



# Найактуальніше

УДК 631.95:631.861

© 2020

## **ВІРУСНІ ХВОРОБИ РОСЛИН В АГРОЦЕНОЗАХ І ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМАХ: ДІАГНОСТИКА ТА ПРОФІЛАКТИКА**

*О.І. Фурдичко<sup>1</sup>, А.Л. Бойко<sup>2</sup>, О.С. Дем'янюк<sup>3</sup>, В.О. Цвігун<sup>4</sup>*

*<sup>1</sup>доктор економічних наук, доктор сільськогосподарських наук, професор, академік НААН*

*<sup>2</sup>доктор біологічних наук, професор, академік НААН*

*<sup>3</sup>доктор сільськогосподарських наук*

*<sup>4</sup>кандидат біологічних наук*

*Інститут агроекології і природокористування НААН*

*вул. Метрологічна, 12, м. Київ, 03143, Україна*

*e-mail: agroecologygnaan@gmail.com*

*ORCID: <sup>1</sup>0000-0002-0877-6116, <sup>2</sup>0000-0002-0143-4201*

Надійшла 11.12.2019

**Мета.** Провести аналіз уже відомих результатів вірусологічних досліджень та дослідити вірусні хвороби в агроценозах і лісових екосистемах. **Методи.** Використано спектр методів, який містить візуальну діагностику, імуноферментний аналіз у різних модифікаціях, виділення тотальної РНК із рослинного матеріалу, очищення кДНК, фореуз нуклеїнових кислот, ЗТ-ПЛР і метод статистичної обробки даних. **Результати.** Проаналізовано результати вітчизняних та іноземних досліджень за напрямом фітовірусології. Проведено спільні дослідження Інституту агроекології і природокористування НААН та Національного університету біоресурсів і природокористування України щодо профілактики вірусних інфекцій рослин за використання композиції грибів базидіоміцетів. Для оздоровлення рослин від вірусних хвороб було задіяно процеси імітованої мікрогравітації. **Висновки.** З урахуванням наукової, екологічної та соціальної значущості біологічної безпеки в агропромисловому комплексі як важливої умови збалансованого розвитку України та виробництва якісної продукції харчування сільське та лісове господарства мають базуватися передусім на використанні якісного безвірусного сертифікованого посівного матеріалу стійких сортів. Тому актуальним є питання створення депозитарію основних вірусів, які уражають сільськогосподарські і лісові культури, та наукового центру «Вірус», що й було ініційовано на засіданні Бюро Президії Національної академії аграрних наук України 18 вересня 2019 р.

**Ключові слова:** фітовірусологія, біобезпека, сільськогосподарські культури, урожайність, сорти, посадковий матеріал, симптоми.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202002-01>

За даними ФАО, на порозі XXI ст. епідемії вірусних хвороб рослин призводять до значних економічних збитків у лісовому і сільськогосподарському господарствах, що поглиблює проблему продовольчої безпеки у світі. В умовах пришвидшення науково-технічного прогресу з розвитком нових молекулярних методів і можливостей біотехнологічної науки біологічна безпека стає невід'ємною складовою екологічної безпеки, а отже, і національної безпеки загалом. Проте поза увагою залишається актуальність питання фітовірусології в аграрному виробництві України, зокрема поширення, накопичення, поява нових видів та резистентних форм вірусів в агроценозах і лісових екосистемах [1]. На жаль, стратегічному питанню моніторингу та контролю вірусних інфекцій приділяється набагато менше уваги, ніж воно того заслуговує [2].

Світовий ринковий обмін насіннєвим і садивним матеріалом, перебудова домінуючих груп у популяціях комах-переносників та виникнення нових змішаних інфекцій сприяють зміні патогенності вірусів.

Міжнародним комітетом з таксономії вірусів (International Committee for Taxonomy of Viruses, ICTV) вже зареєстровано 1100 видів вірусів, що уражують рослини. Зважаючи на економічну та екологічну важливість сільськогосподарської продукції і лісових екосистем, для господарювання і в майбутньому для зниження негативних наслідків від зміни клімату потрібно розширювати

дослідження вірусів рослин [3]. Середні втрати врожаю на території України від вірусних інфекцій можуть сягати: зернових культур від вірусу жовтої карликовості — 60–96%, пшениці від вірусу смугастої мозаїки — 20–63; бобових культур від вірусу мозаїки сої — 26–67, сої від вірусу карликовості — 11–46%. Урожайність овочевих культур від ураження вірусами огіркової мозаїки знижується на 3–80%, тютюнової мозаїки — на 39–57%; урожайність картоплі від ураження Y-вірусом — на 4–80, X-вірусом картоплі — на 40–52%. Плодові культури уражує вірус шарки сливи, який є карантинним видом на території України, втрати врожаю від нього становлять 30–53%, від вірусу кільцевої плямистості вишні — 25–44, вірусу коротковузля винограду — 20–41% [4]. Варто зазначити, що рослини та грибні популяції лісових екосистем України також зазнають значного вірусного ураження, зокрема інфікованість вірусом огіркової мозаїки окремих насаджень берези повислої становить 16–23%, а 10–12 та 6–8% дерев осики та ліщини звичайної відповідно інфікуються карлавірусами. До 63% базидіоміцетів уражуються ізометричними, ниткуватими та паличкоподібними вірусами. Ці проблеми посилюються зі зміною клімату (рис. 1).

У цьому контексті важливим завданням є створення нових сортів рослин, стійких до вірусних інфекцій, і розроблення екологічно безпечних методів захисту агрофітоценозів від вірусних хвороб (вірозів) [5].

В Україні перші широкомасштабні вірусологічні дослідження було розпочато у 1962 р. зі створенням першої кафедри вірусології (єдиної в колишньому Радянському Союзі) у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка. У розвиток кафедри в різний час значний внесок зробили висококваліфіковані викладачі і відомі вчені: Н.П. Корнюшенко, М.К. Толпчій, В.Г. Байшева, О.В. Сидоренко, Ж.А. Дулевич, Н.В. Тайкова, С.М. Московець, А.Л. Бойко, В.П. Поліщук, І.Г. Будзанівська, Л.Т. Міщенко. Академік А.Л. Бойко очолював кафедру 26 років, заснував наукову школу досліджень структури та функції вірусів за різних екологічних умов «Структура і функції вірусів за різних екологічних ситуацій». У результаті цієї роботи

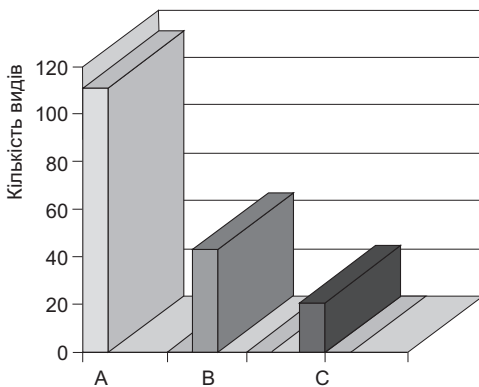


Рис. 1. Діагностовані види вірусів сільськогосподарських і лісових культур: А — у світі; В — Європі; С — Україні

вітчизняні вірусологи здобули чимало цінних відомостей про властивості низки нових вірусів соняшнику, хмелю, пшениці, ефіроолійної троянди та інших культур.

Останніми роками широкого застосування набули молекулярні методи досліджень, що дало змогу розширити можливості і поглибити знання за напрямом екології вірусів рослин. Молекулярна екологія уможливила моніторинг поширення вірусів у ґрунтовому, водному, повітряному середовищах і різних екосистемах та прогнозування епіфітотії вірусних захворювань [5].

В Україні немає загальнодержавної програми з проблем біобезпеки в АПК та моніторингу фітовірусів, а наукові дослідження з вірусології рослин не узгоджені між собою, їх проводять безсистемно в наукових установах НАН України, НААН і закладах вищої освіти, що ускладнює проведення консолідованих вірусологічних досліджень.

Дослідження з питань вірусології виконують у межах програм НААН на 2016–2020 рр.: «Агроекологія» — Інститут агро-екології і природокористування НААН, «Сільськогосподарська мікробіологія» — Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН, «Плодове та декоративне садівництво» — Інститут садівництва НААН, «Картоплярство» — Інститут картоплярства НААН, «Виноградарство і виноробство» — ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова», «Захист рослин» — Інститут захисту рослин НААН, «Цукрові буряки» — Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН.

Вірусні хвороби спричиняють на рослинах низку симптомів: мозаїки, некрози, хлорози, карликовість, різнопланові деформації.

Вірусна інфекція негативно впливає на перебіг фізіолого-біохімічних процесів у рослинах. Зокрема, продуктивність куцїння в уражених зернових рослинах на 72–95% є нижчою, ніж у здорових, зменшується уміст хлорофілу й каротиноїдів, порушується процес утворення зерна та погіршується його якість. Кількість зерен у колосі і їх маса знижуються на 29,2–54,5%. У бобових рослин знижується здатність до азотофіксації, погіршується теплостійкість рослин. У буряків, уражених вірусом

мозаїки буряку, цукристість коренеплодів у середньому нижча на 1,7–2%. Х-вірус картоплі знижує уміст крохмалю в бульбах картоплі до 2%. У лісових екосистемах віруси спричиняють симптоми розтріскування кори дерев, на листках — крапчасту мозаїку тощо. До таких вірусних хвороб належать представники: *Potex*-, *Tobamo*-, *Poty*-, *Nepo*- та *Ilarviruses* груп. Також багато вірусів було ідентифіковано в квіткових лісових рослинах. Ці патогени є потенційною загрозою — знижують продуктивність лісових деревостанів, чим завдають збитків економіці лісового господарства загалом [6].

Віруси рослин мають здатність досить швидко розповсюджуватися в біоценозах. Вони можуть поширюватися завдяки механічному контакту рослин, під час вегетативного розмноження через бульби, живці, цибулини, комахами переносниками (кліщми, попелицями, нематодами, грибами).

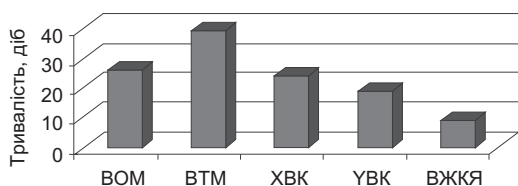
Передавання за допомогою насіння може відбуватися кількома способами. Вірус може перебувати всередині насіння (віруси кільцевої плямистості тютюну, штрихуватої мозаїки ячменю, огіркової мозаїки) або міститися на поверхні насінневої шкірки (вірус тютюнової мозаїки).

Передавання вірусів у процесі вегетативного розмноження рослин може здійснюватися за допомогою бульб (Х-вірус картоплі), цибулин і черенків. Найекологічніший шлях контролю вірусних хвороб — використання вірусостійких сортів [7].

До переносників вірусів, які спричиняють захворювання найбільш економічно важливих культур, належать кліщі, попелиці, цикадки, білокрилки та жуки. За допомогою переносників віруси з хворих рослин поширюються на великі відстані до здорових рослин і розмножуються у них [8].

Вірусні хвороби можуть передаватися також через ґрунт. Вірусні частки від 10-ти до 40-ка діб можуть міститися у відмерлих рештках рослин. Скажімо, вірус огіркової мозаїки (ВОМ) зберігається упродовж 29-ти діб, Х-вірус картоплі (ХВК) — 25, вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) — 39-ти діб (рис. 2).

Для діагностики вірусних інфекцій нині використовують такі методи: візуальну діагностику, біологічне тестування, електронну мікроскопію, серологічні методи, імуно-



**Рис. 2. Локалізація деяких фітовірусів у ґрунт: ВОМ — вірус огіркової мозаїки, ВТМ — вірус тютюнової мозаїки, ХВК — X-вірус картоплі, УВК — Y-вірус картоплі, ВЖКЯ — вірус жовтої карликовості ячменю**

ферментний аналіз, полімеразну ланцюгову реакцію, сиквенування ділянок нуклеїнових кислот і філогенетичний аналіз [9].

Останніми роками широкого застосування набули молекулярні методи досліджень, що дало змогу розширити можливості і поглибити знання за напрямом екології вірусів рослин [10]. Знання характеристик вірусу (ідентифікація вірусів) та його інфекційного процесу є першими кроками з розроблення відповідних фітосанітарних стратегій для виробництва рослин на безвірусній основі та підвищення рівня продуктивності аграрного і лісового секторів економіки [11].

**Мета досліджень** — провести аналіз уже відомих результатів вірусологічних досліджень та вивчити вірусні хвороби в агроценозах і лісових екосистемах.

**Матеріали та методи досліджень.** Рослинні зразки відбирали через візуальне обстеження рослин на наявність типових вірусоподібних симптомів (мозаїки, некрозів, хлорозів, деформацій листової пластинки і плодів та ін.). Ідентифікацію вірусів здійснювали за допомогою імуоферментного аналізу, використовуючи комерційні тест-системи (LOEWE, Німеччина) згідно з рекомендаціями виробника. Результати реєстрували на автоматичному ІФА-аналізаторі Termo Labsystems Opsis MR США із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink за довжини хвилі 405 нм. За позитивний приймали показник  $E_{405}$ , що втричі перевищував показник негативного контролю. Для порівняння результатів використовували середній показник (середньоарифметичне), оскільки внесення зразків проводили в 3-разовій повторності. Для виділення тотальної РНК зі зразків

використовували кіти для виділення РНК фірм Invitrogen (США), Promega (США), Qiagen (Велика Британія), Omega (США). Для детекції вірусів методом ЗТ-ПЛР використовували кіт one-step-RT-PCR (Qiagen, Велика Британія). Реакцію проводили за рекомендацією виробника. Аналіз продуктів ампліфікації здійснювали за допомогою електрофорезу в 1,5%-му агарозному гелі з використанням стандартних маркерів Gene Ruller 100 bp DNA Ladder plus (Fermentas, Латвія). Ці дослідження було проведено на кафедрі вірусології Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Для боротьби та профілактики застосовували препарат Біоекофунге на основі композицій грибів базидіоміцетів на рослинах гречки, сої, соняшнику, томату на базі НУБіП. Також для оздоровлення та профілактики рослин використовували процес імітованої мікрогравітації за допомогою установки кліностата «Еколог». У роботі було задіяно горизонтальні та вертикальні оберти контейнерів з об'єктами. Розрахунки математико-статистичних показників отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel з урахуванням t критерію Ст'юдента та вбудованих алгоритмів відповідних програмних пакетів.

**Результати досліджень.** Інститут агро-екології і природокористування НААН у співдружності з кафедрою вірусології ННЦ «Інститут біології та медицини», НУБіП, Інститутом мікробіології та вірусології імені Заболотного НАН України та Інститутом сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН виконали цикл досліджень, важливих для АПК України.

Результати спільних досліджень Інституту агро-екології і природокористування НААН і Національного університету біоресурсів і природокористування України щодо профілактики вірусних інфекцій рослин за використання композиції грибів базидіоміцетів проходять реєстрацію (рис. 3). Цю розробку апробовано на Сквирській дослідній станції (гречка, соя, соняшник, томати), і вона проходить реєстрацію [13].

Для профілактики вірусних захворювань рослин нами запропоновано використання

імітованої мікрогравітації як ефективний захід у оздоровленні рослин [14].

Установка моделі кліностата «Еколог» модифікована співробітниками лабораторії екології вірусів та біобезпеки і виготовлена фахівцями ННЦ «Інститут механізації та електрифікації сільського господарства» НААН (рис. 4).

Наші дослідження підтвердили, що створена модель кліностата дає змогу оздоровити рослини в стадії розсади. За допомогою процесу мікрогравітації у 1,5–2,3 раза знижується уміст вірусних антигенів у хворих рослин. Для оздоровлення можна застосовувати хворі і здорові рослини, оскільки здорові рослини стають стійкими до інших хвороб.

Важливим етапом у запобіганні розвитку і поширенню вірусних інфекцій є вчасна діагностика з використанням методів полімеразно-ланцюгової реакції.

З цією метою в Інституті агроекології і природокористування НААН широко застосовують діагностичні технології для детекції вірусів: мозаїки кавуна-2, жовтої мозаїки цукіні, огіркової мозаїки.

Спільно з кафедрою вірусології Київського національного університету імені Тараса Шевченка проведено моніторинг зазначених вірусів в агроценозах у 8-ми областях України для порівняння властивостей виявлених фітовірусів із відомими у світі. У результаті віруси жовтої мозаїки цукіні, огіркової мозаїки, мозаїки кавуна-2 та

тютюнової мозаїки зареєстровано у світовому генетичному банку даних (GenBank) — це вперше було зроблено від України [15].

Методом імуоферментного аналізу проведено моніторинг лісових екосистем на наявність вірусних антигенів, у результаті чого вперше в Україні було виявлено вірус тютюнової мозаїки на рослинах клепа гостролистого і платана. Вірус огіркової мозаїки діагностовано на рослинах берези. Антигени іларвірусу було виявлено на ліщині звичайній та осиці. Карлавірус виявлено на рослинах ліщини звичайної, осики та бука звичайного (рис. 5).

Слід зазначити, що вчасна діагностика, проведення профілактичних заходів із

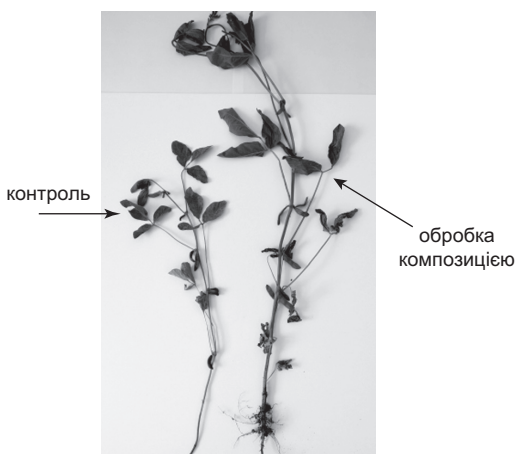


Рис. 3. Дія препарату на рослині

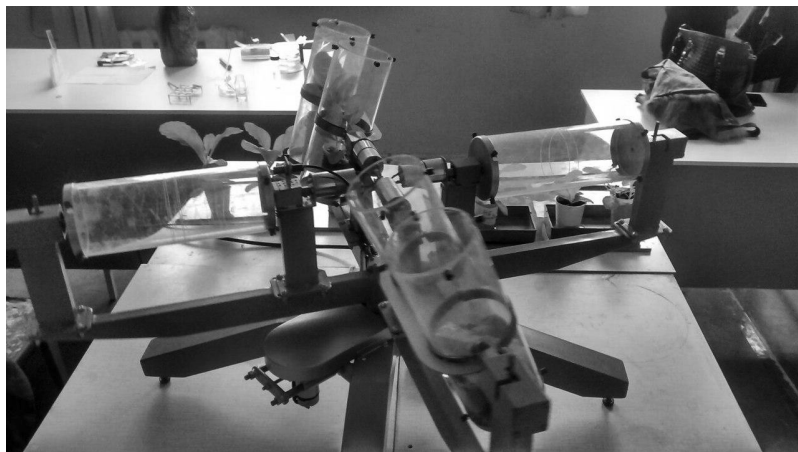
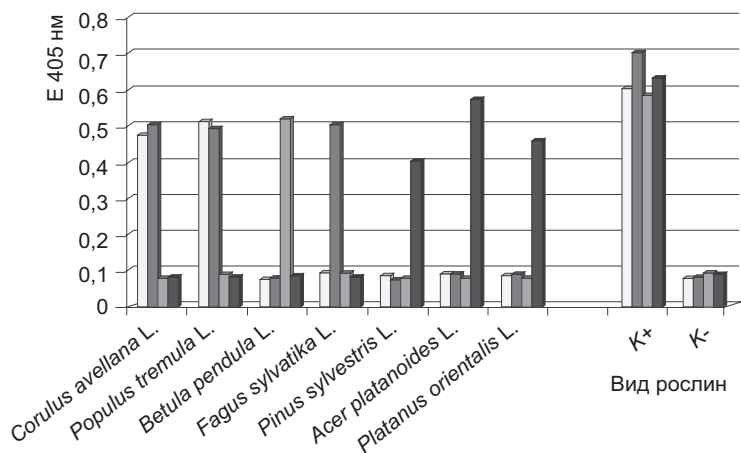


Рис. 4. Загальний вигляд кліностата «Еколог»





**Рис. 5.** Діагностика вірусних захворювань імуноферментним аналізом у лісових екосистемах: □ — іларвірус; ■ — карлавірус; ▒ — вірус огіркової мозаїки; ■ — вірус тютюнової мозаїки

виявлення рослин-резерваторів і переносників фітовірусів, впровадження стійких сортів та отримання безвірусного садивного і насінневого матеріалів є запорукою дієвості заходів контролю та боротьби з вірусними хворобами рослин. Розуміння молекулярних механізмів взаємодії «вірус-хазяїн» відкриває широкі можливості під час розроблення засобів профілактики і лікування вірусних

інфекцій. Моніторинг розповсюдження вірусних інфекцій, дослідження генетичної мінливості вірусів рослин дають змогу передбачити еволюційні зв'язки, зміни ступеня вірулентності, відтворення можливих шляхів поширення і прогнозування ймовірності виникнення нових патогенних штамів, здатних уражувати рослини та локалізуватися в ґрунтовому і водному середовищах.

### Висновки

В Україні немає загальнодержавної програми з проблем біобезпеки в рослинництві та узагальненої інформації щодо поширення патогенів вірусної природи. Відповідно потребують консолідації зусиль наукові дослідження із вірусології рослин. Тому актуальним є питання створення депозитарію основних вірусів, що уражують сільськогосподарські і лісові культури, та наукового центру «Вірус» із відповідного напрямку досліджень на базі Інституту агроєкології і природокористування НААН, Інституту садівництва НААН, Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН та ін. Це забезпечить умови раціонального використання наявного

лабораторного обладнання, матеріалів і реактивів, необхідних для проведення різнопланових досліджень шкодочинності, різноманіття, шляхів поширення, заходів профілактики та контролю розповсюдження вірусів рослин тощо. Крім того, можна буде оперативно залучати кадрові ресурси цих установ для спільного виконання комплексних досліджень, а фінансові ресурси — для закупівлі високовартісного обладнання, матеріалів і реактивів та їх ефективного використання. У подальшому на основі досліджень учених фітовірусологів можна буде розробити і запровадити єдині підходи до проведення моніторингу, профілактики та оздоровлення аграрних і лісових екосистем від вірусних інфекцій.

Furdychko O.<sup>1</sup>, Boiko A.<sup>2</sup>, Demianiuk O.<sup>3</sup>, Tsvihun V.<sup>4</sup>

*Institute of agroecology and natural management of NAAS, 12 Metrolohichna Str., Kyiv, 03143, Ukraine; e-mail: agroecologygnaa@gmail.com*

**Virus diseases of plants in agroecology and forest ecosystems: diagnostics and prevention**

**Goal.** To analyze the already known results of virological tests and to investigate virus diseases in agricultural lands and forest ecosystems. **Methods.** Visual examination, enzyme-linked immunosorbent assay in various modifications, allocation of total RNA from plant material, purification of cDNA, electrophoresis of nucleic acids, CT-PCR, and method of statistical data processing. **Results.** They analyzed the results of domestic and foreign researches on phytovirology. Joint research was conducted in the Institute of Agroecology and environmental management of NAAS and the National University of life and environmental Sciences of

Ukraine regarding the prevention of viral infections of plants at the use of the composition of basidiomycetes fungi. For the recovery of plants from viral diseases, they used a process of simulated microgravity. **Conclusions.** Taking into account scientific, environmental and social importance of biological security in agriculture as an important condition of balanced development of Ukraine and the production of quality food products, agriculture and forestry should be based primarily on the use of quality certified disease-free seed of resistant varieties. So pressing is the problem of the creation of the Depository of the main viruses affecting agricultural and forest crops, and scientific center «Virus», which was initiated by the Bureau of the Presidium of the National Academy of agrarian sciences of Ukraine on 18 September 2019.

**Key words:** *phytovirology, biosafety, crops, yield, varieties, planting material, symptoms.*

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovivnyk202002-01>

## Бібліографія

1. Бойко А.Л. Безпека і віруси. Екологічна безпека агропромислового виробництва; за ред. О.І. Фурдичка, А.Л. Бойка. Київ: ДІА, 2013. С. 18–44.
2. Бойко А.Л., Цвігун В.О., Орловський А.В. та ін. Антивірусні сироватки для діагностики ВТМ та ВПЗТ на овочевих культурах. *Аграрна наука — виробництво*. 2018. № 2 (84). С. 21.
3. Fauquet M., Mayo M.A., Maniloff J. et al. Virus taxonomy. Eight report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London: Academic Press, 2006. 1259 p.
4. Дем'яненко Ф.П., Будзанівська І.Г., Поліщук В.П., Головенько О.Л. Використання математичних моделей для оцінки розповсюдженості фітовірусів в деяких регіонах України. 2-га Міжнар. конф. «Біоресурси та віруси». Київ, 1998. С. 79.
5. Поліщук В.П., Будзанівська І.Г., Рижук С.М. та ін. Моніторинг вірусних інфекцій рослин в біоценозах України. Київ: Фітосоціоцентр, 2001. 220 с.
6. Correa R.L., Silva T.F., Simoes-Araújo J.L. et al. Molecular characterization of a virus from the family *Leoviridae* associated with cotton blue disease. *Archives of Virology*. 2005. № 150. С. 1357–1367. doi: 10.1007/s00705-004-0475-8
7. Karen-Beth G. Schoithof. Tobacco mosaic virus: A Model System for Plant Biology. *Phytopathology*. 2005. V. 42, № 4. P. 13–22.
8. Antignus Y., Wang Y., Pearlsman M. et al. Biological and Molecular Characterization of a New *Cucurbit-Infected Tobamovirus*. *Virology*. 2001. V. 91, № 6. P. 565–571. doi: 10.1094/phyto.2001.91.6.565
9. Mauck K.E., De Moraes C.M., Mescher M.C. Biochemical and physiological mechanisms underlying effects of *Cucumber mosaic virus* on host-plant traits that mediate transmission by aphid vectors. *Plant, Cell & Environment*. 2014. V. 37. P. 1427–1439. doi: 10.1111/pce.12249
10. Rudneva T.O., Shevchenko T.P., Budzanivska I.G. et al. Polischuk Virus diseases of *Cucurbitaceae* plants on the territory of Ukraine. *Plant science*. 2006. № 6. P. 508–510.
11. Boyko A., Opryshko N., Tsvigun V., Orlovskaya G. Diagnosis of seed viral infection of vegetable crops. *Агроєкологічний журнал*. 2015. № 3. С. 93–97.
12. Tsvigun V., Shamraichuk V., Bysov A. et al. Novel viral pathogens of vegetable crops in Ukraine and Belarus. *Вісник Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія*. 2012. № 62. С. 54–56.
13. Бойко О.А., Григорюк І.П., Мельничук М.Д. Гриби *Basidiomycetes*: властивості в екологічних нішах, продуценти біологічно активних речовин. *Агроєкологічний журнал*. 2011. № 3. С. 69–75.
14. Бойко А.Л., Орловський А.В., Цвігун В.О., Сус Н.П. Установа (кліностаг) для формування імітованої мікрогравітації. *Аграрна наука — виробництво*. 2018. № 2 (84). С. 7–8.
15. Руднева Т.О., Шевченко Т.П., Бисов А.С. та ін. Віруси рослин родини *Cucurbitaceae*, що циркулюють в агроценозах України: розробка діагностикумів на основі імуноферментного аналізу та їх застосування: методичні рекомендації. Київ, 2010. 11 с.