

УДК 632.38.07:635.64

**СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ
ЗАРАЖЕННОСТИ ПРОРОСТКОВ И РАСТЕНИЙ ТОМАТА
ВИРУСОМ ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ**

С. Ш. МАКАЕВ

(Кафедра фитопатологии)

Вирус табачной мозаики (ВТМ) вызывает на томатах, в зависимости от условий выращивания, сроков заражения и штаммов вируса, различные типы заболеваний: мозаику, стрик, нитевидность листьев, внутренний некроз плодов, некроз семян, пестростебельность.

Основным источником первичной инфекции ВТМ как в открытом, так и в закрытом грунте являются зараженные семена. Во время вегетации вирус быстро распространяется от растения к растению контактным путем при уходе за растениями, поскольку он сравнительно легко переносится на одежде, руках, инструменте и т. д. Наиболее благоприятные условия для контактной передачи ВТМ создаются в закрытом грунте при проведении пикировки, высадки рассады, пасынкования, подвязывания растений, поливе, подкормке и т. д. Поэтому часто в тепличных хозяйствах зараженность томата в период плодоношения достигает 100 %.

В практике большое внимание уделяется обеззараживанию семян, поскольку передача вируса через семена сводит на нет эффект от всех профилактических мероприятий. Применяемые в настоящее время методы химической и термической дезинфекции семян томата от ВТМ позволяют отодвигать массовое поражение растений на более поздние сроки и тем самым снижают вредоносность заболевания. Однако, как отмечают многие исследователи, полного освобождения семян от вируса при этом не происходит. От отдельных зараженных растений инфекция распространяется по теплице, и к концу вегетации все или большинство растений оказываются зараженными табачной мозаикой.

Биология передачи ВТМ семенами томата изучена недостаточно. Нет единого мнения о роли поверхностной и внутренней инфекции, о путях инфицирования проростков, причинах длительного отсутствия репродукции вируса в проростках, влиянии сроков хранения семян на их зараженность.

Исследования локализации ВТМ в семени показали, что он содержится в оболочке и эндосперме, однако до сих пор не был обнаружен в зародыше [2, 3, 5]. Существуют лишь предположения о том, каким образом, когда и в какой форме инфекция проникает с оболочки семян или из эндосперма в развивающийся зародыш при прорастании.

В связи с указанным выше надежные методы диагностики являются важнейшей предпосылкой и условием изучения биологии передачи вируса семенами и разработки методов получения свободных от ВТМ семян томата.

Все выводы и рекомендации по дезинфекции семян, существующие в настоящее время, основаны на результатах диагностики ВТМ на листьях *Nicotiana glutinosa*, инокулированных суспензией исследуемой пробы семян. Недостатки этого метода состоят в том, что его результаты зависят от поверхностной обработки и сроков хранения семян и поэтому не всегда могут считаться достаточно достоверными. Данные, полученные этим методом, весьма противоречивы. Так, в одном из исследований [1] после 4—6-месячного хранения семян случаи передачи вируса наблюдались лишь изредка. Иногда при использовании даже свежесобранных семян передача вируса не обнаруживалась. Вместе с тем, как указывается в работе [4], инфекционная способность ВТМ на семенах сохраняется до 3 лет.

Нами изучались эффективность различных методов диагностики зараженности проростков и растений томата из семян, полученных от зараженных ВТМ растений томата, а также зараженность проростков из семян, полученных от растений, инфицированных в разные сроки вегетации.

Материал и методы

Для получения проростков и растений использовали семена от зараженных ВТМ томатов сорта Пионерский.

Диагностику ВТМ в семенах проводили следующим образом: отделенные листья *Datura stramonium* и *Nicotiana glutinosa* натирали суспензией 100 семян или 20 проростков. Количество проб в варианте опы-

та — не менее 4, инокулированных листьев — не менее 16.

Исследуемый материал прививали на отделенные листья и целые растения *Nicotiana tabacum* по разработанным нами методикам в двух вариантах. Вариант 1 — проростки томата в фазе семядольных листочков после клинообразного удаления корешка прививали в черешок отделенного

листа *N. tabacum*. Лист с прививкой укладывали нижней стороной вверх в светопропускаемую влажную камеру и инкубировали при температуре 20—25° и освещении 4—6 тыс. лк в течение 15—20 сут. После инкубации присутствие вируса в листе определяли обычно применяемыми серологическим и индикаторным методами; вариант 2 — проростки томата в фазе семядольных листочков после клинообразного удаления корешка прививали в пазуху третьего сверху листа целого растения *N. tabacum*. Место прививки скрепляли смоченным водой жгутом из ваты. Привитые растения инкубировали, как описано выше.

Для получения проростков томата путем выделения зародыша семена от зараженных растений после поверхностной дезинфекции в течение 30 мин в 20 % соляной кислоте и промывки инкубировали в течение 48 ч в термостате при температуре 22—24°. Из набухших семян отделяли зародыши препаровальными иглами. Затем их в течение 15 мин промывали в проточной воде для удаления кусочков эндоспер-

ма и кожуры. Зародыши переносили в чашки Петри на фильтровальную бумагу, увлажненную раствором Кнопа, где они развивались под лампами дневного света при комнатной температуре в течение 5—7 дней. После этого их переносили на стерильную почву. Через 12—14 дней проростки из зародышей с полностью развернувшимися семядольными листочками прививали на растение *N. tabacum* так же, как в варианте 1, или пикировали в сосуды для получения взрослых плодоносящих растений.

Диагностику зараженности проводили на взрослых растениях, выращенных из зараженных семян в вегетационных сосудах. За время вегетации были выполнены пять серологических проверок и одна проверка методом прививок. Для прививки брали 3-й сверху лист томата в фазе 6—7 настоящих листьев и прививали на целое растение *N. tabacum* в пазуху 3-го сверху листа. Серологический анализ томата проводили через 20 дней после отбора образцов для прививки, а привитых растений *N. tabacum* — на 16-й день после прививки.

Обсуждение результатов

При механической инокуляции отделенных листьев индикаторных растений суспензией из свежeweделенных сухих и наклюнувшихся семян *D. stramonium* на 4 листьях обнаружено соответственно 80 и 76 некрозов, а у *N. glutinosa* — 102,2 и 106 (среднее из 4 повторений). Вместе с тем этим методом не удалось выявить зараженности семян, хранившихся в течение 12—14 мес, а также проростков из них.

Известно, что наиболее точные сведения о наличии или отсутствии вируса независимо от его концентрации в исследуемом образце дает прививка (трансплантация) живой ткани на восприимчивое к данному вирусу растение. Имеется в виду не прививка в общепринятом значении, а контакт живых клеток исследуемого объекта и растения-индикатора в течение времени, достаточного для заражения последнего.

Прививка проростков из тех же партий семян томата на целые растения (125 шт.) и отделенные листья (120 шт.) *N. tabacum* выявила значительную их зараженность (соответственно 48 и 35 %).

Поскольку вирусная инфекция обнаруживается только в результате прививки на растения или листья табака, есть основание полагать, что инфекция содержится в них в иной форме, чем в инокулюме. При этой форме инфекции отсутствуют визуальные признаки заболевания, инфекционность и антигенная активность в их соке в течение длительного времени. Инфекция может переходить в обычную форму при благоприятных для нее условиях.

Зараженность проростков, полученных путем выделения зародыша из семян, была почти в 7 раз ниже зараженности проростков из целых семян той же партии. Обнаруженная нами зараженность (хотя и небольшая) проростков из изолированных зародышей может быть вызвана тем, что, вопреки существующему мнению, в зародышах в небольших количествах все же содержится вирусная инфекция, либо загрязнением травмированных участков зародыша во время операции его выделения. Если зараженность вызвана загрязнением, то этого, по-видимому, можно избежать, и тогда выделение зародыша может явиться одним из путей получения растений, свободных от ВТМ, и в конечном счете — свободных от ВТМ семян, что очень важно в семеноводстве этой культуры.

Инфекция во взрослых растениях после двух серологических проверок не была обнаружена. После второй проверки сделали прививку на *N. tabacum*. На 16-й день после прививки серологический анализ

N. tabacum показал зараженность 94 %. До конца вегетации были проведены еще три серологических анализа. Растения, показавшие положительную серологическую реакцию, исключались из опыта. Зараженность, определенная этим методом, с середины вегетации составила 6 %, а к концу вегетации — 100 %.

Можно полагать, что растения из зараженных семян несут в себе ВТМ, но он не проявляет инфекционности и антигенной активности. Видимо, в растении имеются какие-то механизмы, не дающие вирусу накапливаться, размножаться так, как при механической инокуляции. Это предположение подтверждается, когда мы делаем прививку на восприимчивое растение, в котором вирус быстро размножается и накапливается, в результате чего появляются внешние симптомы на подвое и четкая серологическая реакция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вовк А. М. Инактивация вируса мозаики табака в семенах томатов при разных сроках хранения. — Тр. Ин-та генетики АН СССР, 1961, т. 28, с. 269—276.
2. Гольдин М. И. О возможности передачи вируса мозаики табака семенами томатов. — Микробиология, 1939, т. 8, вып. 5, с. 613—619.
3. Каримов Т. М. Методы защиты томатов от вирусных болезней в защищенном грунте в системе семеноводства. — Автореф. канд. дис. Л., 1978.
4. Alexander L. J. — *Phytopathology*, 1969, vol. 50, p. 627.
5. Broadbent A. M. — *Ann. appl. Biol.*, 1965, vol. 56, N 2, p. 177—205.

Статья поступила 2 марта 1983 г.

SUMMARY

It is found that serological and indicator (on the leaves of *Nicotiana glutinosa*) diagnostics of tobacco mosaic virus in the extract of ground seeds do not reveal their being infected if the seeds had been treated with disinfecting solutions or were stored for more than one year. These methods neither show the virus in the seedlings from infected seeds. At the same time the grafting of these seedlings or parts of young tomato plants onto the whole plants or detached leaves of Turkish tobacco (*N. tabacum*) shows high percentage of tobacco mosaic virus infection (up to 50 per cent). In seedlings and plants grown from infected seed this virus seem to be in its low-infectious form which may be detected only through grafting onto tobacco.