

МОНІТОРИНГ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН РОДИНИ ASTERACEAE

Описано результати моніторингу ураженості вірусними хворобами лікарських рослин родини Складноцвітих (Айстрових) — ехінацеї пурпурової, лопуха великого та якону за умов вирощування у Київській та Полтавській областях. На ехінацеї пурпурової виділено кілька нових, раніше неописаних вірусів, а на рослинах лопуха великого та нової інтродукованої нами рослини якон вперше виявлено ниткоподібні вірусні частки. Для ехінацеї відзначено щорічне збільшення вірусного навантаження на рослину, різноманітність та суворість симптомів.

вірусні хвороби, моніторинг, лікарські рослини, симптоми, діагностика фітоірусів, *Echinacea purpurea* (L.) Moench., *Arctium lappa* L., *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.

Одержанню високих врожаїв лікарських рослин перешкоджають, перш за все, іхні хвороби. Перефармальна більшість видів вирощується в культурі, тому, на відміну від природних фітоценозів, лікарські рослини стають більш чутливими до фітопатогенів різної природи. Однією з провідних причин зменшення врожаю є сприйнятливість лікарських рослин до уражень багатьма шкідливими організмами. Багаторічними дослідженнями доведено, що без здійснення належних заходів втрати врожаю лікарських рослин від комплексу хвороб можуть сягати 25—60% надземної маси рослин і 25—30% їх підземних органів [1]. Лікарські рослини на теренах Співдружності Незалежних Держав уражуються різноманітними шкідниками, а також збудниками грибної, бактеріальної та вірусної етіології [4, 3, 2, 1]. Найменш вивченими є вірусні хвороби, що пояснюються складністю їх діагностики. Нині в Україні є лише поодинокі дослідження вірусних хвороб лікарських рослин [5, 6]. Актуальність вивчення вірусів лікарських культур зумовлена тим, що вони становлять серйозну загрозу, оскільки завдають рослинам подвійної шкоди: викликають суттєве зменшення врожаїв через пригні-

А.В. ДАЩЕНКО,
здобувач

Національний університет біоресурсів
і природокористування України

ченій розвиток уражених рослин, а також є причиною значних змін вмісту та складу біологічно активних речовин, що в кінцевому результаті призводить до погіршення якості сировини [2, 7—9, 6].

Обстеження плантацій лікарських рослин в Україні на наявність вірусних хвороб та їх впливу на якість сировини проведено лише на кількох культурах [6]. Нашу увагу привернула ехінацея пурпурова, оскільки у роботі А.А. Кореневої [6] було ідентифіковано лише один вірус огіркової мозайки (ВОМ), хоча постійно спостерігаємо різноманітну симптоматику протягом вегетаційного періоду. Тому, виходячи з вищевикладеного, моніторинг вірусних хвороб окремих недосліджуваних ніком раніше лікарських рослин у Лісостеповій зоні України, зокрема з родини Складноцвітих (Айстрових), був метою нашої роботи.

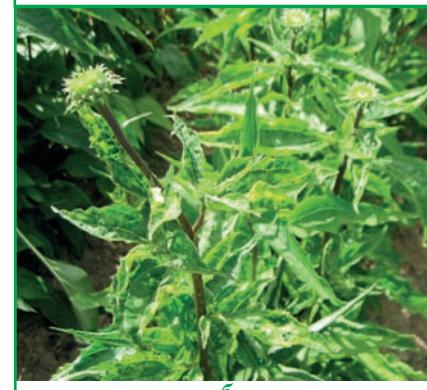
Методи дослідження. Вірусологічний моніторинг провадили на посівах ехінацеї пурпурової (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.) сорту Принцеса, лопуха великого (*Arctium lappa* L.) і якону (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) сорту Юдинка в Київській та Полтавській областях. Морфологію вірусних часток вивчали методом трансмісійної електронної мікроскопії [11]. Препарати досліджували за допомогою електронного мікроскопа JEM 1230 (JEOL, Японія). Ідентифікацію вірусів здійснювали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (сендвіч-варіант) з використанням комерційних тест-систем фірми LOEWE (Німеччина). Результати реакції реєстрували на рідері Termo Labsystems Optris MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation QuickLink при довжинах хвиль 405/630 нм. За дос-

товірні брали значення, що перевищували негативний контроль у три рази [12]. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили відповідно до методики [13]. Результати обробляли статистично за параметричними критеріями нормального розподілу варіант [14] за комп’ютерною програмою Microsoft Excel.

Результати дослідження. Обстеження посівів ехінацеї пурпурової протягом 2009—2013 рр. показали наявність рослин із симптомами вірусного захворювання, а саме: хлоротична мозайка, бугристість, випуклість на листках (30—45%) у фазі бутонізації (рис. 1, 2).



а



б

Рис. 1. Скручування, хлоротична мозайка листків на ехінацеї сорту Принцеса у фазі бутонізація — початок цвітіння (а) та деформація листкової пластинки (б)

Жовта мозайка, бугристість, випуклість на листках відмічена на 28% рослин ехінацеї пурпурової і в усі наступні періоди спостереження (рис. 2, 3).

Симптоми вірусного захворю-



Рис. 2. Симптоми жовтої кільцевої плямистості, випуклості та деформації листкової пластинки на ехінацеї пурпуровій



Рис. 4. Рослини ехінацеї пурпурової з симптомами вірусної інфекції у фазах початок цвітіння (а) та його завершення (б)



Рис. 3. Окремі рослини ехінацеї пурпурової сорту Принцеса з симптомами жовтої кільцевої мозаїки і плямистості

вання на рослинах ехінацеї в процесі вегетації посилювалися з кожним наступним укосом та роком вирощування, ставали більш сировими, оскільки інфекція накопичувалася в кореневій системі багаторічних рослин. На рисунку 4 добре помітно, як світло-зелена хлоротичність на листках у фазі початок цвітіння переходила у жовту плямистість, що займала майже всю листкову пластинку у фазі завершення цвітіння культури. Нами також показано значне зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів і біологічно активних речовин у таких інфікованих вірусом рослинах [18].

Симптоми, аналогічні описаним вище, спостерігали також на рослинах ехінацеї навіть вже першого року вирощування, де добре помітне зменшення кореневої системи та розміру листків (рис. 5).

У рослинах ехінацеї у 2012 р. виявлені сферичні віріони. Діаметр вірусних часток становив 90 ± 10 нм (рис. 6). За морфологією вірус подібний до вірусу плямистого в'янення томатів (ВПВТ) *Tomato spotted wilt virus* (родина Bunyaviridae, рід *Tospovirus*), який характеризується розмірами 80...120 нм [19], та



Рис. 5. Ехінацея сорту Принцеса першого року вегетації з симптомами вірусної інфекції за умов вирощування у Полтавській обл., 2013 р.: а — окремі листки (здоровий ліворуч, 1), б — рослина (здорова праворуч)

Impatiens necrotic spot virus (вірус не-кіротичної крапчастості бальзаміну, ВНКБ). Слід зазначити, що саме ці віруси вже були діагностовані в рос-

линах ехінацеї пурпурової в Болгарії [9, 10] та Литві [16].

Окрім сферичних, у листках ехінацеї виявлено й паличкоподіб-

ні віріони розміром 40 ± 10 нм та 100 ± 10 нм $\times 17$ [18] і такі, що мали три модальні довжини: 40 ± 5 ; 70 ± 5 та $130 \pm 30 \times 17 \pm 1$ нм (рис. 7).

Віруси, представлені на рисунку 7, мають вигляд жорстких паличок з чітким каналом, який добре видно у електронному мікроскопі. За морфологією вони подібні до вірусів родини Virgaviridae. До її складу входять 6 родів: *Hordeivirus*, *Furovirus*, *Pecluvirus*, *Pomovirus*, *Tobamovirus*, *Tobravirus*. Проте із перерахованих родів перші чотири мають дуже вузьке коло рослин-хазій. До тобамовірусів описані нами віруси з ехінацеї ми віднести також не можемо, оскільки довжина віріонів суттєво відрізняється. А от за морфологією найбільш близькими до виявлених є тобравіруси [19], інфікування рослин ехінацеї пурпурової вірусом погримковості тютюну (*Tobacco rattle virus*), який належить саме до цього роду, зареєстровано в Литві [15, 16]. Тобравіруси передаються нематодами *Trichodorus* і *Paratrichodorus* (*Trichodoridae*), що розповсюджені і в Україні.

Цікаві результати одержали також при дослідженні коренів дворічних польових рослин ехінацеї пурпурової — це паличкоподібні віріони розміром $100—150 \times 12$ нм (рис. 10). Отже, віруси локалізовані і в коренях.

Оскільки нами виявлені віруси сферичної форми (рис. 6), що за морфологією подібні до роду *Tospovirus*, типовими представниками якого є ВПВТ і ВНКБ, які раніше вже діагностовані в Болгарії та Литві [9, 10, 16], доцільно було перевірити наші рослини на ці віруси. Результати ІФА показали наявність у рослинах ехінацеї пурпурової ан-

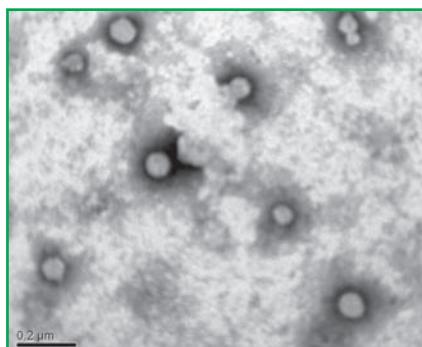


Рис. 6. Електронограма сферичних віріонів, виявленіх у листках ехінацеї пурпурової сорту Принцеса, (липень 2012, Полтавська обл., JEM-1230 з приставкою)

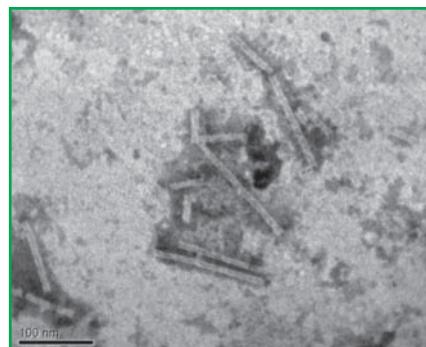


Рис. 7. Електронограма віріонів, виявленіх у рослинах ехінацеї пурпурової, сорт Принцеса, (Київська обл., 2010 р., JEM-1230 з приставкою)

тигенів до ВПВТ, TSWV (рис. 9). Одержані дані ІФА щодо виявлення в Україні ВПВТ та ВОМ [6] узгоджуються з даними світової наукової літератури [9, 10, 16]. Паличкоподібні віруси не були ідентифіковані, і до тобравірусів не належать. Це може свідчити про те, що виявлені віруси не описані раніше на ехінацеї або ж є відомими вірусами з дещо зміненими властивостями внаслідок потрапляння їх до нової рослинної хазіїна — ехінацеї пурпурової, що суттєво ускладнює їх ідентифікацію.

Методом реверсної полімеразної реакції (РТ-ПЛР) у 2013 р. вдалося одержати кДНК до РНК вірусу за праймером до УВК (Y-вірусу картоплі). На рисунку 10 чітко помітна наявність продукту ампліфікації розміром 365 п.н., що відповідає кДНК до РНК Y-вірусу картоплі для двох зразків ехінацеї.

Тобто незаперечним підтвердженням наявності потівірусу в рослинах ехінацеї є виявлення його методом зворотної полімеразної ре-

акції (ЗТ-ПЛР). Ці результати також перегукуються з даними вчених із Болгарії [10]. Проведені нами дослідження вірусних хвороб ехінацеї впродовж 2009—2013 рр. показали значну подібність симптомів її ураження в Україні з 2006 року [6], проте, окрім вірусу огіркової мозайки, були виявлені неідентифіковані паличкоподібні віруси, вірус плямистого в'янення томатів (ВПВТ) та потівірус (Y-вірусу картоплі).

Тобто, не виключена можливість, що ехінацея пурпурова уражується потівірусом за умов України. Це узгоджується з даними наукової літератури [10]. Таким чином, проведені нами дослідження вірусних уражень ехінацеї пурпурової яскраво продемонстрували наявність кількох збудників та факт щорічного збільшення вірусного навантаження, різноманітності та суровості симптомів.

Моніторинг рослин лопуха великого (*Arctium lappa*), проведений нами у 2011—2013 рр., показав наявність на листках симптомів жов-

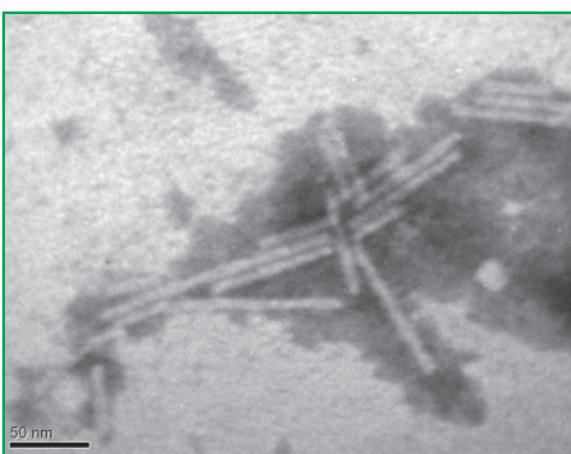


Рис. 8. Електронограма віріонів, виявленіх в середній частині кореня ехінацеї, (Полтавська обл., 2011 р.)

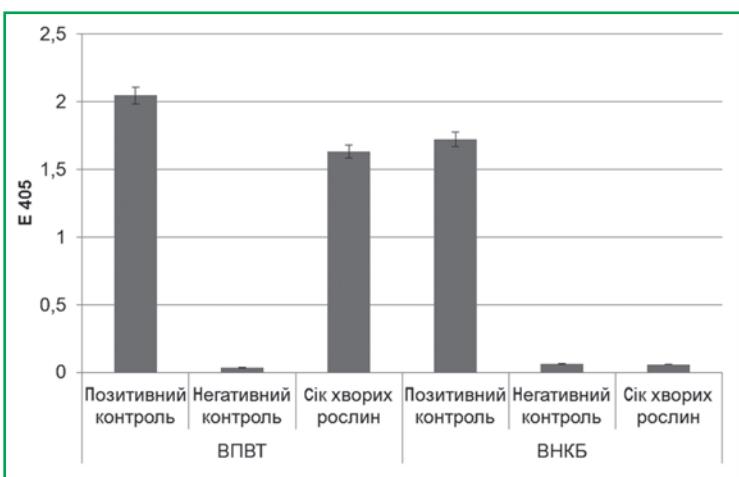


Рис. 9. Вміст антигенів вірусів (ВПВТ, ВНКБ) у зразках ехінацеї пурпурової, відібраних у Полтавській обл. 2012 р.

то-зеленої та хлоротичної мозаїки (рис. 11).

У рослинах лопуха великого з описаними вище симптомами виявлено вірусоподібні частки розміром $180 \pm 20 \times 11$ нм, $100 \pm 10 \times 12$ та 205×11 нм (рис. 11).

Аналіз літературних джерел показав, що за розмірами досліджуваний вірус не є схожим до жодного з описаних раніше на лопуху, хоча найближче все-таки підходить *Burdock mottle virus*, BuMoV (вірус плямистості лопуха), що як і BuYV, *Burdock yellows virus* (вірус жовтухи лопуха), вперше був виділений у Японії із рослин лопуха великого, який є його природним хазяїном (Inouye, 1973 [21]). На листках *Arctium lappa* вірус викликає симптоми слабкого хлорозу та представляє собою ниткоподібні віріони розміром 250×17 нм. Нині вірус не має визначеного таксономічного положення. Проте нами вперше встановлено вірусну природу захворювання лопуха великого в Лісостеповій зоні, описано його симптоматику та визначено морфологію збудника.

Під час інтродукції в умовах України нової лікарської та овочевої культури — якону (також із родини Айстрових) — нами виявлено, що рослини у деяких агроценозах були уражені комплексом шкідників і хвороб [20]. Також спостерігали рослини якону з симптомами

мозаїчності листкової пластинки, у яких виявлено ниткоподібні вірусні частки (рис. 12).

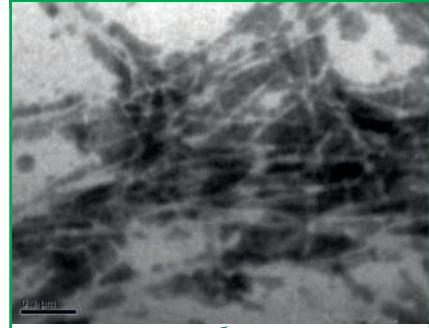
У процесі подальших досліджень обов'язковим є ідентифікація виявлених вірусів лопуха великого і якона з метою розробки заходів захисту даних культур від фітопатогенів.

ВИСНОВКИ

Під час обстеження виробничих посівів лікарських рослин методом візуальної діагностики виявлено культури родини Складноцвітих (ехінацея, лопух, якон), які були найбільше уражені вірусними хворобами. На ехінацеї пурпурової показано різноманітність симптомів захворювання, що викликаються вірусом плямистого в'янення томатів, Y-вірусом картоплі та неідентифікованими паличкоподібними вірусами різних розмірів. Вірусна етіологія хвороб доведена за результатами візуального виявлення симптомів ураження типових для вірусних хвороб, а також методом електронної мікроскопії (виявлено паличкоподібні, ниткоподібні та сферичні віріони), віруси ідентифіковано методами ІФА та ПЛР. Встановлено, що введений у культуру лопух великий та нова інтродукова-



а



б

Рис. 12. Симптоми живото-зеленої мозаїки на листках якона (а) та електронограма ниткоподібних вірусних часток, виявлених у листках якона (б)
(Полтавська обл., 2012, JEM 1230 з приставкою)

на нами рослина якон уражуються неідентифікованими ниткоподібними вірусами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глущенко Л.А. Поширення та шкідливість хвороб лікарських рослин / Глущенко Л.А. // Агроекологічний журнал — 2013. — № 2. — С. 91—94.

2. Хотин Ю.А. Вирусные болезни лекарственных растений семейства пасленовых : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.06 „Вірусологія“ / Ю.А. Хотин. — М.: 1974. — 22 с.

3. Князева Т.П. Болезни лекарственных и эфиромасличных культур / Князева Т.П., Стройков Ю.М. — М.: Изд-во МСХА, 1991. — 68 с.

4. Поликсенова В.Д. Микозы культивируемых лекарственных растений / Поликсенова В.Д., Кобзарева В.С., Кориняк С.И // Пряно-ароматические и лекарственные растения: перспективы интродукции и использования. Мат-лы докладов междунар. конф. (31 мая 1999 г.). — Минск, 1999. — С. 99—101.

5. Здорові лікарські рослини / А.Л. Бойко, Г.В. Муж, Н.А. Сенчугова та ін. // Захист рослин. — 1999. — № 10. — С. 24—25.

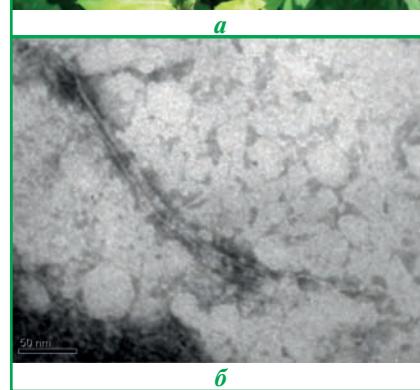
6. Коренєва А.А. Біологічні властивості вірусів лікарських рослин. — Автореф. канд. біол. наук, спец. 03.00.06 — вірусологія. — Київ, 2009. — 24 с.

7. Bellardi M.G. Effect of Cucumber mosaic virus infection on the quality of *Echinacea purpurea* root extracts / Bellardi M.G., Rubies-Autonell C., Hudaib M. // Journal of Plant Pathology. — 2001. — Vol. 83, № 1. — P. 69.

8. Dikova B. Polyphagous viruses AMV and CMV on some essential oil-bearing and medici-



а



б

Рис. 11. Фрагмент рослини лопуха великого (*Arctium lappa*) з симптомами мозаїчності та попелющими (а) й електронограма вірусів, які виявлені на рослинах лопуха великого з колоніями попелющ (б) (2012 р., JEM-1230 з приставкою)

Рис. 10. Електрофореграма продуктів ЗТ-ПЛР потівірусу в рослинах ехінацеї: 1 — негативний контроль, К-; 2 — маркер ДНК 25, 50, 75, 100, 150, 300, 400, 500, 700 (кб); 3 — позитивний К + контроль, 365 п.н.); 4 — ехінацея, 2-й рік вирощування; 5 — ехінацея, 3-й рік вирощування

nal plants in Bulgaria // Plant Science. — Sofia, 2006. — 43. — P. 372—376.

9. Dikova B. Tomato spotted wilt virus on some medicinal and essential oil-bearing plants in Bulgaria // Bulgarian Journal of Agricultural Science. — 2011. — Vol. 17 (3). — P. 306—313.

10. Dikova B. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield / Dikova B., Djourmanski A., Lambev H. // Матеріали міжнародн. наук. конф. «Інноваційні підходи к изученню ехинацеї». — Полтава, 25—25 июня 2013 г. — Полтава: Дивосвіт, 2013. — С. 36—45.

11. Саліга Ю.Т. Електронна мікроскопія біологічних об'єктів / Саліга Ю.Т., Снітинський В.В. — Львів, 1999. — 152 с.

12. Clark M.F. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses / Clark M.F., Adams A.N. // J. Gen. Virology. — 1977. — Vol. 34. — P. 574—586.

13. Мельничук М.Д. Молекулярна діагностика та ідентифікація X-, Y-, M-, S-, L-вірусів картоплі (*Solanum tuberosum* L.) методом по-лімеразної ланцюгової реакції (Методичні рекомендації) / Мельничук М.Д., Антіпов І.О., Спирідонов В.Г. — К.: Видавничий центр НАУ, 2008. — 22 с.

14. Лакин Г.Ф. Біометрія / Георгій Філіппович Лакин. — [3-е изд., перераб. и доп.]. — М.: Вища школа, — 1980. — 293 с.

15. Samuitienė M. Association of Tobacco rattle and Tobacco ringspot viruses with purple coneflower disease / Samuitienė M., Navalinskienė M. — Botanica Lithuanica, — 2010:16 (1): — P. 51—56.

16. Samuitienė M. Detection of Tospovirus Infection in Ornamental Plants by DAS-ELISA / Samuitienė M., Navalinskienė M., Jackevičienė E. // LUA RESEARCH PAPERS (iSSN 1648 — 116X). — 2006. — Nr. 57 (10) BIOMEDICAL SCIENCES.

17. Navalinskienė M. Natural occurrence of Tomato ringspot nepovirus in ornamental plants in Lithuania / Navalinskienė M., Samuitienė M. // Transactions of the Estonian Agricultural University (Tartu), 2000. — Vol. 209: — P. 140—143.

18. Вірусні інфекції лекарственных растений і их влияние на содержание биологически активных веществ / Мищенко Л.Т., Дуніч А.А., Дащенко А.В., Загуменникова Т.Н., Сидельников Н.И. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2013. — № 9. — С. 20—25.

19. Virus taxonomy. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / eds. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz. — Elsevier. — 2012. — 1327 p.

20. First report about viral infection of yacon plants in Ukraine / Dashchenko A., Dunich A., Mishchenko L. // 8-th Balkan Congress of microbiology, October 2—5, 2013 Veliko Tarnovo, Bulgaria. — P. 110.

21. Inouye T. Host range and electron microscopy of burdock mottle virus, a rod-shaped virus from *Arctium lappa* L. Studies on the viruses of plants in Compositae in Japan // Berichte des Ohara Instituts für Landwirtschaftliche Biologie Okayama Universität. — 1973. — Vol. 15(4). — P. 207—218.

Дашченко А.В.

Моніторинг вірусних хвороб лекарственных растений семейства Asteraceae

Проведен моніторинг пораженості вірусними хворобами лекарственных растений семейства Сложноцветных — эхинацеї пурпурної, лопуха великого і якона при вирощуванні в Київській і Полтавській областях. На эхинацеї пурпурної виявлено декілька нових, раніше неописаних

вірусов, а на лопухе великого і новому, інтродукованому нами, растениі якона вперше виявлені нитеподобні вірусні частини. Для эхинацеї отмечено єжегодное возрастание вірусної нагружи на растение, разнообразие и суровость симптомов.

вірусні болезні, моніторинг, лекарственные растения, симптомы, диагностика фітовірусів, *Echinacea purpurea* (L.) Moench., *Arctium lappa* L., *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.

Dashchenko A.V.

Monitoring of viruses of medicinal plants of the family Asteraceae

Was held an infestation monitoring of viral diseases of medicinal plants of the family Asteraceae — coneflower (*Echinacea purpurea*), burdock and *Polymnia sonchifolia* for growing conditions in Kyiv and Poltava regions. At coneflower (*Echinacea purpurea*) are highlighted several new, previously undescribed viruses. At burdock and at new introduced plant of yacon are first discovered filamentous virus particles. For coneflower (*Echinacea*) is seen an annual increase in viral load in plant diversity and hard symptoms.

viral diseases, monitoring, herbs, symptoms, diagnosis of phytoviruses, coneflower (*Echinacea purpurea* L.) Moench., *Arctium lappa* L., *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.

Р е ц е н з е н т:
Щербатенко І.С.,
доктор біологічних наук,
Інститут мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України

УДК: 634.8: 632. 4/. 952

© Є.С. Галкіна, Н.В. Алейнікова, В.М. Шапоренко, В.В. Андреєв, 2014

ТАЛЕНДО ЕКСТРА — новий ефективний фунгіцид для захисту винограду від оїдіуму

Вивчено ефективність нового фунгіциду Талендо Екстра, к.е. в захисті винограду від оїдіуму за slabkого та епіфіtotiйного розвитку захворювання. Показано, що обробка даним фунгіцидом виноградних рослин профілактично і з прояву перших ознак оїдіуму надійно захищає їх від грибної хвороби.

виноград, оїдіум, фунгіцид Талендо Екстра, обприскування

Одним з важливих факторів, що лімітують стабільний розвиток виноградно-виноробної галузі України, є негативний вплив хвороб на виноградну рослину, який знижує якість та спричиняє часткову або повну втрату врожаю. У зв'язку з цим система оптимізації фітосанітарного стану сучасних виноградних

Є.С. ГАЛКІНА,
кандидат сільськогосподарських наук

Н.В. АЛЕЙНІКОВА,
доктор сільськогосподарських наук

В.М. ШАПОРЕНКО,
кандидат сільськогосподарських наук

В.В. АНДРЕЄВ, агроном
Національний інститут винограду
і вина «Магарач»

насаджень напряму пов'язана з кінцевим продуктом, який має відповідати сучасним вимогам споживача.

Оїдіум винограду (збудник *Uncinula necator* Berk.) — одне з основних захворювань винограду, посилення шкідливості та розширення ареалу поширення якого спостеріга-

ється в останні роки. Це пов'язано з особливостями кліматичних умов, переважанням в сортименті сортів, сприйнятливих до хвороби, а також з появою популяції патогена, стійких до фунгіцидів, що широко застосовуються. За щорічного епіфіtotiйного розвитку на Південному березі Криму втрати від даного захворювання, у разі відсутності повного хімічного контролю, можуть становити до 100% вирощеного врожаю. Розвиток оїдіуму на зелених частинах виноградного куща призводить до зниження його сили росту, потенційної врожайності та плодоносності, негативно впливає на розвиток бруньок і зелених пагонів. Ягоди, уражені хворобою, не досягають зрілості, що істотно