

УДК 578.85.86

МОНІТОРИНГ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ, ЩО УРАЖУЮТЬ ОВОЧЕВІ КУЛЬТУРИ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

В.О. ЦВІГУН¹, Т.П. ШЕВЧЕНКО², А.Л. БОЙКО¹

¹*Інститут агроєкології і природокористування НААН, м. Київ*

²*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Проведено відбір рослин родини Cucurbitaceae та Solanaceae за характерними симптомами. За допомогою методів імуноферментного аналізу і електронної мікроскопії було ідентифіковано 5 видів вірусів серед овочевих культур на території України. Нами було виявлено такі вірусні антигени, а саме: вірусом огіркової мозаїки, вірусом тютюнової мозаїки, вірусом мозаїки кавуна 2, вірусом жовтої мозаїки цукіні, вірусом мозаїки томатів.

Ключові слова *овочеві культури, імуноферментний аналіз (ІФА), ВОМ, ВМК-2, ВЖМЦ, ВТМ, ВМТ.*

В умовах інтенсифікації агропромислового виробництва істотно змінилися технології вирощування сільськогосподарських культур, збільшилися обсяги застосування мінеральних добрив, хімічних засобів захисту рослин, що призвело до серйозних екологічних зрушень в агроценозі [1]. З'явилися нові, маловідомі для України вірусні хвороби, а також посилилася агресивність ідентифікованих у попередні роки вірусів [2].

Визначення ареалу розповсюдженості, механізмів передачі, кола рослин-господарів, реакції на зміни оточуючого середовища дає можливість не тільки більш повно характеризувати того чи іншого представника царства Vira [4], але і дасть змогу прогнозувати появу та розвиток вірусних хвороб і правильно виробляти стратегію і тактику боротьби з ними — запровадження стійких сортів, цілеспрямована боротьба з резервантами та переносниками, отримання безвірусного посадкового матеріалу [5].

Значної шкоди овочевим культурам завдають збудники мозаїчного захворювання. Серед вірусів, що викликають значні втрати врожаю овочевих культур, найбільш поширеними є віруси, що належать до роду *Tobamovirus*, роду *Cucumovirus* родини *Bromoviridae*, роду *Potyvirus* родини *Potyviridae*, роду *Polerovirus* родини *Luteoviridae*, роду *Tospovirus* родини *Bunyaviridae* та інші [6].

Метою роботи було провести моніторинг вірусних інфекцій, що уражують овочеві культури на території України.

Матеріали та методи досліджень. Зразки відбирали візуальним обстеженням рослин на наявність вірусних симптомів. Для детекції вірусу матеріал гомогенізували у 0,1 М фосфатно-солевому буфері, рН 7,4 у співвідношенні 1:2 [7]. Очистку матеріалу від рослинних компонентів проводили центрифугуванням у режимі 5000 об/хв упродовж 20 хв при +4 °С на центрифугі РС-6 [8]. Відібраний надосад використовували для діагностики вірусних антигенів у імуноферментному аналізі (ІФА), тест-системи виробництва Loewe (Німеччина). Постановку аналізу проводили відповідно до рекомендацій виробника тест-систем для сендвіч-ІФА у 96-лункових полістиролових планшетах «Labsystem» [9]. Результати реєстрували на рідері Termo Labsystems Opsi MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink при довжинах хвиль 405/630 нм [10]. Морфологію вібріонів досліджували на електронному мікроскопі Jeogs, використовуючи в якості контрастера 2 %-й ураніл ацетат [11].

Результати та їх обговорення. Вірусні хвороби спричиняють втрати врожаю до 45–80 % і є істотною проблемою для сільськогосподарського виробництва. Для України актуальними вірусними патогенами, що уражують рослини огірків, кабачків, гарбузів, динь, томатів, перцю овочевого, баклажанів є вірус жовтої мозаїки цукіні (ВЖМЦ), вірус мозаїки кавуну 2 (ВМК-2), вірус мозаїки огірка (ВОМ), вірус мозаїки томату (ВМТ), вірус тютюнової мозаїки (ВТМ), вірус кільцевої, вірус кільцевої плямистості томату (ВКПТо) [12]. Тому дуже важлива їх своєчасна діагностика та профілактика. Протягом 2016–2018 років було відібрано та протестовано 278 зразків рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae*. Для досліджень були відібрані зразки рослин з агроценозів наступних регіонів України: Вінницької, Запорізької, Київської,

Кіровоградської, Одеської, Львівської, Полтавської, Черкаської і Чернігівської областей. Рослинні зразки відбирали шляхом візуального обстеження рослин на наявність вірусних симптомів (рис. 1).

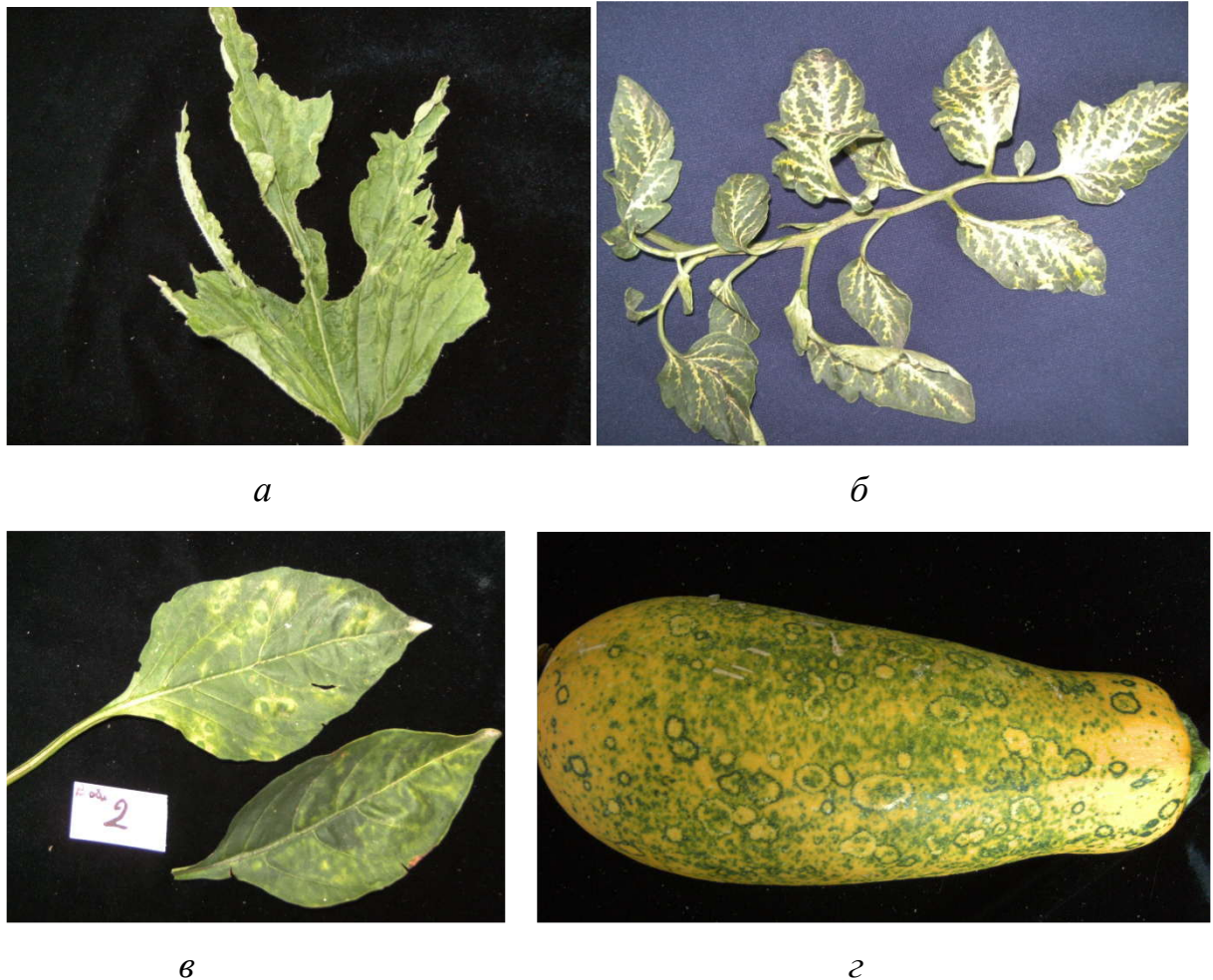


Рис. 1 Симптоми вірусної етіології на представниках родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae*: а – нитчастість листкової пластинки на рослинах кабачку; б – прижилкова жовта мозаїка листкової пластинки на рослинах томату; в – округлі плями на листковій пластинці перцю овочевого; г – округлі плями на плоді рослинах кабачку

Візуальне спостереження за зовнішніми симптомами ураження є досить ненадійним методом виявлення та діагностики вірусних інфекцій, оскільки прояв вірусних симптомів залежить, головним чином, від взаємодії вірусу та хазяїна. Крім того, досить часто штами одного й того ж вірусу здатні викликати різні симптоми на рослинах одного виду, змінюючи при цьому зовнішні прояви від надчутливості до безсимптомного вірусноносійства. Також на прояв симптомів впливають умови

вирощування рослин і наявність супутньої інфекції. Наприклад, у деяких випадках лише сумісне інфікування рослин перцю може призводити до прояву таких симптомів інфекції як мозаїка та плямистість. Тому подальші дослідження були спрямовані на встановлення виду вірусів, використовуючи сучасні методи ідентифікації. За допомогою ІФА з тест-системами виробництва Loewe (Німеччина) було проведено ідентифікацію антигенів вірусів у відібраних рослинних зразках родини родин *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* (рис. 2), (рис. 3).

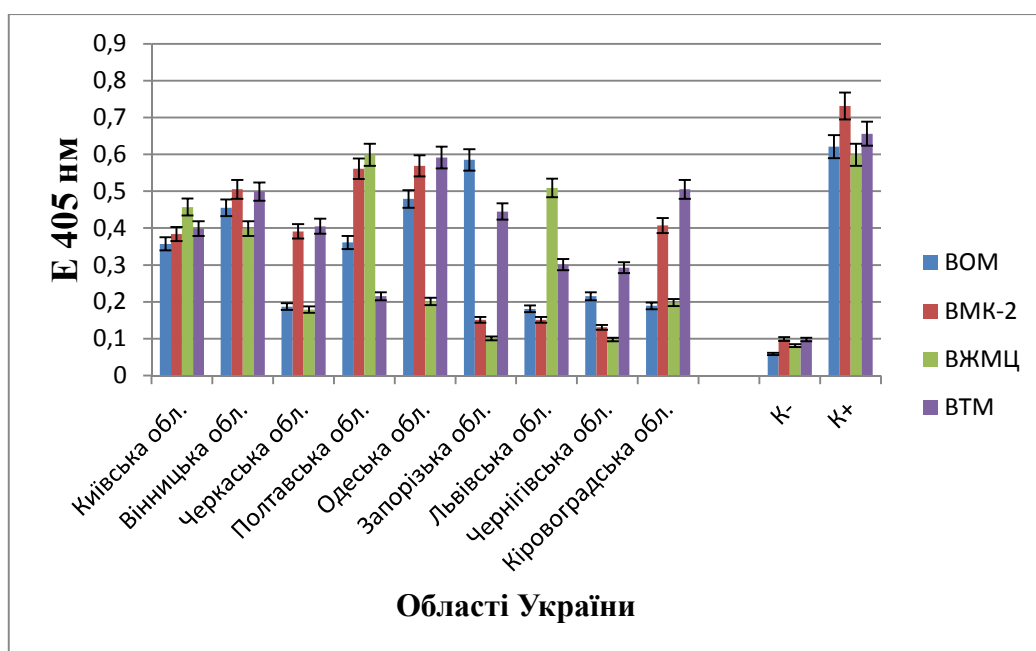


Рис. 2 Результати тестування рослин родини *Cucurbitaceae* методом ІФА на наявність вірусних антигенів

Результати ІФА показали, що із 278 досліджених зразків рослин родин *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* у 103 зразках детектувалися вірусні антигени.

Слід зазначити, що на рослинах родини *Cucurbitaceae*, антигени ВОР, були виявлені у агроценозах Вінницької, Запорізької, Київської, Одеської та Полтавської областей. Антигени вірусу жовтої мозаїки цукіні були присутні в агроценозах Вінницької, Київської, Львівської і Полтавської областей. Антигени ВМК-2 детектували у рослинах з агроценозів Київської, Вінницької, Полтавської, Черкаської, Одеської та Кіровоградської області.

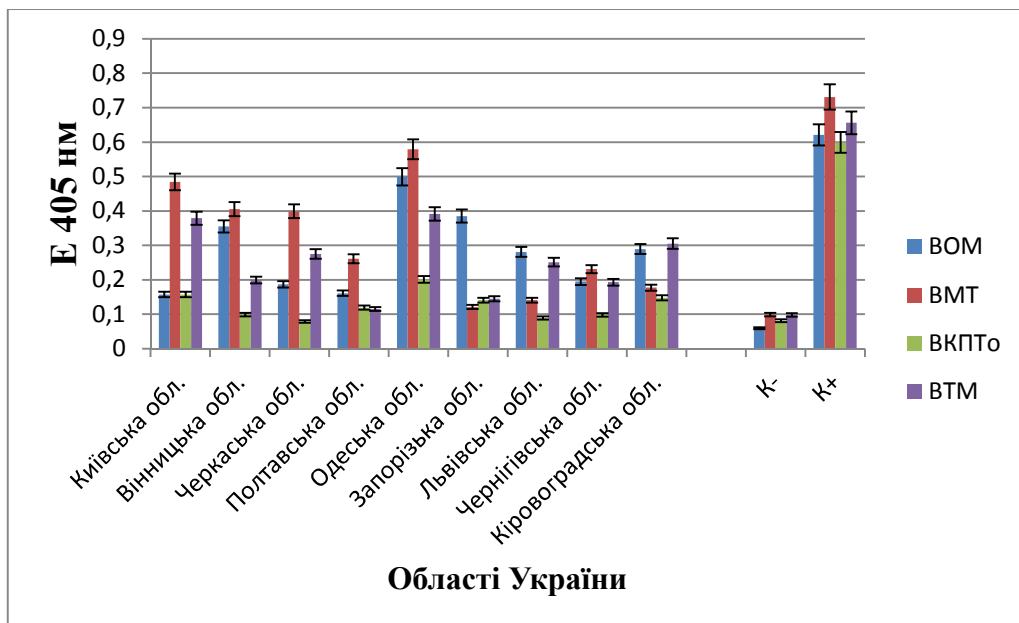


Рис. 3 Результати тестування рослин родини *Solanaceae* методом ІФА на наявність вірусних антигенів

На рослинах родини *Solanacea* антигени BOM, були виявлені у агроценозах Вінницької, Запорізької, Львівської та Одеської областей. Антигени вірусу мозаїки томату були присутні в агроценозах Київської, Вінницької, Одеської і Черкаської областей. Що ж стосується вірусу тютюнової мозаїки то даний вірус був діагностований у Київській та Одеській областях. Вірусні антигени були виявлені у вигляді моноінфекції з поодинокими випадками змішаної інфекції. Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено ареал розповсюдження вірусів на рослинах родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* на території України.

Так як вірус огіркової мозаїки і вірус тютюнової мозаїки патогени широко розповсюджені у світі крім того мають великий спектр рослин господарів, які вони уражують то було доцільно дослідити морфологічні властивості цих вірусів. Метод електронної мікроскопії було застосовано для прямого виявлення вірусів у зразках рослин родин *Cucurbitaceae* та *Solanaceae*, а також підтвердження результатів імуноферментного аналізу. При електронно-мікроскопічних дослідженнях зразків рослин було виявлено паличковидні вірусні частки розміром 300 ± 15 для вірусу тютюнової мозаїки, що за літературними даними характерно для вірусів роду

Tobamovirus (рис. 4) та сферичні вірусні частки 29 нм в діаметрі, що співпадає СМВ для вірусів роду *Cucumovirus* (рис. 5).

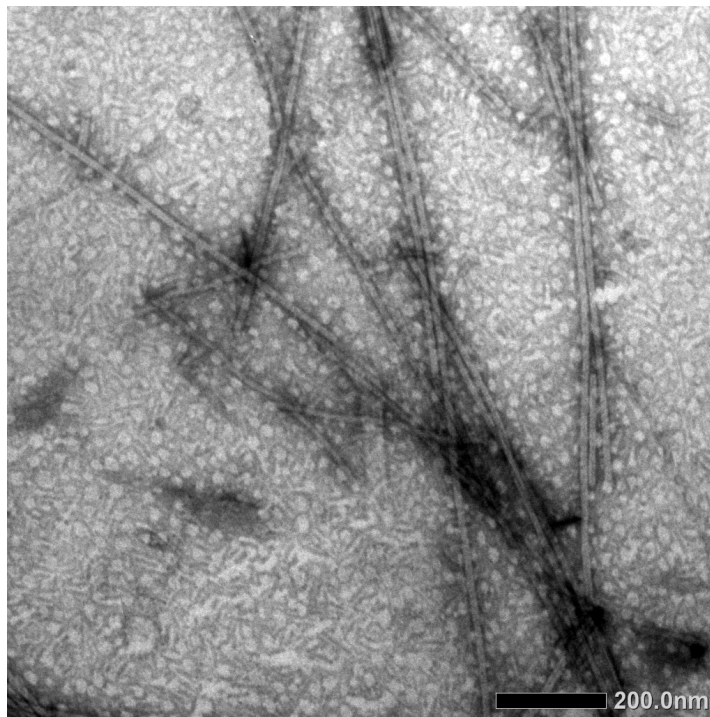


Рис. 4 Електронномікроскопічне зображення вірусу тютюнової мозаїки

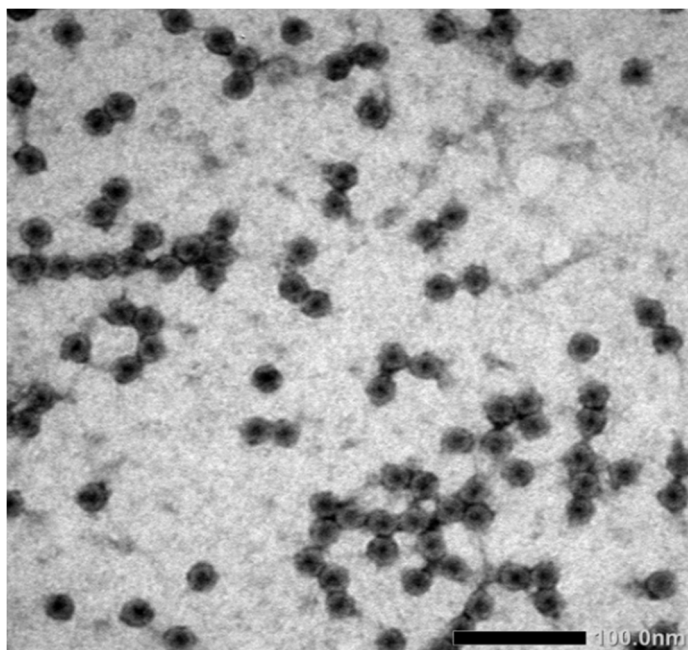


Рис. 5 Електронномікроскопічне зображення вірусу огіркової мозаїки

Результати електронно-мікроскопічних досліджень підтверджують дані імуноферментного аналізу.

Таким чином на рослинах родин *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* було виявлено п'ять видів вірусів, а саме: ВОМ, ВМК-2, ВЖМЦ, ВТМ та ВМТ. Поширення вірусів може бути пов'язане з тим, що серед детектованих нами вірусів деякі з них можуть передаватися насінням (ВОМ, ВЖМЦ, ВМТ) та таким чином потрапляти в агроценози України. Тому для запобігання поширення вірусних антигенів потрібно проводити тестування насіння та посадкового матеріалу. Багато вірусів швидко мігрують завдяки переносникам. Переносниками можуть бути попелиці, цикадки, кліщі та інші. Векторна передача дуже ефективна для цих вірусів, і тому великі зусилля повинні бути спрямовані на контроль над векторами комах за допомогою різних інсектицидів. Питання, що підкреслюють необхідність вдосконалення фітосанітарних заходів, також повинні бути підняті. Крім того є групи вірусів які зустрічаються в ґрунті (ВОМ і ВТМ) і воді та можуть переходити без допомоги переносників від хворих до здорових рослин, хоча деякі з них можуть переноситися нематодами або грибами.

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень було відібрано рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* за характерними симптомами. За допомогою ІФА, електронної мікроскопії нами встановлено, що рослини родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* були інфіковані вірусом огіркової мозаїки, вірусом тютюнової мозаїки, вірусом мозаїки кавуна 2, вірусом жовтої мозаїки цукіні, вірусом мозаїки томатів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гиббс А. Основы вирусологии растений / Гиббс А., Харрисон Б. ; под ред. И.Г. Атабекова. – М.: Мир, 1978. – 580 с.
2. Gallitelli D. The ecology of Cucumber mosaic virus and sustainable agriculture / Gallitelli D. // Virus Res. – 2000. – №71. – P. 9–21.

3. Occurrence of cucumber mosaic virus in vegetable crops in Ukraine / [Tsvigun V., Rudnieva T., Tymchyshyn O., Polischuk V.] // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2013. – № 64. – С. 49–53.
4. Diagnosis of seed viral infection of vegetable crops / [Boyko A., Opryshko N., Tsvigun V., Orlovskaya G.] // Агроекологічний журнал. – 2015. – № 3. – С. 93–97.
5. Віруси рослин родини *Cucurbitaceae*, що циркулюють в агроценозах України: розробка діагностикумів на основі імуноферментного аналізу та їх застосування : методичні рекомендації / [Руднева Т.О., Шевченко Т.П., Бисов А.С. та ін.]. – Київ, 2010. – 11 с.
6. Мэтьюз Р. Вирусы растений. / Мэтьюз Р.; под ред. И.Г.Атабекова. – М.: Мир, 1973. – С. 442–469.
7. Поліщук В. П. Посібник з практичних занять до курсу «Загальна вірусологія» / В. П. Поліщук, І. Г. Будзанівська, Т. П. Шевченко. – Київ: Фітосоціоцентр, 2005. – С. 129–133.
8. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов растений / Р.В. Гнутова–Москва: “Наука”, 1993. – С. 217–259.
9. Crowther J.R. (Ed.) ELISA. Theory and practice. – N.Y.: Humana Press, 1995. – 223 p.
10. Королев М.Б. Электронно-микроскопические методы выявления вирусов / М.Б. Королев // Итоги науки и техники. Вирусология. – 1980. – Т. 9, N. 178. – С. 119–120.
11. Curry A. Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present and future / Curry A., Appleton H., Dowsett B. // *Micron*. – 2006. – Vol. 35, №2. – P.91–106.
12. Поширення вірусних захворювань рослин родини *Cucurbitaceae* на території України / [Руднева Т.О., Шевченко Т.П., Бисов А.С., Поліщук В.П.] // Агроекологічний журнал. – 2008. – № 2. – С. 62–66.

МОНИТОРИНГ ВИРУСНИХ ИНФЕКЦІЙ, КОТОРІ ПОРАЖАЮТЬ ОВОЩНІ КУЛЬТУРИ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

В.А. ЦВИГУН¹, Т.П. ШЕВЧЕНКО², А.Л. БОЙКО¹

¹ *Інститут агроекології та природопольовання НААН, м. Київ*

² *Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Проведен відбір рослин родин *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* за характерними симптомами. З допомогою методів імуноферментного аналізу та електронної мікроскопії було ідентифіковано 5 видів вірусів серед овочових культур на території України. Нами були виявлені наступні вірусні антигени, а саме: вірусом огуречної мозаїки, вірусом тютювкової мозаїки, вірусом мозаїки арбуза 2, вірусом жовтої мозаїки цуккини, вірусом мозаїки томатів.

Ключові слова: овочові культури, ІФА, ВОМ, ВМК-2, ВЖМЦ, ВТМ, ВМТ.

MONITORING OF VEGEtable CULTURES VIRAL INFECTIONS IN THE TERRITORY OF UKRAINE

V. TSVIGUN¹, T. SHEVCHENKO², A. BOYKO¹

¹ *Institute of Agroecology and Nature Management of NAAS of Ukraine, Kyiv*

² *Taras Shevchenko National University of Kyiv*

Selection of plants of the family Cucurbitaceae and Solanaceae was performed on the characteristic symptoms. With the help of ELISA and electron microscopy were identified 5 types of viruses among vegetable crops in Ukraine. We found the following viral antigens, namely: cucumber mosaic virus, tobacco mosaic virus, watermelon mosaic virus 2, zucchini yellow mosaic virus, and mosaic virus of tomatoes.

Key words: vegetable crops, ELISA, CMV, TMV, WMV-2, ZYMV, TMV.