae2-4990-8996-b9d5b54b9e6b.jpg, https://kccc.ru/sites/default/files/images/news/interesting-facts/6947_gal_1535093615_1.jpg	

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://www.betaren.ru/photoz/Bolezni%20Vrediteli/alternarioz.jpg, https://dachamechty.ru/wp-content/uploads/2018/03/alternarioz-kartofelya_1.jpg	Альтернариоз Возбудители – грибы рода <i>Alternaria</i>, наиболее опасные и распространенные из которых <i>A. Solani</i> <i>Sorauer</i> и мелкоспоровые виды <i>A. alternata</i>, <i>A. infectoria</i>, <i>A. tenuissima</i>. Болезнь проявляется в фазе бутонизации растений и развивается в течение всего лета. Очень вредоносное грибковое заболевание, конидии распространяются насекомыми, каплями дождя, ветром, наиболее активно при температуре 2-26°C и повышенной влажности. Источники инфекции сохраняются на растительных остатках и в клубнях. Материалы сайта: https://agroflora.ru/alternarioz-kartofelya/
	Рак картофеля Возбудитель – гриб <i>Synchytrium endobioticum</i> (Schilb.) Perc. Относится к карантинным, регистрируется практически во всех регионах культивирования картофеля, за исключением крайних северных и южных районов. Для заражения необходимы высокая влажность (не ниже 60%) и оптимальные температурные показатели почвы (18-23°C). Источником инфекции служат зараженные корнеплоды или находящиеся в почве цисты.

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://dachadecor.ru/images2/sdtryguhj.jpg	Антракноз, или черная пятнистость клубней картофеля Возбудитель – несовершенный гриб <i>C.coccodes</i> (Wallr.) S. Hughes. <i>C. coccodes</i>. Встречается повсеместно. Развивается преимущественно на раннеспелых сортах в жаркую сухую погоду. Поражает дочерние клубни, столоны и корни, базальные стебли и листву. Источники инфекции – больные посадочные клубни и растительные остатки со склеротциями.
	Резиновая гниль Возбудитель – гриб-аскомицет <i>Endomyces geotrichum</i> (несовершенная стадия – <i>Geotrichum candidum</i> Link.). Проявляется на клубнях и ростках. Заражается через раны, устьица, чечевички, поверхность растения. Источники инфекции – зараженные клубни и почва.

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://ogorodnikam.com/wp-content/uploads/2017/09/Фото-10-4.jpg	Фомоз (гангрена, пуговичная гниль) Возбудитель – гриб <i>Phoma exiqlia</i> f.sp. <i>foveata</i> Malc. Et E.G. Gray; <i>Phoma exiqlia</i> Sacc. var. <i>exiqlia</i>. Поражаются клубни и стебли. Признаки фомоза на стеблях обнаруживаются в период цветения картофеля. Наиболее вредоносен в период хранения. Клубни нового урожая могут поражаться пикноспорами как от корневой формы фомоза, так и от стеблевой. При хранении во влажной среде развиваются язвенные формы болезни (округлые, клиновидные). «Глазковая» форма проявляется в виде вдавленных пятен. Сохраняется в растительных остатках в почве и в зараженных клубнях.
 Материалы сайта: https://bestlandscapeideas.com/wp-content/uploads/2018/07/Fungal-and-Bacterial-Rot-of-Potatoes-13.jpg, http://agronomok.com.ua/img/problems/1533731998_3.jpg	Фузариозное увядание картофеля Возбудители – грибы <i>Fusarium</i> spp. (<i>F. sambucinum</i> Fuckel; <i>F.gibbosum</i> Appel. et Wollenw.; <i>F. culmorum</i> (W.G. Sm.) Sacc.; <i>F. solani</i> (Mart.) Sacc.; <i>F. avenaceum</i> (Fr.) Sacc.; <i>F. oxysporum</i> Schltdl.). Очень вредоносное заболевание. Проявляется чаще всего в период цветения во влажные жаркие периоды. Инфекция сохраняется в пораженных семенных клубнях, растительных остатках, почве. Материалы сайта: https://agroflora.ru/bolezni-kartofelya-opisanie-i-foto/

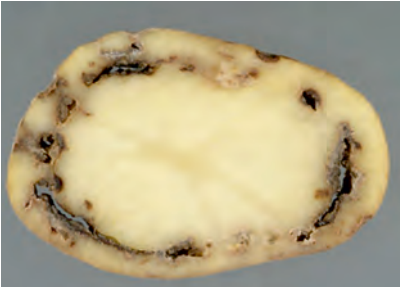
Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://www.dacha6.ru/V/theme1/images/upload/bolezni-kartofelya-foto-i-opisanie-9.jpg	Вертициллезное увядание картофеля Возбудитель – почвенный гриб <i>Verticillium arbo-atrum</i> Reinke & Berth. Наиболее вредоносно на Дальнем Востоке, в средней полосе европейской части РФ. Потери до 50% урожая. Проявляется в период цветения. Проникает чаще всего через корневую систему, а также через механические повреждения, нанесённые насекомыми, нематодами. Оптимальная температура для развития гриба 17-22°C. Сохраняется в растительных остатках, почве и клубнях.
 Материалы сайта: http://gribnikoff.ru/wp-content/uploads/2016/12/Helminthosporium-solani-003.jpg	Серебристая парша Возбудитель – гриб <i>Helminthosporium solani</i> Durieu et Mont. Больные клубни ослабевают, подвергаются вторичным инфекциям, снижаются их семенные качества. Проявляется при хранении, массово – к концу процесса хранения. Распространяется с зараженным посадочным материалом. Материалы сайта: http://gribnikoff.ru/vidy-gribov/ne-sedobnye/parsha-serebristaya/

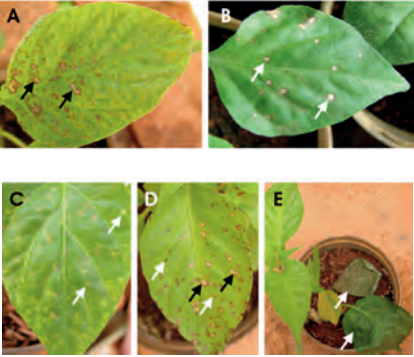
Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://sveklon.ru/wp-content/uploads/2018/01/Chernaya-parsha-kartofelia-1-465x351.jpg	Черная парша (Ризоктониоз) Возбудитель – гриб-базидиомицет <i>Hypochnus solani</i> Prill. et Delacr. (более широко распространено название несовершенной стадии гриба – <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kuhn). Способен поражать картофель на всех этапах онтогенеза. Провоцируют распространение высокая влажность и температура воздуха выше 20°C, тяжелые почвы. Источники инфекции – зараженная почва и посадочный материал. Материалы сайта: https://sveklon.ru/rizoktonioz-kartofelya
 Материалы сайта: https://agroflora.ru/wp-content/uploads/2014/07/obyknovennaya-parsha-kartofelia.jpg	Парша обыкновенная Возбудители – актиномицеты <i>Streptomyces scabies</i> (R. Thaxter) Lamber & Loria и др. Патоген инфицирует корни, подземную часть стеблей картофеля, проникая через поры и раневые поверхности в течение первых недель развития клубней. Для развития должны быть почвенная засуха, температура почвы 25-27°C, pH почвы выше 5,5. Обитают патогены на органических остатках в почве. Развитию болезни способствуют избыточное внесение извести, растительные остатки, свежее органическое удобрение. Инфекция сохраняется в посадочном материале и зараженной почве. Материалы сайта: https://agroflora.ru/obyknovennaya-parsha-kartofelya/

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://umsad.ru/images/3p.jpg	Парша бугорчатая Возбудитель – несовершенный гриб <i>Oosporapustulans</i> M.N. Owen et. Wakef. из порядка <i>Hyphomycetales</i>. Наибольший вред наносит посадочному материалу из-за поражения глазков. Основные симптомы проявляются через три-четыре месяца после сбора урожая. Заражение происходит в почве во время роста картофеля. Материалы сайта: http://umsad.ru/kartofel/bolezni/bugorchataya-parsha-kartofelya-mery-borby
 Материалы сайта: http://agrolib.ru/rastenievodstvo/item/f00/s01/e0001501/pic/000006.jpg	Парша порошистая Возбудитель – миксомицет <i>Spongopora subterranea</i> (Wallr.) Lagerh. Поражает все подземные органы растений, что приводит к преждевременному их увяданию и гибели, может вызывать существенное снижение урожая. Развивается в условиях повышенной влажности. Источником инфекции являются растительные остатки.

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
  Материалы сайта: https://kartofan.org/wp-content/uploads/2016/05/chernaya-nozhka-na-klubne-kartofelya-foto.jpg; https://kartofan.org/wp-content/uploads/2016/05/chernaya-nozhka-na-kuste-kartofelya-foto.jpg	Черная ножка картофеля Возбудители – бактерии <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>; <i>P. atrosepticum</i>; <i>Dickeya dianthicola</i> и <i>D. Solani</i> (ранее <i>Erwinia chrysanthemi</i>). Оптимальная температура 2-25°C. Распространяются через растительные остатки, больные клубни, корни сорняков. Возбудителей могут переносить и насекомые (колорадский жук). Материалы сайта: https://kartofan.org/chernaya-nozhka-na-kartofele.html

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://agrostory.com/upload/medialibrary/ea1/ea1f378f5922052941777d3650e6bbef.jpg	Бурая бактериальная гниль Возбудитель – бактерия <i>Ralstonia solanacearum</i>, карантинный объект на территории России. Проникает в клубни через повреждения на корнях и стеблях, устьица и столонны. Распространению болезни способствуют насекомые и нематоды. Особенно интенсивно заболевание развивается в условиях повышенной влажности почвы. Оптимальная температура воздуха 27°C. Источники заражения: растительные остатки, сорняки рода пасленовых, поливные воды и семенной материал, содержащие бактерии, основной – почва, в которой возбудитель способен сохраняться длительное время. Материалы сайта: https://agrostory.com/info-centre/knowledge-lab/buraya-bakterialnaya-gnil-kartofelya/

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://legkovmeste.ru/wp-content/uploads/2017/09/kolcevaya-gnil.jpg	Кольцевая гниль Возбудитель – бактерия <i>Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus</i>. Внешне проявляется слабым угнетенным развитием растения. Поражает надземную и подземную части. Увядающие стебли падают на землю – в этом отличие от ризиктониоза и вертициллеза. Перезимовывает в больных клубнях и неубранных растительных остатках. Передается через ножи при резке клубней, сельскохозяйственные орудия, картофелесажалки и др. Активно развивается в жаркую и влажную погоду в период роста клубней и во время их хранения. Материалы сайта: https://www.farmeru.pro/bolezni-kartofelya-foto-lecheniye.html
 Материалы сайта: https://www.syngenta.ru/sites/g/files/zhg216/f/styles/syngenta_large/public/target-potato-virus-y-1024x716.jpg?itok=Iy7AVwGa	Y-вирус картофеля (PVY) Полосчатая мозаика Возбудитель – Y-вирус картофеля <i>Solanum virus 2, Smith; Potato virus 20, Johnson; Potato streak virus Orton; potato virus Y (PVY)</i>. Внешне вирус часто проявляется в виде морщинистой мозаики или некротических пятен (может отмирать и вся листовая пластинка). Полосчатая мозаика проявляется после цветения и усиливается с возрастом растений. Вызывает потери урожая до 30% и более. Переносится тлями и при механическом контакте с больным растением, передается с зараженным посадочным материалом. Материалы сайта: https://www.syngenta.ru/target/potato-virus-Y

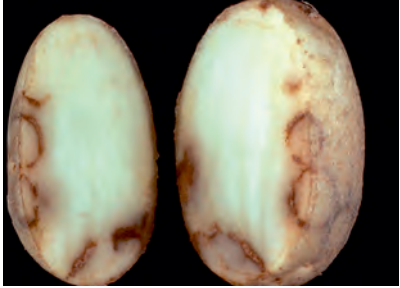
Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
  Материалы сайта: https://research.cip.cgiar.org/confluence/download/attachments/47547133/395438.1t.JPG?version=1&modificationDate=132318701000&api=v2; https://www.researchgate.net/profile/Luiz_Pereira16/publication/23189358/figure/download/fig3/AS:310553085005826@1451053033280/Symptoms-induced-by-Potato-virus-X-PVX-constructs-and-wild-type-Tomato-spotted-wilt.png?_sg=-3Yn4FJ6q3JwYXQQtXbXvdKT8sMJ1NpTvVRPEMG6FZLIKAk3U5B41bynt10x7162leU84IHWeQ	Х-вирус картофеля (PVX) Крапчатая мозаика Возбудитель – Х-вирус картофеля, <i>Potato virus X (PVX)</i>; <i>Solanum virus 1 Smith</i>; <i>Potato latent virus Schulz</i>; <i>Potato virus 16 Johnson</i>; <i>Latent mosaic virus</i>. Снижение урожая на 12-45%. Характерно образование мозаики, или крапчатости. На молодых листьях наблюдается светло-зелёная мозаика (пятна) различной интенсивности, формы и величины. Дополнительные симптомы: общий хлороз, отставание растений в росте. На листьях некоторых сортов в дальнейшем образуются чёрные некротические пятна. Распространяется контактным способом при соприкосновении ботвы между растениями, а также по неперсистентному типу с помощью клопов, кобылкой <i>Melanopus differeritiales</i> и др., передается с зараженным посадочным материалом, возможна передача почвенным грибом <i>Synchytrium endobioticum</i>. Материалы сайта: http://agrodelo.com.ua/ogorod/krapchataya-ili-obyknovennaya-mozaika-kartofelya.html

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://hozyindachi.ru/wp-content/uploads/2014/02/%D0%B4%D0%B5%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F-%D1%80%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B9-%D1%81%D0%BA%D1%80%D1%83%D1%87%D0%B8%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5.jpg	М-вирус (PVM) Мозаичное скручивание листьев Возбудитель – М-вирус картофеля, вирус К, вирус мозаичного закручивания листьев, <i>Potato virus 7, Smith; Potato paracrincl virus Salaman; Potato virus M (PVM)</i>. В период бутонизации края верхних листьев становятся волнистыми, приподнимаются, так что листовая пластина приобретает форму ложки, но остаётся мягкой. В конце вегетационного периода листья часто распрямляются. Сильно проявляется в период бутонизации. Часто встречается в латентном состоянии и в комплексе с вирусами Х и S. Распространяется контактным путем и насекомыми (тля и полевые клопы). Снижение урожая до 40%. Материалы сайта: https://kartofan.org/borba-s-mozaikoj-kartoshki.html
 Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezn/virus/PVA1.jpg	PVA – вирус Возбудитель – вирус А, <i>Solanum virus 3, Smith; potato mild mosaic virus, Holmes; potato virus A (PVA)</i>. Внешне – мягкая мозаика с осветлением или пожелтением участков листовой пластинки. Часто встречается латентная форма. Вызывает мельчание клубней, небольшое снижение урожая. Переносится преимущественно тлями, передается с зараженным посадочным материалом. Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezn/virus/virus.htm#_6_

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezni/virus/Plrv3.jpg; http://www.kartofel.org/bolezni/virus/Plrv2.jpg	Вирус скручивания листьев (PLRV) Возбудитель – L-вирус картофеля. Вирус скручивания листьев картофеля (БСЛК); <i>Potato leafroll virus (PLRV)</i>; <i>Solanum virus 14, Smith</i>; <i>Potato virus 1, Johnson</i>). При первичном заражении верхние листья приобретают палево-желтый оттенок, направлены вверх, часто краснеют по краям, становятся скрученными и жесткими на ощупь, при вторичном – те же симптомы проявляются на нижних листьях. Существенно влияет на качество и количество клубней. Распространяется тлями и другими насекомыми-переносчиками, передается с зараженным посадочным материалом. Наибольшее распространение происходит в годы, когда наблюдается большее количество крылатой тли. Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezni/virus/virus.htm#_6_
 Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezni/virus/alfalfa.jpg	Вирус мозаичности люцерны (AMV) Возбудитель – вирус мозаики люцерны (ВМЛ), <i>Alfalfa mosaic virus (AMV)</i>. Маловредоносен. Естественным резервуаром вируса являются дикие люцерны и клевер, переносится тлями, передается с зараженным посадочным материалом. Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezni/virus/virus.htm#_6_

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: https://c8.alamy.com/comp/A1W1BG/severe-symptoms-of-potato-virus-x-y-complex-on-potato-plant-compared-A1W1BG.jpg	Вирус метельчатости верхушки картофеля (PMTV) Возбудитель – вирус метельчатости верхушки картофеля (ВМБК), <i>Potato mop-top virus (PMTV)</i>. Внешние симптомы очень изменчивы и проявляются чаще всего в виде слабовыраженной мозаики листьев, измельчения верхушечных листьев. Дольки верхушечных листьев часто бывают сложены лодочкой и окрашены у основания с обеих сторон в желтый цвет, иногда наблюдается метельчатость – образование многочисленных боковых побегов при торможении роста основного побега. Распространяется грибом <i>Spongospora subterranea</i>. Снижение урожайности на 5-25% и товарности клубней. Проявляется во время хранения. Передается с зараженным посадочным материалом. Материалы сайта: http://agro-gid.com/virys-metelchatosti-verhyshki-kartofelia-virys-pogremkovosti-tabaka/
 Материалы сайта: http://komnatnirastenia.ru/wp-content/uploads/2013/07/imgpreview-36.jpg	Обыкновенная и складчатая мозаики Возбудители – S, S+X, A-вирусы картофеля и их комплексы. Вирус S, <i>Solanum virus 5, Smith</i>; <i>Potato virus S (PVS)</i>. Распространение контактное и тлями.

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezni/virus/pstv2.jpg	Вироид веретеновидности клубней (PSTV) Возбудитель – вироид веретеновидности клубней (ВВКК), <i>Potato spindle tuber viroid (PSTV)</i>. Внешне отличаются небольшим количеством стеблей, вытянутых и прямостоячих. Листья на них вытянутые, твердые, желтоватые, часто морщинистые. Распространяется главным образом контактом, возможен перенос на насекомых (клопы, тля, некоторые жуки, цикады). Переносится семенами, пылью, при контакте ростков, клубней и корней. Снижение урожая на 30-90%. Материалы сайта: http://www.kartofel.org/bolezni/virus/virus.htm#_6_
 Материалы сайта: http://floweryvale.ru/images/stories/2016/02/potato_aucuba_mosaic_virus_09.jpg	Аукуба мозаика Возбудитель – F-вирус картофеля, <i>Potato virus F; Solanum virus 9, Smith; Potato tuber blotch virus; Potato aucuba mosaic virus, Marmor aucuba Holmes</i> вируса. Некроз клубней происходит обычно во время хранения. Встречается латентная инфекция. Распространяется контактным способом и тлями.

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://agro-mir.com.ua/files/Tobacco-rattle-virus.jpg	Кольцевая пятнистость, некроз клубней и крапчатость стебля картофеля Возбудитель – вирус погрелковости табака (раттл-вирус, R вирус, вирус пестростебельности табака, вирус внутреннего некроза клубней). Передается нематодами: <i>Paratrichodorus minor</i>, <i>P. pachydermus</i>, <i>Trichodorus similis</i>, грибом <i>Olpidium brassicae</i> и контактом. Контакт не имеет большого значения, так как вирус медленно распространяется по растению.
 Материалы сайта: http://floweryvale.ru/images/thumbnails/images/stories/2016/02/potato_phytoplasma_026-fill-535x401.jpg, http://floweryvale.ru/images/stories/2016/02/potato_phytoplasma_028.jpg	Столбур Возбудитель – фитоплазма. Снижение урожая на 70–100%. Сохраняется в сорняках, передается цикадками

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
 Материалы сайта: http://stavmvl.ru/02eb972e657e9e7280fec29ef7db19ee.jpg	Глободероз картофеля Возбудитель – золотистая нематода <i>Globodera rostochiensis</i> Wollenweber – наиболее распространен. Повреждает корни, растения отстают в росте и развитии, нижние листья желтеют и увядают, корни становятся мочковатыми. Зимует в почве в цистах, которые сохраняют жизнедеятельность более десяти лет. Распространяется с клубнями, почвой, инвентарем, тарой, транспортными средствами, водой, ветром.
 Материалы сайта: http://www.pesticidy.ru/ps-content/pest/pictures/390_1_main.jpg	Дитиленхоз картофеля Возбудитель – стеблевая нематода <i>Ditylenchus destructor</i> Thome. В месте внедрения в клубни появляется свинцово-серое несколько вдавленное пятно. Постепенно пятно разрастается, кожура темнеет, отслаивается и растрескивается. В трещинах видна светло-коричневая рыхлая пораженная ткань. На границе больной и здоровой тканей заметно множество белых рыхлых пятен, в которых скапливается большое число нематод. На разрезе клубня видно, что пораженная ткань распространяется по периферии клубня, редко проникая вглубь. На пораженном клубне часто развиваются сухая и мокрая гнили.

Внешний вид поражения	Название вызываемой болезни, отличительные особенности
	Мелойдогиноз картофеля Возбудитель – галловая нематода <i>Meloidogyne hapla</i> Chitwood. Паразитирует на корнях, клубнях и подземной части стеблей. Пораженные растения отстают в росте и увядают. На восприимчивых органах образуются небольшие утолщения – галлы Ø0,5-1,5 мм, которые постепенно увеличиваются в размерах, сливаются и вызывают деформацию тканей. Распространяются с почвой, клубнями картофеля и корнеплодами, различными укорененными растениями, а также почвообрабатывающими орудиями, водой и ветром. Зимуют яйца и личинки в галлах и почве.

1.2. Неинфекционные болезни

Возникновение неинфекционных заболеваний картофеля связано с несоблюдением агротехники и условий хранения, механическими повреждениями частей растения. Болезни выражаются ухудшением всхожести, отклонениями в развитии, появлением различных пятен, изменениями в окраске, форме клубней, что приводит к снижению урожая, потере товарных и сортовых качеств культуры. Неинфекционные болезни чаще всего обратимы при исправлении



нарушений; жизнедеятельность и внешние признаки растений картофеля восстанавливаются в течение одной или нескольких генераций.

Недостаток микроэлементов. Коричневая пятнистость стеблей. Наблюдается чаще всего на кислых почвах, в которых накапливается большое количество железа, алюминия, марганца. Растения становятся стекловидными, хрупкими, постепенно засыхают, при сильном поражении начинается некроз внутренних частей стебля. На стеблях появляются характерные темные продольные полосы, переходящие на черешки листьев. Для устранения заболевания нужно снижать кислотность почвы внесением весной под вспашку мергеля или доломитовой муки (1,5-2 т/га), а в период вегетации важно подкармливать растения сернокислым магнием (30 кг/га) и азотными удобрениями.

Болезни, вызываемые загрязнением воздуха. Загрязнение воздуха различными примесями (большие количества SO, смеси O₂ с озоном, NO₂, фтористой кислоты, хлора, этилена) вызывает токсическое воздействие на растение, изменяет фотохимическое окисление веществ, способствует развитию некрозов на листьях. Листья приобретает бронзовую окраску, закручиваются вверх, при сильном повреждении становятся хлоротичными, желтеют и отделяются от стебля. Растения часто погибают, что значительно снижает урожай.

Повреждения растений высокими температурами. При повышенных температурах почвы повреждается подземная часть стеблей, особенно в начальный период их роста. Стебли становятся опоясанными, окраска – от белого до рыжевато-бурого цвета. Возможны загнивание тканей и опадение верхних листьев. Интенсивная солнечная радиация вызывает ожоги клубней на поверхности почвы и их последующее гниение, иногда симптомы проявляются в период хранения после теплового воздействия.

В период вегетации при высокой температуре и низкой влажности, особенно на легких и торфянистых почвах, во внутренних тканях клубней в пределах сосудистого кольца появляются диффузные пятна, чаще коричневые, иногда желтые или черные. В некоторых



случаях на поверхности клубней наблюдается некроз кожуры в виде обесцвеченных пятен. Больные клубни резко снижают всхожесть. Пораженные ткани остаются твердыми даже после варки картофеля. Снизить негативные симптомы и число больных клубней можно поливами и интенсивным рыхлением почвы [26].

Механические повреждения. Возникают в процессе уборки, транспортировки, переборки картофеля в виде потемнения мякоти клубней, а также трещин, ссадин, царапин, обдира кожуры, вырывов, расколов, что способствует проникновению в клубни и развитию многих возбудителей болезней. Количество клубней с механическими повреждениями может составлять 17-64%. В наибольшей степени травмируются клубни при механизированной уборке. При комбайновой уборке физиологически недозрелого картофеля общее количество поврежденных клубней может достигать 89,5%, в том числе с содранной кожурой 51,5, а при уборке зрелых клубней снижается соответственно до 21 и 0,9%.

Проблема сокращения повреждаемости картофеля в основном решается в направлении совершенствования машин и технологии уборки. Немаловажную роль играют и агротехнические приемы. Предпосадочное проращивание клубней способствует снижению повреждаемости нового урожая при уборке в 2 раза. Особое значение имеет правильный режим питания растений. На повышенном фоне (компост 70 т/га + $N_{180}P_{180}K_{270}$) кожура клубней повреждается значительно сильнее, чем на среднем (компост 70 т/га + $N_{90}P_{90}K_{100}$).

Одним из мероприятий, способствующих снижению повреждаемости мякоти клубней при уборке, является предуборочное уничтожение ботвы. При ее удалении за 10-14 дней до уборки ускоряется созревание картофеля и усиливаются прочностные свойства клубней. Большое значение имеет также режим температуры и влажности во время вегетации и уборки – травмирование клубней повышается при температуре ниже 10°C, влажности ниже 17% и выше 23%.

Сорта картофеля также по-разному реагируют на механические воздействия: крупноклубневые всегда повреждаются сильнее, чем мелкоклубневые. Большей упругостью мякоти, а следовательно, и устойчивостью к механическим повреждениям обладают сорта



крахмалистостью более 20-25%. Разную устойчивость к механическим повреждениям обуславливают различия в анатомическом строении кожуры и мякоти клубней.

Повреждение гербицидами. Растения картофеля очень чувствительны к гербицидам из группы регуляторов роста – 2,4-Д, 2М-4Х, а также к прометрину, симазину. Повреждения происходят чаще всего в двух случаях: при запаздывании с дождевыми обработками и сносе ветром гербицидов в случае обработки других полей. Основными признаками повреждения растений картофеля гербицидами являются изменение формы листовой пластинки (редукция, или папоротниковость, неправильное (веерообразное) жилкование листьев), разнообразные деформации – эпинастия, курчавость, скручивание, общее угнетение роста и развития, некрозы. Клубни при этом мелкие, уродливые. Повреждения гербицидами особенно нежелательны на семенных посевах, так как затрудняют проведение отборов и фитопрочисток.



2. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ

2.1. Морфологические методы

Первоначальная визуальная диагностика растений картофеля проводится по внешним признакам и обычно предшествует остальным способам. Происходит сопоставление имеющихся признаков поражения с описаниями признаков, приведенных в определителе (прил. 1) [27, 28].

Признаки болезней бактериальной, грибковой, а иногда и вирусной этиологии часто сходны, однако у бактериозов картофеля есть характерные особенности: водянистость и маслянистость пораженных тканей и наличие на них бактериального экссудата. Для вирусных поражений характерны мозаики, морщинистости и скрученности, для грибковых – пятнистости, потемнения, налет. Для диагностики нужно также учитывать расположение пораженных растений в поле: если оно беспорядочное, относительно равномерное по всему полю, то это, скорее всего, инфекционные болезни. Групповое, близкое размещение пораженных растений (куртина, пятно, полоса в зависимости от микрорельефа) указывает на непаразитарный характер поражения. Облегчает диагностику в данном случае анализ сока растений на содержание важнейших элементов. Если с помощью указанных методов не удалось определить причину поражения, то нужна дальнейшая диагностика другими методами [8, 24, 29].

Методы определения патогенов, основанные на визуальном осмотре, недостаточно надежны и малоприменимы для ранней диагностики или при наличии скрытой инфекции. Для дальнейшей идентификации возбудителей используют тест на растениях-индикаторах (растения, дающие очень четкую реакцию, строго специфичную только по отношению к определенному виду патогена), определение окраски по Грамму и других морфологических и биохимических характеристик выделенных микроорганизмов, дальнейшие лабораторные исследования [30-32].



Выявление фитопатогенных микроорганизмов на растениях, в почве, воде и воздухе – одна из важнейших задач фитопатологии. Часто первичный патоген обнаруживается в растительной ткани только на начальных этапах заражения, затем исчезает из-за гибели инфицированных тканей и развития вторичных патогенов и сапрофитов. Многие патогены присутствуют в растении в скрытой форме или показывают сходные симптомы поражения, развивают однотипный мицелий, тогда надо использовать инструментальные серологические или молекулярные методы, дополненные выделением подозреваемого возбудителя в чистую культуру и подтверждением патогенности исследуемых микроорганизмов правилами Роберта Коха (Триада Коха) [8, 24].

Выделенная чистая культура (конидии или мицелий) должна быть очищена от субстрата и других грибов. Для этого ткани стерилизуют в течение 30-60 с выдерживанием в различных растворах (0,1%-ный раствор хлорида ртути, 1%-ный гипохлорит натрия, 50%-ная перекись водорода и 2%-ный раствор перманганата калия) и промывают в стерильной воде [16]. Выделенная культура помещается во влажную камеру (чаще чашку Петри) и инкубируется. Выросшие гифы или спороношение стерильно переносятся на агаризованные среды с антибиотиком (стрептомицин или пенициллин), типовые (сусло-агар) или для некоторых видов грибов особые селективные среды (для *Phytophthora infestans* (Mont.): de Bary – овсяная, для видов рода *Alternaria* – картофельно-морковная, для *Botrytis cinerea*, *Cladosporium fulvum*, *Colletotrichum acutatum* – картофельно-декстрозная) [12, 32]. Составляющие основных питательных сред приведены в прил. 2.

Иногда необходимо применять дополнительные способы очистки культуры гриба: 1 – изоляция одной гифы, 2 – изоляции одной споры, которые переносятся на отдельную чашку Петри с питательной средой. Внешние признаки грибковых патогенов учитываются и у бесполой, и у половой стадий. Для стимулирования споруляции (образование спор/конидий) некоторым фитопатогенным грибам требуются определенные условия (ультрафиолет для *Alternaria solani* и *Septoria lycopersici*) [10].



Выделение возбудителя кольцевой гнили в чистую культуру.

Пораженный клубень надо тщательно промыть водопроводной водой, просушить, протереть ваткой, смоченной спиртом, обжечь над пламенем горелки, разрезать вдоль обеззараженным ножом или скальпелем. С поверхности разреза снять тонкий слой ткани, из больного кольца сосудов вырезать частицу ткани и тщательно растереть ее с небольшим количеством стерильной воды в стерильной фарфоровой ступке. Каплю от образовавшейся суспензии поместить на агаризованную среду, содержащую двуххромовокислый калий и распределить по поверхности агара стерильным шпателем Дригальского. Таким же образом засевают еще несколько чашек, которые инкубируют при 21°C в течение 20 дней. Выросшие колонии пересевают в пробирки с картофельным агаром [8, 24].

Выделение возбудителя черной ножки и мокрой гнили в чистую культуру. Пораженные клубни и стебли нужно тщательно промыть водопроводной водой, просушить, вырезать кусочки на границе здоровой и больной ткани, поместить на несколько секунд в 70%-ный спирт и растереть с небольшим количеством стерильной воды в стерильной фарфоровой ступке. Каплю от образовавшейся суспензии надо разместить на поверхности 2%-ного картофельного агара с добавлением 0,005%-ного 2,3,5-трифенилтетразолиумхлорида (ТТХ) в чашки Петри. Затем чашки следует поместить в термостат при температуре 25°C на двое-трое суток. Выросшие колонии пересевают в пробирки с картофельным агаром [8, 24].

Кроме выделения чистых культур, ведения культур на стандартных агаризованных средах, к традиционным методам идентификации фитопатогенных грибов относится микроскопическое изучение морфолого-культуральных характеристик (морфология колоний, размер, цвет и строение бесполой и половой структур) на микроскопе «Микмед 1». Морфологические признаки изучаемых видов сравнивают со стандартными характеристиками из определительной литературы [33] или с материалом, представленным на сайте <http://www.q-bank.eu/Fungi/>. Многие грибковые патогены могут быть идентифицированы таким образом до видового уровня [31].



2.2. Иммунологические методы

Основаны на взаимодействии антитела с антигеном, которое выражается в виде различных реакций (агглютинации, преципитации и др.). Непременные компоненты этих реакций – антигены (либо молекулы-иммуногены, которые индуцируют иммунный ответ, либо молекулы, реагирующие с антителами или премированными Т-лимфоцитами) и антитела (белки, относящиеся к тому или иному классу иммуноглобулинов, синтез которых стимулируется после парентерального поступления антигена).

Полноценные антигены состоят из двух частей: носителя (высокомолекулярного белкового вещества), осуществляющего функцию антигенного раздражителя, и гаптена (соединения небелковой природы), называемого иначе детерминатной группой, или фактором специфичности.

Та часть гипервариабельной области антитела, которая контактирует с антигеном, называется паратопом, а часть антигена, взаимодействующая с паратопом, обозначается как эпитоп.

Неполноценные антитела – гаптены не иммуногенны, реагируют с антителами, образование которых индуцировано гаптенем, пришитым к иммуногенной молекуле-носителю.

Бактериальные антигены представляют собой химические соединения, входящие в состав тела микробной клетки и её жгутиков. Бактериальные антигены в зависимости от расположения разделяют на 0-соматические (внутри тела клетки) и H-жгутиковые. Соматические антигены называются поверхностными или К-антигенами, если располагаются непосредственно на поверхности тела клетки или в её капсуле.

Антитела специфически взаимодействуют с специфическим антигеном. Молекула антитела состоит из двух тяжёлых и двух лёгких идентичных цепей, связанных между собой дисульфидными мостиками. Незащищённый шарнирный участок отличается высоким содержанием пролина, имеет протяжную структуру и доступен для протеолитических ферментов. Папаин расщепляет молекулу антитела на два одинаковых Fab-фрагмента (англ. *Fragment antigen*-



binding), каждый из которых имеет антигенсвязывающий центр и Fc-фрагмент (англ. *Fragmentcrystallizable*), неспособный связывать антиген. Под воздействием антигенного раздражения антитела могут вступать в реакции лишь со «своими» антигенами. «Резервуаром» антител, необходимым для воспроизведения серологических реакций, являются иммунные сыворотки.

Определённые виды и типы бактерий обладают конкретными наборами антигенов, это может использоваться как один из методов идентификации бактерий. Если иммунная сыворотка вступает во взаимодействие с испытуемой культурой, значит, культура обладает антигенами, соответствующими антителам сыворотки.

Серологическая реакция может быть положительной при полном соответствии набора антител сыворотки набору антигенов культуры (специфическая реакция) или лишь при частичном их соответствии (групповая реакция) [8,24].

2.2.1. Капельная агглютинация

Метод заключается в том, что бактерии, находящиеся во взвеси, под влиянием антител склеиваются между собой и оседают на дно пробирки в виде крупных, различимых невооружённым глазом хлопьев или зёрен. Склеивание микробов друг с другом – проявление реакции прямой агглютинации, поскольку антитела действуют непосредственно на корпускулярные антигенные частицы.

Существуют другие методы, основанные на этом же принципе: преципитации (кольцепреципитации, иммунодиффузии), реакция связывания комплимента, латекс-агглютинации, иммуноэлектрофореза и другие, не нашедшие широкого применения в диагностике бактериозов картофеля из-за низкой чувствительности. Только иммунодиффузия используется при серотипировании штаммов возбудителей черной ножки.

2.2.2. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Комплекс антиген-антитело в ИФА выявляется путем «пришивания» фермента к молекуле антитела. Из многочисленных модификаций этого метода («прямой», «непрямой», «сэндвич-вариант»



и др.) наибольшее предпочтение в практике получил «сэндвич-вариант» твёрдофазного ИФА (das-ELISA) (*double antibody sandwich-enzymelinked immunosorbent analyze*) – применяется в случаях, когда предполагается низкая концентрация вируса в пробе.

Принцип das-ELISA основан на последовательном взаимодействии тестируемой бактерии с иммобилизованными на твёрдой фазе и мечеными ферментами антигенами с последующим выявлением фермента-маркера субстратом.

Схема выполнения das-ELISA представлена на рис. 1.

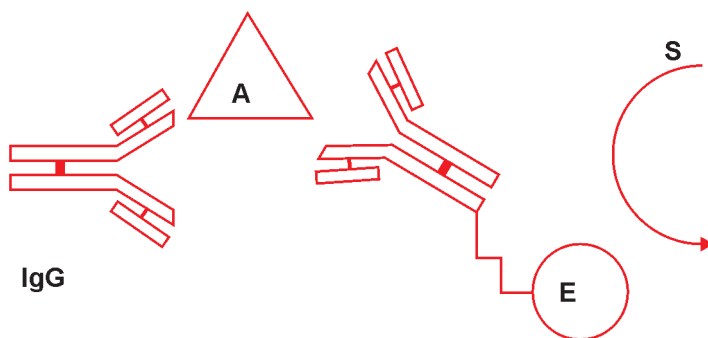


Рис. 1. Схема «сэндвич» – варианта ИФА (das-ELISA)

Она состоит из нескольких этапов: на первом – на поверхность лунок полистироловых плат сорбируют антитела (IgG) к бактериальным антигенам, затем отмывают избыток антител; на втором – вносят и инкубируют исследуемый образец, предположительно содержащий целевые антигены (A) бактерий, что приводит к образованию первичных иммунных комплексов, затем отмывают несвязавшийся материал; на третьем – добавляют в лунки конъюгат, ковалентно связанные с пероксидазой хрена (E) антитела против антигенов бактерий, взаимодействие которых приводит к образованию на стенках лунок «сэндвича» антитело-антиген-конъюгат; на четвертом – после тщательной отмывки несвязавшегося конъюгата проводят ферментативную реакцию с субстратом (S), сопровожда-

ящуюся образованием окрашенного продукта в том случае, если в образце содержатся целевые бактерии. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию бактериальных антигенов в пробе и может быть выражена в единицах оптической плотности с помощью вертикального фотометра (ELISA-ридера) или визуально.

Для достоверного разграничения фоновых значений адсорбции (A_{490}) и положительных результатов применяют формулу

$$P = \bar{x} + 3\bar{E},$$

где P – порог достоверности положительных результатов;

$\bar{x}$ – среднее значение A_{490} отрицательного контроля;

$3\bar{E}$ – тройное значение максимального отклонения A_{490} от среднего в отрицательном контроле. Все значения выше P считаются положительными результатами.

Основные достоинства метода *das-ELISA*: простая схема выполнения, высокая производительность, относительно высокая чувствительность, возможность количественного определения бактерий. Недостатки: нельзя отличить мёртвые бактериальные клетки от живых, показатели оптической плотности допускают лишь посредственные выводы о концентрации бактерий.

Чувствительность метода *das-ELISA* по возбудителю *Es* достигает 1×10^3 и 1×10^4 кл/мл (и по *Cms* 1×10^5 кл/мл [34], увеличить ее можно использованием моноклональных антител. Другой проблемой получения достоверных результатов этим методом является большое количество серотипов у возбудителей черной ножки, свойство мукоидности *Cms*.

2.2.3. Иммунофлуоресцентная микроскопия (ИФМ)

Сущность метода состоит в том, что в молекулы антител введены флуоресцирующие красители. При взаимодействии меченых антител с соответствующими антигенами последние начинают люминесцировать при облучении ультрафиолетовыми лучами.

ИФМ применяется в прямом и непрямом вариантах. Прямая ИФМ заключается в связывании антигена люминесцирующими антителами гомологичной сыворотки. При непрямой ИФМ (НИФМ)



антиген обрабатывают немеченой диагностической сывороткой с последующим выявлением комплекса антиген-антитело люминесцирующей антивидовой сывороткой. Последний метод более доступен, так как позволяет проводить диагностику ряда патогенных организмов с помощью одного конъюгата – *das-ELISA* антител с люминесцирующими красителями (рис. 2) [8, 24, 34].

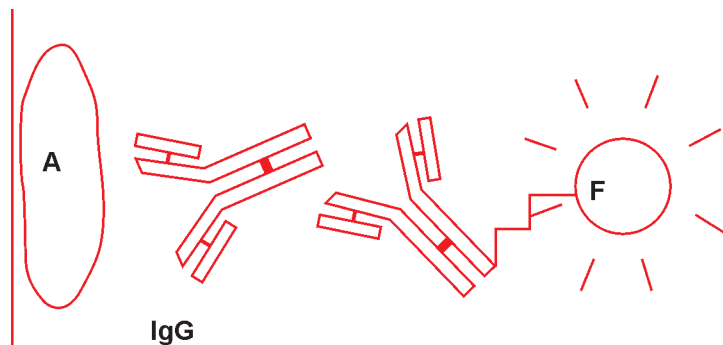


Рис. 2. Схема непрямого варианта иммунофлуоресцентной микроскопии (НИФМ)

Первый этап (см. рис. 2 – нанесение образцов (A) (сок растений, чистая культура) на предметное стекло, высушивание их на воздухе и фиксация образца над пламенем горелки (получение мазка образца);

второй – нанесение на мазок иммунной к возбудителю бактериоза кроличьей антисыворотки (IgG), инкубация во влажной камере 20-30 мин и промывка;

третий – нанесение ослиной сыворотки против глобулина кролика, меченной ФИТЦ (F), инкубация во влажной камере 30 мин и промывка;

четвертый – нанесение на мазок глицерина с фосфатным буфером под покровное стекло, а на покровное стекло – нефлуоресцирующего иммерсионного масла и просмотр под люминесцентным микроскопом.

Чувствительность метода достигает до 1×10^3 кл/мл для обоих возбудителей бактериозов картофеля. При сравнении степени чув-

ствительности получилось, что заражённость возбудителем Sms, измеренный методом ELISA, достигала 90,1-97,7% для образцов стеблей и 6,7-93,3% – для образцов клубней, а методом ИФМ – 90,9-98,5 и 97,3-97,8% соответственно; отмечалась корреляция между результатами тестирования стеблей методами ИФМ и ИФА, но ИФА уступал в точности. ИФМ позволяет выявлять возбудителя Sms в более ранние сроки, не зависит от типа мукоидности возбудителя Sms в отличие от ИФА, т.е. создав антисыворотку к одной из групп мукоидности, можно выявлять и другие [8, 24, 34].

Перспективно применение нИФМ на основе моноклональных антител к антигенам клеточной стенки. Моноклональные антитела имеют большие преимущества перед поликлональными (классический способ получения антител путём иммунизации животных) из-за возможности получения в неограниченном количестве гомогенных антител; специфичности к отдельным антиген-детерминантам, так как окрашивается не вся клетка, а её отдельные участки; выявления антигенного взаимодействия, не распознаваемых обычной антисывороткой; исключения качественной и количественной изменчивости, свойственной обычной антисыворотке.

2.2.4. Иммунохроматографический анализ (ИХА)

В основе иммунохроматографического метода лежит взаимодействие определяемого антигена с иммобилизованными на мембране антителами. В качестве метки обычно используются наночастицы золота, обладающие способностью отражать свет в видимой области спектра.

Основой устройства является узкая тест-полоска, состоящая из наклеенных на пластиковую подложку нескольких примыкающих друг к другу мембран, по которым движется поток жидкости, содержащей анализируемый образец [8, 24].

На нитратцеллюлозной мембране в аналитической зоне иммобилизованы специфические антитела к определяемому антигену в виде узкой линии и на некотором расстоянии – вторичные антитела в виде второй контрольной линии.



При погружении тест-полоски в исследуемый растительный экстракт или нанесении капли его на тест-полоску начинается его движение вдоль полоски под действием капиллярных сил. В присутствии вируса в образце, по мере продвижения его вдоль мембраны, происходит образование иммунного комплекса вируса со специфическими антителами, мечеными наночастицами золота. Достигнув аналитической зоны, иммунный комплекс связывается с иммобилизованными на мембране в виде линии специфическими антителами, при концентрации вируса от 2 до 50 нг/мл наблюдается появление окрашенной полосы в аналитической зоне. Избыток несвязавшихся меченых антител мигрирует далее к контрольной зоне, где образуется вторая окрашенная линия.

При отсутствии вируса в исследуемом образце или при его концентрации менее 1-2 нг/мл меченные коллоидным золотом антитела задерживаются лишь вторичными антителами в контрольной зоне, что приводит к появлению только одной окрашенной контрольной линии, что свидетельствует о правильном проведении теста [8, 24].

Для диагностики патогенов картофеля практические разработки в области иммунных методов имеются у многих научных и производственных организаций.

В институте биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН для своевременной диагностики заболеваний в полевых условиях с чувствительностью, выявляющей латентные инфекции, предложены методы амплификации сигнала в технологиях иммунохроматографического анализа, апробированные на примерах основных патогенов картофеля. Методы обеспечивают выявление патогенов в низких концентрациях, не вызывающих симптомы у пораженных растений (для вирусов <10 нг/мл, для бактерий <104 кл/мл). Сочетание функционализированных магнитных (МНЧ) и золотых наночастиц (НЧЗ) в первом методе позволяет снизить предел обнаружения в 32 раза по сравнению с традиционным ИХА, в котором используются только НЧЗ.

Второй предложенный метод амплификации, основанный на накоплении продуктов ферментативной реакции, реализован с использованием щелочной фосфатазы. Для введения фермента приме-

нена схема с двумя конъюгатами: НЧЗ-фермент-антивидовые антитела и НЧЗ-антитела, специфичные к патогену. Предел обнаружения данного ИХА после добавления субстратной смеси в 27 раз ниже по сравнению с традиционным ИХА. Диагностика данными методами занимает меньше 10 мин и выполняется без использования дополнительного оборудования [35].

В ЗАО НВП «Иммунотех» МГУ имени М.В. Ломоносова в сотрудничестве с ВНИИКХ имени А.Г. Лорха и при поддержке МЦП ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» и РФФИ был разработан и апробирован оригинальный формат иммунохроматографии, в котором выявление большого числа патогенов с помощью одной тест-полоски обеспечивается за счет формирования аналитической зоны в виде упорядоченного массива точек с иммунореагентами разной специфичности. Система предназначена для диагностики бактериальных болезней – черной ножки и кольцевой гнили, вызываемых соответственно *Pectobacterium atrosepticum*, *Dickeya dianthicola* и *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*, и вирусных заболеваний картофеля (некротические и обычные штаммы Y-вируса картофеля, вирус скручивания листьев картофеля, X-, M-, S-, A-вирусы картофеля).

Разработанная ультипараметрическая тест-система характеризуется пределами детекции от 1 нг/мл для вирусов и от 10⁴ кл/мл для бактерий, продолжительностью определения, не превышающей 15 мин. По чувствительности (≥95%) и специфичности (≥95%) она не уступает ни иммуноферментному, ни традиционному иммунохроматографическому анализу, существенно сокращая трудоемкость и себестоимость определения зараженности семенного картофеля, проведения карантинных и фитосанитарных экспертиз во вне лабораторных условий [36-37]. Тест-полоски и доступный каждому картофелеводу экспресс-метод молекулярной диагностики вирусных инфекций позволяют проводить полевую диагностику заражения растений при концентрации вируса в пробе 30 нг/мл и более.

Характеристика тест-полосок (производитель – ООО «Умная диагностика») представлена далее.



Техническая характеристика индивидуальных тест-полосок

Время анализа, мин	10-15
Чувствительность, %	98
Специфичность, %	98
Пределы обнаружения:	
вирусы, нг/см ³	10-50
бактерии клеток/см ³	10 ⁴ -10 ⁵
Габаритные размеры (длина, ширина, толщина), мм	70x3,5x2
Срок годности, месяцы	12

В состав набора входит все необходимое для пробоподготовки и проведения анализа. Внешний вид тест-системы и схема проведения анализа представлены на рис. 3, 4.



Рис. 3. Упаковка с тест-системами

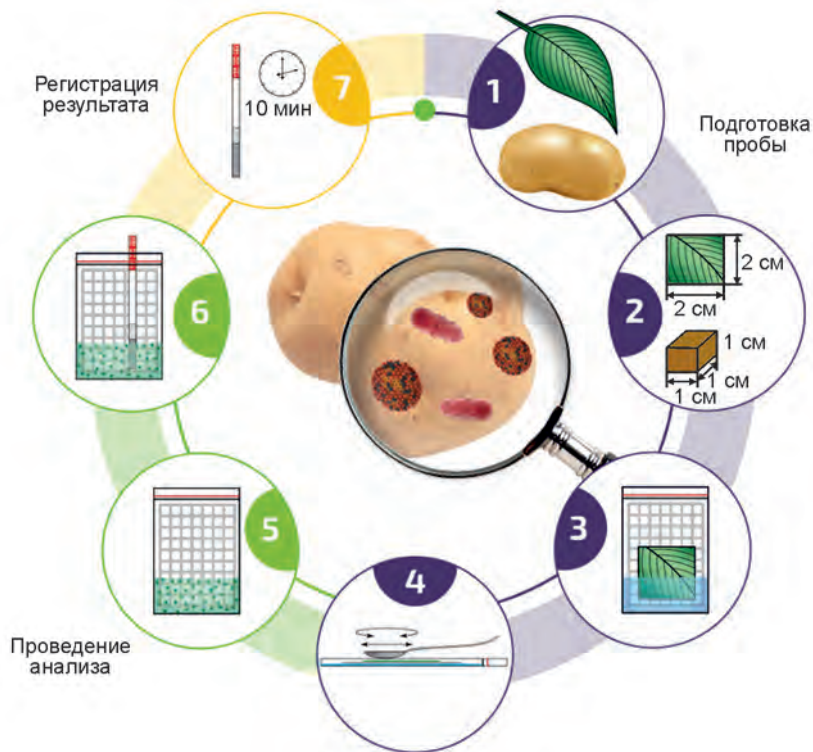


Рис. 4. Схема проведения анализа (материалы сайта: <http://xn---8sbncxitpfice1a8i.xn--p1ai/assets/img/img-analysis.png>)

Преимущества данных тест-систем: возможность проведения диагностики в полевых условиях; меньшие по сравнению с другими методами в 6-10 раз время выполнения анализа и стоимость (в 2-3 раза ниже, чем зарубежных аналогов), соответствие аналитических характеристик требованиям ГОСТ, возможность визуальной регистрации результата, отсутствие необходимости в высокой квалификации персонала.

По данным исследователей, массовый анализ вирусных заболеваний посадочного материала картофеля экономически целесообразен

но проводить в два этапа комбинацией иммунных и молекулярных методов. На первом этапе используется доступный даже в полевых условиях иммунохроматографический экспресс-метод диагностики, с помощью которого отбраковывается явно зараженный материал путем простого визуального считывания с высокой чувствительностью (определение вируса табачной мозаики в неосветленном соке листьев табака, разбавленном в 10 раз, составляет 1 нг/мл, а полное время анализа – 2 мин; вирусов Y, S и M картофеля – в пределах 10-50 нг/мл). Для количественной оценки результатов можно использовать лабораторные и полевые рефлектометры, разработанные в лаборатории Б.Б. Дзантиева (ИНБИ имени А.Н. Баха РАН). На втором этапе для анализа оставшихся растений используется ИФА или ПЦР. Посадочный материал, прошедший такой двухэтапный отбор, подлежит размножению и гарантирует высокий урожай в поле при подходящих климатических условиях [38].

В Институте картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха показана возможность эффективной диагностики возбудителей черной ножки и кольцевой гнили методами ИФА и ИФМ по нижним листьям и клубням. По результатам тестирования разница в показателях определения между этими методами составила 10–20 % при первичной инфекции листьев в фазе цветения и клубней, при вторичной – разницы практически не было. В контрольных вариантах метод ИФА показал ложноположительные результаты. Поэтому метод ИФА (более производительный и дешевый) выгоднее использовать для выявления вторичной инфекции, а при первичной – эффективнее метод ИФМ. Для повышения достоверности результатов уровень зараженности возбудителями бактериозов можно определять также по совпадению положительных результатов обоих методов диагностики. В исследованиях несовпадение положительных результатов ИФА и ИФМ составило 5-10%, а совпадение между ИФМ и ПЦР – 50 % [21].

Как показал анализ приведенных исследований, технологии диагностики, основанные на методе иммунохроматографии,

перспективны для экспресс-диагностики патогенов картофеля, поскольку позволяют проводить анализ в полевых условиях в течение 10-15 мин без использования специального оборудования. Однако по сравнению с ИФА и ПЦР они обладают низкой чувствительностью и специфичностью по отношению к некоторым грибковым и бактериальным патогенам и в большинстве случаев доступны только в формате «один тест – один патоген». Такие особенности не позволяют адаптировать данную технологию для надежного анализа на присутствие спектра целевых патогенов и их комбинаций.

Технологии, основанные на методах иммуноферментного анализа (ИФА), высокочувствительны и точны, позволяют количественно определять до 1 нг/мл патогена. Но для их использования необходимы квалифицированный персонал и дорогостоящее оборудование, что ограничивает область их применения специализированными лабораториями. На мировом рынке имеются коммерческие диагностические наборы на фитопатогены картофеля, основанные на методе ИФА. Например, фирма «Agdia» предлагает ELISA-тесты к трем патогенам картофеля бактериального происхождения и двум грибковым патогенам картофеля [38, 39]. При сравнении отечественных и зарубежных диагностических наборов ИФА основным отличием стал только вид фермента, в России – пероксидаза хрена, А 450, ТМБ, а в зарубежных («Bioreba», Швейцария; «Neogen Europe Ltd.», Шотландия) – щелочная фосфатаза, А 405, пнировинилфосфат [40-41].

2.3. Молекулярные методы

2.3.1. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

В основе современных методов молекулярной диагностики лежит технология полимеразной цепной реакции (ПЦР), заключающаяся в обнаружении и многократном увеличении (амплифика-



ции) установленных участков генома, даже если искомый фрагмент присутствует в минимальных концентрациях среди огромного количества других фрагментов ДНК. Проведение ПЦР обеспечивает фермент ДНК-полимераза. При ПЦР каждая построенная цепочка ДНК (ампликон или ПЦР-продукт, ограниченный прямым и обратным праймерами, представленный короткими (около 20 нуклеотидов) фрагментами ДНК) служит матрицей для следующей цепочки. ПЦР обеспечивает чрезвычайно высокий уровень чувствительности при обнаружении и идентификации целевого патогена в составе сложных биологических матриц или объектов окружающей среды [8, 24].

Регистрацию или визуализацию ПЦР-продукта можно проводить на протяжении всей реакции («ПЦР в реальном времени») или только после ее завершения (метод «FLASH-PCR» детекция «по конечной точке» или визуализации в геле). Синтезированный продукт детектируется электрофорезом: денатурирующий градиентный гель-электрофорез (ДГГЭ), терминальный рестрикционный анализ полиморфизма (Т-ПДРФ), автоматизированный анализ рибосомных межгенных спейсеров (АРИСА).

Естественная репликация включает в себя три этапа: денатурацию ДНК (расщепление двойной спирали, расхождение нитей ДНК), формирование коротких двухцепочечных участков ДНК (затравки, необходимые для инициации синтеза ДНК), образование новой цепи ДНК (комплиментарное достраивание обеих нитей). Каждый цикл амплификации состоит из трех этапов: денатурация ДНК, присоединение праймеров (отжиг), достраивание цепей ДНК (рис. 5).

Характеристика модификаций метода ПЦР представлена в табл. 2 [8, 24, 42, 43].

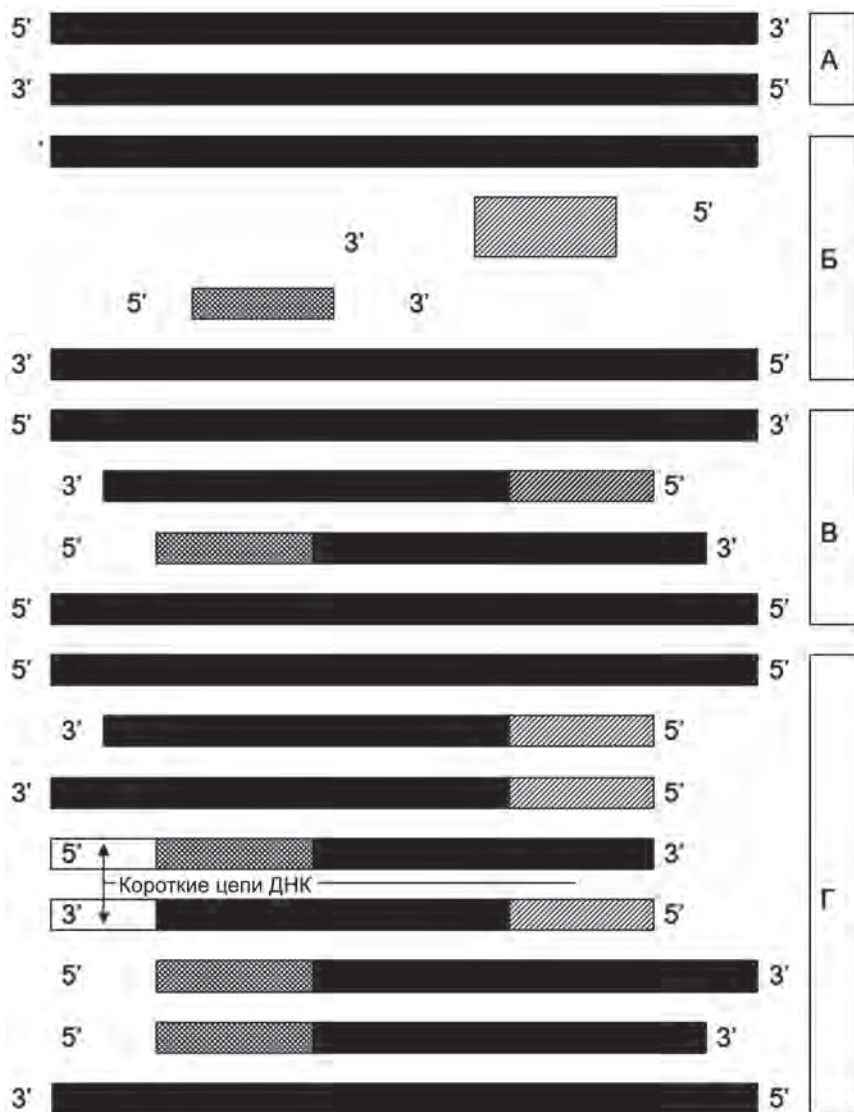


Рис. 5. Схема ПЦР: А – денатурация исходной ДНК;
 Б – образование коротких двуниевых участков ДНК (отжиг праймеров);
 В – синтез новых цепей ДНК, ограниченных с одной стороны;
 Г – синтез коротких цепей ДНК, ограниченных с двух сторон

Таблица 2

**Модификации метода ПЦР, используемые
при идентификации фитопатогенов**

Название	Характеристика	Особенности
ПЦР в реальном времени (Real-time PCR)	При реализации используются свойства молекул флуорофоров поглощать свет одной длины волны и испускать свет большей длины волны. Измеряется интенсивность флуоресценции реакционной смеси, зависящая от количества выработанной в ходе реакции ДНК. Проводят в ПЦР-амплификаторе, снабженном устройством для освещения пробирок светом и многоканальным флуоресцентным детектором для измерения уровня флуоресценции в каждой пробирке непосредственно в ходе реакции	На данный момент считается «золотым стандартом» среди методов обнаружения растительных патогенов, быстр и удобен по сравнению с классической ПЦР. Информирован о присутствии и количестве патогена сразу после этапа амплификации, не требует электрофоретического разделения продуктов, снижает вероятность загрязнения проб ампликонами. Процесс анализа полностью автоматизирован, подходит для полевой диагностики
ПЦР детекции по «конечной точке» (FLASH-PCR)	В отличие от ПЦР в реальном времени предполагает только одно измерение после завершения реакции с помощью специального детектора	Подходит для мобильных лабораторий, необходимое оборудование компактно и энергоэффективно, в 5-8 раз дешевле оборудования для ПЦР в реальном времени. Исключает загрязнение ампликонами. Сокращает время постановки диагноза до 2-3 ч, обеспечивает возможность детекции результатов, не открывая пробирки, и использования тест-систем, разработанных для ПЦР в реальном времени

Название	Характеристика	Особенности
ПЦР с применением обратной транскрипции (ОТ-ПЦР)	Можно использовать для выявления РНК-содержащих патогенных вирусов и вириодов. Реакция приводит к образованию одноцепочечной кДНК, комплементарной имеющейся РНК. В дальнейшем фрагмент кДНК амплифицируется с участием ДНК-полимеразы	Возможность одновременной идентификации и оценки жизнеспособности патогенов в пробе, а также оценки экспрессии генов. Превосходит по чувствительности гибридизационный анализ (фитоплазмы) или возвратный гель-электрофорез (вириоды)
ПЦР с вложенной парой праймеров (гнездовая ПЦР)	В реакции последовательно участвуют две пары праймеров, при этом вторая пара участвует в амплификации фрагмента ДНК внутри продукта, полученного после завершения цикла реакций с парой внешних праймеров. Предпочтительно использование варианта с проведением обеих стадий анализа в одной и той же пробирке	Достоинства метода – высокая чувствительность и уменьшение числа побочных продуктов реакции, усиление специфичности при амплификации целевого фрагмента. Недостаток – вероятность получения ложноположительных результатов из-за возможного загрязнения пробы. Может использоваться для идентификации фитоплазм и бактерии
ПЦР с иммунным захватом	Совместное использование иммунохимических и основанных на ПЦР-методов. Использование специфически связывающих искомые вирусные частицы антител позволяет захватить из раствора нужные вирусные частицы и увеличить концентрацию ДНК-матрицы. На следующей стадии из этих частиц освобождают вирусную ДНК или РНК и проводят соответственно ПЦР или ОТ-ПЦР	Снижает или устраняет влияние ингибиторов полимеразной реакции. Усиливает специфичность и чувствительность диагностики. Успешно применяется для диагностики выявления гриба <i>Didymella bryonia</i> среди других возбудителей аскохитоза огурца, детекции бактерии <i>E. amylovora</i> в плодах груши при их естественном заражении



Название	Характеристика	Особенности
Мультиплексная ПЦР (Multiplex PCR)	В одной и той же реакционной среде происходит процесс коампликации нескольких ДНК -матриц с участием нескольких пар праймеров. Праймеры для мультиплекс-ПЦР не должны быть комплементарны друг к другу. При анализе результатов методом электрофореза необходимо, чтобы ПЦР-продукты, образующиеся при амплификации ДНК из разных патогенов, имели различный размер	Позволяет одновременно диагностировать несколько патогенов в одном эксперименте. Наиболее часто применяют в фитопатологии при комплексной диагностике фитоплазм, нематод, вирусов и вириоидов
Метод БИО-ПЦР	Исследуемый образец помещают на агаризованную или в жидкую селективную среду и инкубируют в оптимальных для выявляемого организма условиях. После накопления его выделяют и проводят ПЦР	Подходит для обнаружения бактерий и грибов, выявляет даже единичные экземпляры патогена. Отличается высокой чувствительностью, особенно для быстрорастущих видов патогенов
ПЦР с произвольной амплификацией полиморфной ДНК (RAPD-ПЦР)	ПЦР-диагностика осуществляется на основе анализа амплификации случайно выбранного региона. Требуется проведения тщательной очистки, анализируемой ДНК. Происходит отжиг одного праймера небольшого размера, который комплементарен случайным участкам ДНК исследуемых патогенов	Используют, когда необходимо обнаружить последовательности, специфичные для близкородственных видов, штаммов, рас и изолятов, чтобы различить их

2.3.2. Петлевая изотермическая амплификация (LAMP)

Результативной альтернативой ПЦР является петлевая изотермическая амплификация (*Loop mediated isothermal amplification, LAMP*), которая обеспечивает возможность проведения изотермической амплификации без использования термоциклера [43] при температуре 60-65°C. В реакции участвуют четыре-шесть праймеров (прямые и обратные внутренние, а также прямые и обратные внешние), распознающих шесть-восемь различных комплементарных участков на анализируемой ДНК. Конечные продукты LAMP-фрагменты ДНК, образовавшиеся после нескольких циклов, имеют инвертированные повторы целевого фрагмента и несут многочисленные петли. Имеются разработанные варианты с привлечением обратной транскрипции (RT-LAMP) и проведением в реальном времени (real time LAMP). По сравнению с классическим вариантом ПЦР LAMP является более быстрым, простым и высокоспецифичным методом; позволяет амплифицировать целевые последовательности ДНК в изотермальных условиях, а также легко обнаруживать их из большого количества без предварительного электрофореза. При диагностике патогенов картофеля используется для одностадийной идентификации Y-вируса и бактерии *Ralstonia solanacearum*.

2.3.3. Технология с использованием метода гибридизации нуклеиновых кислот

Данная технология диагностики использует гибридизацию – соединение одноцепочечных молекул нуклеиновых кислот в одну двунитевую молекулу, применяется для выявления фитопатогенных бактерий, вирусов и виroidов, экспрессии генов, идентификации и генотипирования грибов [8, 24].

В основе метода – свойство водного раствора ДНК при нагревании до 100°C и (или) повышении pH до 13 диссоциировать на две цепи (денатурировать), а выдерживание при 65°C приводит к восстановлению структуры двойной спирали (гибридизация). Процессы гибридизации происходят между любыми одинарными цепями



нуклеотидов, если они комплементарны: ДНК-ДНК, ДНК-РНК, РНК-РНК.

Гибридизация применяется для диагностики с использованием чипов. Чипы представляют собой пластинки с иммобилизованными мечеными одноцепочечными ДНК-зондами. Метка проявляется только в спаренных двуцепочечных фрагментах. Если в исследуемом образце есть последовательности, комплементарные последовательностям ДНК зонда, то гибридизацию можно определить с помощью специальных приборов. Результаты гибридизации могут быть обнаружены различными способами, которые определяются типом метки (радиоактивные изотопы, биотинилированные зонды, хемилюминесцентные или флуоресцентные зонды). Чипы дешевы, надежны, просты в обращении, могут использоваться многократно. Основные недостатки метода – высокая стоимость аппаратуры для работы с чипами, невозможность полной автоматизации, ряд ограничений в отношении чувствительности (для ее проведения необходимо располагать достаточным количеством ДНК – от 10 тыс. для бактериальных клеток) [8, 24].

При гибридизации пробы и мишени детектируется флуоресцентный сигнал, который позволяет определить в мишени относительное содержание нуклеиновых кислот. Микрочипы обеспечивают возможность одновременного анализа большого числа образцов, различения последовательностей с гомологией – около 80%. Биочипы миниатюрны, экономичны в расходе реактивов. В качестве иммобилизованных зондов в биочипе можно применять фрагменты ДНК, РНК, белков (с сохранением ферментативных и антигенных свойств), а также клеток – биосенсоров. Но они обладают невысокой (сравнимой с ИФА) чувствительностью, и для них необходимо сложное и дорогое оборудование.

В России на основе гибридизационного метода в МГУ на кафедре вирусологии биологического факультета и в НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского совместно с ВНИИКХ имени А.Г. Лорха разработано несколько высокоэффективных методов диагностики вирусных и вирусной инфекции картофеля: высокочувствительная (1 нг РНК фитопатогена) технология визуальной молекулярной

диагностики виroidной и вирусных инфекций картофеля методом молекулярной гибридизации ДНК-зондов, меченных диенплатиной (МГА–ИФА-технология); комбинированная технология ОТ-ПЦР и МГА–ИФА (определение продукта амплификации проводится специфическим ДНК-зондом, определяемым иммуноферментным анализом с хемилюминисцентным субстратом), распознающая одну молекулу РНК виroidа или вируса в анализируемой пробе; ДНК-чип низкой плотности, способный одновременно определять шесть вирусов и виroid картофеля на нитратцеллюлозной мембране [38].

Похожие методы диагностики виroidа веретеновидности клубней картофеля и других виroidов, основанные на радиоактивно меченных и флуоресцентных зондах, используются и за рубежом. Разработаны ДНК-микрочипы для одновременного обнаружения более чем 40 грибов и 10 почвенных бактерий патогенов растений. Например, микрочип-ДНК Multiscan® (<http://www.dnamultiscan.com/>) используется во всем мире компаниями, предлагающими услуги по диагностике заболеваний растений.

Исследования и разработки молекулярных технологий диагностики с использованием ПЦР проводят многие организации. Из зарубежных фирм-производителей в качестве примера можно привести тест-системы фирмы «Agdia» (США) (www.agdia.com), тесты фирм «Adgen» (Великобритания), «AgriTest» (Италия), «Ingenasa», «Plant-Print Diagnostics», «Durviz» (Испания), «Лево» (Германия), дополняющих по некоторым патогенам продукцию «Agdia».

На российском рынке наиболее широкий ассортимент диагностических наборов для определения фитопатогенов предлагает ООО «АгроДиагностика». Для диагностики вирусных патогенов картофеля данной компанией производятся ПЦР тест-системы в формате электрофореза, FLASH-ПЦР и ПЦР в реальном времени, выпускаются наборы для диагностики вирусов скручивания листьев, метельчатости верхушек, М, S, X, Y, A и виroidа веретеновидности клубней.

Эффективность диагностических наборов ООО «АгроДиагностика» с детекцией в агаризном геле продуктов амплификации с помощью ПЦР с некоторыми модификациями подтвердилась в ла-



боратории энзимного анализа ДНК-технологий и испытательном лабораторном комплексе НГАУ (г. Новосибирск). При анализе на вирусы и вироиды применялась реакция обратной транскрипции с тотальной РНК (детекция результатов проводилась на амплификаторе «БИС»). Показано, что технологии с использованием ПЦР и диагностические наборы являются точными и чувствительными, выявляющими скрытую форму фитопатогенов, что очень важно при создании чистого посадочного материала картофеля [44].

Возможность проверки образцов посадочного материала картофеля одновременно на ряд патогенов обеспечивает ПЦР-диагностика в реальном времени на базе одноразовых ПЦР-матриц, содержащих иммобилизованные лиофилизированные тест-системы, предлагаемые ООО «ГенБит». Специальная технология изготовления матриц обеспечивает возможность их хранения в течение трех-шести месяцев при комнатной температуре, упрощает и ускоряет процесс проведения анализа, позволяет определять скрытые инфекции с пределом обнаружения 1 нг/мл [7].

Важная особенность данных ПЦР-матриц – нанесение в ячейки всех компонентов ПЦР-смеси (включая ДНК-полимеразу и обратную транскриптазу) с последующей их лиофилизацией на этапе производства, что значительно упрощает процедуру проведения анализа. ПЦР-матрицы «Фитопатогены картофеля. ДНК», ОТ-ПЦР-матрицы «Фитопатогены картофеля. РНК» обладают открытой конфигурацией, т. е. существует возможность формирования набора тест-систем в их составе в соответствии с конкретной целью работы [45].

Набор микрочипов «Фитопатогены картофеля. ДНК» предназначен для выявления специфических последовательностей ДНК в геноме возбудителей основных болезней картофеля методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА» и проб ДНК, полученных из клубней или зеленой массы картофеля.

Набор микрочипов «Фитопатогены картофеля. РНК» предназначен для выявления специфических последовательностей РНК вирусов PVY (o ntn), PVX, PVM, PVA, PVS, вируса скручивания листьев

(PLRV), вируса метельчатости верхушки (моп-топ, PMTV), а также вириода PSTVd методом с предшествующей обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА» и проб РНК, полученных из клубней или зеленой массы картофеля. Наборы предназначены только для применения *in vitro*.

В состав набора «Фитопатогены картофеля. ДНК/РНК» входят 25 микрочипов с иммобилизованными ПЦР-смесями, а также одна пробирка с буфером и один флакон с герметизирующей жидкостью. При проведении анализа рекомендуется использовать образцы с концентрацией ДНК 20-500 нг/мкл. ДНК из подготовленного материала выделяют в соответствии с инструкцией к используемому набору. Наборы успешно апробированы в работе ФГБУ «Россельхозцентр» [46].

В РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (г. Москва) разработаны технологии высокоэффективного выявления фитопатогенов, передающихся посадочным материалом картофеля. Выделялись ДНК и РНК из коллекций сортов картофеля, имеющих признаки поражения фитопатогенами. В результате были созданы образцы ДНК и РНК, обеспечивающие возможность определения патогена и устойчивости к нему, постановки реакции ПЦР с целью клонирования нужной последовательности ДНК, использования в качестве эталонных, обладающих чистотой и стабильностью, контролей для ПЦР анализа.

Для детекции каждого вируса исследователями были оптимизированы условия ПЦР. Разработана эффективная система по выявлению вирусной инфекции, включающая в себя несколько этапов (рис. 6) [47].

Оптимизация условий для обнаружения геномов целого спектра патогенов в системе сортового материала, в том числе и карантинных, таких как андийский латентный вирус картофеля (АЛВК), карлавирусы картофеля М и S, полевирол скручивания листьев картофеля, вириод веретеновидности клубней, бактерии возбудителя кольцевой гнили картофеля посредством последовательных реак-



ций обратной транскрипции ПЦР изучалась в ФГБНУ ВНИИСБ (Москва). В результате предложены универсальные технологии и экспресс-методы ПЦР-диагностики этих патогенов [48].

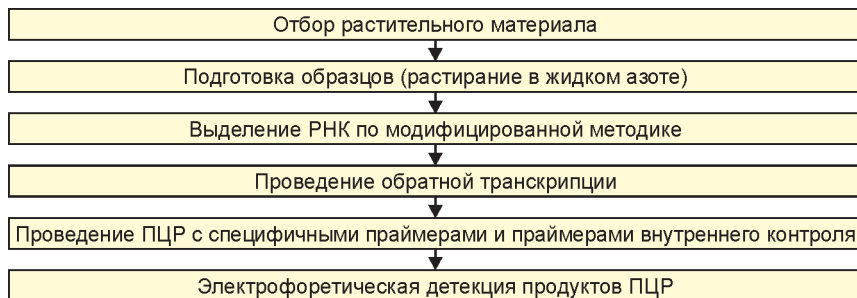


Рис. 6. Технологическая схема проведения диагностики вирусной инфекции картофеля

На основе ПЦР в формате FLASH в Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Москва) и ЗАО НПФ «ДНК-Технология» разработаны специфичные и чувствительные диагностические системы для детекции карантинных фитопатогенов: возбудителей бурой бактериальной гнили картофеля и кольцевой гнили картофеля, бледной и золотистой картофельных цистообразующих нематод. Тест-системы пригодны для рутинной диагностики и апробированы на широком спектре изолятов и рас фитопатогенов [49].

Диагностические наборы, созданные на основе разработанных тест-систем, можно использовать в карантинных лабораториях. Результаты исследований показывают, что их использование позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью детектировать четыре вируса, три из которых входят в Перечень карантинных объектов Российской Федерации. Создан регламент для производства соответствующих тест-систем, которые апробированы в Институте картофельного хозяйства, Институте карантина растений, Научно-практическом центре НАН Белоруссии по картофелеводству и плодовоовощеводству и в ряде семеноводческих станций [50].

Там же проведены сравнительный анализ применявшихся ранее технологий диагностики карантинных вирусов картофеля АЛБК и АВКК и разработка новых. Из традиционных методов при использовании растений-индикаторов требуются высокая квалификация персонала и значительные затраты времени; применение серологических методов детекции невозможно без дорогостоящих высококачественных антител, а чувствительность этих двух методов невысокая. В качестве альтернативы специалисты Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова предлагают использовать технологии детекции АЛБК и АВКК на основе ПЦР в реальном времени, которые подходят для рутинных анализов большого объема исследуемого материала в условиях карантинной лаборатории, а при минимальной доработке позволяют проводить и количественное определение патогена. Они быстро, с высокой чувствительностью и специфичностью определяют наличие анализируемого вируса даже при его низком содержании в образцах и при латентной инфекции.

Особенности разработанных тест-систем: для предотвращения неспецифического отжига праймеров при низкой температуре и обеспечения сохранности наборов смесь для проведения ПЦР разделена парафином разного цвета, что одновременно обеспечивает цветовую маркировку пробирок для разных тест-систем, каждая тест-система снабжена внутренним контролем. Тест-системы полностью ориентированы на отечественное оборудование, производимое компанией ООО «НПО ДНК-Технология» [51-55].

Наборы для проведения ПЦР-идентификации АЛБК и АВКК в формате реального времени производит ООО «АгроДиагностика», они протестированы и используются в ФГБУ Всероссийский центр карантина растений [51].

В тест-системах ООО «АгроДиагностика» применяются реагенты на основе формата FLASH. Результаты анализа детектируются на флуориметре «ДЖИН» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) и выводятся на экран компьютера в течение 30-60 с. Комплекты реагентов в формате Real-Time позволяют проводить качественный ПЦР-анализ в режиме реального времени с использованием прибо-



пов ДТ-322, ДТ-96, DTprime, DTlite (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), iQ iCycler («Bio-Rad Laboratories», США). Имеются наборы, адаптированные под прибор Rotor-Gene 6000 («Qiagen Instruments», Германия). Реагенты для диагностики патогенов картофеля представлены в табл. 3 [56].

Таблица 3

Комплекты реагентов для диагностики болезней картофеля

Наименование	Формат		
	Форез	FLASH	Rt
Кольцевая гниль картофеля (<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Sepedonicus</i>)	+	+	+
Бурая бактериальная гниль (<i>Ralstonia solanacearum</i>)	+	+	+
Вирус скручивания листьев картофеля (<i>Potato Leafroll Virus</i>)	+	+	+
М вирус картофеля (<i>Potato Virus M</i>)	+	+	+
S вирус картофеля (<i>Potato Virus S</i>)	+	+	+
X вирус картофеля (<i>Potato Virus X</i>)	+	+	+
Вироид веретеновидности клубней картофеля (<i>Potato Spindle Tuber Viroid</i>)	+	+	+
Y вирус картофеля (<i>Potato Virus Y</i>)	+	+	+
A вирус картофеля (<i>Potato Virus A</i>)	+	+	+
Вирус метельчатости клубней картофеля (<i>Potato Mop Top virus</i>)	+	+	+
Андийский вирус крапчатости картофеля (<i>Andean potato mottle virus</i>)	+		+
Андийский латентный вирус картофеля (<i>Andean potato latent virus</i>)	+		+
Бледная картофельная цистообразующая нематода (<i>Globodera pallida</i>)	+	+	+
Золотистая картофельная цистообразующая нематода (<i>Globodera rostochiensis</i>)	+	+	+
Рак картофеля (<i>Synchytrium endobioticum</i>)			+
Вирус черной кольцевой пятнистости картофеля (<i>Potato black ringspot virus</i>)	+		+
T вирус картофеля (<i>Potato virus T</i>)			+
Вирус пожелтения картофеля (<i>Potato yellowing virus</i>)			+
Комплект реагентов для амплификации кДНК гена актина картофеля	+	+	+

В лаборатории вирусологии ФГБУ «ВНИИКР» для диагностики вириоида веретеновидности клубней картофеля используется метод ПЦР в реальном времени с универсальными праймерами и зондом к роду *pospiviroid* PSTV 231F/PSTV 296R/PSTV 251T или коммерческий набор для ПЦР в реальном времени для выявления всех представителей рода *pospiviroid* (Синтол, Россия), в котором применяются те же праймеры и зонд [57].

ВНИИКС и ВНИИКР оптимизировано применение ПЦР на основе праймеров ADE1/ADE2 для выявления патогена в растительных экстрактах. Показано, что использование различных сред на основе селективного вещества индиготина, которое стимулирует образование синего пигмента у бактерий рода *Dickeya* (возбудитель опасного заболевания – черная ножка), позволяет отличить их от бактерий *Pectobacterium spp.* В целом диагностика данного вида может быть проведена по следующей схеме: родоспецифическая диагностика *Dickeya spp.* в образце с помощью скрининг-тестов (иммуноферментный, иммунофлуоресцентный, ПЦР-анализ) и/или изоляция бактерий на специальные среды с последующей идентификацией изолятов с характерной морфологией до вида с применением преимущественно молекулярных методов [41, 58, 59].

Как показал анализ литературных источников, для технологий с использованием ПЦР характерны высокая чувствительность, возможность количественной оценки патогена, точность анализа; они подходят для определения любых патогенов даже на этапе довизуального проявления болезни, что очень важно при диагностике заражения семян и посадочного материала, выявления карантинных объектов. Протоколы ПЦР разработаны для детекции многих важных фитопатогенных бактерий, представителей наиболее вредоносных таксонов грибов (*Phytophthora*, *Pythium*, *Aspergillus*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Gaeumannomyces*, *Helminthosporium*, *Mycosphaerella*, *Phoma*, *Puccinia*, *Rhizoctonia*, *Septoria*, *Tilletia*, *Ustilago*, *Verticillium*). Технологии с использованием ПЦР успешно применяются также для обнаружения фитопатогенных нематод, в частности с целью контроля золотистой и бледной картофельных нематод, являющихся карантинными объектами.



Подробные методические описания видовой идентификации нематод в современных лабораториях с помощью ПЦР можно найти на сайте www.nematode.unl.edu/nemaid). На российском рынке на обе вышеупомянутые нематоды имеются ПЦР-диагностические наборы фирмы ООО «АгроДиагностика» [39].

Использование метода ПЦР позволяет значительно сократить время проведения анализа образца. Благодаря автоматизации процесс амплификации занимает всего 1-2 ч, а с учетом предшествующей пробоподготовки и регистрации результатов анализа – не более 4 ч. Существенным достоинством метода является также возможность количественного определения возбудителя в модификации метода ПЦР в реальном времени.

К характеристикам, ограничивающим распространение данных технологий, относятся необходимость создания дорогостоящей приборно-лабораторной базы, высокая квалификация обслуживающего персонала, длительность процесса анализа. Высокая чувствительность ПЦР является как преимуществом, так и недостатком метода, создавая ряд проблем, одной из которых является высокая вероятность появления ложноположительных и ложноотрицательных данных. Корректность проводимых ПЦР-тестов в значительной степени зависит от адекватности методов выделения нуклеиновых кислот из растительного материала; чувствительность детекции зависит от влияния присутствующих в растительном материале ингибиторов ПЦР.

Наиболее перспективным для диагностических лабораторий, проводящих рутинные анализы, являются методы ПЦР в формате FLASH или в формате реального времени. Оба формата основаны на флуоресцентной детекции продуктов амплификации, позволяют регистрировать результаты ПЦР непосредственно во время (ПЦР в формате реального времени) или после проведения реакции (ПЦР в формате FLASH), без открывания пробирок, благодаря чему решается проблема контаминации продуктами ПЦР, упрощаются требования к организации ПЦР-лаборатории, значительно снижается трудоемкость, сокращается время проведения стадии детекции. Методы обеспечивают также возможность простой и эффективной

документации и хранения результатов ПЦР в компьютерной базе данных.

Подтверждением бóльшей точности метода ПЦР может стать сравнительный анализ трех распространенных методов диагностики табл. 4.

Таблица 4

Сравнительный анализ применения методов ИФА, ИФА и ОТ-ПЦР при выявлении вирусов в растениях, регенерированных из апикальной меристемы (n=200)

Метод	Количество инфицированных линий, шт. (% $\pm$ m)				
	УВК	МВК	СВК	ХВК	ВСЛК
ИФА	69(34.5 $\pm$ 3.0)	73(36.5 $\pm$ 3.0)	26(11.0 $\pm$ 2.2)	14(7.0 $\pm$ 1.5)	1(0.5 $\pm$ 0.8)
ОТПЦР	83(41.5 $\pm$ 3.0)	82(41.0 $\pm$ 3.1)	56(28.0 $\pm$ 2.9)	15(7.5 $\pm$ 1.8)	2 (1.0 $\pm$ 1.0)
ИХА	65 (32.5 $\pm$ 3.0)	74(37.0 $\pm$ 3.2)	34(17.0 $\pm$ 2.0)	12(6.0 $\pm$ 3.0)	

Примечание. % $\pm$ m – относительное количество с ошибкой доли.

Как показывает табл. 4, молекулярными методами выявлено 30 СВК-, 14 УВК-, 9 МВК и 1 ВСЛК – инфицированных меристемных линий, которые не были детектированы в ИФА, у метода ИХА результаты схожи с ИФА. Поскольку обнаружение даже единичной инфицированной меристемной линии в условиях биотехнологического производства безвирусного картофеля имеет большое значение, применение метода ОТ-ПЦР при проведении диагностического контроля патогенов в растениях, регенерированных из меристемной ткани, является необходимым и оправданным [41].

2.4. Диагностика по составу жирных кислот

Тип продуцируемых жирных кислот и их относительные концентрации зависят от генотипа и являются характерными для того или иного микроорганизма или даже его штамма. На композицию жирных кислот влияют условия культивирования, состав сред, температура и время инкубации. Если обеспечить их постоянство, то количественный и качественный состав жирных кислот хорошо воспроизводим и стабилен [8, 24].



Компания «MIDI» (США) предлагает технологию диагностики, реализуемую с помощью метода идентификации бактерий по составу жирных кислот с помощью газожидкостной хроматографии. Чтобы стандартизировать условия выращивания, специалисты компании используют автоматизацию процесса, специальное программное обеспечение (Microbial Identification System; Microbial ID, Inc., [MIDI], Newark, DE). Система хроматографии определяет состав комплекса жирных кислот в клетках микроорганизмов, затем сравнивает его с профилями жирных кислот, хранящихся в базе данных (MIDI Sherlock). Фирма предлагает две системы идентификации – одну для бактерий и дрожжей с базой данных, содержащей информацию о более чем 1500 видах, другую – для микобактерий, позволяющую определять 25 видов микобактерий и 35 видов других организмов. В базы данных включены сведения о составе комплекса жирных кислот при разных условиях выращивания [8, 24]. Несмотря на эффективность диагностики, применение данной технологии ограничено необходимостью приобретения дорогостоящего оборудования и документации. Для патогенов картофеля данным методом могут быть определены виды *Dickeya spp.*, вызывающие бактериоз картофеля [59-61].

2.5. Методы селективных сред и растений-индикаторов

К основным методам диагностики относятся также селективные среды (для выявления Ес и Сms) и метод растений-индикаторов (для выявления Сms).

Селективные среды – среды, обеспечивающие за счет своего состава развитие одного или группы родственных микробов, мало-пригодные или совсем не пригодные для развития других. К таким средам относятся: для Ес – CVP, среды Эндо, Эйсмана, Логана и другие, для Сms – среды Буркгольдера, Ленхенеля и др.

Эффективность этого метода при диагностике Ес показана многими исследованиями, в настоящее время метод селективных сред является одним из основных методов диагностики этого возбудителя. Имеются работы и по диагностике Сms этим методом.



Метод элективных сред по чувствительности уступает только нИФМ и ПЦР. При этом большим преимуществом этого метода является то, что метод элективных сред позволяет отличить живые клетки от мертвых и поэтому оценить реальную опасность выявляемого возбудителя.

В качестве растений-индикаторов при диагностике *Sms* используют растения баклажанов, томатов, листья табака, герани, плектрантуса. Сравнительный анализ чувствительности методов нИФМ с моно- и поликлональными антителами, молекулярной гибридизации и метода растений-индикаторов показал, что при диагностике *Sms* наиболее чувствительным является метод растений-индикаторов (использовали баклажаны сорта Black Beauty).

Из других методов имеются исследования об использовании при диагностике *Sms* метода с применением различных стимуляторов (янтарная кислота и др.); газовой хроматографии жирных кислот; Ес и *Sms*: метода инкубации клубней и электронной микроскопии [8, 24, 60, 61].

Методы учета основных болезней картофеля представлены в прил. 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Защита картофеля от болезней должна быть интегрированной, включать в себя профилактические и истребительные мероприятия. Воздействие на патогены наиболее эффективно не в период их активности, а в фазы депрессии и начала распространения. Поэтому в диагностике патогенов передовыми являются методы, с помощью которых можно распознать минимальное количество патогена в растительном организме или его латентную форму, огромное значение имеет скорость получения результата диагностики, а также простота проведения анализа.

Морфологические методы диагностики патогенов картофеля с использованием визуального осмотра и микроскопирования хотя и не теряют своей актуальности в фитопатологических исследованиях, однако этим требованиям не отвечают.



Иммунные методы диагностики на основе иммунохроматографии, представленные ИХА тест-системами, позволяют проводить анализ непосредственно в поле за 10-15 мин. Предложены и апробированы ИХА-диагностические системы, разработанные в Институте биохимии им. А.Н. Баха, Федеральном исследовательском центре «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, в которых предел обнаружения патогена удалось снизить в 32 раза по сравнению с традиционной иммунохроматографией, .

Однако технологии на основе метода иммунохроматографии обладают низким по сравнению с другим иммунным методом – иммуноферментного анализа (ИФА), а также молекулярными методами на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР), чувствительностью и специфичностью и в большинстве случаев коммерчески доступны только в формате «один тест – один патоген».

Способ нивелирования недостатков ИХА предложен в ЗАО НВП «Иммунотех» МГУ имени М.В. Ломоносова в сотрудничестве с ВНИИКХ имени А.Г. Лорха – это технология проведения двухэтапной комбинированной диагностики. На первом этапе в полевых условиях используется технология на основе ИХА, с помощью которого отбраковывается явно зараженный материал. На втором этапе для анализа оставшихся растений применяются технологии с использованием либо ИФА, либо ПЦР. Здесь был разработан и апробирован оригинальный формат иммунохроматографии, в котором выявление большого числа патогенов обеспечивается с помощью одной тест-полоски. Тест-полоски и экспресс-метод диагностики вирусных инфекций доступны каждому картофелеводу.

Иммунный метод диагностики с применением ИФА высокочувствителен, точен, позволяет количественно определять до 1 нг/мл патогена в экстрактах. Его использование обеспечивает выявление довизуальных признаков проявления болезней растений, но для его реализации необходимы квалифицированный персонал и дорогостоящее оборудование, что, несмотря на большую перспективность, ограничивает область применения ИФА специализированными лабораториями. Наибольшую практическую доступность получил «сэндвич-вариант» твёрдофазного ИФА (das-ELISA), который применяется в случаях, когда предполагается низкая концентрация патогена в пробе. Имеются коммерческие диагностические системы,



основанные на ИФА в форме ELISA, но количество определяемых с их помощью патогенов картофеля ограничено.

Молекулярные методы диагностики, основанные на ПЦР, могут выявлять в растительной ткани присутствие минимального количество ДНК и РНК патогенного организма, отличаются высокой чувствительностью и специфичностью, наличием количественной оценки присутствия объекта. Они подходят для определения патогенов на этапе довизуального проявления болезни, что перспективно при диагностике заражения посадочного материала, выявления карантинных объектов, идентификации патогенов. Многие научные, образовательные и производственные организации (ФГБНУ ВНИИФ, ИБХ имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ФГБУ ВНИИКР, ВНИИКХ имени А.Г. Лорха, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ООО «АгроДиагностика», ООО «ГенБит») имеют разработки в области оптимизации процесса проведения ПЦР, протестированные в практических условиях. На российском рынке наиболее широкий ассортимент диагностических наборов для определения фитопатогенов предлагает ООО «АгроДиагностика».

На основе молекулярного метода гибридизации разработаны микрочипы для одновременного обнаружения более чем 40 грибов и 10 почвенных бактерий патогенов растений.

Широкое использование молекулярных методов сдерживается высокой стоимостью приборов и реактивов, строгими требованиями к организации помещений лаборатории и квалификации персонала. Еще одним ограничением для диагностики с использованием ПЦР является отсутствие коммерческих тест-систем для многих патогенов картофеля. Реализация данных технологий требует значительных затрат времени, связанных с необходимостью доставки отобранных образцов в диагностическую лабораторию, накоплением проб для постановки анализа и доведением результатов до производителя.

Те же ограничения характерны для технологий с использованием методов идентификации по видам жирных кислот, они, как и другие представленные в обзоре методы, очень редко применяются в практическом картофелеводстве.

На основании проведенного анализа можно сделать вывод, что передовыми для диагностики патогенов картофеля являются молекулярные и иммунные методы.



ЛИТЕРАТУРА

1. Шафикова Т.Н., Бояркина С.В., Омеличкина Ю.В., Таусон Е.Л., Федосеева И.В. Диагностика возбудителя кольцевой гнили в клубнях картофеля методом полимеразной цепной реакции // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – Vol. 4. – № 3. – 2008. – Рр. 4-8.
2. Пашков Д.А., Ветрова Е.В. О состоянии проблемы болезней картофеля // Донецкие чтения 2017: Русский мир как цивилизационная основа научно-образовательного и культурного развития Донбасса: матер. Междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых / Под общей ред. С.В. Беспаловой. – Донецк: Донецкий нац. ун-т, 2017. – С. 172-173.
3. Иващенко В.Г., Павлюшин В.А. Интенсификация растениеводства и эколого-продукционный баланс агроэкосистем: снижение плодородия почв и фитосанитарная дестабилизация // Вестн. защиты растений. – 2017. – № 3 (93). – С. 5-16.
4. Санин С.С. Эпидемии болезней растений в условиях современного земледелия // Эпидемии болезней растений: мониторинг, прогноз, контроль: матер. Междунар. конф. – Большие Вяземы, Московская область, 13-17 ноября 2017. – Вып. 8. – С. 5-17.
5. Соколов М.С., Санин С.С., Долженко В.И., Спиридонов Ю.Я., Глинушкин А.П., Каракотов, С.Д., Надыкта В.Д. Концепция фундаментально-прикладных исследований защиты растений и урожая // Агрохимия. – 2017. – № 4. – С. 3-9.
6. Игнатов А.Н., Паныхева Ю.С., Воронина М.В., Джалилов Ф.С. Бактериозы картофеля в Российской Федерации // Картофель и овощи. – 2018. – № 1. – С. 3-6.
7. Малько А.М., Живых А.В., Никитин М.М., Французов П.А., Стаций Н.В., Джавахия В.Г., Голиков А.Г. Мониторинг вирусных инфекций картофеля с использованием матричной ПЦР-диагностики // Картофель и овощи. – 2017. – №12. – С. 26-29.
8. Дьяков Ю.Т., Еланский С.Н. Общая фитопатология: учеб. пособ. для академического бакалавриата. – М.: Юрайт, 2018. – 230 с.
9. Ганнибал Ф.Б. Систематика альтернариоидных гифомицетов и их распространение в России // Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке: матер. Междунар. науч. конф., посвящ. 150-летию со дня рождения чл.-корр. АН СССР, проф. Артура Артуровича Ячевского. – Национальная



академия микологии, БГС, Дизайн-студия «Дозор» – СПб: ООО «Копи-Р Групп», 2013. – С. 62-64.

10. **Орина А.С.** Видовой состав возбудителей альтернариоза пасленовых культур на территории России: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб – 2011. – 26 с.

11. **De Hoog G.S., Horré R.** Molecular taxonomy of the *Alternaria* and *Ulocladium* species from de humans and their identification in the routine laboratory // *Mycoses*. – 2002. – V. 45. – № 7-8. – P. 259-276.

12. **Roberts R.G.** *Alternaria yaliinficiens* sp. nov. on Ya Li pear fruit: from interception to identification // *Plant disease*. – 2005. – V. 89. – № 2. – P. 134-145.

13. **Dillard H.R.** *Colletotrichum coccodes*: the pathogen and its hosts. In: Bailey JA, Jeger MJ, eds. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control* // Wallingford, UK: CAB International. – 1992. – P. 225-236.

14. **Andrivon D, Ramage K, Guerin G, Lukas JM, Jouan B.** Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* in French potato-producing areas // *Plant Pathology*. – 1997. – V. 46. – P. 722-728.

15. **Belov G.L., Belosokhov A.F., Kutuzova I.A., Statsyuk N.V., Chudinova E.M., Alexandrova A.V., Kokaeva L.Y., Elansky S.N.** *Colletotrichum coccodes* in potato and tomato leaves in Russia // *Journal of Plant Diseases and Protection*. – 2018. – T. 125. – № 3. – С. 311-317.

16. **Белов Г.Л., Зейрук В.Н., Кокаева Л.Ю., Кутузова И.А., Еланский С.Н.** Антракноз, или черная пятнистость, клубней картофеля // *Защита и карантин растений*. – 2018. – № 10. – С. 36-38.

17. **Анисимов Б.В., Зебрин С.Н., Зейрук В.Н.** Сухие и мокрые гнили клубней и их контроль в семеноводстве картофеля // *Защита и карантин растений*. – 2017. – № 5. – С. 30-35.

18. **Анисимов Б.В., Зейрук В.Н., Зебрин С.Н., Васильева С.В., Дервягина М.К., Логинов С.И., Глез В.Н.** Гнили клубней картофеля: источники заражения, профилактика и защита // *Практ. рук./ Всеросс. науч.-исслед. ин-т картофельного хоз-ва им. А.Г. Лорха*. – Чебоксары, 2016. – 31 с.

19. **Кузьмичев А.А., Мальцев С.В., Зейрук В.Н.** Фомозное поражение картофеля // *Вест. Рос. ун-та дружбы народов. Сер.: Агрономия и животноводство*. – 2014. – № 3. – С. 27-34.



20. Шалдяева Е.М., Пилипова Ю.В., Шатунова М.П. Ризоктониоз картофеля в северной степи Приобья II. Углубленная пятнистость // Вест. защиты растений. – 2005. – № 3. – С. 73-77.

21. Белов Г.Л., Зейрук В.Н., Васильева С.В. Бактериальные болезни картофеля и методы их диагностики // Защита и карантин растений. – 2016. – № 3. – С. 30-32.

22. Зейрук В.Н. Y-Вирус картофеля, его штаммы и изоляты // Методы биотехнологии в селекции и семеноводстве картофеля: матер. Междунар. науч.-практ. конф. – Сер. «Картофелеводство». – 2014. – С. 153-158.

23. Зейрук В.Н., Зебрин С.Н., Васильева С.В., Деревягина М.К., Глез В.Н., Белов Г.Л., Кузьмичев А.А. Нематоды, паразитирующие на картофеле: симптомы повреждений, профилактика и защита // Всерос. науч.-исслед. ин-т картофельного хоз-ва им. А.Г. Лорха. – Чебоксары, 2017. – 20 с.

24. Анисимов Б.В., Белов Г.Л., Варицев Ю.А., Еланский С.Н., Журомский Г.К., Завриев С.К., Зейрук В.Н., Иванюк В.Г., Кузнецова М.А., Пляхневич М.П., Пшеченков К.А., Симаков Е.А., Склярова Н.П., Сташевски З., Усков А.И., Яшина И.М. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков // Картофелевод. – 2009. – 272 с.

25. Иванюк В.Г., Банадысев С.А., Журомский Г.К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. – Минск, Белпринт, 2005. – 696 с.

26. Васильева С.В., Овэс Е.В., Зейрук В.Н., Абашкин О.В., Старовойтова О.А., Абросимов Д.В., Масюк Ю.А. Сравнительная характеристика биоценозов картофеля и топинамбура в меняющихся климатических условиях // Картофелеводство: сб. науч. тр. Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр национальной Академии наук Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству». – Минск, 2016. – С. 210-2016.

27. Методика исследований по культуре картофеля. – М., 1967.

28. Методика исследований по защите картофеля от болезней, вредителей, сорняков и иммунитету. – М.: 1995.

29. Фундаментальная фитопатология [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://agro-portal.su/fundamentalnaya-fitopatologiya> (дата обращения: 20.06.2019).

30. Белов Г.Л., Зейрук В.Н., Васильева С.В. Бактериальные болезни картофеля и методы их диагностики // Защита и карантин растений. – 2016. – № 3. – С. 30-32.

31. Martin M.T., Cobos R. Identification of fungi associated with grapevine decline in Castilla y León (Spain) // Phytopathologia Mediterranea. – 2007. – V. 46. – № 1. – P. 18-25.

32. Yan L., Zhang C., Ding L., Ma Z. Development of a real-time PCR assay for the detection of *Cladosporium fulvum* in tomato leaves // Journal of applied microbiology. – 2008. – V. 104. – № 5. – P. 1417-1424.

33. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. – Киев: Наукова думка, 1988. – 552 с.

34. Белов Г.Л. Разработка методов диагностики возбудителей черной ножки (*Erwinia carotovora* (Jones) Bergey et al.) и кольцевой гнили (*Clavibacter niichiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Spieck. Et kotth.) Skaptasson et burk.) картофеля: автореф. дис. канд. биол. наук / Моск. с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева. – М., 2003. – 23 с.

35. Савенкова И.В., Панферов В.Г., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Амплификация сигнала в иммунохроматографическом анализе фитопатогенов // Биотехнология: состояние и перспективы развития: матер. Междунар. форума (23-25 мая 2018, Москва). – С. 816-817.

36. Савенкова И.В., Панкратова Г.К., Жердев А.В., Зайцев И.А., Усков А.И., Варицев Ю.А., Дзантиев Б.Б. Разработка мультипараметрических иммуноаналитических тест-систем для выявления скрытой зараженности картофеля вирусными и бактериальными патогенами // Защита картофеля. – 2014. – № 1. – С. 60-62.

37. Савенкова И.В., Панферов В.Г., Немченко Н.А., Варицев Ю.А., Зайцев И.А., Варицева Г.П., Галушка П.А., Усков А.И., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Иммунохроматографическая тест-система для одновременного контроля десяти патогенов картофеля // Картофелеводство: матер. науч.-практ. конф. «Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства картофеля» (9-10 июля 2018 г.) / ФГБНУ ВНИИКХ; под ред. С.В. Жеворы. – М., 2018. – С. 232-245.

38. Кондакова О.А., Бутенко К.О., Скурат Е.В., Дрыгин Ю.Ф. Молекулярная диагностика инфекций Y-вирусом и вирусом скручивания листьев



картофеля методом иммунохроматографии // Вест. Моск. ун-та. – Сер. 16. Биология. – 2016. – № 1. – С. 46-51.

39. Материалы сайта Диагностические системы. Агрокоренево. http://agrokorenevo.ru/diagnosticheskie_sistemy

40. **Климина Е.В., Галикеева Г.Ф.** Идентификация вирусов у растений картофеля методом ПЦР // Вестн. науки. – 2019. – № 2 (11). – Т. 3. – С. 95-100.

41. **Ялович А.В., Федорова Ю.Н.** Вопросы оздоровления картофеля от вирусов // Проблемы инновационного развития АПК: матер. Междунар. науч.-практ. конф. – г. Великие Луки: Великолукская ГСХА, 2017. – С. 34-37.

42. **Lamichhane J.R., Venturi V.** Synergisms between microbial pathogens in plant disease complexes: a growing trend // Frontiers in Plant Science. – 2015. – V. 6. – P. 385.

43. **Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N. Hase T.** Loop-mediated isothermal amplification of DNA // Nucleic acids research. – 2000. – V. 28. – № 12. – P. 1-7.

44. **Иванова Н.В.** Использование полимеразной цепной реакции в диагностике вирусных заболеваний картофеля // Актуальные проблемы агропромышленного комплекса: сб. тр. науч.-практ. конф. преподавателей, студентов, магистрантов и аспирантов, посвящ. 80-летию Новосиб. ГАУ (г. Новосибирск, 7-11 ноября 2016 г.). – Т. Сельскохозяйственные науки. Биологические науки. Ветеринарные науки – Новосибирск: ИЦ «Золотой колос», 2016. – С. 22-28.

45. Широкомасштабный скрининг РНК- и ДНК-содержащих патогенов картофеля при помощи ПЦР в матричном формате / П.А. Французов, М.М. Никитин, А.М. Малько и др. // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32. – № 3. – С. 45-49.

46. **Шляхов В.А., Григорян Л.Н.** ПЦР-диагностика вирусов картофеля // Картофель и овощи. – 2017. – № 7. – С. 30-32.

47. **Карлов Г.И., Хрусталева Л.И., Андреева Г.Н., Скоробогатова И.В.** Разработка методов высокоэффективного выявления фитопатогенов, передающихся семенами и посадочным материалом на основе ДНК технологий: отчет о выполнении научно-исследовательских работ по государственному контракту № ГК-769-1/А от 3 октября 2005 г./ Минсельхоз России,

ФГОУ ВПО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева; рук. работы Г.И. Карлов. – М., 2007. – 199 с.

48. Проведение исследований по разработке и применению в системе сортового и семенного контроля сельскохозяйственных растений универсального метода сортовой идентификации, диагностики вирусов и бактерий на основе ПЦР-анализа (Опыты на картофеле, фитопатогенах картофеля и возбудителе бактериального ожога плодовых): отчет (заключ.) о выполнении плана научно-исследовательских работ в соответствии с доп. соглашением № 1 от 08.01.03; рег. № 09/26 к госконтракту от 15.11.02 № 1798/26 / Всеросс. ин-т с.-х. биотехнологии, 2003. – 36 л.

49. **Рязанцев Д.Ю., Абрамов Д.Д., Завриев С.К.** Диагностика карантинных фитопатогенов методом ПЦР в формате FLASH // С.-х. биология. – 2009. – № 3. – С. 114-117.

50. **Рязанцев Д.Ю., Завриев С.К.** Эффективный метод диагностики и идентификации вирусных патогенов картофеля // Молекулярная биология. – 2009. – Т. 43. – № 3. – С. 558-567.

51. **Рязанцев Д.Ю., Дробязина П.Е., Завриев С.К.** ПЦР-Диагностика андийских вирусов картофеля // Защита и карантин растений. – 2015. – № 2. – С. 40-42.

52. Наборы для ПЦР Тест-системы для диагностики инфекционных заболеваний растений методом ПЦР [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.agrodiagnostica.ru/pcr/> (дата обращения: 20.06.2018).

53. **Теплов В.** Здоровье растений обеспечит «АгроДиагностика» // Актуальные агросистемы. – 2018, май. – С. 36-38. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.agrodiagnostica.ru/pcr/> (дата обращения: 20.06.2018).

54. Продукция ДНК-Технология [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.dna-technology.ru/about> (дата обращения: 22.06.2019).

55. **Стахеев А.А., Самохвалова Л.В., Завриев С.К.** Новые специфичные ДНК-маркеры для исследования генетического разнообразия российской популяции грибов рода *Fusarium* и их видоспецифичной идентификации // Защита зерновых культур от болезней, вредителей, сорняков: достижения и проблемы: матер. Междуна. науч.-практ. конф. (г. Большие Вяземы Московской обл., 5-9 декабря 2016 г.). – С. 16-23.



56. Материалы сайта Агродиагностика [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://agrodiagnostica.ru/docsandinstructions/articles/2015/12/07/articles_7.html, (дата обращения: 22.06.2019).

57. **Тихомирова М.А., Шнейдер Ю.А.** Вироид веретеновидности клубней картофеля. Методы его диагностики и борьбы с ним для повышения продуктивности картофеля // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: матер. всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием / Отв. ред. М.В. Ефимова; Нац. исслед. Томский гос. ун-т. – г. Томск, 2018. – С. 231-232.

58. **Ерохова М.Д., Дренова Н.В.** Черная ножка – опасное заболевание картофеля // Защита и карантин растений. – 2014. – № 7. – С. 28-30.

59. **Лазарев А.М.** Новый возбудитель бактериоза картофеля атакует российские поля // Защита и карантин растений. – 2013. – № 6. – С. 11-15.

60. **Игнатов А.Н., Виноградова С.В., Головешкина Е.Н., Зубарева И.А.** Бактериальные и вирусные болезни сельскохозяйственных культур: распространение и диагностика // Овощи России. – 2013. – № 2 (19). – С. 67-68.

61. **Федоренко В.Ф., Мишуров Н.П., Неменущая Л.А.** Перспективные технологии диагностики патогенов сельскохозяйственных растений. – М., 2018. – 68 с.



ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Определитель болезней и повреждений картофеля по внешним признакам

Определение болезней и повреждений картофеля основано на сопоставлении наиболее заметных признаков на имеющемся растительном материале с описаниями симптомов, приведенных в определителе. Признаки болезней и повреждений разделены по типам поражения и поражаемым органам растений. Если признаки определяемого поражения не совпадают с содержанием пункта, то следует перейти к пункту, указанному в скобках. При совпадении признаков переходят к следующему по порядку пункту, доходя до пунктов с названиями болезней или повреждений. Прочитав все описания поражений до следующего пункта со скобками, надо решить, признаки какого из них наиболее полно совпадают с признаками определяемого поражения. В том случае если имеется растение с двумя или более типами поражений (например, некрозы и деформации), то определение следует вести по наиболее характерному признаку, и если после этого остались сомнения в правильности определения, то определить еще раз по соответствующему признаку. Результаты обоих определений должны совпасть.

1. (63) Поражены надземные части растения.
2. (33) Разнообразные пятнистости, изменения окраски, налеты на стеблях и листьях. Общее увядание, резкие деформации и новообразования отсутствуют.
3. (28) Поражены листья.
4. (20) Листовая пластинка без мин и выгрызов.
5. На листьях некротические пятна, иногда листья или их доли отмирают полностью.
6. Пятна от светло-бурых до черных, различного размера и формы, чаще угловатые, четко ограниченные. Нижние листья часто отмирают полностью и повисают. Некрозы сопровождаются мозаикой и морщинистостью, иногда почернением жилок с нижней стороны.



Полосчатая мозаика

7. Пятна темно-бурые, расплывчатые преимущественно по краям долей. С нижней стороны на границе больной и здоровой тканей слабовыраженный белый налет.

Фитофтороз

8. Пятна бурые, сухие, округлые с концентричностью. Часто в местах выпадения сухой ткани образуются отверстия. Большое количество пятен приводит к засыханию листа.

Альтернариоз

9. Пятна темно-бурые, без концентричности, располагаются в основном по краю листовой пластинки. Подсохшие части листа свернуты трубкой. Ткань между жилками буреет, налет отсутствует.

Альтернариоз

10. Налета нет, окраска листьев изменена.

11. (19) Края долей без особых изменений.

12. (14) Неравномерность окраски листьев в пределах зеленого тона.

13. На листьях мелкие светло-зеленые неясно ограниченные пятнышки, особенно между жилками. Общий тон окраски листьев светлее нормального, без блеска. Крапчатость.

14. На листьях желтые пятна или общее пожелтение (хлороз) в различной степени.

15. (16) На листьях яркие желтые пятна различного размера и формы, чаще всего ограниченные жилками.

Аукуба-мозаика

16. Пожелтение верхних листьев сопровождается их антоциановой (розово-фиолетовой) окраской и складыванием вдоль средней жилки.

Недостаток кальция, кальциевое голодание

17. Пожелтение листьев сопровождается побурением междужилковой ткани у оснований долей.

Недостаток магния, магниевое голодание

18. Пожелтение листьев сопровождается их огрубением и скручиванием вдоль средней жилки, особенно в нижних ярусах, иногда наблюдается антоциановое окрашивание нижней стороны листа.

Скручивание листьев

19. Края долей листа загнуты вниз, отмирают. Жилкование резкое, часто морщинистость. Лист приобретает цвет окисленной бронзы.



Недостаток калия, бронзовость

20. (21) Листовая пластинка минирована или с выгрызами.

21. (23) Листовая пластинка минирована. Выгрызов нет.

22. Мины широкие. Экскременты сконцентрированы в одном месте. Внутри мины – 16-ногие, длиной 13 мм, желтоватые, грязно-белые или зеленовато-серые гусеницы с коричневой головой.

Картофельная моль

23. (29) Изменения в виде скелетирования.

24. Вредят: жук длиной 4-7 мм, тело полушаровидное, рыжеватое, на теле 28 черных пятен разной величины; личинка длиной 5-6 мм, желтоватая, покрытая шипами, имеет три пары коричневых ног.

Картофельная коровка

25. Изменения в виде объедания или продырявливания листьев. Часто повреждаются также черешки и молодые части стеблей.

26. (29) Повреждают жуки и личинки.

27. Жуки длиной 7-12 мм, коротко-овальные, желтые с темными пятнами на голове. Вдоль надкрылий проходит пять узких черных полос. Личинки длиной 0,5-2,5 мм, красные, красновато-оранжевые или оранжево-желтоватые. Голова, затылочный щиток и два ряда бугорков по краям тела и ноги – черные.

Колорадский жук

28. Изменены листья и стебли.

29. На стеблях коричневато-серые сухие продолговатые пятна. На листьях округлые пятна с концентричностью.

Альтерналиоз

30. На стеблях отдельные или сплошные удлинённые коричневые полосы. На листьях темно-бурые расплывчатые пятна со слабым налетом внизу.

Фитофтороз

31. (42) Изменения в основном на стеблях.

32. На нижней части стебля беловато-черный или слегка буроватый налет в виде пленки или войлока. Стебли не загнивают.

Ризиктониоз – белая ножка

33. На стеблях, чаще всего в месте прикрепления черешков или у основания, точечные некрозы, развивающиеся в овальные или удлинённые коричневатые пятна, погруженные в ткань, но с четкими границами.



Часто пятна охватывают стебель, и растение переламывается. На больной ткани – мелкие (до 1 мм) черные или темно-коричневые образования – пикниды гриба-возбудителя.

Фомоз – стеблевая форма

34. (51) Изменения в виде деформации или новообразований. Общее увядание отсутствует.

35. (49) Деформация стеблей и листьев. Наростов нет.

36. Стебли усиленно ветвятся, главным образом над поверхностью земли, давая большое количество тонких светлоокрашенных побегов круглого сечения. Листья мельче нормальных, простые или с одной парой долей. Клубни мелкие, число их намного больше нормы.

Ведьмина метла

37. Доли листьев у пораженных растений округлые, выпуклые, с расплывчатой желтой каймой и складчатостью по жилкам. Клубни больных растений мелкие, уродливые, часто наблюдается израстание столонов и молодых клубней.

Круглолистность

38. Наблюдаются хлороз верхних листьев, скручивание базальных частей листочков и прилистников, которое сопровождается появлением светло-розовой или пурпурной пигментации. Зараженные растения отстают в росте, прямостоячие, с обильными пазушными побегами, укороченными междоузлиями и воздушными клубнями.

Пурпурное скручивание верхушки

39. Верхняя часть стебля укорочена, наблюдаются межжилковый хлороз листьев среднего яруса, желтая пятнистость и появление желтой, позднее засыхающей каймы дистальной части долей листа.

Метельчатость верхушки, моп-топ

40. Стебли усилено ветвятся, главным образом над поверхностью почвы. Побег тонкие, слабые, с небольшим количеством листьев. Доли листьев округлой формы, число долей меньше нормы, иногда листья простые. Клубни мелкие, многочисленные.

Кудряш

41. Деформированы в основном листья.

42. Деформация листьев в виде вздутий междужилковой ткани, края долей загнуты книзу, иногда на поверхности листа заметны некротические пятна.



Морщинистость

43. Деформации листьев разнообразны: складчатость (волнистость) или изгиб долей поперек средней жилки вверх или вниз, винтообразное искривление пластинки, сильная волнистость краев. Иногда заметны мозаичность или посветление окраски листьев.

Складчатость листьев

44. Края долей верхних листьев закручены кверху, сильнее у основания. Закручивание ослабляется и исчезает во второй половине. Иногда наблюдаются волнистость краев и слабая морщинистость листьев. Возможна крапчатость или посветление.

Закручивание листьев

45. Доли листьев скручиваются кверху вдоль средней жилки в виде желобка или трубочки. Скручивание сопровождается огрубением, хлорозом и антоцианозом листьев в различной степени. Иногда на листьях видны бурые некрозы.

Скручивание листьев

46. Стержни листьев приподняты, искривлены, иногда прижаты к стеблю. Доли листьев мелкие, волнистые или винтообразно искривленные. Иногда наблюдаются хлороз и антоциановое окрашивание верхних листьев.

Веретеновидность клубней

47. Резкие деформации листовых пластинок: складчатость, искривления, доли вытянутые, ланцетовидные, иногда редуцированные. Листья, начиная с междужилковой ткани, желтеют, иногда в местах наибольшего пожелтения образуются некрозы

Неинфекционная желтуха

48. На растениях – новообразования зеленого цвета, деформация отдельных органов.

49. В пазухах листьев образуются наросты размером 2-2,5 см и более. Побег уродливые, покрытые мелкими наростами. Листовые пластинки уродливые, конечная доля листа превращается в сплошной нарост. Соцветие – наросты причудливой формы.

Рак картофеля

50. Увядание растений.

51. (58) Увядает все растение, редко – отдельные стебли.



52. (54) Увядшие растения легко выдергиваются из почвы.

53. Растения отстают в росте, желтеют, листья мелкие, жесткие, свертываются вдоль средней жилки. Нижняя часть стеблей размягчена и окрашена в черный цвет. Гниение начинается изнутри стебля. Корни загнивают. Иногда в пазухах нижних листьев образуются воздушные клубни. Заболевание проявляется сразу после всходов.

Черная ножка

54. Больные растения с трудом выдергиваются из почвы.

55. В нижней части стеблей – бурые язвы. Растения привядают, листья скручиваются, желтеют. Листья верхних розеток – с желтоватым оттенком или приобретают антоциановую окраску. При сильном развитии болезни растение увядает. Нижняя часть стебля загнивает, буреет. Могут сгнивать и корни. Гниль начинается с периферийной части. В пазухах нижних листьев часто образуются воздушные клубни.

Ризоктониоз

56. Растения отстают в росте, увядают. Листья темнеют и засыхают. На корнях – масса мелких шарообразных белых, желтых или коричневых цист диаметром до 1,2 мм. Болезнь распространяется очагами.

Картофельная нематода

57. Увядание постепенное, начинается с нижних листьев, ему предшествуют пожелтение и деформация листьев, огрубение стеблей и листьев. Верхние листья часто приобретают антоциановую окраску. Клубни большей частью мелкие, прорастающие нитевидными ростками.

Столбурное увядание

58. Увядают отдельные стебли, редко – все растение.

59. Стебель постепенно желтеет, увядает и падает на землю. Прикорневая и подземная части остаются без изменений. Болезнь проявляется после цветения.

Кольцевая гниль

60. Стебель быстро увядает и приобретает бурую окраску. Нижняя часть его размягчается и загнивает, в сухих условиях он расщепляется вдоль.

Бурая бактериальная гниль

61. Стебель увядает и падает на землю. Внутренняя часть его выедена. Оставшиеся ткани вялые. В нижней части стебля и вверху, в конце выеденной части, – круглые отверстия, чаще всего около места прикрепления черешка. Увядшие стебли загнивают.



Внутрстебельные совки

62. Стебель вянет и засыхает. В нижней его части имеются ходы и выгрызенные части тканей.

Проволочники, хрущи, озимая и восклицательная совки

63. Поражены подземные части растения.

64. (78) Изменены ростки, столоны, корни.

65. (69) Загнивание тканей ростков, столонов, корней.

66. Загнившие ткани бурые, часто очаги гнилей в виде язв.

Ризоктониоз

67. Загнившие ткани черного цвета. Гниль распространяется диффузно.

Черная ножка

68. Ткани покрыты твердыми бурыми пятнами, проникающими глубоко внутрь. В условиях повышенной влажности появляется белый налет гриба.

Фитофтороз

69. (71) Другие изменения тканей. Новообразований нет.

70. На тканях шелушащиеся сухие язвы, часто сливающиеся, пораженные ткани отмирают. Гнилей нет.

Парша обыкновенная

71. Изменения в виде новообразований.

72. Наросты на корнях и столонах белого, бурого цвета с бугристой поверхностью диаметром до 3-4 см.

Парша порошистая

73. Ткани ростков разрастаются в мясистый белый, затем коричневый или черный нарост, напоминающий по форме кочан цветной капусты. Размер наростов варьирует и может достигать более 10 см в диаметре.

Рак картофеля

74. Из глазков вырастает большое количество нитевидных коротких ростков, образующих плотную массу. Иногда завязываются мелкие клубешки.

Ложный рак

75. На столонах и ростках образуются сначала белые, затем коричневые мясистые наросты диаметром до 10 см и более, напоминающие по форме кочаны цветной капусты. Корни не поражаются.

Рак картофеля

76. На корнях и столонах небольшие (до 1,2 мм) шаровидные белые, желтые или коричневые цисты. Часто образуются вторичные фиброзные корешки.



Картофельная нематода

77. На корнях – наросты (галлы) Ø0,8-1,5 мм. Внутри их полость, заполненная личинковыми и яйцевыми мешками нематоды. Столоны не поражаются.

Галловая нематода

78. Поражены клубни.

79. (83) Клубни уродливые.

80. Поверхность клубней неравномерно бугристая с наплывами и углублениями (гофрированность). В тканях зооспорангии гриба-возбудителя.

Рак картофеля

81. На клубнях образуются округлые выросты различной величины.

Детки

82. Клубни ненормально удлиненные, с вытянутой верхушкой или пуповинным концом, иногда изогнутые. Глазки выпуклые, количество их увеличено. Окраска клубня необычная, иногда пятнистая.

Веретеновидность клубней

83. Клубни характерной для данного сорта формы.

84. (122) Изменения на поверхности клубней в виде израстаний, новообразований, пятен, язв, пустул, трещин, ходов, выгрызов, загнивания, потери тургора.

85. Здоровая ткань клубня твердая.

86. Изменения в виде израстаний, разрастаний глазков и новообразований.

87. Изменения в виде израстаний.

88. Утолщенные столоны объединяют два, три и более клубней.

Израстание

89. На поверхности клубней новообразования.

90. На поверхности клубней черные коростинки (склероции гриба-возбудителя), не смываемые водой, но легко сдираемые вместе с поверхностными тканями.

Ризоктониоз

91. На поверхность клубня выступают белые, желтые или коричневые шарообразные цисты диаметром до 1,2 мм.

Картофельная нематода

92. (116) Изменения в виде пятен, язв, пустул, трещин, ходов, выгрызов.

93. (99) Изменения в виде пятен.



94. Пораженные поверхностные ткани отслаиваются, образуя пятно неправильной формы. Между покровными тканями и паренхимой клубня – воздух, что придает пятну серебристый оттенок. Поверхность пятна усыпана мелкими черными образованиями – склероциями гриба-возбудителя.

Парша серебристая

95. Пятна округлые, слегка вдавленные, черные, не проникающие глубоко внутрь.

Альтернариоз

96. Пятна бурые, слегка вдавленные. Окончательное определение – на разрезе клубня.

Фитофтороз

97. Пятна свинцово-серые, вдавленные, часто у столонного конца. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Стеблевая нематода

98. Пятна темные до черного цвета. Образуются преимущественно у столонного конца. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Черная ножка

99. (105) Изменение в виде язв.

100. Язвы сухие, неправильной формы, разные по величине. Иногда сливаются, образуя сплошной пораженный участок. Могут быть глубокими, плоскими.

Парша обыкновенная

101. Язвы округлые, крупные, заполненные порошковидной коричневой массой. По краям язв – остатки кожуры клубня, что делает ее звездчатой.

Парша порошистая

102. Мокнущие язвы под склероциями. Пораженная ткань водянистая, кашеобразная, легко отделяется от здоровой.

Ризиктониоз

103. Округлые сухие язвы в виде впадин. Больная ткань коричневатая, покрыта плотно натянутой кожей клубня. При разрыве кожуры видны мелкие темные образования – пикниды гриба-возбудителя. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Фомозная гниль

104. Язвы небольшие (до 1,5 мм), слегка вдавленные, желтые, округлые. Больная ткань мягкая, влажная, нередко достигает сосудистого кольца.



Язвы хорошо видны после очистки тонкого слоя кожуры клубня. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Кольцевая гниль

105. Изменения в виде пустул (бугорков).

106. Светлые бугорки, при разрыве которых образуется язва со звездчатыми краями. Язва заполнена коричневой массой.

Парша порошистая

107. Чечевички на клубне разрослись в белые рыхлые бугорки.

Переувлажнение почвы

108. (112) Изменения в виде трещин и отставания кожуры.

109. Под треснувшей и отставшей кожурой – сухая коричневая масса, не распространяющаяся глубоко внутрь клубня. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Стеблевая нематода

110. Под треснувшими тканями или отставшей кожурой светло-желтая, коричневая или черная слизистая масса. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Кольцевая гниль

111. Трещины разной глубины. Отставшей кожуры нет. Паренхимная ткань, как правило, заживает.

Ростовые трещины

112. Изменения в виде ходов, выгрызов.

113. Ходы в клубне Ø2-2,5 мм, загрязненные землей и экскрементами.

Проволочники

114. Ходы в клубне диаметром до 3-4 мм. Их отверстия часто забиты экскрементами. Мякоть стенок хода розоватая.

Картофельная моль

115. Выгрызы в виде ямок с неровными краями. Остатков кожуры клубня по краям ямок не бывает.

Хрущи

116. Изменения в виде общего загнивания клубня.

117. (119) Гниющие ткани сухие. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

118. Кожура на месте гнили серовато-бурая, тусклая, сморщивается, образуя неправильные concentрические круги вокруг места первичного



поражения. На ней видны подушечки спороношения гриба-возбудителя белого, серого, желтого, розового и других оттенков.

Сухая гниль

119. Гниющая ткань мокрая, вязкая, тягучая.

120. Часть поверхности клубня размягчается. Пятен нет. Кожура легко снимается. Окончательная диагностика – на разрезе клубня.

Удушение

121. Изменения на разрезе клубней.

122. (125) Гниение тканей отсутствует.

123. Паренхима окрашивается в ржаво-коричневый цвет. Ржавые пятна располагаются внутри клубня и не имеют выхода к его периферии.

Железистая пятнистость

124. Темноватые пятна неправильного очертания и различной величины, главным образом в середине клубня. При ударах клубня пятна могут располагаться и на периферийных тканях.

Потемнение мякоти

125. Измененные ткани загнивают.

126. (129) Изменение чаще начинается со столонного конца.

127. Загнившая ткань черная. Позже гниль распространяется на сердцевинную часть клубня, которая превращается в черно-бурую массу со специфическим запахом. При подсыхании гнилых тканей в клубне может образоваться внутренняя полость с неровными стенками черно-бурой окраски.

Черная ножка

128. Загнивают ткани сосудистого кольца. При надавливании на клубень из кольца выдавливается тягучая масса желтого, затем темного цвета или светлая мягкая сгнившая ткань. Впоследствии все сердцевинные ткани клубня выгнивают.

Кольцевая гниль

129. Изменения не приурочены к определенным частям клубня.

130. Побуревшая ткань распространяется внутрь клубня отдельными участками (язычками). Налета грибницы нет.

Фитофтороз

131. Пораженные ткани сухие, размягченные, но не разрушены полностью. В полостях разрастается белый, желтый, розовый, черный и других цветов и оттенков мицелий грибов-возбудителей. В сухих условиях боль-



ные ткани усыхают и клубень мумифицируется, при наличии повышенной влажности гниль переходит в мокрую.

Сухая гниль

132. Поражение тканей распространяется чаще всего от поверхности клубня конусом, вершиной вглубь его. Загнившая ткань сухая, светло-коричневая с полостями. Стенки полостей выстланы серым войлочным налетом мицелия гриба-возбудителя с темными вкраплениями – пикнидами.

Фомоз

133. Гнилая ткань в виде белой, рыхлой, кашеобразной массы. Часто отделена от здоровой темной каймой.

Удушение

134. Сосудистое кольцо клубня размягчается. Загнившие ткани серые, затем буреют и чернеют. При надавливании на клубень из сосудистого кольца вытекают капли грязно-белой слизи.

Бурая бактериальная гниль

135. На поверхности клубня в начале образуются небольшие часто многочисленные, несколько погруженные пятна серого или коричневатосерого цвета, которые затем быстро увеличиваются. Пораженная ткань на воздухе быстро темнеет и становится от коричнево-серой до черной. Иногда заметны капли серовато-желтого экссудата, вытекающие на поверхность разреза.



**Состав основных питательных сред для выделения и культивирования
возбудителей грибных и бактериальных болезней картофеля**

Питательная среда	Состав компонентов на 1 л воды, г; приготовление	Группа культивируемых грибов, бактерий
1	2	3
Агаровая среда	1 л воды, 15-20 г агар-агара, растворяют при нагревании	Большинство видов грибов (для получения спороншения)
Овсяный агар	0,5 л воды, 100 г овсяной муки (хлопьев), варка 15-20 мин, фильтрация, затем 20 г агар-агара, предварительно расплавленного в 0,5 л воды	<i>Phytophthora infestans</i>
Картофельно-сахарозный агар	200 г картофеля сварить и отфильтровать через марлю, 20 г сахарозы, 20 г агар-агара растворяют при нагревании	Грибы родов: <i>Fusarium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Geotrichum</i> и бактерии: <i>Pectobacterium</i> , <i>Dickeya</i> , <i>Clavibacter</i>
Картофельный агар	Как у картофельно-сахарозного, но без сахарозы	Актиномицеты, р. <i>Fusarium</i> , р. <i>Phytophthora</i>
Картофельно-декстрозный агар	К отвару картофеля (после фильтрации) 20 г декстрозы, 20 г агар-агара, растворяют при нагревании	Для выделения из растений и культивирования фитопатогенных бактерий
Сусло-агар	1 л неохмеленного 7 %-ного пивного сусла, 20 г агар-агара, растворяют при нагревании	Большинство фитопатогенов
Сухой питательный агар	Порошок промышленного изготовления (50) нагревают в дистиллированной воде, помешивают до полного растворения	Для выделения и идентификации возбудителей бактериозов



Питательная среда	Состав компонентов на 1 л воды, г; приготовление	Группа культивируемых грибов, бактерий
Мясо-пептонный агар (МПА)	1 л мясопептонного бульона, 20 г агар-агара кипятят до расплавления	Для выделения и идентификации возбудителей бактериозов
Мясо-пептонный желатин (МПЖ)	Мясопептонный бульон, 100-150 г желатина, нагревают до расплавления	Для выявления протеолитических ферментов у бактерий
Синтетический агар Чапека	К отфильтрованному раствору 0,5 г сульфата магния, 1 г безводного фосфата калия, 0,5 г хлорида калия, 0,01 г сульфата железа, 2 г нитрата натрия добавляют 30 г декстрозы, 20 г агар-агара, растворяют при нагревании	Актиномицеты и другие почвенные патогены
Минеральный раствор Петри	Нитрат кальция 0,4 г, сульфат магния 0,15 г, фосфат кислого калия 0,06 г	<i>Phytophthora infestans</i> (для получения спорангиев)
Среда Ферми	Виннокислый аммоний 5 г, фосфорнокислый калий одноосновной 5 г, сернокислый магний 5 г, фосфорнокислый кальций трехосновной 0,5 г, глицерин 50 г	Для выделения из растений многих возбудителей бактериозов и изучения их биохимических свойств
Среда Омелянского	Фосфорнокислый калий двухосновной 1 г, фосфорнокислый аммоний двухосновной 1 г, сернокислый магний 0,5 г, хлористый кальций 0,1 г, глюкоза 10 г, хлористый натрий (следы), сернокислое железо (следы)	То же

Питательная среда	Состав компонентов на 1 л воды, г; приготовление	Группа культивируемых грибов, бактерий
Пектатная среда Логана	К отфильтрованному раствору 5 г хлористого натрия, 0,2 г сернокислого магния, 1 г однозамещенного фосфата аммония, 1 г однозамещенного фосфорнокислого калия, 3 г хлористого кальция, 3 г цитрата натрия добавляют 3 мл 0,1 %-ного раствора генциан-виолета, 3 мл 1,5 %-ного раствора бромтимолблау, 20 г агара, растворяют при нагревании. Среду стерилизуют 20 мин при 0,5 атм и разливают в чашки Петри. Поверхность подсушивают в течение суток, после чего на нее наносят 4 мл раствора полипектата натрия	Для выделения из почвы и растений возбудителей р. <i>Pectobacterium</i>

Примечание. Все компоненты синтетических сред растворяют отдельно в большом количестве воды, затем сливают в одну колбу и фильтруют. Сусло-агар и среды, содержащие углеводы, стерилизуют при 0,5 атм 30 мин, остальные – при 1 атм 30 мин.



Методы учета основных болезней

Выявление и учет основных болезней картофеля. Учет грибных, бактериальных, вирусных, виroidных и фитомикоплазменных болезней в поле проводят по методике апробации картофеля в следующие сроки: первый – в период полных всходов, когда растения достигают высоты 15-20 см (черная ножка, ризоктониоз), второй – во время бутонизации – массового цветения картофеля (черная ножка, кольцевая гниль, ризоктониоз, альтернариоз, фитофтороз, грибные увядания), третий – за две-три недели до уборки, когда можно еще отличить здоровую ботву от пораженной, или перед уничтожением ботвы (черная ножка, кольцевая гниль, фитофтороз, ризоктониоз, в том числе и белая ножка, грибные увядания) – табл. 1.

Таблица 1

Сроки учетов развития болезней

Наименование болезни или вредителя	Место начального проявления болезни	Время учетов				
		за две-три недели до посадки	полные всходы	бутонизация – цветение	перед уничтожением ботвы	после уборки
Грибные болезни						
Фитофтороз	Нижние листья	-	-	+	+	-
	Листья	+	-	+	-	-
Церкоспороз	Нижние листья	-	-	+	+	-
Вертицеллезное увядание	Верхние ярусы листьев	-	-	+	-	-
Фузариозное увядание	Нижние ярусы листьев	-	-	+	-	-
Ризоктониоз	Все растение	-	+	+	+	+
Белая ножка	Нижняя часть стеблей	-	-	+	+	-
Фомоз	Причешковая часть стебля	-	-	+	+	+
Мучнистая роса	Нижние листья	-	-	+	+	-

Наименование болезни или вредителя	Место начального проявления болезни	Время учетов				
		за две-три недели до посадки	полные всходы	бутонизация – цветение	перед уничтожением ботвы	после уборки
Белая гниль	Корневая шейка стебля	-	-	-	+	-
Антракноз (дартроз)	Все растение	-	-	-	+	-
<i>Бактериальные, вирусные и фитоплазменные болезни</i>						
Черная ножка	Все растение	-	+	+	+	+
Кольцевая гниль	Отдельные стебли	-	-	+	+	+
Бурая бактериальная гниль	Все растение	-	-	+	+	+
Вирусные болезни	Все растение	-	+	+	+	-
Фитоплазменные болезни	Все растение	-	+	+	+	-

Апробацию посадок проводят методом проб. Пробы располагают по диагонали поля. Пробой называют 20 растений, расположенных подряд на одной борозде. Исходя из площади апробируемого участка устанавливается количество проб, которое необходимо осмотреть и, учитывая конфигурацию участка, определяется расстояние между пробами.

На участке площадью до 5 га берут 15 проб, до 10 га – 20, до 15 га – 25, до 50 га – 25 проб. На полях площадью более 50 га на каждые последующие 5 га осматривают дополнительно по 2 пробы.

Учет болезней осуществляют осмотром каждого растения в пробе. Степень поражения фитофторозом и альтернариозом на картофеле, ржавчиной, мучнистой росой, церкоспорозом, аскохитозом, ложной мучнистой росой, бактериальной пятнистостью, септориозом на топинамбуре определяют по 9-балльной шкале:

9 баллов – симптомы поражения отсутствуют;

8 – поражение может составлять от 1 до 10% поверхности листьев в виде единичных пятен на отдельных растениях (примерно до 10 ли-



ствьев поражены инфекцией, всего около 50 пятен в расчете на одно растение);

7 – поражается от 10 до 25% поверхности листьев (симптомы поражения могут отмечаться почти на всех листьях у большей части растений, но кусты сохраняют нормальную форму, явно преобладающий цвет – зеленый, у растений может быть фитофторозный запах);

5 – поражается от 25 до 50% поверхности листьев растений (практически поражено каждое растение, но основной цвет куста остается зеленым, хотя бурые пятна на листьях составляют значительную часть);

3 – поражается более 50% площади листовой поверхности всех растений (трудно определить, какой цвет доминирует – бурый или зеленый, но стебли у большинства растений остаются зелеными);

1 балл – все листья растения полностью поражены, стебли погибают или погибли.

Распространенность болезней на делянках (партии клубней) рассчитывают по формуле

$$P_k = \frac{n}{N} \times 100,$$

где P_k – распространенность болезней, %;

n – число больных растений, клубней в пробах, шт., кг;

N – общее число растений, клубней в пробах, шт., кг.

Распространенность болезни при производственной проверке вычисляют как средневзвешенный показатель (кроме данных для фитофтороза, вирусных болезней на растениях, парши обыкновенной и ризоктониоза на клубнях) по формуле

$$P_{ck} = \frac{\sum (S \times p)}{S},$$

где P_{ck} – средневзвешенная распространенность болезни, %;

$\sum (S \times p)$ – сумма произведения площадей полей или массы партий клубной S на соответствующий процент распространения болезни p ;

S – общая площадь полей или масса партий.

Степень развития болезней (фитофтороз, вирусные болезни растений, ризоктониоз и парша обыкновенная) – качественный показатель, который рассчитывают по формуле



$$R_k = \frac{\sum (a \times b)}{n},$$

где R_k – развитие болезни, %, балл;

$\sum (a \times b)$ – сумма произведений больных растений, клубней на соответствующий балл или процент поражения;

n – число больных растений, клубней в пробах, шт., кг.

Средневзвешенный процент развития этих болезней вычисляют по формуле

$$R_{ck} = \frac{\sum (R \times S)}{\sum S},$$

где P_{ck} – средневзвешенный процент развития болезни на растениях и клубнях, % или балл;

R – развитие болезни на растениях или клубнях, % или балл;

S – площадь или масса партий (т) с определенным процентом или баллом развития болезни на растениях или клубнях;

S – общая площадь или масса партий клубней, на которой проведены учеты, га, т.

При необходимости могут быть применены методы учета скрытой зараженности растений и клубней вирусными и бактериальными болезнями с помощью серодиагностики, иммуноферментного анализа. Диагностикумы для этой работы можно приобрести в научно-исследовательских учреждениях по картофелю. Кроме того, можно использовать следующие методы диагностики вирусов: Игель-Ланге (скручивание листьев), электронную микроскопию, иммунодиффузию в агаре, латексагглютинацию и другие (ряд вирусов), описанные в специальной литературе. Для учета скрытой зараженности клубней стеблевыми нематодами применяют вороночный метод выделения гельминтов, основанный на их способности выходить из тканей клубня в воду.

Мониторинг фитосанитарной ситуации. Контроль развития, численности и вредоносности фитофагов с целью планирования и определения необходимости проведения борьбы с ними на конкретном поле осуществляют маршрутными обследованиями и учетами на стационарных участках, располагая пробы равномерно по обследуемому полю в шахматном по-



рядке, «змейкой», «конвертом», по двум диагоналям или по рядам растений картофеля.

Анализ клубневого материала. Распространение болезней в партиях семенного и свежего продовольственного картофеля определяют методом клубневого анализа в соответствии с ГОСТ Р53136-2008 «Картофель семенной. Технические условия», ГОСТ Р 55329-2012 «Картофель семенной. Приемка и методы анализа», ГОСТ 7194-81 «Картофель свежий. Правила приемки и методы определения качества», ГОСТ 26832-86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания. Технические условия».

Клубневые анализы целесообразно проводить при уборке или сразу после уборки для оценки лежкоспособности картофеля; через четыре-шесть недель после уборки – для выявления большинства появившихся к этому времени болезней и установления определенного режима в основной период хранения; за 30-40 суток до посадки – для нахождения скрытых форм болезней и перед посадкой.

Ризиктониоз, парша обыкновенная и порошистая, ооспороз, альтернариоз – болезни, которые можно учитывать в период уборки картофеля или сразу после нее.

Фитофтороз, сухую гниль, мокрую гниль, черную ножку, столонную гниль, стеблевую нематоду, механические повреждения и повреждения сельскохозяйственными вредителями необходимо учитывать через один-два месяца после уборки, а фомоз, кольцевую и ямчатую гнили – в февралемарте.

Чтобы активизировать деятельность фитопатогенных грибов, бактерий и стеблевой нематоды в клубнях, перед анализом (за 30-40 суток до посадки), образец выдерживают при 10-20°C две-три недели при периодическом увлажнении.

Для активизации деятельности латентных форм фитопатогенных бактерий отбирают средний образец из 100-200 клубней, закладывают в ящики с влажными опилками и выдерживают при 18-20°C в течение 15-20 суток, периодически увлажняя. После этого проводят клубневой анализ. При необходимости применяют серологический и иммуноферментный (ИФА) методы анализа. Кроме того, для стимуляции проявления скрытых форм бактериозов рекомендуют обрабатывать клубни 0,002%-ным раствором янтарной кислоты.

При поражении клубней фитопатогенными бактериями больные ткани покрываются слизью и разрушаются.

Твердую черную гниль способны вызвать несколько видов бактерий родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. Их видовую принадлежность можно определить только микробиологическим анализом.

В мелкоделяночных опытах с каждой деланки для клубневого анализа отбирают среднюю пробу, содержащую не менее 200 клубней. Анализируют все клубни в пробе на заболевания и повреждения. Распространенность заболеваний учитывают по количеству больных клубней, а не по их массе.

Клубни, пораженные фитофторозом, фомозом, кольцевой гнилью, черной ножкой, мокрой гнилью, подмороженные, с признаками удушения учитывают отдельно, отбраковывают и пересчитывают на среднюю пробу.

При производственной проверке распространенность и развитие болезней в партиях картофеля определяют также методом клубневого анализа в соответствии с ГОСТ 11856-89 (семенной материал) и ГОСТ 7194-87 (товарный картофель).

Заболевания или повреждения клубней целесообразно устанавливать сразу после уборки для оценки лежкоспособности картофеля, через 3-4 недели после уборки при проявлении скрытой зараженности картофеля патогенами и за 30-40 суток до посадки семенного материала, а также перед реализацией. Порядок отбора образцов клубней и их количество регламентируются указанными выше ГОСТами.

После отделения образца клубней от примесей каждый клубень отмывают в воде и осматривают. Нестандартные и дефектные выделяют и группируют по видам повреждений (болезни, вредители, механические повреждения). Количество клубней по видам болезней или повреждений выражают в процентах к общему числу клубней в образце (семенной материал).

Для определения болезней и дефектов внутри клубня 100 клубней в образце разрезают продольно. Если повреждение обнаружено, то разрезают все клубни образца.

При нескольких болезнях на одном клубне учитывают одну наиболее вредоносную в следующем порядке: кольцевая гниль, черная ножка, фитофтороз, стеблевая нематода, сухие гнили, ризоктониоз, парша обыкновенная, серебристая, порошистая, механические повреждения, повреждения вредителями и др.



Больными считаются клубни, пораженные в любой степени болезнью, при ризоктониозе – покрытые свыше 1/10 поверхности склероциями, а при парше обыкновенной – покрытые более 1/3 поверхности клубня язвами.

Развитие ризоктониоза и парши обыкновенной на клубнях определяют по следующей шкале (площадь поверхности клубня под склероциями и язвами, %): 9 баллов – отсутствие склероциев и язв; 7 баллов – до 10%; 5 баллов – до 20%; 3 балла – до 50%; 1 балл – более 50%.

При проведении клубневого анализа семенного картофеля, упакованного в мешки, ящики, ящичные поддоны, составляют объединенную пробу из точечных проб, отобранных из упаковочных единиц, попавших в выборку (табл. 2-4).

Для отбора точечных проб клубни семенного картофеля из отобранных для проверки упаковочных единиц высыпают на чистую площадку – брезент или полиэтиленовую пленку и отбирают точечные пробы по всей длине, ширине и высоте насыпи из разных мест и слоев (верхнего, среднего и нижнего) через равные расстояния, не допуская потери земли и посторонних примесей. Число точечных проб отбирают в зависимости от массы партии в соответствии с табл. 4.

В каждой точечной пробе должно быть не менее 25 клубней. Точечные пробы соединяют в объединенную пробу, объем которой должен быть не менее 250 клубней.

Таблица 2

**Объем выборки от партии семенного картофеля,
упакованного в мешки или ящики, массой 30-40 кг**

Объем партии, число мешков или ящиков	Объем выборки, число отбираемых мешков или ящиков
До 100 включительно	5
Свыше 100 до 200 включительно	10
200-400	15
400-600	20
Свыше 600	20 и дополнительно по одному мешку, ящику от каждого полного или неполного 100 мешков или ящиков в партии

Таблица 3

**Объем выборки от партии семенного картофеля,
упакованного в ящичные поддоны**

Объем партии, число ящичных поддонов	Объем выборки, число отбираемых ящичных поддонов
До 10 включительно	2
Свыше 10 до 30 включительно	3
30-50	6
50-100	8
Свыше 100	8 и дополнительно по одному ящичному поддону от каждого последующих после 100 полных или неполных ящичных поддонов в партии

Таблица 4

Отбор проб от партии неупакованных клубней

Масса партии, т	Число точечных проб
До 15 включительно	10
Свыше 15 до 30 включительно	15
Свыше 30	15 и дополнительно по 2 точечные пробы от каждого последующих полных или неполных 10 т

Из мелкой партии (до 1 т) ценных сортов картофеля допускается отбирать образцы по 100 клубней.



СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ОСНОВНЫЕ БОЛЕЗНИ КАРТОФЕЛЯ	5
1.1. Инфекционные болезни	5
1.2. Неинфекционные болезни.....	22
2. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ	26
2.1. Морфологические методы	26
2.2. Иммунологические методы	29
2.2.1. Капельная агглютинация	30
2.2.2. Иммуноферментный анализ (ИФА)	30
2.2.3. Иммунофлуоресцентная микроскопия (ИФМ)	32
2.2.4. Иммунохроматографический анализ (ИХА)	34
2.3. Молекулярные методы	40
2.3.1. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	40
2.3.2. Петлевая изотермическая амплификация (LAMP)	46
2.3.3. Технология с использованием метода гибридизации нуклеиновых кислот.....	46
2.4. Диагностика по составу жирных кислот	56
2.5. Методы элективных сред и растений-индикаторов	57
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	58
ЛИТЕРАТУРА.....	61
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	68



**Сергей Валентинович Жевора, Владимир Николаевич Зейрук,
Григорий Леонидович Белов, Светлана Викторовна Васильева,
Марина Константиновна Деревягина, Борис Васильевич Анисимов,
Виктор Иванович Старовойтов, Оксана Анатольевна Старовойтова,
Николай Петрович Мишуков, Людмила Алексеевна Неменушая,
Александра Анатольевна Манохина, Наталья Анатольевна Пискунова,**

**ПЕРЕДОВЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ
ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ**

Научный аналитический обзор

Редактор *В.И. Сидорова*,
Обложка художника *П.В. Жукова*,
Компьютерная верстка *Т.П. Речкиной*
Корректор *В.А. Белова*

fgnu@rosinformagrotech.ru

Подписано в печать 22.07.2019 Формат 60х84/16
Бумага писчая Гарнитура шрифта «Times New Roman» Печать офсетная
Печ. л. 5,75 Тираж 500 экз. Изд. зак. 52. Тип. зак. 409

Отпечатано в типографии ФГБНУ «Росинформагротех»,
141261, пос. Правдинский Московской обл., ул. Лесная, 60

ISBN 978-5-7367-1504-6



9 785736 715046

Техника и оборудование для села

Сельхозпроизводство • Переработка • Агротехсервис • Агробизнес

ЖУРНАЛ

«ТЕХНИКА И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ СЕЛА» –

ВАШ ПОМОЩНИК В НАУЧНОЙ, ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ, УПРАВЛЕНЧЕСКОЙ И УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ!

Ежемесячный полноцветный научно-производственный и информационно-аналитический журнал «Техника и оборудование для села», учредителем и издателем которого является ФГБНУ «Росинформагротех», выпускается с 1997 г. при поддержке Минсельхоза России и Россельхозакадемии. За это время журнал стал одним из ведущих изданий в отрасли и как качественное и общественно значимое периодическое средство массовой информации в 2008, 2009 и 2011 гг. удостоен знака отличия «Золотой фонд прессы». В редакционный совет журнала входят 7 академиков РАН.

В журнале освещаются актуальные проблемы технической и технологической модернизации АПК: инновационные проекты, технологии и оборудование, энергосбережение и энергоэффективность; механизация, электрификация и автоматизация производства и переработки сельхозпродукции; агротехсервис; аграрная экономика; информатизация в АПК; развитие сельских территорий; технический уровень сельскохозяйственной техники; возобновляемая энергетика и др.

Журнал является постоянным участником большинства международных и российских выставок, конференций и других крупных мероприятий в области АПК, проходящих в России, неоднократно отмечался почетными грамотами, дипломами и медалями (более 10).

Журнал включен в международную базу данных AGRIS ФАО ООН, Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).

Регионы распространения журнала: Центральный, Центрально-Черноземный, Поволжский, Северо-Кавказский, Уральский, Западно-Сибирский, Восточно-Сибирский, Северный, Северо-Западный, Калининградская область, а также государства СНГ (Украина, Беларусь, Казахстан).

Индекс в каталоге агентства «Роспечать» – 72493, в объединенном каталоге «Пресса России» – 42285.

Стоимость подписки на 2019 г. с доставкой по Российской Федерации – 8316 руб. с учетом НДС (10%), по СНГ и странам Балтии – 9480 руб. (НДС – 0%).

Приглашаем разместить в журнале «Техника и оборудование для села» информационные (рекламные) материалы, соответствующие целям и профилю журнала.

Подписку и размещение рекламы можно оформить через ФГБНУ «Росинформагротех» с любого месяца, на любой период, перечислив деньги на наш расчетный счет.

Банковские реквизиты: УФК по Московской области (Отдел № 28 Управления Федерального казначейства по МО)
ИНН 5038001475/КПП 503801001
ФГБНУ «Росинформагротех», л/с 20486Х71280,
р/с 40501810545252000104 в ГУ Банка России по ЦФО, БИК 044525000
В назначении платежа указать код КБК (000 0000 0000000 000 440), ОКМО 46647158.

Адрес редакции: 141261, Московская обл., пос. Правдинский, ул. Лесная, 60,
Росинформагротех, журнал «Техника и оборудование для села».
Справки по телефонам: (495) 993-44-04, (496) 531-19-92;
E-mail: _technica@mail.ru, fgnu@rosinformagrotech.ru



the information science community. The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.
- 3. The third section describes the results of the project.
- 4. The fourth section discusses the implications of the project.

The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.

The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.

The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.

The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.

The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.

The article is structured as follows:

- 1. The first section describes the background of the project and the role of the research group.
- 2. The second section describes the methodology used in the project.

