

# ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО, БИОТЕХНОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Известия ТСХА, выпуск 5, 2013 год

УДК 57.083.18:577.113.5

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕНИЯ ВИРУСОВ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ РЕГИОНЕ\*

Р.В. ГНУТОВА

(Лаборатория вирусологии Биолого-почвенного института ДВО РАН)

*Представлены результаты мониторинга по выявлению вирусов на овощных культурах Дальнего Востока. Идентифицированы за последние 30 лет известные и новые вирусы не только для региона, но и России. Обследовались растения семейств: Brassicaceae, Chenopodiaceae, Solanaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Apiaceae и Liliaceae. Выявлено свыше 20 вирусов, в основном из растений первых четырех семейств, показана их вредоносность и распространение. Дан сравнительный анализ результатов собственных исследований с базой литературных данных. Приводится краткая характеристика изученных фитовирусов, которые по классическим и молекулярным параметрам идентификации отнесены к 10 родам 7 семейств в соответствии с последними правилами Международного комитета по таксономии вирусов (2012 г.).*

*Ключевые слова:* вирус, мониторинг, методы идентификации, овощные культуры, вредоносность.

В Дальневосточном регионе вирусы, поражающие овощные культуры, в последние годы интенсивно изучаются [7, 8, 10]. Юг Дальнего Востока соответствует по географической широте югу европейской части России, поэтому здесь распространено производство многих овощных культур. Результаты многолетнего мониторинга показали, что они подвержены поражению различными фитопатогенами: вирусами, виридами, микоплазмами, бактериями и грибами [12]. При этом потери от этих фитопатогенов были и остаются основными факторами, оказывающими негативное воздействие на попытку увеличить их урожайность и продуктивность.

В данной статье приводятся данные о вирусах, полученные за все годы их исследования в Дальневосточном регионе. Ранее уже были опубликованы данные о 13 вирусах, идентифицированных на овощных культурах [8]. Благодаря кропотливой работе за последнее десятилетие появились новые сведения о других вирусах, поражающих овощные культуры.

Результаты о структуре и функциях генома вирусов в сочетании со стандартными тестами их идентификации позволили Международному комитету по таксономии вирусов (МКТВ) в настоящее время изучаемый вирус с большой долей вероятности отнести к определенному таксону: виду, роду, семейству. Буквально за последние

\* Работа проведена в рамках комплексных исследований ДВО РАН и ДВРНЦ РАСХН и поддержана грантами президиума ДВО РАН (2004-2008, 2010 гг.).

3-4 года произошли кардинальные изменения не только в формировании новых родов и семейств, но и в номенклатуре. В статье дается краткая характеристика более чем 20 вирусам, которые по изученным свойствам по последним правилам МКТВ отнесены к 10 родам 7 семейств. Это стало возможным за счет обобщения материала собственных исследований, литературных данных отечественных, в том числе и дальневосточных, а также зарубежных исследователей. Идентифицированы не только хорошо известные, но и новые как для нашего региона, так и России вирусы мозаики арбуза, гравировки табака, мозаики турнепса, мозаики цветной капусты, мозаики редиса, мозаики белого клевера, баклажанный и некротический перцевый изоляты ВТМ, восточно-азиатские изоляты вируса огуречной мозаики и др.

Способствуют интродукции на Дальний Восток России новых вирусов в настоящее время и глобализация в области производства и сбыта сельско-хозяйственной продукции, обмен семенным и посадочным материалом и др. из стран АТР (Азиатско-Тихоокеанского региона). Совместно с коллегами из КНДР и КНР изучались наиболее распространенные и вредоносные вирусы, вызывающие значительные потери урожая возделываемых культур и имеющие общие пути распространения, переносчиков, растений-хозяев и др. [11, 33, 36]. Нет гарантии, что из-за ослабленного в последние два десятилетия карантинного контроля и отсутствия подготовленных специалистов-фитовирусологов сейчас не завозятся новые, опасные для региона вирусы.

Изучались не только наиболее распространенные на растениях РНК-геномные вирусы, но ДНК-геномный вирус мозаики цветной капусты, выявленный из растений сем. Brassicaceae. Характерной особенностью овощных капустных культур является то, что симптомы поражения различными вирусами довольно сходны. Поэтому четкая идентификация вирусов возможна лишь при изучении как классических критериев (круга растений-хозяев, морфологии вирионов, биологических и антигенных свойств и др.), так и их молекулярных параметров [9, 13, 32, 34, 35].

Обследования посадок овощных культур начинали с обнаружения растения с вирусоподобными симптомами. Причем симптомы овощных культур были нередко почти неотличимы от таких, которые вызывают у растений различные неинфекционные стрессовые факторы, как, например, засуха, холод, длительное переувлажнение, недостаток питательных веществ и др. Круг экспериментально поражаемых растений (тест-растения) и их ответ на инфекцию в виде четких и специфических симптомов служат выражением активности белков, кодируемых нуклеиновой кислотой. Несмотря на то, что это довольно длительный, экономически затратный и трудоемкий метод идентификации вируса (нужны теплицы, семена многих растений и др.), конечный результат (характер симптомов) является довольно точным. Именно симптомы — один из основополагающих критериев отличия вирусов друг от друга по биологическим свойствам. Эти свойства вирусов коррелируют с инфекционностью вирусной нуклеиновой кислоты и влияют на устойчивость вирусов в инфекционном соке. Предельное разведение инфекционного сока (ПРС) и период сохранения инфекционности вируса в комнатных условиях (ПСИ) обычно определяются на начальных этапах изучения свойств вируса. Эти два критерия физических свойств вирионов указывают на концентрацию вируса в тест-растении и его стабильность (или лабильность). Известно, что вирус имеет индивидуальную точку термической инактивации (ТТИ-температуру), при которой сохраняется его инфекционность. Многолетние наши исследования свидетельствуют, что большинство дальневосточных изолятов вирусов имеют ТТИ ниже, чем вирусы из других географических регионов России и мира.

Данные световой микроскопии по выявлению в клетках больного растения вирусных включений также необходимы при изучении биологических свойств вирусов, но их образуют не все вирусы. Эти белковые образования мы наблюдали лишь в клетках растений, инфицированных вирусами трех из десяти изученных родов: *Potyvirus*, *Tobamovirus* и *Cymodovirus*. Вирусные включения являются довольно надежным диагностическим тестом не только для вируса, но и его штаммов (например, для ВТМ), так как имеют включения специфической формы. Морфология вирионов (сферическая, нитевидная, тонкие волокна или нити, палочковидная, бациллоподобная) — необходимый и очень важный критерий при идентификации вирусов [4]. Удлиненные частицы отражает сходство в длине нуклеиновой кислоты и в структуре белковой субъединицы, так как этими факторами контролируется спиральная структура вирионов. При таксономии сферических вирусов морфология их вирионов не является столь важной, как в случае палочковидных или удлиненных гибких нитей, потому что большинство таких вирусов имеют диаметр вирионов 26-30 нм и при просмотре в электронном микроскопе внешне сходны. Тем не менее сведения о расположении субъединиц с помощью рентгеноструктурного анализа или электронного микроскопа с высоким разрешением играют большую роль при определении вида. Для выявления вирусов со сложной морфологией вирионов результаты электронной микроскопии также служат ценной информацией.

Почти ко всем вирусам и их оригинальным изолятам и штаммам нами отработывались оптимальные методики получения очищенных препаратов, которые использовались для определения молекулярной массы (м.м.) структурных белков, а также для изучения физико-химических, иммуногенных и антигенных свойств капсидных белков. Фундаментальный характер этих исследований был не только основой для получения моноспецифических поликлональных кроличьих антисывороток, но и позволял решать проблемы диагностики вирусов. Изучался каждый влияющий на иммуногенез животного фактор — схема иммунизации, доза иммуногена и способ его введения, подбор адьюванта и реиммунизация. На примере вирусов из различных родов была показана целесообразность отказа от иммунизации животных дозами свыше 1 мг за одну инъекцию. Это позволяло более рационально использовать очищенный препарат вируса в качестве иммуногена, получение которого — довольно сложный и трудоемкий процесс. Но самое главное, при такой дозе иммуногена вырабатывались антитела высокой avidности. Мы показали существенное преимущество внутрикожного и подкожного введения иммуногена в места расположения лимфоузлов по сравнению с распространенными внутривенными и внутримышечными иммунизациями, так как титр специфических антител повышался на 2-3 порядка. Эти результаты использовались для получения не только кроличьих, куриных и мышинных антисывороток, но и крысиных, например, к вирусу мозаики цветной капусты [6, 9].

Для выявления антигенных взаимоотношений между вирусами внутри рода и отдельными штаммами и изолятами отдельного вируса применяли различные иммунохимические методы — от основанных на феномене агглютинации и преципитации (иммунодиффузионные тесты) до высокочувствительных — ИФА и иммунной электронной микроскопии (ИЭМ). Надежности получаемых результатов способствовала поэтапная работа. На первом этапе (предварительном) использовали достоверные, но малочувствительные двойную (РДД) и радиальную иммунодиффузию, на втором — наглядные и высокоспецифичные методы — ИЭМ, ракетный иммуноэлектрофорез (РИЭФ), различные варианты ИФА (прямой, непрямой, конкурентный

и двойной антительный сэндвич-метод). Данные по антигенному родству вирусов подтверждались пептидным картированием, что усиливало их достоверность. В настоящее время для быстрой диагностики и распознавания вирусной инфекции используем различные модификации ПЦР и др. Иммуноспецифические реагенты, а также праймеры для ПЦР широко представлены на рынке различными фирмами.

Антигенные свойства капсидных белков изучаемых вирусов коррелировали с их фенотипическими признаками (морфология, размер вирионов, способы передачи в природе и экспериментальным путем, круг растений-хозяев и характер симптомов на тест-растениях, географическое распространение, патогенность, цитологические изменения в клетках пораженных растений и т.д.). В отличие от грибных и бактериальных фитопатогенов, у которых при заражении происходит прямое взаимодействие между патогеном и растением, для заражения вирусом обычно необходим вектор (насекомое, нематода, гриб, жук или другой организм). Поэтому изучение биологических свойств вируса будет неполным, если не проводить исследования по определению видового состава насекомых, которые переносят вирусную инфекцию от больного к здоровому растению, как в открытом, так и закрытом грунтах. С начала 60-х гг. прошлого столетия в связи с развитием тепличного производства возникла проблема защиты растений овощных культур от тлей, которые в силу специфики закрытого грунта (оптимальные гидродинамические условия, обеспечение питанием в течение длительного времени, отсутствие естественных врагов) получили возможность для беспрепятственного размножения. Среди тлей, обитающих в закрытом грунте, особенно вредоносна персиковая тля. Она наносит значительный вред сладкому перцу, редису, зеленым культурам и томатам, на которых применение химических средств защиты растений запрещено. Поэтому с конца прошлого века активно внедряется биологический метод борьбы с этим вредителем.

Развитие вирусной инфекции — сложный комплекс взаимодействия вируса, переносчика и растения-хозяина. Циркуляция вирусов происходит посредством многочисленных фитофагов (более 500 видов, только насекомых свыше 450 видов). Это — один из самых распространённых способов передачи вирусов в природе. Ниже приводим шесть групп фитофагов, специфически передающие вирусы овощных культур на Дальнем Востоке.

1. Перенос тлями непersistентно вирусов:

1) мозаики люцерны (*Alfalfa mosaic virus*, род *Alfamovinis*, сем. Bromoviridae);

2) огуречной мозаики (*Cucumber mosaic virus*, род *Cucumovirus*, сем. Bromoviridae);

3) аспермии томата (*Tomato aspermy virus*, род *Cucumovirus*, сем. Bromoviridae);

4) мозаики сои (*Soybean mosaic virus*, род *Potyvirus*, сем. Potyviridae);

5) гравировки табака (*Tobacco etch virus*, -«-, -«-);

6) мозаики арбуза (*Watermelon mosaic virus*, -«-, -«-);

7) Y-вирус картофеля (*Potato virus Y*, -«-, -«-);

8) желтой карликовости лука (*Onion yellow dwarf virus*, -«-, -«-);

9) желтой мозаики фасоли (*Bean yellow mosaic virus*, -«-, -«-);

10) обыкновенной мозаики фасоли (*Bean common mosaic virus*,

И) мозаики турнепса (*Turnip mosaic virus*, -«-, -«-);

12) мозаики цветной капусты (*Caulimoflower mosaic virus*, род *Caulimovirus*, сем. Caulimoviridae);

13) S-вирус картофеля (*Potato virus S*, род *Carlavirus*, сем. Betaflexiviridae);

II. Передача глями персистентно вируса

14) деформирующей мозаики гороха 1 (*Pea enation dwarf virus*, род *Enamovirus*, сем. *Luteoviridae*);

III. Перенос жуками и долгоносиками вирусов:

15) мозаики редиса (*Radish mosaic virus*, род *Comovirus*, сем. *Comoviridae*);

16) крапчатости красного клевера (*Red clove mottle virus*, -«-, -«),

IV. Передача клещами, трипсами, прямокрылыми вируса

17) кольцевой пятнистости табака (*Tobacco ringspot virus*, род *Nepovirus*, сем. *Comoviridae*);

V. Переносчик зооспоры гриба рода *Olpidium brassicae* вируса

18) некроза табака [*Tobacco necrosis virus*, род *Necrovirus*, сем. *Tombusviridae*];

VI. Переносчики неизвестны или малоизвестны вирусов:

19) табачной мозаики (*Tobacco mosaic virus*, род *Tobamovirus*, сем. *Virgaviridae*);

20) зеленой крапчатой мозаики огурца (*Cucumber green mottle mosaic virus*,

-«-, -«

21) мозаики томата (*Tomato mosaic virus*, -«-, -«-);

22) X-вирус картофеля (*Potato virus X*, род *Potexvirus*, сем. *Alphaflexiviridae*);

23) мозаики белого клевера (*White clove mosaic virus*, -«-, -«).

Следует особо обратить внимание на следующие два вируса, имеющих распространение на декоративных растениях на Дальнем Востоке, поэтому вероятность заражения ими овощных культур не исключена. Вирус некроза табака, как известно, довольно часто поражает овощные культуры. В регионе он выявлен из нарциссов, - передается механическим путем и через почву посредством зооспор гриба рода *Olpidium brassicae* [9]. Второй вирус аспермии томата распространяется преимущественно в теплицах на растениях томата. Решающая роль в резервации вируса принадлежит хризантемам, если они выращиваются рядом с посадками томатов. В них он часто находится в латентной форме, что усложняет выявление и уничтожение источника инфекции. Вирус был выделен из хризантем в цветоводческих хозяйствах Приморского, Хабаровского краев и Амурской области. Переносчики вируса — главным образом персиковая тля (*Myzus persicae* Sulz), но вред наносят и другие виды, питающиеся вне теплиц соком декоративных растений и сорняков. Как в открытом, так и в закрытом грунтах — это крушинная (*Aphis nasturtii* Kalt.), бобовая (*Aphis fabae* Scop.), большая картофельная (*Macrosiphum solanifolii* Ashm.), крушинниковая (*Aphis frangulae* Kalt.), обыкновенная картофельная (*Aulacorthum solani* Kalt.), и др. Весной и в начале лета тли активно перемещаются с дикорастущих растений на посадки овощных культур. Устойчивая циркуляция вирусов в ценозах обусловлена их эволюционными связями с дикорастущими растениями, которые, являясь кормовыми растениями для насекомых, способствуют сохранению, накоплению и циркуляции вирусов в ценозах.

Известно, что грызущие насекомые (жуки, прямокрылые) из отрядов *Orthoptera*, *Dermaptera*, *Coleoptera*, *Lepidoptera* и *Diptera* в распространении вирусов играют незначительную роль.

С точки зрения биологии вирусов, передача их семенами служит самым надежным резервом, поддерживающим сохранение вирусов в природе. Семенная передача имеет важные экономические последствия, так как способствует сохранению вирусной инфекции в семени длительное время и распространению на большие расстояния. Кроме того, при передаче вируса семенами создаются очаги первичной инфек-

ции при посеве или посадке растений в полевых условиях. Семенами зараженных растений на Дальнем Востоке распространялись вирусы: желтой мозаики фасоли, зелёной крапчатой мозаики огурца, мозаики сои, мозаики томата и др.

Некоторые вирусы являлись общими для овощных, декоративных, плодово-ягодных культур и картофеля [9]. Например, на растениях томата встречались Y- и X-вирусы картофеля. Поэтому посадки картофеля, томата и вышеперечисленных культур создают угрозу заражения вирусами для расположенных в непосредственной близости овощных растений. Итак, основные усилия по борьбе с вирусами направлены на удаление источников вирусной инфекции и прерывание инфекционной цепи.

Способы переноса вируса на овощные культуры через посадочный материал, грибами, пылью, контактно, механически или прививкой, также влияют на результат инфицирования растений. Кроме этого, зараженные вирусами растения нередко поражаются вторично грибными болезнями, что приводит к большим потерям урожая [12].

Обследовались во время фитосанитарного мониторинга овощные растения семи семейств: крестоцветных Brassicaceae Burnett., пасленовых Solanaceae Juss., тыквенных Cucurbitaceae Juss., лилейных Liliaceae Juss., сельдерейных (бывшие зонтичные) Apiaceae Lindl., маревых Chenopodaceae Vent, и бобовых Fabaceae Lindl., но вирусную инфекцию выявляли главным образом на тыквенных овощных культурах (кабачок, тыква, дыня, огурец, патиссон, арбуз и др.), пасленовых (томаты, баклажаны, перец сладкий и др.), капустных (различные виды капусты белокочанной и цветной, редис, лоба, дайкон и др.) и бобовых (овощная фасоль, горох овощной, бобы конские и др.). Мониторинг по выявлению вирусов овощных культур (2000-2012 гг.) показал, что наиболее распространенным и вредоносным, особенно для тыквенных культур, является вирус огуречной мозаики (ВОМ), а пасленовых — ВТМ. Оба вируса имеют большое видовое разнообразие. Только на Дальнем Востоке из декоративных, лекарственных, овощных и др. растений выявлено и изучено около двух десятков штаммов и изолятов ВТМ и более четырех десятков — ВОМ [9, 12]. Особенностью ВОМ является трехпартидный (+)РНК геном. На юге Хабаровского края изоляты ВОМ выделены из томата (*Lycopersicon esculentum* L.), перца (*Capsicum annuum* L.), тыквы крупноплодной (*Cucurbita maxima* spp.), дыни (*Cucurbita melo* spp.) и огурца полевая (*Cucumis sativus* spp.), в Приморском крае вирус чаще поражал томат, огурец, перец, репе — арбуз, кабачок, патиссон, баклажан и тыкву [29, 34]. Обнаружен вирус и на Камчатке. Не выявили ВОМ на капусте, хрене, салате и петрушке. Нередко вирус встречался в смешанной инфекции с ВТМ, потери урожая были довольно существенными и составляли иногда от 80 до 100%. Результаты по изучению свойств изолятов ВОМ совпадали с литературными данными для обычного штамма ВОМ [31]. Распространение ВОМ происходило в основном с помощью тлей. Резерваторами вируса служили многолетние дикорастущие и сорные растения: лопух, мята, вьюнок полевой, полынь обыкновенная и т.д., а также декоративные культуры: гладиолус, флокс, цинния и т.д. В летнее время с растений-резерваторов тли переносили ВОМ на тепличные томаты. Другим источником переноса ВОМ в теплицы были насекомые или сорняки, находившиеся в очагах инфекции около теплицы. ВОМ лабильнее ВТМ, поэтому в почве он не сохраняется. Помимо насекомых, ВОМ передавался повиликой (*Cuscuta campestris* Junch.). Экспериментальным путем доказано, что семенами больных растений томата ВОМ не передавался [29].

Была получена антисыворотка против изолята ВОМ, выделенного из огурца, что позволило изучить близкое антигенное родство томатного, перцевого, баклажан-

ного и огуречного изолятов ВОМ. Все дальневосточные изоляты ВОМ оказались слабыми иммуногенами. По антигенным свойствам капсидных белков изоляты отнесли к дальневосточному серотипу, так как они не реагировали с антисыворотками, полученными к европейским изолятам. Изучение нуклеотидных последовательностей хабаровских изолятов ВОМ, сравнительный филогенетический анализ с изолятами ВОМ, депонированными в Genbank, и использование 2Ь гена ВОМ в качестве маркера для ПЦР-диагностики (табл. 1), показало, что они относятся к широко распространенной в мире подгруппе IA [13].

Т а б л и ц а 1

**Праймеры, используемые для амплификации гена белка оболочки ВМЦК**

Праймер	Последовательность	Длина праймера, п.н.	Температура отжига, °С	Длина ампликона, п.н.
L	5-TTAGGATCCT CT GGAAACCC-3'	20	48	1600
R	5'-T GCTAT GCATAAGCTT GCT C-3'	20	50	

Самый изученный в настоящее время вирус табачной мозаики в природе поражает около 350 видов из 35 семейств и отличается от других высокой стабильностью (сохраняется в нестерильных экстрактах в течение 50 лет) и высокой концентрацией в инфицированном растении. Так, в табаке (*Nicotiana glauca* cv. Samsun) в зависимости от изолята вирус накапливался от 8 до 460 мг/100 г инфицированных листьев [9]. Вирионы ВТМ — типового вида рода *Tobamovirus* — имеют жесткие палочки длиной 300 нм и шириной 18 нм. Белковая субъединица представляет собой молекулу с м.м. 18 кДа, а одноцепочечная РНК — м.м. 2,05 мДа. В Приморском крае ВТМ выявлен из растений перца, томата и баклажана [23]. Первичными очагами инфекции в условиях как открытого, так и закрытого грунтов служили единичные большие сорные и дикорастущие растения сем. Solanaceae.

В литературе имеются единичные данные о поражении баклажана ВТМ [38]. Нами ВТМ обнаружен на баклажанах впервые в России. Изолят имел невысокую (наименьшую) ТТИ (85 °С) по сравнению с другими изолятами ВТМ. В то же время ВТМ довольно часто поражает во всем мире перец. Нами выявлено два изолята ВТМ из перца. Один по классическим критериям идентификации отнесли к обычной (табачной) группе ВТМ, второй — к некротической. Последний выявили из сладкого перца. Это довольно стабильный изолят ВТМ, так как сохранялся несколько месяцев при комнатной температуре, а в сухих листьях — несколько лет. ТТИ — 95 °С (для сравнения: у большинства штаммов ВТМ она 90-92 °С, а у других дальневосточных — 86-92 °С). Некротический перец вый изолят не заражал ни одно из испытанных растений сортов томата съедобного и табака настоящего сорта Самсун — растений, очень чувствительных ко всем штаммам ВТМ [23].

Дальневосточный томатный штамм ВТМ вызывал симптомы поражения не только на листьях (мозаика, папоротниковость, энационные симптомы), но иногда встречались поврежденные вирусом плоды. Резерваторами вируса были сорные растения паслена черного (*Solanum nigrum* L.) и повилыки. Вирус не переносился насекомыми и сохранялся в почве и передавался через семена. ТТИ — 90 °С, ПСИ — более 2 мес., ПРС — 10<sup>-11</sup>.

Итак, дальневосточные овощные изоляты ВТМ имели отличия друг от друга по кругу растений-хозяев, симптомам, вирусным включениям, П И. ПРС и ПСИ, физико-химическим и антигенным свойствам. При препаративном выделении выход вируса составил от 70 до 85 мг/100 г инфицированных листьев табака сорта Самсун. Были получены поликлональные антисыворотки к баклажанному изоляту ВТМ и некротическому из перца. Баклажанный изолят был более активным иммуногеном, чем некротический. Титр специфических антител по результатам непрямого варианта ИФА составил для баклажанного изолята 1:25600, некротического — 1:3200. Антигенное родство между изолятами выявляли методами РДД, РИЭФ, непрямым и сэндвич-вариантами ИФА. По результатам РИЭФ, в системе баклажанного изолята ВТМ получен наивысший процент родства его с томатным изолятом — 83,3%, с обычным из перца — 58,8% и с некротическим из перца — 0%. Данные РДД и ИФА подтвердили эти данные. По биологическим, физико-химическим и антигенным свойствам баклажанный и томатный изоляты ВТМ отнесены к томатной группе, обычный из перца — к табачной группе, а второй из перца — к некротической группе 151.

Были выделены и изучены приамурские изоляты ВТМ из томата и баклажана [30]. Было показано, что по биологическим свойствам они близки. В качестве контроля использовали томатный изолят ВТМ, обнаруженный нами в теплице Института экспериментальной биологии АН КНДР (г. Пхеньян). Корейский изолят вызывал на тест-растениях симптомы, характерные для табачной группы ВТМ, и образовывал в клетках кристаллы (вирусные включения), характерные для штаммов этой группы, с гранями почти равной длины. Для установления антигенного родства между приморскими, приамурскими и корейским изолятами ВТМ была получена антисыворотка против приамурского томатного изолята. По совокупности изученных свойств приамурские изоляты ВТМ дополнили томатную группу ВТМ, а корейский — табачную.

На юге Дальнего Востока выявлены еще два других тобамовируса. Вирус зеленой крапчатой мозаики огурца (ВЗКМО) поражает довольно небольшой круг растений. Кроме огурца, вирус заражает арбуз, дыню и тыкву. На листьях огурца вирус вызывает сначала потемнение жилок, а затем хлоротичную пятнистость, пузыревидность между жилками. Разновидность болезни — белая мозаика, когда появляются белые или желтые пятна звездчатой формы. Растения отстают в росте, быстро стареют, плоды отличаются мелкими размерами, деформацией, мозаичной расцветкой. Известны европейские и азиатские штаммы вируса. Арбуз за рубежом известен как природный хозяин вируса.

В Приморском крае ВЗКМО выделили из растений огурца в открытом грунте [22], а позже — из тепличных растений огурца [9]. Вирионы вируса палочковидные, длиной 300 нм и шириной 17-18 нм. М.м. РНК — 2 мДа, белка — 17,2 кДа. Вирус имел круг растений-хозяев, ограниченный видами сем. Cucurbitaceae. Источник распространения вируса — семена, собранные с зараженных растений. В гидропонном субстрате и в почве, а также на конструкциях теплиц инфекция сохраняется несколько месяцев. Но основной способ передачи вируса, особенно в теплицах, — контактный, соком больных растений.

Вирус мозаики томата (ВМТо) на юге Приморского края был выделен из тепличных растений томата. Это чрезвычайно контагиозный вирус. Он передается семенами больных растений сем. Solanaceae и при проведении технических операций легко выдерживает высокие температуры, длительное время сохраняется в почве,



но не переносится насекомыми. Типичные симптомы на плодах томатов — образование отмерших некротических участков коричнево-серого и коричнево-бурого цвета. При изучении свойств ВТМо оказалось, что разница между ним и ВТМ минимальна. Установлено антигенное родство капсидных белков ВМТо, ВТМ и ВЗКМО, что подтверждает их принадлежность к роду *Tobamovirus*. В прошлом году МКТВ включил этот род наряду с пятью другими «плавающими» родами во вновь образованное сем. *Virgaviridae* [42].

В конце 90-х гг. прошлого столетия в Приморском крае был обнаружен вирус неизвестной этиологии. Он поражал только растения сем. *Brassicaceae* (редис, цветную и белокочанную капусту, дайкон). Его таксономический статус — ДНК-геномный вирус мозаики цветной капусты (ВМЦК) 17-18 нм был установлен путем изучения его биологических, физико-химических, антигенных, молекулярных и других свойств и сравнительного анализа их с литературными данными [27, 41]. Вирус имел изометрические вирионы в диаметре около 50 нм, м.м. 20 к Да. В цитоплазме инфицированных клеток редиса вирус образовывал внутриклеточные включения округлой формы, характерные для каулимовирусов [2]. ДНК вируса имела м.м. 4,5-5,0 мДа, соответствующую длине 8 т.п.о., 6 больших и 2 малых открытых рамки считывания. Мы изучали свойства восьми изолятов ВМЦК. Они оказались менее стабильными, чем зарубежные, и представляли российскую популяцию, существенно отличную по геному от мировой коллекции из Genbank [3]. Более обстоятельно эти генетические взаимоотношения можно будет обсуждать после секвенирования дальневосточных изолятов ВМЦК.

Надо отметить, что идентификация любого фитовируса, в том числе и ВМЦК, по классическим критериям — трудоемкая работа, занимающая по времени от нескольких месяцев до года и более. Поэтому необходимо было использовать метод, позволяющий достаточно быстро и с высокой точностью обнаружить ВМЦК в растениях. Существующие коммерческие иммунохимические тест-системы не всегда отвечают этим требованиям. Для индикации ВМЦК можно было бы использовать фрагмент генома, кодирующий белок цитоплазматических включений, так как по результатам секвенирования нами была продемонстрирована его стабильность. Однако анализ известных последовательностей вируса на момент исследования полных нуклеотидных, депонированных в Genbank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)), показал, что наиболее консервативным участком в его геноме является 2-я межгенная область. Комплементарно данному фрагменту конструировали диагностические праймеры. Результаты электрофоретического анализа продуктов в 1%-м агарозном геле представлены на рисунке. Оптимизированные условия обеспечивали амплификацию единственного фрагмента ДНК длиной около 600 п.н., что соответствовало расчетной величине. При постановке ПЦР с ДНК, выделенной из вируса согласно методу [39], полученный ампликон соответствовал расчетной величине. Далее специфичность праймеров изучали при постановке ПЦР с ДНК, выделенной из неинфицированных (здоровых) растений сем. крестоцветных, в которых упомянутый фрагмент не был обнаружен. Таким образом, подтверждена специфичность использованных в работе праймеров ко 2-й межгенной области ВМЦК и возможность применения их в качестве универсального ПЦР-диагностикума для детекции дальневосточных изолятов вируса [17].

Имеется единственное сообщение о выявлении вируса крапчатости красного клевера в России из гороха на Дальнем Востоке [16]. Он поражал в основном растения гороха и красного клевера. Растениями-резерваторами вируса являются многолетние бобовые растения. Свойства изучены слабо.

Вирус мозаики люцерны (ВМЛ) в Приморском крае впервые обнаружен на растениях клевера красного [21], позже — на томате и перце. При этом вирус, как правило, присутствовал в растениях в смешанной инфекции с ВТМ [22]. Для ВМЛ, выявленного на клевере красном, при изучении круга растений-хозяев показано, что он заражал многие сорта сои, фасоль и коровий горошек.

Вирус кольцевой пятнистости табака (ВКПТ) имеет вирионы сферической формы размером 25-29 нм. Он поражает около 300 видов растений из более 50 семейств среди возделываемых культурных растений: шпинат, свеклу, огурец, арбуз, тыкву, дыню, баклажан, томат, фасоль, сою, горох и др. На Дальнем Востоке впервые обнаружен на сое [19]. ВКПТ передавался семенами и легко механически на табак, горох и вигну. Вирус был очень чувствителен к внешним условиям и при 28-30°C видимых симптомов не проявлял. В природе его переносят отдельные виды клещей, трипсы и прямокрылки (*Epitrix hirtipennis*, *Trips tabasi*, *Melcinopus differentidis*, *Tettigiria viridissima*). От других неовирусов ВКПТ отличается тем, что не переносился жуками, которые являются основными переносчиками неовирусов [16].

Вирус мозаики редиса (ВМР) обнаружен в Приморском крае на лобе. Вирионы сферические, диаметром 28-30 нм. ВМР заражал растения: редис, свеклу, шпинат, турнепс, редьку китайскую (лобу), цветную капусту, горчицу полевую и др. семейств *Amaranthaceae*, *Brassicaceae*, *Fabaceae* и *Solanaceae*. Симптомы варьировали в зависимости от вида растения. Известны два штамма вируса: американо-японский, или типичный, и европейский. Последний в Европе более распространен, чем первый в США и Японии. Оба штамма чаще всего поражают растения сем. *Brassicaceae*. Однако европейский штамм ВМР отличается от американо-японского тем, что не вызывает симптомов на цветной капусте (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). Изучение антигенных свойств дальневосточного изолята ВМР показало, что он проявил реакцию идентичности с антисывороткой против американо-японского штамма. Известно, что идентификация ВМР, а также вирусов морщинистой мозаики турнепса (ВММТ) (*Turnip crinkle mosaic virus*), желтой мозаики турнепса (*Turnip yellow mosaic virus*) и розеточности турнепса (*Turnip rosette virus*) затруднена без использования специфических антисывороток. Присутствие в соке исходного растения лобы двух последних вирусов мы исключили, так как они заражают растения только сем. *Brassicaceae*, в то время как дальневосточный изолят вируса заражал растения четырех семейств (см. выше). Отличались вирусы и по физическим свойствам. Вирус морщинистой мозаики турнепса имел ГТ II 80-90 °C, ПСИ — более 30 сут. Для ВМР: Г I I I — 80 °C, ПРС —  $10^5$ — $10^6$  и ПСИ — до 18 сут. Кроме того, американские исследователи сообщили, что наша антисыворотка, полученная к ВМР, не содержала антител к ВММТ. Антигенное родство дальневосточного изолята ВМР с американо-японским и сходные биологические, физико-химические свойства дали основание отнести его к типичному штамму вируса мозаики редиса [6]. В качестве переносчика ВМР известны долгоносики (*Epitrix hirtipennis*) и жуки-листогрызы (*Diabrotica undecimpunctata*).

Далее мы остановимся на характеристике вирусов рода *Potyvirus* — самого многочисленного (более 200 видов) по видовому составу [42]. Из известных к настоящему времени семи родов сем. *Potyviridae* (*Bymovirus*, *Rymovirus*, *Ipomovirus*, *Maclurvirus*, *Tritimovirus* и *Potyvirus*) на Дальнем Востоке на овощных культурах были выявлены только вирусы рода *Potyvirus*.

Вирус обыкновенной мозаики фасоли (ВОМФ) распространен в мире главным образом в районах возделывания бобовых культур. В Приморье сначала был обнаружен на клевере луговом [20], позже — на фасоли овощной [24]. Была про-

ведена сравнительная характеристика свойств трех изолятов ВОМФ: российского, китайского и корейского. Китайский изолят был любезно предоставлен коллегами Северо-Восточной сельскохозяйственной академии КНР (г. Харбин), а корейский мы обнаружили на фасоли во время обследований посевов овощных культур в 2005 г. в пригороде г. Пхеньяна (КНДР). В соке из листьев фасоли, пораженной ВОМФ, с помощью электронного микроскопа (Tesla BC-500, х 25-30 тыс.) обнаружены нитевидные частицы длиной 720-770 нм, а с помощью светового микроскопа в эпидермисе наблюдали аморфные околядерные вирусные включения.

Изучаемый экспериментальный круг растений включал сорта и виды семейств *Amaranthaceae*, *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Fabaceae* и *Solanaceae*, но заразились лишь культурные виды сем. *Fabaceae* (различные сорта фасоли). Исключение составил корейский изолят ВОМФ, который вызывал на мари квиноа (*Chenopodium quinoa* Willd.) локальные некрозы.

Для всех изученных изолятов ВОМФ показана семенная передача, вирус легко передавался непersistентно персиковой тлей. Физические свойства вирионов были близки, но не идентичны, наибольшей стабильностью отличался российский изолят ВОМФ (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

**Физические свойства изолятов ВОМФ**

Изоляты ВОМФ из растений фасоли	Физические свойства вирионов		
	ТТИ, °С	ПСИ, сут.	ПРС
Российский	62	1	10 <sup>-6</sup>
Китайский	55	5	10 <sup>-4</sup>
Российский (из клевера)*	55-60	2	—
Корейский	50-55	2	10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-2</sup>

\* Т.А. Поливанова (1971); «-» — данные отсутствуют.

Для препаративного выделения российский и китайский изоляты вируса накапливали в растениях фасоли сортов Черная спаржевая или Ю. Ту, а корейский — сортов Сакса и Белая в течение трех недель. Выход вируса для российского — 18-20 мг, китайского — 28-30 мг и корейского изолята — 13 мг/100 г зеленой массы инфицированных листьев фасоли.

По данным электрофореза, в полученных препаратах ВОМФ присутствовал один полипептид м.м. 32 кДа, что свидетельствовало о гомологии белков исследуемых изолятов. У российского изолята м.м. нативных белков составила 31,6 кДа, у китайского — 32,1. Под действием органических растворителей происходило разрушение оболочки вирионов, в результате капсидный белок расщеплялся на три полипептида. При 4 °С с добавлением азиды натрия очищенные препараты сохраняли инфекционность 8-9 мес.

Препараты российского и корейского изолятов ВОМФ использовали как иммуногены при получении поликлональных кроличьих антисывороток. Титр антисыворотки по результатам непрямого варианта ИФА для российского изолята составил 1:12800, корейского в РДД — 1:64-1:128. Выявлено антигенное родство азиатских

изучаемых изолятов ВОМФ с другими потивирусами: перекрестные реакции в системе российского изолята (непрямой вариант ИФА) наблюдали с ВЖМФ (изолят из гладиолуса), УВК, вирусами мозаики турнепса и мозаики сои. Отмечена более высокая антигенная активность российского изолята ВОМФ по сравнению с китайским. Наивысший процент идентичных эпитопов капсидных белков изучаемых изолятов был с вирусом желтой мозаики фасоли (ВЖМФ). Между корейским изолятом ВОМФ и УВК, тыквенным изолятом ВЖМФ, вирусами гравировки табака (ВГТ) и мозаики арбуза (ВМА) также наблюдали перекрестные реакции в РДД, что указывало на их антигенное родство. Итак, сравнительная характеристика по биологическим, физико-химическим и антигенным свойствам российского изолята с корейским и китайским особых отличий между ними не выявила.

Вирус желтой мозаики фасоли на Дальнем Востоке поражал единичные растения главным образом сем. Fabaceae: сою, клевер красный, горох [18], фасоль обыкновенную [25]. В последние годы впервые в России ВЖМФ выявлен из тыквы [14]. Учитывая, что юг Дальнего Востока имеет муссонный климат и жесткий инфекционный фон, создаются уникальные условия для его быстрого распространения на этих теплолюбивых растениях. Во время маршрутных обследований вирус в последние годы довольно часто встречался на клеверах — резерваторах этого вируса.

Дальневосточные изоляты вируса имели узкий круг растений-хозяев по сравнению с описанными в литературе (более 10 семейств), так как заражали растения только трех семейств: Chenopodiaceae, Cucurbitaceae и Fabaceae. Для вируса характерно большое видовое разнообразие. В настоящее время в Приморье ВЖМФ стал все чаще поражать не только бобовые, но и различные декоративные растения.

При получении очищенного препарата ВЖМФ (тыквенный изолят) выход вируса составил 15,3 мг/100 г инфицированных листьев. К вирусу были получены поликлональные крысиная и кроличья антисыворотки. ВЖМФ проявил себя как активный иммуноген. Показано антигенное родство тыквенного изолята ВЖМФ с другими потивирусами: УВК, ВГТ и ВМА.

Г-вирус картофеля имеет широкий круг растений-хозяев. ПСИ — 48-72 ч, ТТИ — 50-70 °С, ПРС — 10<sup>-2</sup>-10<sup>-4</sup>. Частицы 730x750 нм, РНК УВК с м.м. 3,1-3,2 мДа, полипептид оболочки 30-33 кДа. Вирус обнаружили на растениях перца, распространение незначительное, хорошо выявлялся в соке больного растения реакцией капельной агглютинации с помощью антивирусной сыворотки, приготовленной против картофельного изолята УВК.

Вирус желтой карликовости лука (ВЖКЛ) с большим трудом удалось механически передать на 15 видов и сортов рода *Allium* и 2 вида рода *Chenopodium*. Из всех видов лука, которые удалось заразить сибирским изолятом, самым чувствительным оказался лук алтайский (*Al. altaicum*). Вирионы нитевидные, размером 750 x 12 нм, ТТИ — 65 °С, ПСИ — 2 сут. В эпидермальных клетках больных растений обнаружены Х-тела [23]. М.м. белка 35 кДа [1]. Свойства сибирского изолята ВЖКЛ практически не отличались от свойств обычного штамма вируса. Он легко передавался непersistентным способом *M. persicae*, но семенной передачи не выявили. Показано с помощью специфической антисыворотки антигенное родство с другими потивирусами. Антисыворотка позволила выявлять вирус не только в посевах лука в Новосибирской области, но и у различных сортов лука из Прибайкальского (Иркутский район) и Приморского краев.

Вирус мозаики турнепса повсеместно заражает возделываемые культурные виды овощных и декоративных растений сем. Капустные, включая дикорастущие

и сорные виды, а также масличные крестоцветные культуры. По распространенности и вредоносности он уступает лишь ВОМ. При обследовании овощных культур в южных районах Приморского края на листьях отдельных растений лобы (*Raphanns sativus* (loba) наблюдали морщинистую мозаику. Оказалось, болезнь вызывают два вируса — мозаика редиса и мозаика турнепса. В Японии подобное заболевание, вызываемое смесью этих вирусов, получило название деформирующей мозаики редиса (*Radish motion mosaic*). С помощью *M. persicae* удалось разделить вирусы. ВМТ инокулировали 60 видов и сортов растений, относящихся к пяти семействам [40]. Системно, т.е. в виде хорошо различимых симптомов, вирус заражал в основном растения из сем. Brassi-caceae, чаще всего капусту различных селекционных форм, турнепс, хрен, горчицу и др. Устойчивых к вирусу сортов редиса не выявлено.

Вирус имеет вирионы нитевидной формы (720-780x12 нм). В клетках больных растений лобы в световом микроскопе обнаружены характерные для потивирусов включения (X-тела) белковой природы [23]. Электрофоретический анализ показал, что свежeweделенный препарат вируса имел два полипептида м.м. 32 и 38 кДа. Электрофорезом выявлен один компонент РНК м.м. 3,5 мДа. Отличительной особенностью дальневосточного изолята ВМТ была высокая ТТИ — 70 °С, ПСИ — 2 сут., в то время как у штаммов, описанных в литературе, — 30-60 °С. Следовательно, изучаемый изолят ВМТ оказался самым термостабильным из известных штаммов вируса. По биологическим свойствам изученный ВМТ отнесен к группе обычных штаммов [23]. К вирусу была получена специфическая антисыворотка, он проявлял свойства умеренного иммуногена. Методами иммунохимического анализа показано его антигенное родство с другими потивирусами.

Помимо *M. persicae* (известны и другие многочисленные виды тлей), вирус легко передавался механически. Восприимчивые к ВМТ растения сем. Капустные редко дают жизнеспособные семена, поэтому семенная передача до последнего времени не была установлена. В литературе имелось лишь одно упоминание об обнаружении ВМТ в семенах *Raphanns raphanistrum* [37]. Однако в связи с появлением высокочувствительных иммунохимических и молекулярных методов диагностики появились данные [15] о возможности передачи ВМТ семенами восприимчивых и толерантных растений рода *Brassicae*. Наличие вируса в растениях, выращенных из семян таких растений, показано визуально и с помощью индикаторного метода (симптомы хлоротичной пятнистости листьев оценивались в 8 баллов, морщинистость листьев — в 4 балла, у растений отмечалось угнетение роста и развития растения). При этом чувствительность и надежность биологического тестирования с помощью растений-индикаторов позволяла рекомендовать его для применения в качестве метода экспресс-диагностики ВМТ. Эти результаты подтверждали методами ИФА (вирус обнаруживался главным образом во взрослом растении, а в зародышах и семенах — только при достижении в них высокой концентрации вируса), ОТ-ПЦР (присутствие вируса отмечали на всех стадиях вегетации растения — от семени и зародыша до взрослого растения). Причем, процент передачи вируса семенами иногда доходил до 40%. Была доказана передача вируса через заражение зародыша.

Вирус мозаики арбуза выявлен в Приморском крае из растений тыквы, арбуза и кабачка и на Сахалине из кабачка. Вирус заражает только растения сем. Cucurbitaceae, легко передается механически и неперсистентно тлями [26]. ВМА содержит (+) ss RNA, состоящую из 10326 нуклеотидов (нт.) Длина потипептида 3344 аминокислот. Он впоследствии расщепляется эндопротеазами на несколько белков.

Если перечислить расположение генов от 3' до 5'-конца, то с 86 нуклеотида начинается ген Р1 (63 кДа) длиной около 1650 нт., хелперный компонент НС-Рго (52 кДа), Р3 (46 кДа), белок вирусных включений С1 (72 кДа), белок 6К (6 кДа) и два белка ядерных включений — N1a (48 кДа) и N1b (59 кДа), а также белок оболочки СР (35 кДа) длиной около 950 нт.

ТТИ — 65-70 °С, ПСИ — 4-5 сут., ПРС —  $10^{-6}$  -  $10^{-5}$ . Дальневосточный изолят ВМА — активный антиген, выявлено антигенное родство с другими дальневосточными потивирусами.

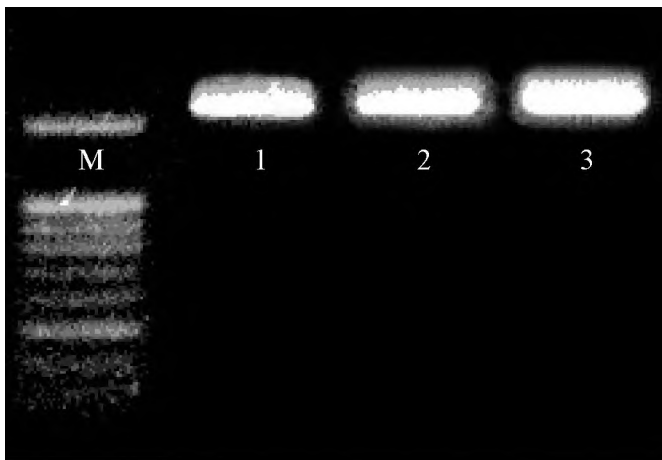
Среди изолятов ВМА (*Watermelon mosaic virus*, WMV) в настоящее время выделяют два патотипа: ВМА-П (WMV-P) и ВМА-А (WMV-W). Первый получил приставку от названия растения папайя *Papaya*, а второй — арбуза. Оба патотипа ВМА имеют идентичные эпитопы капсидных белков и не имеют выраженных генетических различий, но ВМА-А, в отличие от ВМА-П, имеющего более широкий круг тест-растений, заражает только растения сем. Cucurbitaceae. Дальневосточный изолят ВМА по этому критерию отнесен к ВМА-А.

Вирус гравировки табака в Приморье выявлен на перце с симптомами слабой кольцевой пятнистости [28]. Вирионы нитевидные, от 730 до 750 нм. Довольно распространенный вирус в посадках перца, томата, табака, вызывая, например, на перце карликовость растений, крапчатость и деформацию листьев, уменьшение размеров плодов. На томате — листовую крапчатость и деформацию листьев, снижает урожай; на табаке — крапчатость, мозаику, кольцевую пятнистость и специфическую некротическую гравировку — дубовидный хлоротический узор вдоль главной и средней жилок, рисунок как бы выгравирован на листе. Именно эти симптомы и дали название вирусу. Позже узор некротизируется.

Выявлен узкий круг экспериментально поражаемых вирусом растений, который ограничивался в основном растениями из сем. Fabaceae. ВГТ механически не смогли передать на огурцы, патиссоны, тыкву, бобовые и томат сорта Хабаровский, а вот сорт Невский заразился вирусом. ВГТ передался непersistентно *M persicae*. ТТИ — 60-65 °С, ПРС —  $10^{-2}$ .

ПРИ — 2 сут. Дальневосточный изолят ВГТ по биологическим свойствам незначительно отличался от описанных в литературе.

К ВГТ была приготовлена активная антисыворотка. Выявлено антигенное родство ВМГ с другими потивирусами. Наибольший процент идентичных эпито-



**Электрофореграмма распределения продуктов амплификации вируса мозаики цветной капусты с праймерами 4042 и 4043: М — маркер ЮОбр + 1.5k Ladder; 1 — ампликон с ДНК ВМЦК; 2 — суммарная ДНК из листьев редиса, инфицированного ВМЦК, выделенная при помощи набора для выделения ДНК (Медиген, Россия); 3 — та же ДНК, выделенная при помощи СТАВ-буфера**

пов выявили с УВК, меньше — с ВМА и ВЖМФ (изолят из фасоли), а наименьший — с ВМС.

Вirus мозаики сои распространен повсеместно, где возделывается соя, поражает также некоторые виды фасоли. ВМС имеет узкий круг растений-хозяев, и долгое время считалось, что вирус поражает только сою (*Glycine max*), но сейчас известно свыше 30 видов растений. Электрофорезом в ГГААГ в препаратах ВМС обнаружены два белка с м.м. 28 и 32 кДа. Вирус отнесен к средним антигенам, проявлял антигенное родство с другими потивирусами. Встречается ВМС в виде штаммов. Наиболее изучены свойства среднепатогенного штамма. Дальневосточный среднепатогенный штамм ВМС по многим критериям схож с японским штаммом С, который принято считать типовым штаммом ВМС.

Идентифицированы вирусы овощных культур также из рода *Carlavirus* сем. Betaflexiviridae и рода *Potexvirus* сем. Alphaflexiviridae. Вирионы этих вирусов — гибкие нитевидные частицы.

S-вирус картофеля (SBK) имеет ограниченный круг растений-хозяев, в основном это виды сем. Solanaceae и некоторые виды из семейств Chenopodiaceae и Fabaceae. На овощных культурах SBK не имеет широкого распространения. Симптомы проявляются в виде слабой хлоротичной пятнистости листьев. Иногда инфекция носит латентный характер. Антисыворотка, приготовленная к картофельному изоляту вируса, активно реагирует с соком инфекционных SBK растений овощных культур сем. Solanaceae.

X-вирус картофеля (ХВК) — типовой вид рода *Potexvirus* — поражал растения томата и перца. Обнаружен он на этих растениях с помощью антисыворотки, но степень поражения незначительная. В ряде случаев ХВК был обнаружен в смешанной инфекции с ВТМ и ВОМ. Переносчики неизвестны.

Вirus мозаики белого клевера (ВМБК) поражает широкий круг растений, из культурных — табак и огурцы, но чаще всего — растения сем. Fabaceae: фасоль обыкновенную *Ph. vulgaris* L., горох обыкновенный *Pisum sativum* L., коровий горошек *Vigna sinensis* Endl., бобы конские *Vida faba* L., клевера *Trifolium* sp. и др. В Приморском крае и на острове Сахалин вирус был выявлен из гороха и клеверов белого и красного. На листьях клевера белого вирус вызывал симптомы от темно- до светло-зеленых пятен, деформацию и морщинистость. У клевера красного — мозаичность листовой пластинки в виде светлых участков по жилкам листьев, крапчатость, деформацию листьев и задержку роста растений. Изоляты ВМБК по характеру проявления симптомов на растениях были разделены на мозаичные и некротические. Патогенность последних была значительно выше, чем мозаичных. Все сорта фасоли, коровий горошек, горох, бобы конские, используемые в эксперименте, заражались вирусом [21]. Для накопления вируса использовали *Vi. vulgaris* сорта Бонтифл. Через 30 дней в период максимального накопления вируса листья срывали для выделения препарата. Выход вируса — 40-70 мг/кг. Получена антисыворотка, вирус — хороший иммуноген. Титры специфических антител составили по результатам капельной агглютинации — 1:512-1:2048, в РДД — 1:128-1:256, ИФА (непрямой вариант) — 1:25600. По данным конкурентного варианта ИФА, показано, что ВМБК имел антигенное родство с другими потексвирусами: наибольший процент идентичных эпитопов с ХВК — 95,5%, с вирусом аукуба мозаики картофеля (*Potato aucuba mosaic virus*) — 66,6% и с вирусом кольцевой пятнистости гортензии (*Hydrangea ringspot virus*) — 41,7%.

Самый эффективный метод борьбы с вирусами — селекция вирусоустойчивых сортов и гибридов. Защита агроценозов за счет создания устойчивых сортов к болез-

ням и конструирование адаптивных агроэкосистем приносит уже сейчас, например, во многих европейских развитых странах не только большую экономическую выгоду, но и позволяет существенно улучшить экологическую ситуацию. Использование устойчивых к вирусам сортов способствует применению значительно меньших количеств пестицидов и получению стабильных высоких урожаев. Успехи в селекции сортов и гибридов сельскохозяйственных культур и производство посевного материала, в том числе и овощных, отражают обеспечение растущего мирового населения продуктами питания. В настоящее время остаются актуальными исследования, в которых через семена и посадочный материал реализуется селекционный прогресс сельскохозяйственных растений, в т.ч. и овощных культур, воплощенный в высокоурожайные, устойчивые к болезням новые сорта и гибриды, обладающие высокими вкусовыми качествами. При этом знание биологии вируса, его вредоносность, распространение, способы передачи в природе и тепличных условиях являются ключевыми, так как это определяет стратегию защиты растений от вирусов при получении вирусоустойчивых сортов не только овощных, но и других сельскохозяйственных растений.

### Библиографический список

1. *Артюкова Е.В., Моисеетто Л.И., Толкач В.Ф., Крылов А.В.* Выделение и некоторые свойства потивируса, изолированного из традесканции белоцветковой // Биол. науки. 1988. № 8. С. 30-34.
2. *Богун Ю.В., Гнутова Р.В.* Ультраструктура клеток растений, пораженных вирусом мозаики цветной капусты//Бюл. ГБС. 2004. Вып. 187. С. 182-185.
3. *Богун Ю.В., Гнутова Р.В.* Генетическая изменчивость российских дальневосточных изолятов вируса мозаики цветной капусты // Вестник КНУ. Серия биол. 2005. № 44. С. 10-12.
4. *Бойко А.Л., Зарицкий М.М., Товкач Ф.П.* Вирусология в электронографиях: Альбом // Ред. А.Л. Бойко. К: ДИА, 2012. 56 с.: ил.
5. *Гнутова Р.В.* Сравнительная характеристика штаммов ВТМ (дальневосточные изоляты), идентифицированных на овощных культурах: Автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток: БПИ, 2000. 17 с.
6. *Гнутова Р.В.* Серология и иммунохимия вирусов растений. М.: Наука, 1993. 301 с.
7. *Гнутова Р.В.* Вирусы, поражающие сельскохозяйственные растения на юге Дальнего Востока//Вестн. ДВОРАН. 2005. №3. С. 122-130.
8. *Гнутова Р.В.* Возбудители вирусных заболеваний овощных культур в Дальневосточном регионе // С.-х. биология. 2007. № 1. С. 56-71.
9. *Гнутова Р.В.* Таксономия вирусов растений Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 2009. 467 с.
10. *Гнутова Р.В.* Вирусы растений азиатской территории России: номенклатура и систематика // Изв. РАН. Серия биол. 2011. № 1. С. 33-44.
11. *Гнутова Р.В., Волков Ю.Г., Вэньцин Л.* Фитовирусы Дальнего Востока России и Китая // Проблемы фитовирусологии на Дальнем Востоке. Владивосток: Дальнаука, 1996. С. 5-20.
12. *Гнутова Р.В.* Болезни овощных культур и картофеля на Дальнем Востоке России. Владивосток: Дальнаука, 2011. 169 с.: ил.
13. *Гнутова Р.В., Несмелое П.Б.* Изменчивость гена 2Ь российских дальневосточных изолятов вируса огуречной мозаики // Матер. Межд. конф. «Селекция и генетика сельскохозяйственных растений: традиции и перспективы». Украина. Одесса, 2012. С. 327-328.
14. *Гнутова Р.В., Толкач В. Ф.* Идентификация дальневосточного изолята вируса желтой мозаики фасоли, обнаруженного на растениях тыквы // С.-х. биология. 2007. № 3. С. 54-59.



15. *Зубарева П.Л., Игнатов А.Н., Грибова Т.Н., Монохос С.Г.* Вирус мозаики турнепса передается семенами // Защита раст. и карантин. 2013. № 1. С. 37-39.
16. *Крылов А.В.* Вирусы растений Дальнего Востока. М.: Наука, 1992. 110 с.
17. *Несмелое Б.П., Гнutowa P.B., Толкач В.Ф.* Диагностика вируса мозаики цветной капусты // Матер. 2-й Всерос. конф. «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам». СПб: Отдел защиты и биотехнологии раст., 2012. С. 35-38.
18. *Поливанова Т.А.* Вирус желтой мозаики фасоли в Приморском крае // Матер. X конф. молодых ученых ДВ «Некоторые вопросы биологии и медицины на Дальнем Востоке». Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1968. С. 21-24.
19. *Поливанова Т.А.* Вирусные болезни сои // Болезни и вредители сои на юге Дальнего Востока и меры борьбы с ними. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1971. С. 104-144.
20. *Поливанова Т.А., Крылов А.В.* Вирусы, идентифицированные на зернобобовых культурах на Дальнем Востоке // Взаимоотношения вирусов с клетками растения-хозяина. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1985. С. 87-93.
21. *Поливанова Т.А., Слепухина Л.П., Степаненко В.П.* Вирусы, поражающие клевера в Приморском крае // Вирусы и вирусные болезни растений Дальнего Востока. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1977. Т. 48 (15). С. 75-83.
22. *Теплоухова Т.Н., Малевич В.М., Рублева Н. В. и др.* Вирусные болезни овощных культур в Приморском крае // Пути повышения продуктивности растениеводства, кормопроизводства и садоводства на Дальнем Востоке. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1987. С. 183-187.
23. *Толкач В.Ф.* Идентификация и биологическая характеристика поти- и тобамовирусов (дальневосточные изоляты): Автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток: БПИ, 1995. 24 с.
24. *Толкач В.Ф., Гнutowa P.B.* Сравнительная биологическая характеристика вируса обыкновенной мозаики фасоли, выявленного на юге Дальнего Востока России и КНР // Докл. РАСХН. 1998. № 5. С. 18-19.
25. *Толкач В.Ф., Гнutowa P.B.* Новый штамм ВЖМФ, выявленный в Приморском крае на фасоли // Докл. РАСХН, 1999. № 4. С. 10-12.
26. *Толкач В.Ф., Чернявская Н.М., Гнutowa P.B.* Вирус мозаики арбуза — новый для Дальневосточного региона патоген, поражающий тыкву // Вестн. защиты растений. 2001. №3. С. 40-45.
27. *Толкач В.Ф., Богоунов Ю.В., Гнutowa P.B.* Вирус мозаики цветной капусты в Приморском крае // Вестн. защиты растений. 2002а. № 1. С. 51-57.
28. *Толкач В. Ф., Гнutowa P.B., Корж В.Г.* Вирус гравировки табака — дальневосточный изолят, поражающий культурные виды растений семейства Пасленовых // Бюл. ГБС. 2002б. Вып. 184. С. 140-145. "
29. *Толкач В.Ф., Гнutowa P.B.* Вирус огуречной мозаики, выявленный на овощных культурах в Хабаровском крае // Сибирский вестн. с.-х. науки. 2008. № 10. С. 29-37.
30. *Чернявская П.М., Толкач В.Ф., Корж В.Г., Гнutowa P.B.* Штаммы вируса табачной мозаики (приамурские изоляты) // Тр. Межд. форума по проблемам науки, техники и образования. М., 2001. Т. 3. С. 48-49.
31. *Brunt A.A., Crabtree K., Dallwitz M. J., et al.* Cucumber mosaic virus // Plant Viruses Description and Lists from VIDE Database, 1997. P. 476-486.
32. *Gnutova R. V.* Plant Viruses of the Asian Territory of Russia: Taxonomy and Nomenclature // Biology Bulletin. 2011. V 38. N 1. P. 25-35.
33. *Gnutova R.V., Kakareka N.N., Jon Tong.* Preparation of Monoantibody CMV-1 // Bull. Acad. Sci. DPRK. 1994. N 3. P. 47-50.
34. *Gnutova R.V., Sibirvakova I.I., Romanova S.A.* Cucumber mosaic virus on pepper and squash. Mater. 8-th Intern. Conf. «On virus diseases of vegetable». Prague, Czech. Republic, 1995. P. 136-139.
35. *Gnutova R.V., Tolkach V.F., Bogunov Yu.V.* Criteria for identification of cauliflower mosaic viruses of the Far Eastern strains // PI. Protect. Sci. 2002a. V 38 (Special Isser). P. 258-260.

36. *Gnutova R.V., Tolkach V.F., Gnutova I.K Spaar D.* Viren als krankneitser reger bei gemusekulluren in sudden der Fernostlichen region Russlands //Arch. Phytopath. Pflanz. 2002b. V 35. P. 7-21.

37. *Shattuck V.J.* The Biology, Epidemiology, and Control of Turnip mosaic Virus // Plant Breed Rev. 1992. V. 14. P. 199-238.'

38. *Popl., Jilaveanu,1.* O boala necrotica a vinetelor pro dusl de virusul mozaicului Tutunului // Stud. Si. Cere. Biol. 1975. V. 27. N 3. P. 239-243.

39. *Richins R.D., Shepherd R.J.* Physical maps of the genomes of dahlia mosaic virus and mirabilis mosaic vims — two members of the caulimovirus group // Virology. 1983. V. 124. P. 208-214.

40. *Tochihara Y.* Radish enation mosaic virus // Ann. Phytothol. Soc. Japan, 1968. V 34. P. 129-132.

41. *Tolkach V.F., Gnutova R.* If The news for South Far-East Russia of Caulimovurises: cauliflower mosaic and mosaic dahlia //Abstr. VII-th Inter. Symp. Plant Virus Epidemiology. Aschersleben, Germany, 2002. P. 123.

42. Virus taxonomy. Ninth of the International Committee on Taxonomy of viruses. Ed. Andrew King et al. Wien: Springer-Verlag, 2012. 1327 p.

## THE CURRENT STATE OF VIRUSES STUDYING IN VEGETABLE CROPS OF THE FAR EAST

R.V. GNUTOVA

(Viruses laboratory, Institute of Biology and Soil Science,  
Far East Branch, Russian Academy of Sciences)

*Results of many years monitoring of viruses revelation in vegetable crops of the Far East are provided in the article. For the last 30 years some common and some new viruses were identified for this precise region and for Russia as well. More than 20 viruses had been revealed, which strike plants of the following families — Brassicaceae, Solanaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Apiaceae, Liliaceae and Chenopodiaceae. Harmfulness and proliferation of these viruses was shown. Comparative analysis of author's research results and literature results has been performed. Brief characteristics of studied plants viruses are given. The Far-Eastern isolates of plant viruses are reckoned among 10 genuses from 7 families according to the last Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2012).*

*Key words: virus, monitoring, methods of identification, vegetable crops, harmful.*

**Гнүтова Раиса Васильевна** — д. б. н., профессор лаборатории вирусологии Биологического почвенного института ДВО РАН (690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159; факс (8423) 23-10-193; e-mail: girina.vl@mail.ru).