

вызывает системные механизмы защиты, охватывающие весь растительный организм. В связи с этим целью работы было определение содержания каллозы и фенольных соединений в проростках озимой пшеницы сортов Мироновская 808 и Ренан, как конституционных, так и индуцированных инфицированием возбудителем очковой пятнистости в диапазоне активных концентраций их титров, и сравнение накопления исследуемых веществ во времени. Выделение и количественное определение каллозы проводили по модифицированному методу Каусса и др. Для определения общего содержания фенольных соединений использовали реактив Фолина-Чокальта. Определено содержание конституционных и патоген-индуцированных каллозы и фенольных соединений в проростках сортов озимой пшеницы Мироновская 808 и Ренан. Установлено, что у проростков пшеницы относительно устойчивого сорта Ренан содержание конституционных каллозы и фенольных соединений на начальных этапах вегетации выше, чем у проростков восприимчивого сорта Мироновская 808, что связано с генетически детерминированной устойчивостью этого сорта к возбудителю очковой пятнистости. У проростков пшеницы сорта Мироновская 808 выявлено более интенсивное патоген-индуцированное накопление каллозы по сравнению с проростками сорта Ренан, но это не повлияло на суммарную эффективность защиты от патогена. Кроме того, наибольшее патоген-индуцированное накопление каллозы у проростков пшеницы относительно устойчивого сорта Ренан происходило при использовании инокулюма в концентрации 10^4 КОЕ/мл, а у проростков восприимчивого сорта Мироновская 808 – 10^2 КОЕ/мл. Выяснено, что большее количество конституционных каллозы и фенольных соединений, а также интенсивное их накопление при инфицировании у проростков пшеницы сорта Ренан является решающим фактором устойчивости к возбудителю очковой пятнистости.

Ключевые слова: каллоза, фенольные соединения, пшеница, возбудитель очковой пятнистости.

O. Boboshko, PhD-stud., O. Panyuta, PhD, Associate Prof., O. Artemenko, PhD, Associate Prof., N. Taran, DSc, Prof. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine, V. Emelyanov, PhD
Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Kyiv, Ukraine

PATHOGEN-INDUCED CALLOSE AND PHENOLIC COMPOUNDS ACCUMULATION IN WINTER WHEAT SEEDLINGS

Callose and/or phenolic compounds accumulation, which leads to the plant cell wall reinforcement in the places of the host plant and pathogen contact, is one of the first plants reactions on to the pathogen. The local protective reaction causes systemic protective mechanisms that cover the entire plant organism. The purpose of the work was determination of callose and phenolic compounds content in winter wheat seedlings of Myronivska 808 and Renan varieties as constitutional and induced by the eyespot causal agent in the range of their titres active concentrations and comparison of these substances accumulation in time. Callose determination was carried according to the modified Kauss et al. method. Phenolic compounds quantification assay was based on Folin-Ciocalteu method. The content of constitutional and pathogen-induced callose and phenolic compounds in the winter wheat seedlings of Myronivska 808 and Renan varieties was determined. The higher content of constitutional callose and phenolic compounds at the initial stages of vegetation was established in the wheat seedlings of relatively resistant variety Renan than in the seedlings of the susceptible variety Myronivska 808, which is related with genetically determined resistance of this variety to the eyespot causal agent. More intensive pathogen-induced accumulation of callose was observed in wheat seedlings of Myronivska 808 variety, but this did not affect the overall effectiveness of protection against pathogen. The highest pathogen-induced callose accumulation in wheat seedlings of a relatively resistant variety Renan was under inoculum concentration 10^4 CFU/ml and in seedlings of the susceptible variety Myronivska 808 – 10^2 CFU/ml. It has been shown that the higher content of constitutional callose and phenolic compounds and their intensive accumulation under infection in the wheat seedlings of Renan variety, is a determinative factor of the resistance to the eyespot causal agent.

Keywords: callose, phenolic compounds, wheat, eyespot causal agent.

УДК 578.851.86

Т. Руднева, канд. біол. наук, Т. Шевченко, канд. біол. наук, О. Шевченко, канд. біол. наук, І. Будзанівська, д-р біол. наук
ННЦ "Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВІРУС ЗЕЛЕНОЇ КРАПЧАСТОЇ МОЗАЇКИ ОГІРКА В АГРОЦЕНОЗАХ УКРАЇНИ

Вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка (ВЗКМО, роду *Tobamovirus*) – дуже поширений у світі патоген, що однаково ефективно уражує як рослини закритого, так і відкритого ґрунту. Коло рослин-хазяїв цього вірусу обмежується рослинами родини гарбузових (*Cucurbitaceae*), а втрати врожаю від ураження ВЗКМО можуть становити 25–50 %. На сьогодні, незважаючи на багатий арсенал протівірусних заходів, вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка повністю елімінувати з посадкового матеріалу, на жаль, не вдається. В екологічних умовах України вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка регулярно виявляється виключно на тепличних культурах огірків. Однак дослідження зарубіжних учених вказують на широке поширення ВЗКМО на рослинах кавунів, динь, огірків та кабачків як у закритому, так і у відкритому ґрунті. Зважаючи на таку ситуацію та беручи до уваги велику шкідливість ВЗКМО, дослідження питання щодо поширення вірусу на території України є дуже актуальним. Метою роботи було дослідження поширення вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка на рослинах родини гарбузових в умовах відкритого ґрунту на території України. Методи: імуноферментний аналіз, електронна мікроскопія, статистичні методи. Результати: проаналізовано поширення вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка (ВЗКМО) на овочевих культурах рослин родини гарбузових в умовах відкритого ґрунту на території України. Виявлено, що на території нашої країни в умовах відкритого ґрунту ВЗКМО практично не зустрічається. За останні вісім років було зафіксовано лише поодинокі випадки ураження рослин огірків, кабачків, кавунів та динь в агроценозах Київської та Полтавської областей. Причому в половині випадків була змішана інфекція, представлена сукупністю двох чи трьох вірусів. Наприклад, серед 250 досліджуваних зразків вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка виявили лише в п'яти зразках рослин, що становить 2,4 % від загальної кількості. Моноінфекція спостерігалася лише на огірках і кавунах, на динях і кабачках була змішана інфекція. На рослинах динь було виявлено змішану інфекцію у вигляді ВЗКМО і вірусу мозаїки кавуна 2 (ВМК 2 родини *Potyviriidae*), ВМК 2 і вірусу жовтої мозаїки цукіні (ВЖМЦ родини *Potyviriidae*). Що стосується кабачків, то вони виявилися ураженими сумішшю ВЗКМО і вірусом огіркової мозаїки (ВОМ, родини *Bromoviridae*). Переверено насіння огірків, кабачків, цукіні, динь та кавунів різних комерційних фірм, що продають насіння в Україні, і виявлено, що деякий відсоток цього насіння контамінований вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка. Висновки: у результаті багаторічних досліджень було виявлено, що вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка на території України практично не уражує рослини родини гарбузових у відкритому ґрунті. Нами було перевірено різні комерційні сорти насіння гарбузових рослин щодо вірусної контамінації і виявлено, що 16 % його уражене вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка, а отже, є потенційно небезпечним резервуаром вірусної інфекції і, як наслідок, серйозною причиною появи захворювань рослин родини гарбузових у відкритому ґрунті.

Ключові слова: вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка, агроценози, відкритий ґрунт, овочеві культури, насіння.

Вступ. Вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка (ВЗКМО, роду *Tobamovirus*) – дуже поширений у світі патоген, що однаково ефективно уражує як рослини

закритого, так і відкритого ґрунту. Коло рослин-хазяїв цього вірусу обмежується рослинами родини гарбузових (*Cucurbitaceae*) і залежно від стадії ураження рос-

лин викликає симптоми різного ступеня важкості. Наприклад, втрати врожаю від ураження ВЗКМО можуть становити 25–50 %, а в окремих випадках, коли рослини інфікуються на стадії проростків, призводити і до повної втрати врожаю [1].

ВЗКМО зустрічається у багатьох країнах світу [19]. Завдяки своїм біологічним властивостям вірус може тривалий час зберігатися в ґрунті, не втрачаючи при цьому інфекційність, а здатність ВЗКМО ефективно передаватися насінням сприяє передачі і поширенню вірусу між різними країнами внаслідок експортно-імпортних відносин [12, 19].

На сьогодні розроблено різні методи боротьби з вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка, серед яких найбільш популярними є термічні і хімічні методи знезараження насіння. Однак, незважаючи на багатий арсенал противірусних заходів, вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка повністю елімінувати з посадкового матеріалу, на жаль, не вдається [21].

Дослідження вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка на території України розпочалося в середині 1960-х років. Тоді вперше було ідентифіковано українські ізоляти вірусу на тепличних огірках в Київській області, описано їхні фізико-хімічні властивості і показано, що в екологічних умовах України ВЗКМО зустрічається лише в умовах закритого ґрунту на культурах огірків [3].

Після багаторічної перерви, починаючи з 2000 року, дослідження вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка в екологічних умовах України знову стало актуальним через масові ураження рослин огірків цим вірусом у тепличних господарствах. На той час нами було ідентифіковано та виділено нові ізоляти ВЗКМО, досліджено їх серологічні, фізичні та молекулярно-біологічні властивості, на основі отриманих антивірусних сироваток до ВЗКМО створено високоефективні тест-системи для непрямого імуноферментного аналізу (ІФА) [10]. Сиквенування послідовностей гену капсидного білка ізолятів та порівняння їх з уже відомими штамми та ізолятами з ГенБанку дало можливість виявити, що на території України циркулюють ізоляти, високогомологічні до російських та грецьких ізолятів ВЗКМО [9]. Нами було доведено, що в екологічних умовах України вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка передається виключно через ґрунт, хоча ми детектували високий відсоток ураженості комерційного насіння рослин гарбузових [6].

Необхідно відмітити, що на території України в період з 2000 по 2008 роки вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка зустрічався виключно на рослинах огірків закритого ґрунту. Нами не було виявлено випадків інфікування рослин кабачків, цукіні, динь, кавунів та гарбузів у відкритому ґрунті [9]. З іншого боку, дослідження зарубіжних вчених [11, 12, 14, 18] зазначають велике поширення ВЗКМО на рослинах кавунів, динь, огірків та кабачків як у закритому, так і у відкритому ґрунті. Зважаючи на таку ситуацію та беручи до уваги велику шкідливість ВЗКМО, дослідження питання щодо поширення вірусу на території України є дуже актуальним. Ми здійснюємо постійний моніторинг рослин родини гарбузових як відкритого, так і закритого ґрунту на наявність ВЗКМО та вивчаємо властивості нових вірусних ізолятів. Оскільки вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка – високоефективний патоген, здатний призводити до повної втрати врожаю, треба постійно робити його моніторинг, щоб попередити поширення вірусу в агроценозах і по можливості запобігти масовому ураженню рослин та втратам врожаю.

Зважаючи на все вищесказане, метою роботи було дослідження поширення вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка на рослинах родини гарбузових в умовах відкритого ґрунту на території України.

Матеріали і методи. Об'єктом досліджень слугували рослини огірків, кабачків, цукіні, гарбузів, кавунів та динь з симптомами вірусної етіології, відібрані з відкритого ґрунту різних регіонів України.

Для вірусологічних досліджень відбирали листки середнього або верхнього ярусу рослин та плоди у десяти точках з двох суміжних рядів [4].

Аналіз зразків на наявність вірусних антигенів здійснювався з використанням сендвіч імуноферментного аналізу. Аналіз робили в полістиролових планшетах "Labsystem". Результати реєстрували на рідері Dynatech за довжини хвилі 405 нм [13].

Зразки для ІФА готували шляхом гомогенізації інфікованого рослинного матеріалу в 0,1M PBS + 0.001M EDTA у співвідношенні 1:2 з наступним центрифугуванням у режимі 4 тис. об/хв протягом 20 хв при 4 °С на центрифугу PC-6 [16]. Отриманий гомогенат використовували в імуноферментному аналізі.

Детекцію рослинного матеріалу на наявність вірусних антигенів здійснювали з тест-системою для сендвіч-ІФА фірми "Primediagnostics", Нідерланди.

Зразки, що дали позитивний результат в ІФА були використані в електронно-мікроскопічних дослідженнях. Частково очищені вірусні препарати наносили на мідні сіточки діаметром 3 мм з плівкою-підкладкою, виготовленою з 0,2 % розчину формвару ("Serva", Німеччина) Спочатку на сіточки наносили препарат вірусу, витримували 2 хвилини, залишки препарату видаляли за допомогою фільтрувального паперу. Потім виконували негативне контрастування високоочищених вірусних препаратів 2-відсотковим розчином ураніацетату ("Serva", Німеччина) протягом 2 хв [5]. Препарати досліджували за інструментального збільшення 40–60 тис. разів на електронному мікроскопі EM-120 (Суми, Україна).

Комерційне насіння рослин родини гарбузових на наявність антигенів ВЗКМО перевіряли методом сендвіч ІФА з використанням тест-системи для сендвіч-ІФА фірми "Primediagnostics" (Нідерланди). Перед проведенням аналізу насіння витримували протягом 12 годин у дистильованій воді при кімнатній температурі. Надалі матеріал гомогенізували в 0,1 M PBS у співвідношенні 1:2 з подальшим центрифугуванням у режимі 5 тис. об/хв протягом 15 хв при 4 °С на центрифугу PC-6. Отриманий гомогенат використовували для детекції вірусів. Результати реєстрували на рідері Termo LabSystems Opsis MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink при довжинах хвиль 405/630 нм.

Результати та обговорення. Згідно з вітчизняними літературними даними, на території України вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка зустрічається лише у тепличних господарствах [2]. У 60–70-х роках він був зареєстрований у тепличних господарствах Київської області, але відомостей щодо поширення цього вірусу у інших областях України немає.

У наших попередніх дослідженнях було визначено, що вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка на території України уражує виключно огірки закритого ґрунту, та не зустрічається на рослинах родини Гарбузових у відкритому ґрунті [9]. За вісім років, з 2000-го по 2008-й рік включно, ВЗКМО було детектовано в різних тепличних господарствах Дніпропетровської, Миколаївської, Сумської, Харківської, Черкаської областей та Автономної Республіки Крим (рис. 1).



Рис. 1. Симптоми темно-зеленого пухирчастого здуття листової пластинки на рослині огірка, спричинені ВЗКМО

У вищезазначених тепличних господарствах ВЗКМО викликав серйозні втрати врожаю огірків через масове ураження рослин. А плоди, що розвивалися на таких вірусифікованих рослинах, мали зовсім не комерційний вигляд – із пухирчастими здуттями на шкірці, різноманітними деформаціями та плямами.

В умовах же відкритого ґрунту обстежених нами семи регіонів України (Вінницької, Житомирської, Запорізької, Київської, Полтавської та Херсонської) не було зафіксовано жодного випадку контамінації рослин родини гарбузових вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка.

Однак ситуація з поширенням ВЗКМО у світі виглядала зовсім інакше. За період з 2007-го по 2016-й рік включно вірус значно розширив свій ареал, перекочувавши на території, де раніше не зустрічався [15, 18]. Наприклад, починаючи з 2013 року, ВЗКМО вперше було зареєстровано в Канаді, США, Австралії, де в умовах відкритого ґрунту на рослинах кавунів та динь вірус викликав суворі симптоми і, як наслідок, колосальні збитки продукції [12, 22]. На думку зарубіжних дос-

лідників, вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка на нові території потрапив саме з комерційним вірусифікованим насінням, яке використовувалося, як посадковий матеріал. Адже згідно з результатами філогенетичного аналізу, усі нові штами ВЗКМО, як-от канадські, із США чи австралійські, мають азіатське походження [18].

Зважаючи на таку ситуацію, свої подальші дослідження ми вирішили зосередити на пошуку ВЗКМО саме на рослинах родини гарбузових в умовах відкритого ґрунту. У період з 2009-го по 2017-й рік включно нами було обстежено рослини у Вінницькій, Київській, Кіровоградській, Львівській, Полтавській та Черкаській областях. Для досліджень відбирали рослини огірків, кабачків, патисонів, гарбузів, динь та кавунів з симптомами світло-зеленої та темно-зеленої мозаїки, нитковидності та гофрування листової пластинки. Часто на уражених рослинах спостерігалась темно-зелена та світло-зелена плямистість листової пластинки, а на плодах – темно-зелена пухирчастість, бугристість та бліде забарвлення (рис. 2, 3).



Рис. 2. Жовто-зелена мозаїка листової пластинки рослини кавуна, спричинена вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка



Рис. 3. Темно-зелені пухирчасті здуття листової пластинки та пожовтіння листової пластинки рослини дині, викликані змішаною вірусною інфекцією вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка, вірусом мозаїки кавуна 2 та вірусом жовтої мозаїки цукіні

Разом за підзвітний період було відібрано та проаналізовано близько 250 зразків рослин родини гарбузових. Методом імуноферментного аналізу було показано наявність вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка у

зразках з відкритого ґрунту Київської та Полтавської областей (табл. 1).

Таблиця 1. Результати тестування рослин родини Гарбузових з відкритого ґрунту різних регіонів України на наявність ВЗКМО

Область	Культури рослин, відібрані для досліджень	Наявність ВЗКМО	Культури рослин, на яких виявлено ВЗКМО	Тип інфекції (моно-, змішана)
Вінницька	огірки, кабачки, цукіні	-		
Київська	огірки, кабачки, цукіні, гарбузи	+	огірки	моноінфекція
Кіровоградська	огірки, кабачки, кавуни, дині	-		
Львівська	огірки, кабачки, цукіні	-		
Полтавська	огірки, кабачки, цукіні, гарбузи, кавуни, дині, патисони	+	кавуни дині кабачки	моноінфекція змішана інфекція змішана інфекція
Черкаська	огірки, кабачки, гарбузи	-		

Проте це були лише поодинокі випадки, до того ж половину з них становила змішана вірусна інфекція. Серед 250 досліджуваних зразків вірус зеленої крапчатої

мозаїки огірка виявили лише в п'яти зразках рослин, що становить 2,4 % від загальної кількості (рис. 4).



Рис. 4. Зведені дані щодо поширення ВЗКМО в гарбузових рослинах, які культивуються в умовах відкритого ґрунту

Таким чином, ВЗКМО у відкритому ґрунті було виявлено на рослинах огірків у Київській області, а також на рослинах кавунів, кабачків та динь в Полтавській області. Причому моноінфекція спостерігалася лише у випа-

дку огірків та кавунів, на динях і кабачках була змішана інфекція, представлена сукупністю одразу двох чи трьох вірусів (рис. 5).

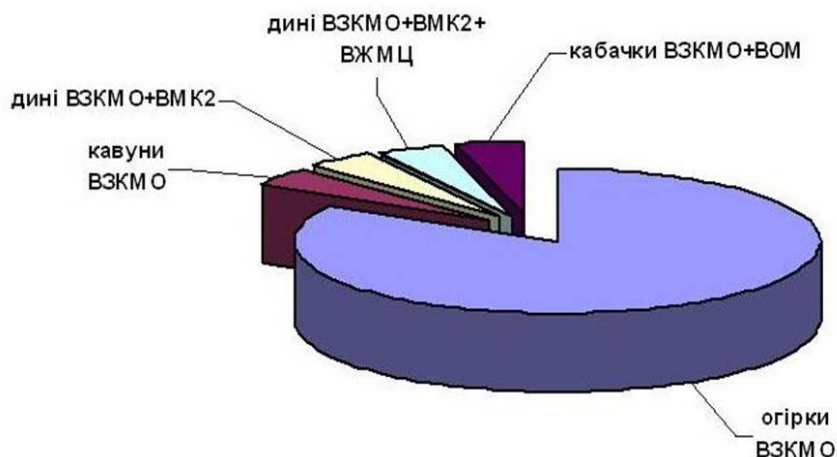


Рис. 5. Розподіл моно- та змішаної інфекції серед симптоматичних зразків гарбузових рослин, уражених ВЗКМО

Наприклад, на рослинах динь було виявлено змішану інфекцію у вигляді ВЗКМО і вірусу мозаїки кавуна 2 (ВМК 2 родини Potyviridae), ВМК 2 і вірусу жовтої мозаїки цукіні (ВЖМЦ родини Potyviridae). Що стосується кабачків, то вони виявилися ураженими сумішшю ВЗКМО і вірусом огіркової мозаїки (ВОМ, родини Bromoviridae).

Досліджувані зразки рослин родини гарбузових на наявність вірусу мозаїки кавуна 2, вірусу жовтої мозаїки цукіні та вірусу огіркової мозаїки ми аналізували не випадково, адже ці віруси є найбільш поширеними патогенами в умовах відкритого ґрунту на представниках вищезазначеної родини у багатьох країнах світу [17]. На відміну від вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка, який є видоспецифічним і уражує переважно представників родини Cucurbitaceae, дані віруси мають широку спеціалізацію і інфікують не лише різні

види рослини в межах певної родини, а й представників з абсолютно різних родин [23].

В останні роки ці вірусні патогени набули значного поширення в агроекологічних умовах нашої країни. Ми регулярно виявляли ВМК 2, ВЖМЦ та ВОМ в умовах відкритого ґрунту на гарбузових культурах [7, 8]. Таким чином, для більш чіткого розуміння стану поширення вірусних захворювань рослин родин гарбузових в умовах відкритого ґрунту України, огірки, кабачки, гарбузи, патисони, цукіні, дині та кавуни ми аналізували не лише на наявність ВЗКМО, а і на інші, поширені в агроценозах України віруси.

Результати ІФА на наявність моноінфекції ВЗКМО у рослинах відкритого ґрунту було підтверджено результатами електронної мікроскопії. У полі зору мікроскопа спостерігали паличкоподібні віріони, за розмірами характерні для цього вірусу (рис. 6).

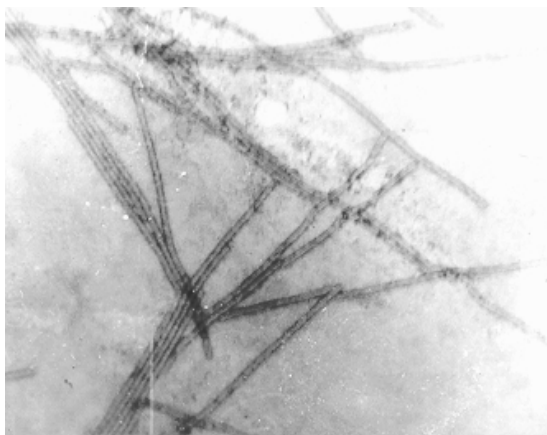


Рис. 6. Електронномікроскопічне зображення вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка: розмір вірусних часток 280–300 x 15 нм (інструментальне збільшення x 40000)

Як показали результати досліджень, на території України в умовах відкритого ґрунту вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка практично не зустрічається.

Специфіку поширення вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка у тепличних господарствах України і майже повну її відсутність у відкритому ґрунті ми пов'язуємо зі способом передачі вірусу. Оскільки вірус дуже ефективно передається з ґрунтовим розчином, то погана стерилізація ґрунту (а часто і повна її відсутність у тепличних господарствах нашої країни) призводить до циклічного перезараження рослин і неможливості тривалого позбавлення від вірусної інфекції. У наших попередніх дослідженнях було виявлено, що для тепличних госпо-

дарств України основним шляхом поширення вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка є вірусінфікований ґрунт [9]. Рослинні рештки розкладаючись вивільнюють вірус, який, потрапивши у ґрунт, зберігається там досить тривалий час, а під час висівання насіння у такий ґрунт відбувається швидке інфікування проростків. Окремо нами було проаналізовано насіння огірків, що використовувалося як посадковий матеріал у різних тепличних господарствах, і показано, що воно не містило вірусних антигенів. Таким чином, за результатами наших досліджень, для українських тепличних господарств основним і найбільш небезпечним джерелом ВЗКМО є вірусінфікований ґрунт.

За літературними даними, ВЗКМО дуже ефективно передається насінням: вірус міститься на верхній частині плівки насіння і його передача потомству відбувається внаслідок травмування тканини паростків, куди й потрапляє інфекція [2]. Саме завдяки вірусоконтамінованому комерційному насінню, обмін яким відбувається під час експортно-імпортних відносин, вірус зеленої

крапчастої мозаїки огірка подолав міжконтинентальні бар'єри [12] і на сьогодні є одним із найбільш поширених вірусів у світі [12].

У своїх дослідженнях ми також робили перевірку різних сортів комерційного насіння на наявність ВЗКМО і виявили, що лише незначну його кількість було контаміновано вірусними антигенами (табл. 2).

Таблиця 2. Результати перевірки насіння різних сортів рослин родини *Cucurbitaceae* на наявність ВЗКМО

Фірма-виробник	Вид рослини	Сорт рослини	E405, о.о	Наявність ВЗКМО			
№ 1	Диня	Леся		-			
		Тітовка		-			
	Кавун	Ананас		-			
		Кримсон світ		-			
	Огірок	Чальстон Грей		-			
		Парад		-			
		Лялюк		-			
		Паризький корнішон		-			
	№ 2	Кавун	Кустовий		-		
			Ізид F1		-		
Огірок		Орфей		-			
		Засолочний-65		-			
			Далекосхідний 27		-		
			Міг		-		
			Ізящний		-		
			Голубчик		-		
			№ 3	Диня	Колхозниця		-
					Золотиста	0,325 ± 0,005	+
		Огоньок		-			
		Кабачок	Грибовський		-		
		Огірок	Лялюк		-		
		Джерело		-			
№ 4	Кавун	Огоньок		-			
		Фотон		-			
	Кабачок	Іскандер		-			
		Скворушка		-			
	Диня	Тітовка		-			
		Огірок	МашаF1		-		
			АстеріксF1		-		
			АмурF1		-		
			МаріндаF1		-		
			МатільдаF1		-		
			АтлантикF1		-		
			КарінF1		-		
			АнулькаF1		-		
			ФенксF1		-		
			ЛьошаF1		-		
			Апоміксис Коняєвих		-		
№ 5	Диня	Дідона		-			
	Кавун	Таврійський		-			
№ 6	Цукіні	Скворушка		-			
№ 7	Кавун	Сахарний малиш		-			
№ 8	Диня	Дубовка		-			
		Медовий аромат		-			
		Ультраскоростиглий		-			
№ 9	Огірок	Регія F1		-			
		Отелло F1		-			
№ 10	Огірок	Малиш F1	0,256 ± 0,008	+			
		Парад	0,234 ± 0,006	+			
		Водограй	0,348 ± 0,011	+			
		Лялюк	0,280 ± 0,008	+			
		Кустовий	0,410 ± 0,014	+			
		Засолочний	0,560 ± 0,012	+			
		Фенікс	0,640 ± 0,011	+			
		Паризький корнішон	0,520 ± 0,018	+			
		Джерело	0,604 ± 0,014	+			
		Ніжинський		-			
Закусочний		-					
№ 10	Огірок	Сківський F1		-			
		СМФ		-			
		ДС-27		-			
		Левадний		-			
		Лінія П1		-			

Ми перевірили більше шістдесят сортів насіння огірків, кабачків, цукіні, динь та кавунів десяти різних комерційних фірм, що займаються продажем насіння. Результати ІФА показали наявність ВЗКМО у насінні огірків, що належало фірмі № 9 та насінні дині "Золотиста" фірми № 3.

Наприклад, з шістдесят трьох сортів насіння десять виявилися вірусконтамінованими, що становить 16 % від загальної кількості перевіреного насіння. Отже, нами було показано, що на сьогодні в Україні комерційне вірусконтаміноване насіння може бути цілком імовірною причиною появи вірусного захворювання на рослинах родини гарбузових.

Таким чином, протягом останніх десяти років на території України вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка циркулює переважно на рослинах огірків у закритому ґрунті та практично не уражує рослини родини гарбузових у відкритому ґрунті. Таку ситуацію ми пояснюємо специфікою передачі ВЗКМО. Адже згідно з літературними даними, вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка не передається комахами, а це, у свою чергу, значно обмежує його ареал [23]. До того ж, як уже було зазначено, цей вірус має вузьке коло рослин-хазяїв і, крім родини гарбузових та кількох видів дикорослих рослин, він не має інших хазяїв. Оскільки найбільш поширений шлях поширення для цього вірусу – з вірусконтамінованим насінням, а згідно з результатами наших досліджень, на комерційному ринку України такого насіння незначний відсоток, то саме це є лімітуючим фактором поширення ВЗКМО на рослинах відкритого ґрунту в агроекологічними умовах нашої країни.

Висновки. У результаті багаторічних досліджень було виявлено, що вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка на території України практично не уражує рослини родини гарбузових у відкритому ґрунті. Нами було перевірено різні комерційні сорти насіння гарбузових рослин щодо вірусної контамінації і виявлено, що 16 % його уражене вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка, а отже, є потенційно небезпечним резерватом вірусної інфекції і, як наслідок, ефективним джерелом поширення вірусу.

Список використаних джерел:

1. Білик М. О. Захист овочевих культур від хвороб і шкідників у закритому ґрунті : навч. посіб. / М. О. Білик, М. Д. Євтушенко, Ф. М. Марютін. – Харків : Еспада, 2003. – 464 с.
2. Вірусні хвороби сільськогосподарських культур / С. М. Московець, А. Д. Бобир, Л. Ю. Глушак, А. М. Онищенко. – К. : Урожай, 1975. – 152 с.
3. Глушак Л. Ю. Вирусные заболевания огурцов на Украине : автореф. дис. ... канд. биол. наук : спец. 06.01.11 "Защита растений от вредителей и болезней" / Л. Ю. Глушак. – К., 1969. – 24 с.
4. Омелюта В. П. Облік шкідників і хвороб сільськогосподарських культур / В. П. Омелюта, І. В. Григорович, В. С. Чабан. – К. : Урожай, 1986. – 296 с.
5. Практикум по общей вирусологии / под ред. И. Г. Атабекова. – М. : Издательство Московского Университета. – 1981. – 192 с.
6. Контроль насінневої вірусної інфекції у рослин родини Cucurbitaceae та її профілактика / Т. О. Руднева, Т. П. Шевченко, В. О. Нацевич і др. // Агроекологічний журнал. – 2011. – № 2. – С. 85–88.
7. Моніторинг вірусу мозаїки кавуна 2 у агроценозах Київської та Полтавської областей / Т. О. Руднева, Т. П. Шевченко, В. О. Цвігун, В. П. Поліщук // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013. – № 4. – С. 55–62.
8. Поширення вірусних захворювань рослин родини Cucurbitaceae на території України / Т. О. Руднева, Т. П. Шевченко, А. С. Бисов, В. П. Поліщук // Агроекологічний журнал. – 2008. – № 2. – С. 62–66.
9. Руднева Т. О. Характеристика українських ізолятів вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.06. "Вирусология" / Т. О. Руднева. – К., 2009. – 23 с.
10. Характеристика ізолятів вірусу зеленої крапчастої мозаїки огірка, виділених з різних регіонів України / Т. О. Руднева, І. Г. Будзанівська, А. С. Рижкова та ін. // Мікробіологічний журнал. – 2005. – Т. 67, № 6. – С. 96–103.
11. Gug-Seoun. Occurrence of Two Tobamovirus Diseases in Cucurbits and Control Measures in Korea / Gug-Seoun Choi // Plant Pathology journal. – 2001. – Vol. 17. – № 5. – P. 243–248.

12. Detection in Australia of Cucumber green mottle mosaic virus in seed lots of cucurbit crops / Fiona Constable, Andrew Daly, Mary Ann Terras et al. // Australasian Plant Disease Notes. – 2018. – P. 13–18.

13. ELISA. Theory and practice / Ed. J. R. Crowther / N.-Y. : Humana Press, 1995. – P. 223.

14. Destruction of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus by Heat Treatment and Rapid Detection of Virus Inactivation by RT-PCR / Sang-Min Kim, San-Hyun Nam, Jung-Myung Lee et al. // Mol. Cells. – 2003. – Vol. 16, № 3. – P. 338–342.

15. Dombrovsky A. Cucumber green mottle mosaic virus: Rapidly Increasing Global Distribution, Etiology, Epidemiology, and Management / A. Dombrovsky, LTT Tran-Nguyen, RAC Jones // Annual reviews. – 2017. – Vol. 55, № 4. – P. 231–256.

16. Hill S. A. Methods in Plant Virology / S. A. Hill. – Oxford : Alden Press. – 1984.

17. Lecoq Herve. Viruses and Virus Diseases of the Vegetables in the Mediterranean Basin / Herve Lecoq and Cecile Desbiez. // Academic Press. – 2012. – № 84. – 592 p.

18. Ling K. S. First Report of Cucumber green mottle mosaic virus Infecting Greenhouse Cucumber in Canada / K. S. Ling, R. Li, W. Zhang // Disease Notes. – 2014. – Vol. 98, № 5. – P. 701.

19. Detection of Cucumber Green Mottle Mosaic Tobamovirus (CGMMV) in Three Growth Stages of Japanese Cucumber in the Highland Area of Northern Thailand / S. Nontajak, S. Vulyasevi, N. Jonglaekha, P. Smitamana // International Journal of Agricultural Technology. – 2014. – Vol. 10, № 1. – P. 277–287.

20. Rao A. L. N. Transmission Studies with Cucumber Green Mottle Mosaic Virus / A. L. N. Rao, A. Varma // Journal of Phytopathology. – 2008. – Vol. 109, № 4. – P. 325–331.

21. Seed disinfection treatments do not sufficiently eliminate the infectivity of Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) on cucurbit seeds / V. Reingold, O. Lachman, O. Blaosov, A. Dombrovsky // Plant Pathology. – 2015. – № 8. – P. 245–255.

22. First Report of Cucumber green mottle mosaic virus on Melon in the United States / T. Tian, K. Posis, C. J. Maroon-Lango et al. // Plant disease. – 2014. – Vol. 98, № 8. – P. 1163.

23. Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / A. King, M. Adams, E. Lefkowitz et al. – London : Academic Press, 2012. – 1327 p.

References:

1. Bilyk M., Jevtushenko M., Marjutin F. Protection of vegetable crops from diseases and pests in the closed ground. Kharkiv: Espada; 2003. Ukrainian.
2. Moskovets S., Bobyr A., Glushak L., Onyschenko A. Viral diseases of crops. Kyiv: Urozhay; 1975. Ukrainian.
3. Glushak L. [Viral diseases of cucumbers in Ukraine] [dissertation]. Kyiv: Institute of Microbiology and Virology. acad. Zabolotny D.K.; 1969. Ukrainian.
4. Omeljuta V., Grygorovych I., Chaban V. Accounting of pests and diseases of agricultural crops. Kyiv: Urozhay; 1986. Ukrainian.
5. Workshop on General Virology. Atabekov I. G., editor. Moscow: Publishing house of Moscow University; 1981.
6. Rudnieva T., Shevchenko T., Natsevych V., Polischuk V., Boyko A. Control of seed virus infection in plants Cucurbitaceae family and its prevention. Agroecological journal. 2011; (2): 85 – 88. Ukrainian.
7. Rudnieva T., Shevchenko T., Tsvigun V., Polischuk V. Monitoring of Watermelon mosaic virus 2 in agricosystems of Kyiv and Poltava regions. Microbiology and Biotechnology. 2013; (4), 55 – 62. Ukrainian. doi: 10.18524/2307-4663.
8. Rudnieva T., Shevchenko T., Bysov A., Polischuk V. Virus diseases of Cucurbitaceae plants on the territory of Ukraine. Agroecological journal. 2008; (2), 62–66. Ukrainian.
9. Rudnieva T.A. [Characterization of Ukrainian isolates of Cucumber green mottle mosaic virus] [dissertation]. Kyiv: Taras Shevchenko National University of Kyiv; 2009. Ukrainian.
10. Rudneva T., Budzanivska I., Ryzhkova A., Shevchenko T., Demjanenko F., Polischuk V. Characterization of Ukrainian isolates of cucumber green mottle mosaic virus isolated from different regions of Ukraine. Mikrobiologichnyi Zhurnal. 2005; 67(6): 96–103. Ukrainian.
11. Choi Gug-Seoun Occurrence of Two Tobamovirus Diseases in Cucurbits and Control Measures in Korea. Plant Pathology journal. 2001; 17(5): 243 – 248.
12. Constable Fiona, Daly Andrew, Terras Mary Ann, Penrose Lindsay, Dall David Detection in Australia of Cucumber green mottle mosaic virus in seed lots of cucurbit crops. Australasian Plant Disease Notes. 2018; 13 – 18. doi: 10.1007/s13314-018-0302-9.
13. Crowther J. ELISA. Theory and practice. New York: Hamana Press; 1995.
14. Kim Sang-Min, Nam San-Hyun, Lee Jung-Myung Destruction of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus by Heat Treatment and Rapid Detection of Virus Inactivation by RT-PCR. Mol.Cells. 2003; 16(3): 338–342.
15. Dombrovsky A., Tran-Nguyen LTT, Jones RAC Cucumber green mottle mosaic virus: Rapidly Increasing Global Distribution, Etiology, Epidemiology, and Management. Annual review of phytopathology. 2017; 55(4): 231–256. doi: 10.1146/annurev-phyto-080516-035349.
16. Hill S. Methods in Plant Virology. Oxford: Alden Press; 1984.
17. Lecoq Herve, Desbiez Cecile Viruses and Virus Diseases of the Vegetables in the Mediterranean Basin. London: Academic Press, 2012.

18. Ling K.S., Zhang R. Li, W. First Report of Cucumber green mottle mosaic virus Infecting Greenhouse Cucumber in Canada. *Disease Notes*. 2014; 98(5): 701. doi: 10.1094/PDIS-09-13-0996-PDN.

19. Nontajak S., Vulyasevi S., Jonglaekha N., Smitamana P. Detection of Cucumber Green Mottle Mosaic Tobamovirus (CGMMV) in Three Growth Stages of Japanese Cucumber in the Highland Area of Northern Thailand. *International Journal of Agricultural Technology*. 2014; 10(1): 277 – 287.

20. Rao A. L. N., Varma A. Transmission Studies with Cucumber Green Mottle Mosaic Virus. *Journal of Phytopathology*. 2008; 109(4): 325 – 331.

21. Reingold V., Lachman O., Blaosov E., Dombrovsky A. Seed disinfection treatments do not sufficiently eliminate the infectivity of Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) on cucurbit seeds. *Plant Pathology*. 2015; (64), 245 – 255. doi: 10.1111/ppa.12260

22. Tian T., Posis K., Maroon-Lango C.J., Mavrodieva V., Haymes S., Pitman T.L., Falk B.W. First Report of Cucumber green mottle mosaic virus on Melon in the United States. *Plant disease*. 2014; 98(8): 1163. doi: 10.1094/PDIS-02-14-0176-PDN.

23. King A., Adams M., Lefkowitz E. *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Academic Press, 2012.

Надійшла до редколегії 19.09.2018

Отримано виправлений варіант 20.10.2018

Підписано до друку 20.10.2018

Received in the editorial 19.09.2018

Received a revised version on 20.10.2018

Signed in the press on 20.10.2018

Т. Руднева, канд. биол. наук, Т. Шевченко, канд. биол. наук, А. Шевченко, канд. биол. наук, И. Будзанивская, д-р биол. наук
УНЦ "Институт биологии и медицины",
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ВИРУС ЗЕЛеноЙ КРАПЧАТОЙ МОЗАИКИ ОГУРЦА В АГРОЦЕНОЗАХ УКРАИНЫ

Вирус зеленой крапчатой мозаики огурца (ВЗКМО, рода Tobamovirus) распространен во многих странах мира и с одинаковой эффективностью поражает растения как закрытого, так и открытого грунта. Круг растений-хозяев этого вируса ограничивается растениями семейства тыквенных (Cucurbitaceae), а потери урожая от поражения ВЗКМО могут составлять от 25 до 50 %. На сегодня, несмотря на богатый арсенал противовирусных средств, вирус зеленой крапчатой мозаики огурца полностью элиминировать из посадочного материала, к сожалению, не удается. В экологических условиях Украины вирус зеленой крапчатой мозаики огурца регулярно детектируется исключительно на тепличных культурах огурцов. Однако исследования зарубежных ученых указывают на широкое распространение ВЗКМО на растениях арбузов, дынь, огурцов и кабачков как в закрытом, так и в открытом грунте. Учитывая такую ситуацию и принимая во внимание большую вредоносность ВЗКМО, исследование вопроса о распространении вируса на территории Украины является очень актуальным. Целью работы было исследование распространения вируса зеленой крапчатой мозаики огурца на растениях семейства тыквенных в условиях открытого грунта на территории Украины. Методы: иммуноферментный анализ, электронная микроскопия, статистические методы. Результаты: проанализировано распространение вируса зеленой крапчатой мозаики огурца (ВЗКМО) на овощных культурах растений семейства тыквенных в условиях открытого грунта на территории Украины. Установлено, что на территории нашей страны в условиях открытого грунта ВЗКМО практически не встречается. За последние восемь лет были зафиксированы лишь единичные случаи поражения растений огурца, кабачка, тыквы и дыни в агроценозах Киевской и Полтавской областей. Причем в половине случаев наблюдалась смешанная инфекция, представленная двумя или тремя вирусами. Так, среди 250 исследованных образцов вирус зеленой крапчатой мозаики огурца был обнаружен лишь в пяти образцах растений, что составляет 2,4 % от общего количества образцов. Следует отметить, что моноинфекция наблюдалась исключительно на огурцах и арбузах, тогда как на дынях и кабачках детектировали смешанную инфекцию. На растениях дыни детектировали смешанную инфекцию в виде ВЗКМО и вируса арбузной мозаики 2 (ВАМ 2 семейства Potyviridae) или ВАМ 2 и вируса желтой мозаики цуккини (ВЖМЦ семейства Potyviridae). Что касается кабачков, то они были инфицированы смесью ВЗКМО и вирусом огуречной мозаики (ВОМ, семейства Bromoviridae). Проверены семена огурцов, кабачков, цуккини, дынь и арбузов различных коммерческих фирм, занимающихся продажей семян в Украине, и установлено, что некоторый процент этих семян контаминирован вирусом зеленой крапчатой мозаики огурца. Выводы: в результате многолетних исследований было установлено, что вирус зеленой крапчатой мозаики огурца на территории Украины практически не поражает растения семейства тыквенных в открытом грунте. Нами были проверены коммерческие сорта семян тыквенных растений относительно вирусной контаминации и установлено, что 16 % из них поражены вирусом зеленой крапчатой мозаики огурца, а потому являются потенциально опасным резервуаром вирусной инфекции и, как следствие, серьезной причиной появления заболеваний растений семейства тыквенных в открытом грунте.

Ключевые слова: вирус зеленой крапчатой мозаики огурца, агроценозы, открытый грунт, овощные растения, семена.

T. Rudnieva, PhD, T. Shevchenko, PhD, A. Shevchenko, PhD, I. Budzanivska, Dr. Sc.
ESC "Institute of Biology and Medicine",
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

CUCUMBER GREEN MOTTLE MOSAIC VIRUS IN AGROECOSYSTEMS OF UKRAINE

Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) is a widespread pathogen capable of infecting plants cultivated in both greenhouse and open-field conditions with equal efficiency. The host range of CGMMV is restricted to cucurbit plants whereas induced crop losses may reach 25–50 %. Despite the wide array of available antiviral techniques, CGMMV could not be completely removed from the seed/planting material. In Ukraine, Cucumber green mottle mosaic virus occurs almost exclusively on greenhouse cucumbers. However, data from other countries suggest wide spread of CGMMV on watermelons, melons, cucumbers and squashes grown in both greenhouse and open-field conditions. In this view and taking into account high pathogenicity of CGMMV, we aimed at studying spread of Cucumber green mottle mosaic virus in Ukraine on cucurbit plants in the open-field conditions. Methods: enzyme-linked immunosorbent assay, electron microscopy, statistical methods. Results : Spread of Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) on cucurbit vegetable crops grown in open-field conditions was analyzed in Ukraine. It was shown that CGMMV is an extremely rare pathogen in open-field conditions in our country. During the last 8 years we have confirmed only several cases of CGMMV infection on cucumbers, squash, pumpkin and melon in Kyiv and Poltava regions. Additionally, half of these cases were mixed infection of 2–3 viruses. From 250 collected samples, CGMMV was detected in 5 plants totaling to only 2,4 %. Importantly, mono-infection of CGMMV was shown exclusively on cucumbers and watermelons, whereas melons and squashes were mixed infected. Melons were typically infected with CGMMV and Watermelon mosaic virus 2 (WMV 2) or with WMV 2 and Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV). Squash plants were infected with CGMMV and Cucumber mosaic virus (CMV). Consequently, we have checked commercially available seeds of cucumber, squash, zucchini, melon and watermelon from different producers in Ukraine for virus contamination and have confirmed the occurrence of CGMMV in some seed batches. Conclusions: Long-term observations in Ukraine showed that Cucumber green mottle mosaic virus infected mostly cucumbers cultivated in greenhouses and was only rarely found in cucurbits grown in open-field conditions. Screening of commercially available seed material indicated that 16 % of it was contaminated with CGMMV. Basing on available data, it is presumed that virus-contaminated seed material may pose a major threat of CGMMV occurrence and spread on cucurbits cultivated in open-field conditions.

Key words: Cucumber green mottle mosaic virus, agroecosystems, open-field conditions, vegetable crops, seed.