

Индикация и идентификация некоторых вирусов, поражающих озимую пшеницу

Ж. А. Дулевич*, С. А. Смирнова

Киевский университет имени Тараса Шевченко
252017 Киев, ул. Владимирская, 64

В растениях озимой пшеницы сортов Донская полукарликовая и Мироновская 61, произрастающих на полях Киевской и Полтавской областей Украины, выявлены частицы трех морфологических типов — палочковидные, нитевидные и бацилло-видные. Корреляционный анализ распределения выявленных частиц по классам согласно размерам, массе и степени корреляции подтвердил наличие вирусных частиц, относящихся к трем таксономическим группам.

Введение. Вирусные заболевания злаков широко встречаются в районах выращивания пшеницы и наносят серьезный экономический ущерб. Для борьбы с ними необходимы четкая идентификация вирусов, знание их биологии и путей распространения в природе. Диагностика заболеваний злаков вирусной этиологии весьма сложна по причине подобия симптомов заболеваний и крайне ограниченного числа растений-индикаторов. Осуществить диагностику фитовирусных инфекций злаков можно двумя путями: изучая характер проявления вирусных болезней и идентифицируя вирусы. В первом случае вирусные болезни диагностируются по внешней симптоматике и выявлению нарушений углеводного и азотного обмена веществ, обмена гормональных веществ, активности дыхания растений. А идентификация фитовирусов достигается по результатам индикаторного, серологического и электронно-микроскопического методов [1]. Визуальные наблюдения — самый доступный способ диагностики, но не до конца достоверный и окончательный, поскольку в зависимости от штамма вируса, от сорта растения-хозяина и внешних условий симптомы заболевания могут меняться. Изменения внешнего вида инфицированных растений отражают внутренние (вызванные вирусом) изменения структурной, биохимической, цитофизиологической и генетической организации. Они специфичны только для определенного типа взаимоотношений и не встречаются при других патологических состояниях клеток [2]. Кроме того, многие вирусы, поражающие злаки, в частности пшеницу, весьма лабильны и в процессе выделения деградируют. Поэтому своего решения ждут такие насущные задачи, как определение степени пораженности растений озимой пшеницы вирусной инфекцией, выявление ее возбудителей и круга растений-индикаторов, а также установление морфологии, основных свойств и степени родства обнаруживаемых возбудителей с другими вирусами. Это в определенной

*Correspondence address.

мере сможет помочь понять механизмы развития патологического процесса в растениях и, следовательно, решить проблему диагностики, профилактики вирусных заболеваний и разработки мер борьбы с ними [3].

Материалы и методы. В работе в качестве исследуемого материала использовали листья озимой пшеницы сортов Донская полукарликовая и Мироновская 61 (Киевская и Полтавская области Украины) с симптомами полосатой и штриховатой мозаики, хлороза, скручивания листовой пластинки по спирали и деформации ее.

Вирусы выделяли методом дифференциального центрифугирования при 22 000 об/мин с модификациями, используя различные буферные системы [4]. Полученный из пораженных растений сок осветляли с использованием хлороформа и *n*-бутанола. При исследовании эффекта растительного сока на присутствующие в нем вирусы применяли различные вещества: твин-80, тритон X-100, 0,5 М мочевины, ДИЭКА. Вирусы осаждали с помощью 6 %-го ПЭГ в 2 %-м растворе хлорида натрия [5].

Для выявления возможности передачи возбудителей заболеваний озимой пшеницы другим растениям проводили механическую инокуляцию с добавлением абразивного материала карборунда.

В качестве растений-индикаторов использовали дикие злаки — куриное просо (*Echinochloa crusgalli*) и мышей сизый (*Setaria glauca*), а также представители других семейств — лебеду белую (*Chenopodium album*) и дурман (*Datura stramonium*). Кроме этого, соком больных растений пшеницы с симптомами поражения натерли листья пяти гибридов кукурузы (*Zea mays*): Коллективный 210-АТВ, Коллективный 285, ТОСС-182, III-СВ и пшеницу (*Triticum aestivum*) сорта Мироновская 61.

Морфологию вирусов, их размеры исследовали методами лазерной корреляционной спектроскопии квазиупругого светорассеяния на приборе «Correlator Malvern Automeasure 4700» и электронной микроскопии (ПЭМ-100 (X 30 000—100 000)) негативным контрастированием в ФВК. Спектрофотометрический анализ растительных препаратов осуществляли на спектрофотометре «Spectord» при длине волны от 200 до 300 нм [6].

Результаты и обсуждение. Изучение пораженности озимой пшеницы вирусами и установление их природы было начато с определения степени развития инфекции в растениях. Установлено, что интенсивность развития мозаики на листьях пшеницы равна 25—50 % по иллюстрационным шкалам [7].

На листьях растений озимой пшеницы, исследуемых в весенний период, наблюдались мозаичность и отставание растений в росте. Такая симптоматика, согласно утверждению Олейник и др. [8], выявляемая весной, характерна для заражения растений озимой пшеницы мозаичными вирусами, а именно: вирусом полосатой мозаики пшеницы в более поздние фазы развития.

Для выявления инфекции среди сорных злаков проводили наблюдения за проявлением симптомов болезни на диких злаках после обработки их соком больных растений пшеницы. Как установлено, только на растениях куриного проса обнаруживались при 1-м пассаже через 8 дней после заражения хорошо заметные симптомы поражения в виде хлоротичных полос и начинающейся некротизации на верхушках листовых пластинок. Было установлено, что используемые в качестве растений-индикаторов дикий злак мышей сизый, лебеда белая и дурман не давали реакции на поражение исследуемым материалом. Среди пяти различных гибридов кукурузы чувствительными к соку растений больной пшеницы оказались гибриды Коллективный 210-АТВ и 285, ТОСС-182. При 2-м пассаже по краю листовой пластинки растений появлялся слабый хлороз. Гибриды кукурузы ТОСС-182 и III-СВ не проявляли каких-либо симптомов пораже-

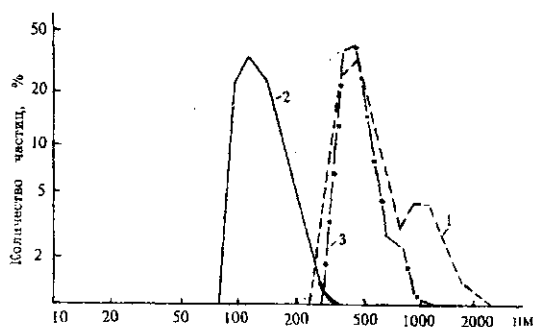
ния после инокуляции их соком больной пшеницы.

В осуществленных опытах вследствие натирания соком больных растений озимой пшеницы удалось передать возбудителей инфекции с наиболее четкой картиной поражения на растения озимой пшеницы сорта Мироновская 61. Они оказались основным растением-хозяином для возбудителей инфекции, содержащихся в соке пораженной пшеницы. При 2-м пассаже появлялись симптомы хлороза и полосатой мозаики на листовых пластинках. Со всеми исследуемыми растениями проведено по 4 пассажа. Наблюдалось сохранение симптоматики во всех вышеописанных видах.

Электронно-микроскопическое исследование изолятов, полученных из листьев озимой пшеницы сортов Донская полукарликовая и Мироновская 61 с симптомами мозаики и хлороза, показало присутствие палочковидных частиц с четко очерченным центральным каналом, характерным для вирусов со спиральным типом симметрии. Длина частиц варьировала от 108 до 130 нм, иногда наблюдались частицы длиной до 250 нм, диаметр был равен 13—16 нм. Из растительного сока пораженных растений пшеницы сорта Мироновская 61 с полей Полтавской области с симптомами полосатой мозаики и хлороза были выделены частицы нитевидной формы с диаметром 12—15 нм разной длины (от 600 до 900 нм).

В исследуемых электронно-микроскопических препаратах как в случае палочковидных, так и нитевидных частиц присутствовали и короткие, и длинные структуры. Возможно, они образовались в результате распада или агрегации частиц при различных воздействиях. Подобное объяснение совпадает с данными литературы [9].

Для уточнения морфологии выделенных частиц был проведен анализ методом лазерной корреляционной спектроскопии квазиупругого светорассеяния. Его результаты показали, что средний размер палочковидных частиц составил 157,3, нитевидных — 607,8 нм. График распределения палочко- и нитевидных частиц, выделенных из пораженных растений пшеницы, по их длине приведен на рисунке. При сравнении структуры



Распределение по длине вирусных частиц, выделенных из пораженных растений пшеницы с симптомами полосатой мозаики, хлороза, деформации и скручивания листовой пластинки (логарифмический график) 1 — нитевидные частицы; 2 — палочковидные частицы; 3 — бациллоподобные частицы

выявленных вирусов с таковой, известной из литературы, обращают на себя внимание следующие факты. Подобные размеры и морфологию имеют палочковидный вирус штриховатой мозаики ячменя и нитевидный вирус полосатой мозаики пшеницы [10—12].

Проведенное микроскопическое исследование больных растений озимой пшеницы сорта Мироновская 61, выращенных в полевых условиях Полтавской области, позволило выявить, кроме нитевидных и палочковидных частиц, неидентифицированные бациллоподобные частицы у растений с деформацией листовой пластинки, хлорозом и скручиванием листовой пластинки по спирали, которые располагались поодиночке либо в виде групп и скоплений, образуя иногда крупные агрегаты.

Изучение некоторых свойств бациллоподобных частиц методом лазерной

корреляционной спектроскопии показало следующее. В исследуемых изолятах преобладали частицы размером 370,5—543,8 нм (см. рисунок). Их количество составило 77,3 %, коэффициент полидисперсности — 0,544, масса 6,9—14,0 %, степень корреляции — 0,9—6,2 %.

Наличие частиц разного размера можно объяснить тем, что в клетках зараженного растения помимо полноценных вирионов содержатся и неполностью сформированные частицы, а также агрегаты частиц [13, 14].

Обнаруженные бациллоподобные частицы по форме и размеру близки к некоторым рабдовирусам, в частности, к вирусу штриховатой мозаики пшеницы, к вирусу хлоротичной штриховатой мозаики пшеницы и вирусу желтой карликовости картофеля [15].

Из результатов спектрофотометрического анализа исследуемых препаратов следует, что спектры поглощения ультрафиолетового света имели максимум при 260 нм.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать следующее заключение.

Для индикации и идентификации вирусов злаков целесообразно применять комплекс методических приемов, включающих изучение как внешней симптоматики растений, так и изменений, происходящих в клетках хозяина. В исследуемых растениях озимой пшеницы сортов Донская полукарликовая и Мироновская 61, произрастающих на полях Киевской и Полтавской областей Украины, были выявлены частицы трех морфологических типов — палочковидные, нитевидные и бациллоподобные. Анализ чувствительности 10 видов различных растений к выделенным вирусам дал положительные результаты с диким злаком (куриное просо), некоторыми гибридами кукурузы и озимой пшеницы. Корреляционный анализ распределения вирусных частиц по классам согласно размерам, массе и степени корреляции подтвердил наличие вирусных частиц, относящихся к трем таксономическим группам.

Ж. О. Дулевич, С. О. Смирнова

Індикація та ідентифікація декотрих вірусів, уражаючих озиму пшеницю

Резюме

У рослинах озимої пшениці сортів Донська напівкарликова та Миронівська 61, що ростуть на полях Київської та Полтавської областей України, було виявлено частинки трьох морфологічних типів — паличко-, нитко- та бацилоподібні. Кореляційний аналіз розподілу виявлених частинок за розмірами, масою та ступенем кореляції підтвердив наявність вірусів, що відносяться до трьох таксономічних груп.

Zh. A. Dulevich, S. A. Smirnova

Indication and identification of the some viruses which are infecting to winter wheat

Summary

The particles of three morphological types such as stick-like, thread-shaped and bacilli-like were exposing in plants of winter wheat of sorts Donskaya semi-dwarf and Mironovskaya 61, which are growing in the fields of Kievskaya and Poltavskaya regions of the Ukraine. Correlational analysis of the distribution of exposal particles according to classes under dimensions, mass and correlation's intensity acknowledged the availability of virus particles bearing on three taxonomical groups.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дьяков Ю. Т. Фитопатогенные вирусы: Учеб. пособие.—М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984.—128 с.
2. Кармышева В. Я. Поражение клеток при вирусных инфекциях.—М.: Медицина, 1981.—192 с.

3. Букринская А. Г., Жданов В. М. Молекулярные основы патогенности вирусов.—М.: Медицина, 1991.—256 с.
4. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений.—М.: Мир, 1978.—429 с.
5. Herbert T. T. Precipitation of plant viruses by polyethylene glycol // *Phytopathology*.—1963.—53, N 3.—P. 362-365.
6. Noordman D. Identification of plant viruses: Methods and experiments.—Wageningen, 1973.—207 p.
7. Чумаков А. Е., Захаров Т. И. Вредоносность болезней сельскохозяйственных культур.—М.: ВО Агропромиздат, 1990.—127 с.
8. Олейник А. Н., Присовская Г. В., Сахно Т. Н. Изучение вируса полосатой мозаики пшеницы, распространенного на Украине // *Вирусы и вирус. болезни растений*.— Киев: Наук. думка, 1974.—С. 193—195.
9. Slykhuis J. T., Polak S. Factors affecting manual transmission purification and particle lengths of wheat spindle streak mosaic virus // *Phytopathology*.—1971.—61, N 5.—P. 569—574.
10. Атабеков И. Г. Исследование свойств и функций структурного белка вирусов растений: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук.—М., 1970.—24 с.
11. Бойко А. Л., Мищенко Л. Т., Литвинов Г. С. и др. Рекомендации по диагностике вирусных болезней озимой пшеницы и мерам борьбы с ними в условиях УССР.— Киев: Урожай, 1990.—26 с.
12. Панарин И. В. Защита злаковых культур от вирусных болезней.— М.: Россельхозиздат, 1985.—80 с.
13. Рабдовирусы злаков СССР.—М.: Наука, 1987.—129 с.
14. Пехтерев В. В., Васильева Т. Я. Об очистке вируса мозаики озимой пшеницы // *Вирусы и вирус. болезни растений*.— Киев: Наук. думка, 1974.—С. 199—201.
15. Francki R. Plant Rhabdoviruses // *Adv. Virus Res.*—1973.—18—P. 257—345.