

УДК 632.38.07

О ДИАГНОСТИКЕ «МЕДЛЕННЫХ» ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У РАСТЕНИЙ

В. А. ШМЫГЛЯ

(Кафедра фитопатологии)

Необходимой составной частью всех известных в настоящее время систем мероприятий против вирусных болезней сельскохозяйственных культур является диагностика зараженности растений, семян и посадочного материала. Чем более достоверны и удобны в применении ее методы, тем эффективнее, как правило, приемы оздоровления культуры и защиты от заражения, тем больше возможностей для селекции устойчивых сортов. Методы диагностики — основной инструмент при изучении свойств вирусов, выявлении устойчивых форм растений.

При помощи современных методов диагностики вирусов растений (серологического, индикаторного, электронно-микроскопического) выявляются признаки и свойства нормального инфекционного процесса — образование вирусных частиц, специфического вирусного белка в тканях зараженного растения в количестве, достаточном для их обнаружения. Нормой обычно считается развитие патологического процесса при заражении контактным путем или через посредство векторов (переносчиков). Однако в природе и в культуре инфицирование растений, семян, клубней и т. д. идет более разнообразными путями и соответственно более разнообразными могут быть течение патологического процесса, формы вирусной инфекции и характер взаимоотношений патогена с растением-хозяином. Наибольшие трудности в практической работе и исследованиях вызывают такие отклонения в ходе инфекционного процесса, когда вирус в течение длительного времени находится или в очень низкой концентрации, или в форме, недоступной для определения обычными методами диагностики, или локализован в отдельных частях растения. В этих случаях репродукция вируса и распространение его в растении, развитие патологического процесса и появление видимых признаков заболевания заторможены, подавлены. В литературе имеются упоминания о замедленном инфекционном процессе латентного вируса земляники, вирусов раннего побурения гороха и мозаики пшеницы, многих вирусов древесных растений [2, 11]. По нашим данным, к числу вирусов с возможным замедленным инфекционным процессом можно отнести также вирус табачной мозаики (ВТМ) на томате при заражении через семена и через почву, вирус М картофеля (МВК) при заражении через настоящие семена, вирус скручивания листьев картофеля при передаче через клубни. Рассмотрим подробнее имеющиеся данные относительно этих вирусов.

Семенная инфекция ВТМ на томате

Вирус табачной мозаики — возбудитель следующих распространенных и вредоносных заболеваний томата в тепличной и полевой культуре: мозаики, стрика, деформаций листьев, некроза плодов и семян. Несмотря на то что этот вирус изучается во многих странах уже более 80 лет, в его биологии, путях инфекции и закономерностях патологического процесса еще много неясного. В частности, не решены до конца

вопросы механизма передачи ВТМ семенами томата и роли этой инфекции в распространении вируса в культуре. В связи с этим мы попытались сравнить результаты диагностики вируса в семенах, проростках и растениях томата различного возраста.

Методика. Семена томата от зараженных ВТМ растений исследовали серологическим и индикаторным методами. Индикаторная диагностика проводилась на отделенных листьях дурмана (*Datura stramonium* L.). Материалом служил экстракт из растертых непроросших семян. Этими же методами анализировали суспензию проростков в фазу семядольных листочков и сок молодых растений в возрасте до 4 настоящих листьев. Кроме того, проростки прививали на молодые растения, выращенные из здоровых семян и проверенные на отсутствие ВТМ.

Результаты. ВТМ из непроросших семян был обнаружен в виде немногочисленных местных некрозов на листьях индикатора. В суспензии проростков серологическая реакция и инфекционность не выявлены. Единичные растения с положительной реакцией на ВТМ появлялись в возрасте 3—4 настоящих листьев. Однако показателем передачи ВТМ семенами и ее количественным критерием может служить обнаружение инфекции в проростках, когда вероятность посторонней инфекции полностью исключена. Через 20 дней после прививки проростков из зараженных семян на растения ВТМ был отмечен у 10% привитых растений. Следовательно, зараженность семян передается проросткам и затем растениям, однако от момента инфекции до наиболее раннего обнаружения нормальных вирусных частиц и проявления патологических признаков (мозаики) проходит в несколько раз больше времени, чем при контактном заражении. Вероятно, при благоприятных для растений условиях зараженность может не проявиться в течение всей вегетации. Прививка проростков на восприимчивые растения ускоряет переход вируса в активное состояние.

Такой характер передачи ВТМ семенами томатов затрудняет оценку их зараженности. При любом проценте передачи вируса растения, получившие его через семена, служат источниками инфекции, быстро распространяющейся контактным путем при механических обработках и уходе за растениями. Зрелые плоды, убираемые на семена, как правило, заражены ВТМ почти полностью, и таким образом поддерживается непрерывность инфекции в ряду семенных репродукций, при этом семенная и контактная инфекции чередуются между собой в поддержании зараженности растений. Меры дезинфекции семян термическим и химическим способами хотя и снижают зараженность, но не дают полной гарантии от передачи вируса потомству [8]. Отсюда следует, что необходима разработка методов получения семян томата, свободных от ВТМ, и методов достоверной диагностики их зараженности.

Почвенная инфекция ВТМ на томате

Значительную роль в распространении ВТМ в природе и в культуре играет заражение корней в почве при соприкосновении с растительными остатками и живыми корнями больных растений. Известно [9, 13], что инфекционный процесс многих вирусов, в том числе вируса Х картофеля и ВТМ, в случае заражения через почву развивается иначе, чем при заражении надземных органов [9, 13]. Вирус легко выявляется серологическим и индикаторным методами в корнях, но в течение длительного времени не обнаруживается этими же методами в надземных органах. Закономерно возникает вопрос: является ли локализация вируса в корнях истинной или инфекция присутствует в надземных органах в какой-либо иной форме. Для выяснения этого вопроса нами был проведен следующий опыт.

Методика. Томаты в возрасте 45 дней заражали ВТМ через почву и на 30-й день после этого анализировали их корни и надземные

части на ВТМ серологическим и индикаторным методами. Затем черенки из стеблей растений, в надземных частях которых вирус этими методами не был обнаружен, высаживали в почву для укоренения, а верхушки прививали на растения табака. После возобновления вегетации растений из черенков и приживания прививок их снова проверяли на наличие ВТМ.

Результаты. При заражении через почву ВТМ обнаруживался обоими методами в соке корней, однако у большинства растений отсутствовали серологическая реакция и инфекционность в соке надземных органов. У томатов, отросших из черенков, а также у привитых растений выявлены высокие концентрации вируса [5].

Эти результаты дают основание предположить, что локализация вируса в корнях не является истинной, инфекция присутствует в надземных органах в иной форме, по-видимому, без образования нормальных вирусных частиц, чем можно объяснить отсутствие серологической реакции и инфекционности. Резкое нарушение физиологических процессов при черенковании и прививке приводит к быстрому накоплению вируса, появлению инфекционности, серологической реакции, патологических признаков.

Семенная инфекция вируса М на картофеле

Длительное время предметом споров был вопрос о передаче некоторых вирусов, поражающих картофель, настоящими семенами. Основанием для отрицания этой возможности служили негативные результаты многочисленных попыток обнаружения вирусов обычными методами в проростках из семян от зараженных растений [14]. С другой стороны, не менее многочисленные наблюдения [3, 4] зараженности репродукций семян от зараженных материнских растений давали основания предполагать передачу некоторых вирусов, в частности вируса М, семенами. С целью изучения этого вопроса нами были проведены опыты [6] с сеянцами картофеля из зараженных вирусом М семян.

Методика. Семена от системно зараженного вирусом М картофеля высевали, исключая постороннюю инфекцию. Сеянцы в разном возрасте анализировали на наличие вируса М серологическим методом. Их верхушки прививали на молодые растения томата, которые исследовали через 30 дней после прививки.

Результаты. Через 4 мес после посева лишь у небольшой части растений серологический анализ показал присутствие вируса. Но после прививки верхушек сеянцев, серодиагностика которых дала отрицательные результаты, 100 % подвоев было заражено.

Таким образом, вирус М хорошо передается настоящими семенами картофеля, однако в большинстве сеянцев 1-го года жизни в течение большей части вегетации он находится в форме, не определяемой обычными методами диагностики, при этом визуальные признаки заболевания также отсутствуют. Следует отметить, что такое подавление патологического процесса наблюдается только в случае семенной инфекции. Контактнo-механическое заражение сеянцев вирусом М в тех же условиях всегда приводит к быстрому накоплению инфекционного и антигенно-активного вируса.

Вторичная инфекция вируса скручивания листьев картофеля

Скручивание листьев — одна из наиболее вредоносных вирусных болезней картофеля — проявляется в угнетении роста и развития, общем хлорозе, скручивании долей листьев в трубку и иногда отмечаются антоциановое окрашивание и некроз листьев. Снижение урожая достигает 70—80 %, резко ухудшается качество клубней. Система мероприятий по борьбе с этой болезнью в семеноводстве картофеля заключается в основном в отборе здоровых растений и клонов по визуальным

признакам. Однако именно визуальная диагностика является наиболее слабым звеном в этой системе. Установлена возможность присутствия вируса скручивания листьев картофеля (ВСЛК) в картофеле в скрытом виде, без видимых патологических признаков [12].

В Воронежской области проведены исследования [1] зависимости результатов диагностики ВСЛК от приемов выращивания картофеля, условий хранения клубней и воздействий на растения.

Методика. Клубни от системно зараженных ВСЛК кустов распределялись по вариантам с различными условиями хранения и сроками посадки, проращиванием клубней и без него, с декапитацией растений (удалением верхушек стеблей). Ежедневно проводились учеты проявления визуальных признаков скручивания листьев, при этом сравнивались между собой растения из клубней одного клона. Одновременно клубни из тех же клонов высаживали в Московской области под соответствующими номерами. После уборки клубни анализировали на зараженность ВСЛК методом Игель-Ланге (окрашивание срезов клубней резорциновой синей).

Результаты. В контрольном варианте (обычная весенняя посадка непророщенных клубней) до 8 % растений оставалось визуально здоровыми до конца цветения, т. е. до срока основной оценки и отбора в питомниках первичного семеноводства, в вариантах со световым проращиванием клубней и декапитацией растений — 0—1,7 % [1]. Клубни из тех же системно зараженных клонов, высаженные в Московской области, дали до 30 % визуально здоровых растений, причем они оставались здоровыми до конца вегетации.

Результаты этих опытов указывают на то, что приемы выращивания и воздействия на растения могут ускорить развитие патологического процесса ВСЛК и тем самым повысить достоверность визуальной диагностики зараженности в полевых условиях. Проявление признаков ВСЛК у бессимптомно зараженных растений картофеля получено также в результате опрыскивания их растворами тиокарбамида и роданида калия [10].

Обсуждение

Как показывают приведенные данные о поведении ряда вирусов, вирусная инфекция в исследуемом материале представлена по крайней мере двумя формами: нормальной, с образованием целых вирусных частиц, поддающейся диагностике серологическим и индикаторным методами, и хронической, скрытой формой, недоступной для серологической, а иногда и для индикаторной диагностики, по-видимому, с подавлением синтеза вирусных частиц или только их белкового компонента. Развитие патологического процесса при этом не ограничено во времени: период от момента инфекции до обнаружения вируса в растении и проявления видимых патологических признаков может быть различным по длительности и зависит от многих факторов окружающей среды и индивидуальных особенностей растения.

Что представляет собой вторая форма вируса, пока неизвестно. Обычно в случаях отсутствия серологических реакций, а иногда и инфекционности в соке заведомо зараженных растений говорят о низкой концентрации вируса в тканях. Однако это лишь констатация факта, а не его объяснение. Наиболее вероятно, что причина торможения синтеза нормального, т. е. антигенно-активного и инфекционного вируса, при благоприятных для него условиях внешней среды заключается в действии защитных механизмов растительной клетки — естественных ингибиторов биологической активности вируса. Все описанные случаи перехода скрытой, подавленной формы вируса в нормальную так или иначе связаны с действием на растение экстремальных, стрессовых

факторов, неизбежно ослабляющих защитные механизмы растения. Это предположение нуждается, безусловно, в экспериментальном подтверждении.

Имеют ли описанные аномалии инфекционного и патологического процесса у растений аналогии в других отраслях вирусологии? По нашему мнению, для такого рода процессов более всего подходит общее определение «медленные инфекции».

Понятие медленные инфекции возникло в медицинской и ветеринарной вирусологии. Известно довольно большое количество вирусных болезней человека и животных (герпес и гепатит у человека, инфекционная анемия лошадей и др.). Все они объединяются двумя общими признаками: тем, что вирусная инфекция может сохраняться в организме в недейтельном, скрытом состоянии неопределенно долгое время, и тем, что она активизируется под влиянием стрессовых факторов: резких изменений условий, высоких и низких температур, вредных химических воздействий, других инфекций. Несомненно, медленные инфекции у зоопатогенных и фитопатогенных вирусов существенно различаются по многим признакам, однако это понятие (с соответствующими изменениями) и сопутствующий ему подход к диагностике вирусов могут быть полезными в вирусологии растений.

Существование у растений медленных вирусных инфекций представляет собой один из важнейших источников трудностей и ошибок в практической диагностике фитопатогенных вирусов. Из имеющихся в настоящее время данных следует, что отрицательный результат, полученный при использовании обычных методов диагностики, рассчитанных на обнаружение нормального вируса, не может служить достаточной гарантией полного отсутствия инфекции в исследуемом материале. Это важно учитывать, в частности, при проверке оздоровленного материала вегетативно размножаемых культур, при контроле зараженности семян, в селекции. При крупных масштабах производства семенного и посадочного материала ошибка в определении его здоровья может повлечь за собой значительный ущерб.

Неизбежно возникает вопрос: какими должны быть изменения и дополнения существующих методов диагностики для более достоверного обнаружения медленных инфекций? Ответ на этот вопрос могут дать лишь систематические исследования. Пока известно, что достаточно надежным способом является прививка исследуемого материала на растение, восприимчивое к предполагаемому вирусу, однако этот путь неприемлем для широкого практического применения. Вероятно, достоверная и достаточно простая диагностика медленных инфекций может быть обеспечена предварительным воздействием на исследуемый живой материал физическими и химическими факторами, способными вызвать переход медленной инфекции в обычную. Характер этих воздействий должен быть найден и испытан для каждого сочетания вирус — растение-хозяин.

Выводы

1. У некоторых фитопатогенных вирусов, в частности ВТМ, МВК и ВСЛК, при заражении растений через семена, почву и клубни может наблюдаться подавление синтеза вируса. В этом случае отсутствуют видимые патологические изменения растений. Такое явление сходно с медленными инфекциями зоопатогенных вирусов.

2. Медленные инфекции у растений не обнаруживаются визуальным, серологическим и во многих случаях — индикаторным методами.

3. К числу факторов, активизирующих медленные инфекции, относятся механические повреждения растений, черенкование, удаление верхушки, прививка на восприимчивые растения.

4. При изучении механизма передачи фитопатогенных вирусов семенами необходимо учитывать возможность присутствия вируса в семенах и проростках в состоянии медленной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морозова Н. П. Некоторые приемы улучшения визуальной диагностики вируса скручивания листьев картофеля. — Изв. ТСХА, 1978, вып. 1, с. 215—218. — 2. Мэтьюз Р. Вирусы растений. Пер. с англ. М.: Мир, 1973. — 3. Тамм П. И. О путях инфекции сеянцев картофеля мозаичными вирусами. — Изв. АН ЭстССР. Сер. биол., 1965, т. 14, № 2, с. 48—53. — 4. Трускинов Э. В. Поражение сеянцев картофеля мозаичными вирусами. Бюл. ВИЗР, вып. 21, с. 86—89. — 5. Шмыгля В. А. О корневой вирусной инфекции томатов и картофеля. — Докл. ТСХА, 1963, вып. 89, с. 393—399. — 6. Шмыгля В. А., Русинова Е. Я. О передаче вируса М семенами картофеля. — В кн.: Селекция и семеноводство картофеля. Науч. тр. НИИ картоф. хоз-ва, 1973, вып. 14, с. 117—119. — 7. Шмыгля В. А., Русинова Е. Я., Лодочкин П. И. Диагностика вируса М картофеля. — Докл. ВАСХНИЛ, 1975, № 6, с. 13—15. — 8. Broadbent L. H. — Ann. appl. biol., 1965, vol. 55, N 1, p. 67—69. — 9. Broadbent L. H., Fletcher J. T. — Ann. appl. biol., 1966, vol. 57, N 1, p. 113—120. — 10. Gaspar J. — Növenytérmeles, 1978, vol. 29, N 6, p. 513—520. — 11. Kegler H. — M. Klinkowski u. Mitarb. Pflanzliche Virologie, 1977, Bd 3, Berlin. — 12. McKinnon J. P., Davies H. T. — Amer. Potato J., 1967, vol. 44, N 11, p. 409. — 13. Roberts F. M. — Ann. appl. biol., 1950, vol. 37, N 2, p. 385—396. — 14. Votoupal B. — Sb. Českosl. Akad. Zem. Ved., 1958, R. 31, č 1, S. 37—64.

Статья поступила 7 апреля 1980 г.