

УДК 57.083.18:577.113.5

ВОЗБУДИТЕЛИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ БОБОВЫХ, ТЫКВЕННЫХ И ПАСЛЕНОВЫХ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В АГРОЦЕНОЗАХ ПРИАМУРЬЯ

Р.В. ГНУТОВА., В.Ф. ТОЛКАЧ

(Биолого-почвенный институт Дальневосточного Отделения РАН)

*В Хабаровском крае впервые по классическим критериям (экспериментальный круг растений-хозяев, физические свойства вирионов, морфология вирионов, передачи тлей *Muzus persicae* Sulz.) идентифицированы новые изоляты вирусов огуречной мозаики (ВОМ) и желтой мозаики фасоли (ВЖМФ), обнаруженные на овощных растениях семейств *Solanaceae*, *Cucurbitaceae* и *Fabaceae*. По антигенным свойствам капсидных белков овощные изоляты ВОМ отнесены к дальневосточному серотипу а по биологическим — к группе I обычных штаммов ВОМ. Изоляты ВЖМФ по сравнению с описанными в литературе имели узкий круг растений-хозяев. Вирусы отличались вредоносностью и снижали урожай и качество овощной продукции.*

Ключевые слова: идентификация, вирусы желтой мозаики фасоли и огуречной мозаики, бобовые, пасленовые и тыквенные культуры, вредоносность.

Овощные культуры поражаются многочисленными фитопатогенными вирусами. Некоторые из них стали серьезной угрозой для овощеводства. Главные причины — возделывание сортов со слабой устойчивостью к вирусам, появление новых более агрессивных генотипов и патотипов вирусов, интенсивная неконтролируемая торговля семенами и посадочным материалом, новые возможности диагностики с помощью современных высоко чувствительных иммунохимических и молекулярных методов и др. К этому следует отнести также и своеобразные климатические условия южных районов Дальнего Востока России, особенно в весенне-летнее время, когда наблюдается большой перепад дневных и ночных температур, высокая влажность, а в отдельные годы обилие насекомых-переносчиков, которые создают высокий инфекционный фон. Симптомы вирусного поражения овощных культур очень часто трудно различимы от таких, которые вызывают у растений различные неинфекционные стрессовые факторы, как, например, засуха, холод, длительное переувлажнение, недостаток питательных веществ и др. [3, 5, 6, 8].

В отечественной литературе сведений о видовом составе вирусов и их штаммов, поражающих овощные культуры, крайне мало. Из более чем 50 вирусов, идентифицированных на Дальнем Востоке России, самая многочисленная группа вирусов (более 30) поражает овощные культуры главным образом растения семейств — ка-

пустных (крестоцветных) Brassicaceae Burnett., пасленовых Solanaceae Juss., тыквенных Cucurbitaceae Juss., лилейных Liliaceae Juss. сельдерейных (зонтичных) Apiaceae Lindl., маревых Chenopodiaceae Vent, и бобовых Fabaceae Lindl. [2, 4, 11].

Проведенный нами мониторинг фитосанитарного состояния культурных растений Дальнего Востока (2000-2011) показал, что наиболее опасными и распространенными для овощных, особенно в южных районах региона, являются вирус табачной мозаики (ВТМ) и вирус огуречной мозаики (ВОМ), а в последние годы все чаще на этих культурах и на сорной растительности стал встречаться вирус желтой мозаики фасоли (ВЖМФ). Выявлено около 40 изолятов ВОМ, более 30 — ВТМ и более 10 — ВЖМФ [3, 6, 7]. Нередко ВОМ встречался вместе с ВТМ. В таком случае потери урожая овощных культур были довольно существенны и составляли иногда от 80 до 100%. Известно, что степень вредоносности вируса во многом зависит от восприимчивости культивируемого сорта.

С 2002 г. в Хабаровском крае авторами проводится мониторинг вирусных инфекций на овощных культурах. За годы обследований были выявлены вирусы на растениях тыквы крупноплодной *Cucurbita maxima* Duchesne (ВОМ-Т) с симптомами задержки роста (окрестности г. Хабаровска, пос. Мирный), дыни *Cucurbita melo* L. (ВОМ-Д) с симптомами яркой хлоротичной крапчатости (частное хозяйство с. Переяславка), огурца посевного *Cucurbita sativus* L. (ВОМ-О) с симптомами хлоротичной мозаики (коллекционный участок ДальНИИСХ) и томата *Lycopersicon esculentum* Mill, сорта Красный великан (ВОМ-Том) с симптомами яркого хлороза участков ткани листа и деформации (окрестности г. Хабаровска, пос. Восточный), а также на бобовых овощных растениях — фасоли обыкновенной *Phaseolus vulgaris* L. с симптомами хлороза жилкок листьев и бобах конских *Faba bona* Medik. (г. Комсомольск-на-Амуре, пос. Пивань).

Основная цель работы заключалась в выявлении и идентификации наиболее опасных и распространенных вирусов, поражающих овощные культуры в агроценозах Приамурья (Хабаровский край).

Материалы и методы

Материалом исследования являлись образцы растений томатов, перцев, тыквы, арбузов, баклажанов, кабачков, свеклы, бобов, фасоли и других овощных культур, а также растений сорной и дикой растительности с вирусоподобными симптомами главным образом семейств Бобовых, Тыквенных и Пасленовых, обнаруженных во время фитосанитарного мониторинга в различных районах Хабаровского края.

Биологические методы исследований включали изучение круга растений-хозяев и симптоматологию заболеваний. Поскольку круг растений-хозяев и их ответная реакция на инфекцию являются результатом работы вирусного генома и его взаимодействия с растением, использовали виды и сорта растений различных семейств. При проведении биологического тестирования применяли собственную модификацию экспериментального подбора растений-индикаторов в тепличных условиях. Для механической инокуляции использовали ткань листьев растений, зараженных исследуемым вирусом, которую растирали в ступке с 0,01 М раствором фосфатного буфера, рН 7, 2. Полученной суспензией обрабатывали поверхность листьев тест-растений. Фиксировали дату появления первых признаков поражения растений. Описывали симптомы заболевания. При отсутствии явных признаков поражения на инокулированных растениях проводили проверку их инфекционности путем обратной инокуляции растений, четко реагирующих на исследуемый вирус.

Морфологию вирионов исследовали с помощью электронного микроскопа на негативно-окрашенных препаратах, которые готовили методом погружения, а вирусные включения в клетках инфицированных вирусом растений выявляли с помощью светового микроскопа.

В качестве переносчика вируса использовали тлю персиковую *Myzus persicae* Sulz. Для изучения семенной передачи брали семена различных растений.

Антигенное родство изучаемых изолятов вирусов выявляли в реакции двойной иммунодиффузии (РДД) с использованием 1% бактоагара в 0,15 М растворе хлористого натрия с добавлением 1,5% ПЭГ (м.м. 6000) [1].

Результаты исследований

Результаты исследований показали, что растения заражались главным образом вирусами родов *Cucumovirus* и *Potyvims*.

Вирусные инфекции бобовых овощных культур

Изолят из фасоли обыкновенной экспериментально передавался только на растения 2 семейств *Chenopodiaceae* и *Fabaceae*. У бобовых растений заражались пажитник сенный *Trigonella foenum-graecum* L., горох посевной *Pisum sativum* L. сорта Сахарный и *Ph. vulgaris* сортов Изумрудная, Michelite, Cafeton; не заражались у фасоли сорта — Пионерская, Сапфир фиолетовый, Московская белая, Голубка, Red Kidney и Top crop. Помимо механической передачи, вирус легко передавался непersistентным способом тлей персиковой *Myzitis persicae*. Проведена проверка передачи вируса семенами зараженных тест-растений: фасоли золотистой *Ph. aureus* Roxb., *Ph. vulgaris* сорта Cafeton, *P. sativum* сорта Сахарный и *F. bona*. Визуально симптомов вирусного поражения на сеянцах не выявлено. Вирусных частиц не было обнаружено и при просмотре молодых листьев сеянцев под электронным микроскопом, что свидетельствовало об отсутствии семенной передачи у изучаемого изолята вируса.

Вирус в клетках пораженных растений образовывал внутриклеточные включения (Х-тела), о чем свидетельствовали результаты по их обнаружению в эпидермисе листьев пораженных растений *F. bona* под световым микроскопом, в электронном микроскопе выявлены нитевидные частицы размером 750-800 нм.

Изучены физические свойства вирионов: точка термической инактивации (ТТИ) — 70 °С, предельное разведение инфекционного сока (ППС) — 10^{-1} — 10^{-2} , период сохранения инфекционности вируса в соке *in vitro* (ПСИ) — 1 сут.

В реакции иммунодиффузии (РДД) установлено антигенное родство капсидных белков исследуемого вируса с вирусами из рода *Potyvims*: мозаика арбуза, гравировка табака, желтая мозаика фасоли и Y-вирус картофеля.

На основании литературных данных и изученных авторами свойств оказалось, что вирусная инфекция на фасоли обыкновенной в Хабаровском крае, вызывалась вирусом желтой мозаики фасоли. Этот вид относится к роду *Potyvims* сем. *Potyviriidae*.

Изолят из бобов конских в препарате, приготовленном из листьев пораженных бобов, в электронном микроскопе выявлены нитевидные частицы размером около 700-720 нм. В световом микроскопе в эпидермисе листа бобов с симптомами вирусного поражения обнаружены околядерные включения, характерные для вирусов рода *Potyvims*.

При изучении круга растений-хозяев вируса использовали 24 вида и сорта растений из семейств *Chenopodiaceae*, *Fabaceae*, *Cucurbitaceae*, *Solanaceae*. Восприим-

чивыми к заражению оказались только 3 вида растений из семейства Fabaceae. Это растения *F. bona*, реагирующие на заражение вирусом хлоротичной крапчатостью верхних листьев, на более поздних стадиях развития растения появлялась хлоротичная штриховатость, которая со временем становилась ярче. Симптомы вирусного поражения на доннике белом *Melilotus albus* Desg. и *T. foetm-graecum* проявлялись на 7-8-й день в виде яркого хлороза жилок.

Не выявлено передачи вируса через семена зараженных растений *F. bona*, *M. albus*, *P. sativum* сорт Сахарный. Вирус передавался тлями *M. persicae* с больного *F. bona* на здоровые растения — *T. foetm-graecum* и *F. bona*.

В РДД изучаемый вирус реагировал с антисыворотками против вирусов из рода *Potymrus* (мозаики арбуза, гравировки табака, Y-вирусом картофеля, желтой мозаики фасоли), что указывало на антигенное родство с видами рода *Potymrus*.

Определены физические свойства вирионов изучаемого изолята вируса: ТТИ — 50 — 55 °С, ПРС -10-М0⁴, ПСИ — 1сут.

Таким образом, впервые в Хабаровском крае на бобовых овощных культурах выявлен вирус желтой мозаики фасоли *Bean yellow mosaic virus* рода *Potymrus* семейства Potyviridae. Изоляты вируса по антигенным свойствам были близки между собой, но по сравнению с описанными в литературе имели узкий круг растений-хозяев, вызывая на растениях симптомы как локального, так и системного характера и отличались по физическим свойствам вирионов [9].

Вирусные инфекции тыквенных и пасленовых овощных культур

Изучаемые изоляты ВОМ отличались по восприимчивости и симптоматике заражаемых тест растений.

Так, ВОМ-Том инокулировали 45 видов и сортов растений из семейств: Атагантасеае, Ариасеае, Астерасеае Dum., Cucurbitасеае, Fabасеае, Solанасеае, Scrophulariasеае Juss. Вирусом удалось заразить 28 видов и сортов растений из четырех семейств Ариасеае, Cucurbitасеае, Solанасеае, Scrophulariasеае. Физические свойства вирионов соответствовали следующим показателям: ТТИ — 65-70 °С, ПСИ — 10⁴ — 10⁵, ПРС — 1 сут. Вирус легко переносится *M. persicae*. Семенами зараженного табака настоящего *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun вирус не передавался. В эксперименте проверяли 78 сеянцев табака.

Изолятами ВОМ-Т, ВОМ-Д и ВОМ-О инокулировали 88 видов и сортов растений из семейств Амарантасеае, Ариасеае, Астерасеае, Balsaminасеае A. Rich., Chenopodiасеае, Fabасеае, Cucurbitасеае, Solанасеае, Scrophulariasеае. ВОМ-Т удалось заразить 37 видов и сортов растений, ВОМ-Д — 11, ВОМ-О — 29 из трех семейств Cucurbitасеае, Solанасеае, Scrophulariasеае. ВОМ-Т заражал 2 сорта *C. sativus* (Лотос и Восток), ВОМ-Д инфицировал 3 сорта (ДВ-6, Родничок и Восток), а ВОМ-О поражал все использованные в эксперименте сорта *C. sativus* (Лотос, Родничок, ДВ-6, Усс-3, Восток, Хабар, Феникс, Каскад и ДВ-27). Что касается других культурных видов семейства Cucurbitасеае, то ВОМ-Д и ВОМ-О заразили только *C. maxima* сорта Ананасная, а ВОМ-Т сорт Улыбка, хотя инокулировали этими изолятами еще 4 сорта (Россиянка, 100-фунтовая, Атлант, Миндальная). По-разному реагировали на заражение изолятами используемые для инокуляции сорта *C. melo* и *Cucurbita pepo*. ВОМ-Д не заразили ни один из используемых сортов *C. melo* (Золотистая, Колхозница, Сладкий ананас) и сортов *C. pepo* (Негритенок, Цукеша, Сосновский, Грибовский и Желтоплодный). ВОМ-Т заразил только один сорт *C. melo* (Сладкий ананас), хотя почти все сорта *C. pepo* (исключение, Желтоплодный) поражались этим изолятом. ВОМ-О инфицировал только *C. pepo* сортов Негритенок и Грибовский.

Помимо отличий в симптоматике и способности заражать разные виды растений, изучаемые изоляты тыквенных овощных культур имели различия по показателям физических свойств вирионов. ВОМ-Т имел ТТИ — 65-70 °С, ПСИ — 1 сут., ПРС — 10^{-4} — 10^{-5} ; ВОМ-Д: ТТИ — 45-50° С, ПСИ — около сут., ПРС — 10^{-1} — 10^{-2} ; ВОМ-О: ТТИ — 70-75 °С, ПСИ — 2 сут., ПРС — 10^{-4} - 10^{-5} .

Получена положительная реакция при постановке реакции двойной иммунодиффузии (РДД) изучаемых изолятов с антисывороткой к приморскому огуречному изоляту ВОМ. Формировались идентичные полосы преципитации со специфическими антителами. Это свидетельствует о наличии идентичных видоспецифичных эпитопов капсидных белков у всех изучаемых хабаровских овощных изолятов ВОМ.

Результаты исследования биологических свойств изолятов ВОМ, выявленных в последнее время на овощных культурах (перец, томат, баклажан и огурец) в Приморском крае позволили включить их в группу обычных штаммов ВОМ [8]. Хабаровские изоляты, выявленные и изученные на тыкве, огурце и томате сорта Красный великан, по биологическим свойствам незначительно отличались от изолятов ВОМ, обнаруженных на овощных культурах в Приморском крае, и от обычного штамма ВОМ и поэтому отнесены к группе обычных штаммов [10].

Выводы

1. Впервые в Хабаровском крае в агроценозах Приамурья выявлены два самых распространенных и вредоносных вируса на овощных культурах. По результатам изучения круга растений-хозяев, симптоматики, физических и антигенных свойств фитопатогенов идентифицированы вирусы желтой мозаики фасоли и огуречной мозаики.

2. Вирусы поражали главным образом растения семейств Тыквенных (тыква, дыня и огурец), Пасленовых (томат) и Бобовых (фасоль обыкновенная и бобы конские).

3. Овощные хабаровские изоляты вируса огуречной мозаики по биологическим и антигенным свойствам отнесены к дальневосточному серотипу группы I обычных штаммов, в то время как изоляты вируса желтой мозаики фасоли по сравнению с другими, описанными в литературе, имели узкий круг растений-хозяев.

Библиографический список

1. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов растений. М.: Наука, 1993. 301 с.
2. Гнутова Р.В. Возбудители вирусных заболеваний овощных культур в Дальневосточном регионе//Сельскохозяйственная биология. 2007. № 1. С. 56-71.
3. Гнутова Р.В. Таксономия вирусов растений Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 2009. 466 с.
4. Гнутова Р.В. Вирусы растений азиатской территории России: систематика и номенклатура//Известия РАН. Сер. Биология. 2011. № 1. С. 33-44.
5. Гнутова Р.В., Золотарева Е.В. Болезни овощных культур и картофеля на Дальнем Востоке. Владивосток: Дальнаука, 2012. 169 с.
6. Толкач В.Ф., Гнутова Р.В., Хихлуха Е.А., Гнутова И.В. Биологические свойства дальневосточных штаммов ВТМ и ВОМ, распространенных на овощных культурах // Вестник защиты растений. 2003. № 3. С. 31-38.
7. Толкач В.Ф., Гнутова Р.В. Некоторые свойства дальневосточных изолятов вируса желтой мозаики фасоли, выявленные на бобовых культурах // Сельскохозяйственная биология. 2011. №1. С. 104-111.

8. Чернявская Н.М., Гнutowa P.B., Толкач В.Ф. Физические свойства и биологические особенности дальневосточных изолятов вируса огуречной мозаики, поражающих овощные культуры // Сельскохозяйственная биология. 2002. № 3. С. 109-113.

9. Brunt A., Crabree K., Dallwitz M., Gibbs A., Watson L., Zurcher E. Bean yellow mosaic potyvims // Viruses of plants. Descriptions and lists from the VIDE Database, 1995. P. 197-200.

10. Brunt AA., Crabree K., Dallwitz M. Watson L., Zurcher E. Cucumber mosaic cucumovirus // Viruses of plants. Descriptions and lists from the VIDE Database, 1995. P. 477-486.

11. Gnutova R. V, Tolkach V.F., Gnutova I. V. Viruses on vegetable cultures in the south of the Russian Far East region//Arch. Phytopath. Pflanz. 2002. Vol. 35. P. 7-21.

PATHOGENES OF VIRAL INFECTIONS OF FABACEAE,
CUCURBITACEAE AND SOLANACEA VEGETABLES
IN AGROSENOSES OF AMUR RIVER REGION

R.V. GNUTOVA, V.F. TOLKACH

(Institute of Biology and Soil Science, far eastern Branch of ras)

For the first time on the Khabarovsk Territory some new isolates of cucumber mosaic virus (CAIT) and bean yellow mosaic (BYAfl) typical of vegetables were identified on plants belonging to Solanaceae, Cucurbitaceae and Fabaceae families. The identification was performed according to classical criteria including a number of host-plants, physical characteristics of virions, virion morphology viral proliferation by means of aphids Mvzus persicae Sulz. By antigenic properties of capsid proteins the found vegetable isolates of CMV were assigned to the Far Eastern serotype, and by the biological properties — to group I of usual CAIT' strains. Isolates of bean yellow mosaic virus (BYAfl) compared with those described in literature, had a narrow range of host-plants. Viruses differed in harmfulness and decreased yield and quality of vegetable products.

Key words: identification, bean yellow mosaic virus and cucumber mosaic virus, beans, solanaceous and cucurbits crops, harmfulness.

Гнutowa Раиса Васильевна — д. б. н., проф. лаборатории вирусологии Биолого-почвенного института ДВО РАН; (690022, г. Владивосток, проспект 100-лет Владивостоку, 159; тел.: (4232) 310-193; e-mail: ibss@eastnet.fcbras.ru).

Толкач Валентина Федосьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусологии Биолого-почвенного института ДВО РАН; (690022, г. Владивосток, проспект 100-лет Владивостоку, 159; тел.: (4232) 31-01-93; e-mail: valentina_tolkach@mail.ra).