УДК 578.3+633.88
© Л.Т. Міщенко, І.О. Антіпов, А.А. Дуніч, К.В. Гринчук, 2014

ХВОРОБИ ПШЕНИЦІ

Смугаста мозаїка пшениці та жовта карликовість ячменю в Лісостепу і Степу України

У 2013 р. виявлено, що в умовах агроценозу Полтавської області рослини пшениці озимої були уражені вірусом смугастої мозаїки пшениці (ВСМП), Миколаївської — вірусом жовтої карликовості ячменю, у Київській області зареєстровано поодинокі випадки ураження ВСМП. Встановлено, що пізні строки сівби знижують ризик інфікування рослин пшениці озимої вірусом смугастої мозаїки пшениці та рекомендовано оптимальні строки сівби цієї культури у Лісостеповій зоні України.

пшениця озима, вірус смугастої мозаїки пшениці, вірус жовтої карликовості ячменю, строки посіву

***Л.Т. МІЩЕНКО*[1],**
доктор біологічних наук,
***І.О. АНТІПОВ*[2],**
кандидат сільськогосподарських наук,
***А.А. ДУНІЧ*[1],**
кандидат біологічних наук,
***К.В. ГРИНЧУК*[2],**
аспірант
[1]Київський національний університет імені Тараса Шевченка
[2] Національний університет біоресурсів і природокористування України

Останнім часом зростає розповсюдження вірусів пшениці, які спричинюють значне зниження врожайності, погіршення якості продукції та швидке виродження сортів [1, 14]. Наші багаторічні дослідження показали, що до таких шкідливих вірусів, які постійно циркулюють в Україні, належать вірус смугастої мозаїки пшениці (ВСМП) і вірус жовтої карликовості ячменю (ВЖКЯ) [1, 4]. Моніторингові обстеження пшениці озимої в Україні на уражуваність вірусними хворобами ми постійно проводимо з 1986 р.

Через складні взаємовідносини між рослинами-живителями, вірусами та їх векторами, а особливо за істотного впливу погодних умов на активність і розмноження переносників, спричинена шкідливість істотно варіює [2]. Визначення ареалу розповсюдження вірусів, механізмів передачі, кола рослин-живителів та резерваторів, реакції на зміни навколишнього середовища надають можливість не тільки більш детально охарактеризувати збудника, а й прогнозувати появу й розвиток вірусних захворювань [3].

Проведений у травні 2012 р. вірусологічний моніторинг показав, що рослини пшениці озимої сортів Руссія і Смуглянка у Полтавській області інфіковані ВЖКЯ. А от ВСМП, на відміну від попередніх років, за умов того ж самого агроценозу не виявлено, що могло бути пов'язано з сильною посухою восени 2011, яка призвела до обмеження чисельності векторів ВСМП [4]. Про безумовний вплив змін клімату на рослини, фітопатогени та їх вектори, а також про пряму залежність між заселеністю пшениці озимої переносниками та її ураженістю вірусами йдеться у багатьох роботах останніх років [5—11, 15, 17—21].

Зважаючи на вищесказане, залишається актуальним вивчення видового складу збудників вірусних хвороб пшениці озимої та інших зернових. Тому метою роботи було продовжити моніторинг посівів пшениці озимої в агроценозах України на наявність найбільш небезпечних вірусів.

Методи досліджень. Вірусологічний моніторинг провадили на посівах пшениці озимої сортів Смуглянка, Трипільська (Полтавська обл.), Золотоколоса, Антонівка, Донецька-48 (Миколаївська обл.) та Богдана, Поліська оновлена, Золотоколоса, Донська напівкарликова, Шевалье (Київська обл.).

Для виділення ВЖКЯ було використано методику [12] в нашій модифікації, а для виділення ВСМП — методику [1]. Морфологію вірусних часток вивчали методом трансмісійної електронної мікроскопії (ЕМ). Препарати досліджували за допомогою електронних мікроскопів JEM 1230 (JEOL, Японія) та ЕМ-125 (Суми, Україна).

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 Opsis MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink при довжинах хвиль 405/630 нм. За достовірні брали значення, що перевищували негативний контроль у три рази.

Сумарну РНК виділяли за стандартною методикою з використанням комерційного набору РИБОсорб-В (AmpliSens, Росія). Зворотну транскрипцію здійснювали, застосовуючи комплект реагентів Реверта-L (AmpliSens, Росія), згідно з рекомендаціями виробника. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) провадили за допомогою ампліфікатора «GeneAmp 2400» (Applied Biosystems, США). Проводячи ПЛР, використовували специфічні олігонуклеотидні праймери: BYDV1 (5' ccggcgctatctttattgaa 3'), BYDV2 (5' ccattggccttgtagagcat 3') — для ідентифікації ВЖКЯ штам PAV, очікуваний розмір продукту ампліфікації — 178 п.н.; WSMV1 (5' tgcggaacttatcgacaaca 3'), WSMV2 (5' aatcacacgctgccacaata 3') — для ідентифікації ВСМП, очікувана довжина продукту ампліфікації — 404 п.н. Режим ампліфікації наступний: 5 хв за 95°С — денатурація ДНК, наступні 30 циклів 30 с за 95°С — денатурація, 30 с за 60°С — відпал праймерів, 30 с за 72°С — синтез комплементарних ланцюгів кДНК. Після закінчення ПЛР провадили електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації у агарозному гелі 1,5% з додаванням бромового етидію у концентрації 0,5 мкг/мл, використовуючи маркер ДНК (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus # SM0321) [13].

Статистично аналізували експериментальні дані за параметричними критеріями нормального розподілу варіант, стандартне відхилення се-

редніх значень — за загальноприйнятою методикою.

Результати досліджень. Обстеження посівів пшениці озимої на території Київської, Полтавської та Миколаївської областей показали наявність рослин із симптомами вірусної хвороби. Виявлені симптоми — світло-зелені і жовті смуги різної довжини, що поширюються паралельно до жилкування, та характерна хлоротичність (рис. 1, 2, 6), детально описані нами раніше [1].

У листках рослин пшениці озимої нами виявлено ниткоподібні вірусні частки розміром 710 × 12 нм (рис. 3).

Наші дослідження показали, що рослини пшениці сорту Смуглянка в агроценозі Полтавської області, на відміну від минулого року, не уражені ВЖКЯ (рис. 4).

У рослинах сортів Трипільська та Смуглянка (поле № 1) з Полтавської області із зазначеними вище симптомами нами детектовано ВСМП (рис. 5).

Варто зазначити, що, обстежуючи поля пшениці озимої на наявність вірусіндукованих симптомів,

Рис. 1. Симптоми ураження ВСМП рослин пшениці озимої сорту Трипільська (Полтавська обл.): ліворуч — уражена рослина; праворуч — здорова

Рис. 2. Симптоми ураження ВСМП рослин пшениці озимої сорту Смуглянка (Полтавська обл., травень 2013 року, вірусне ураження)

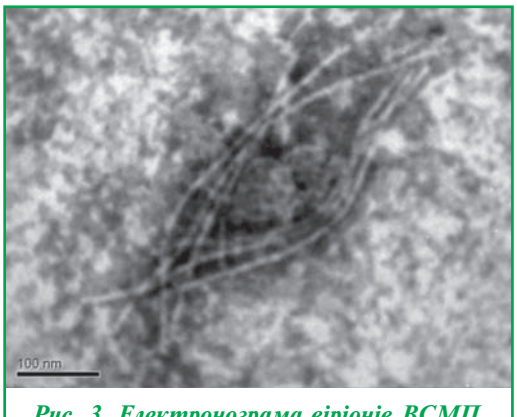

Рис. 3. Електронограма віріонів ВСМП, виявлених у рослинах пшениці озимої сорту Смуглянка (мікроскоп JEM—1230 з приставкою)

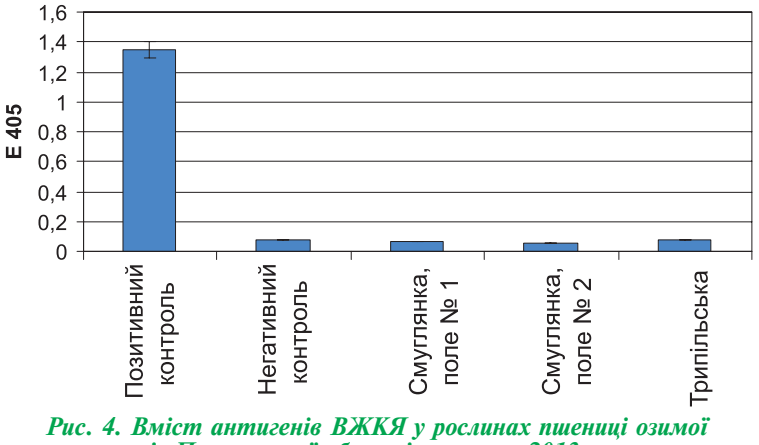

Рис. 4. Вміст антигенів ВЖКЯ у рослинах пшениці озимої із Полтавської області, травень 2013 р.

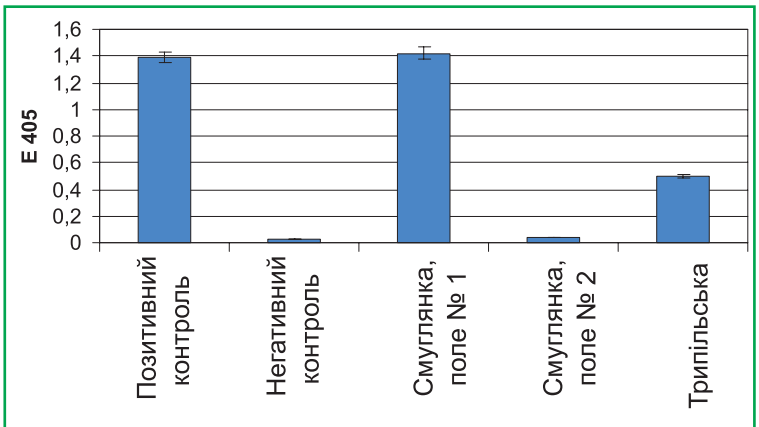

Рис. 5. Вміст антигенів ВСМП у рослинах пшениці озимої з Полтавської області

ми відібрали рослини сорту Смуглянка з двох полів, які різнилися за строком сівби. Поле № 1 — сіяли 12 вересня 2012 р., поле № 2 — засівали на початку жовтня того ж року. За визначення ВСМП у цих зразках встановили, що у пшениці, яка була посіяна раніше (у першій половині вересня) вірус присутній, на відміну від рослин, сівбу яких було проведено у жовтні (рис. 5). Аналогічні результати одержали дослідники в Австралії та в Україні. Ними встановлено, що затримка сівби пшениці озимої знижує випадки інфікування рослин пшениці деякими вірусами, серед яких і ВСМП та ВЖКЯ [1, 16, 22—24].

Схожі до наведених на рисунках 1 та 2 симптоми ВСМП виявлено і на листках пшениці із Київської та Миколаївської областей, окрім рослин сорту Шевальє, на яких симптомів ураження не було (рис. 6—9).

Однак, за результатами ІФА, ВСМП було виявлено тільки в одному зразку — пшениці сорту Богдана, Київської обл. (рис. 10).

У сорту Донська напівкарликова, незважаючи на наявність чітких симптомів, характерних для вірусних, ВСМП не виявлено. Необхідно зазначити, що відсутність патогена може пояснюватися пізнім відбором

Рис. 7. Рослини пшениці озимої сорту Богдана з симптомами ВСМП, Київська обл. (ліворуч — контроль)

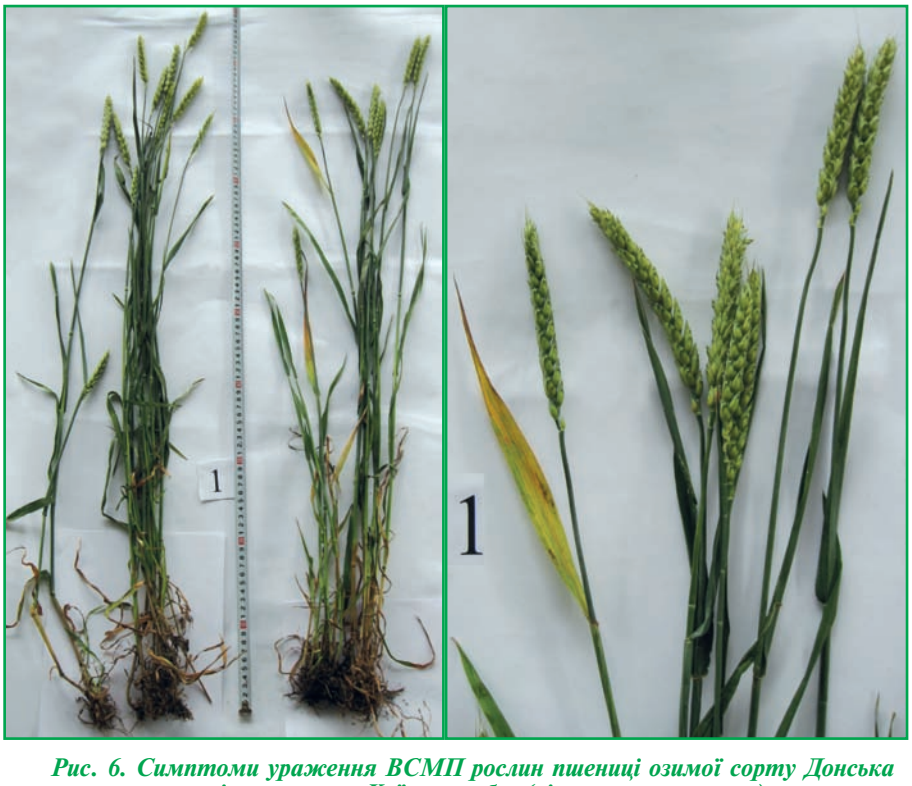

Рис. 6. Симптоми ураження ВСМП рослин пшениці озимої сорту Донська напівкарликова, Київська обл. (ліворуч — контроль)

Рис. 8. Симптоми ураження ВЖКЯ рослин пшениці озимої сорту Антонівка, Миколаївська обл. (ліворуч — контроль), 21 травня 2013 р.

Рис. 9. Здорові рослини пшениці озимої сорту Шевальє (Київська обл.)

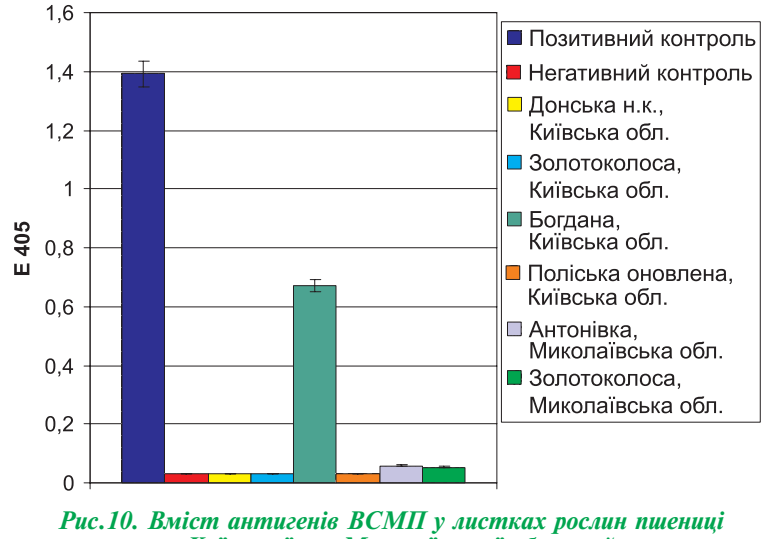

Рис.10. Вміст антигенів ВСМП у листках рослин пшениці з Київської та Миколаївської областей

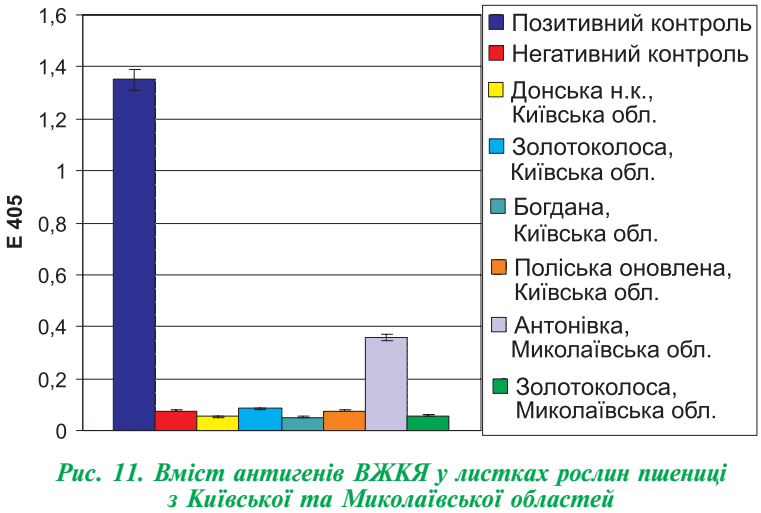

Рис. 11. Вміст антигенів ВЖКЯ у листках рослин пшениці з Київської та Миколаївської областей

зразків (7 червня), а тому тестування цього сорту пшениці буде проведено повторно на молодших рослинах.

За тестування зразків з Київської та Миколаївської областей на наявність ВЖКЯ встановлено, що вірус присутній у пшениці сорту Антонівка, Миколаївська обл. (рис. 11).

Результати ІФА були підтверджені високочутливим методом ЗТ-ПЛР. Аналіз результатів ПЛР показав присутність у зразках сорту Антонівка (Миколаївська обл.) ВЖКЯ, про що свідчить наявність на електрофореграмі продукту ампліфікації відповідного розміру (178 п.н.). Також методом ПЛР показано наявність ВСМП у зразках сорту Смуглянка, поле № 1 (Полтавська обл.), розмір продукту ампліфікації 404 п.н., що відповідає кДНК до РНК цього вірусу (рис. 12).

Зазначимо також, що, окрім добре помітних класичних симптомів ВСМП, вірусінфіковані рослини пшениці озимої візуально виділялися серед здорових своїм ростом і розвитком. Для деяких сортів відзначено, що вірусінфіковані рослини суттєво відрізнялися від здорових висотою рослини, довжиною колоса, розмірами листків. Наприклад, висота уражених ВСМП рослин пшениці сорту Богдана (Київська обл.) становила в середньому 47 см (здорових — 56 см), а довжина колоса — 7,3 см (здорових — 8,8 см). У рослин пшениці сорту Антонівка, інфікованих ВЖКЯ, площа листків була помітно менша, ніж у здорових, і становила 26 × 1,6 см і 25 × 1,9 см відповідно.

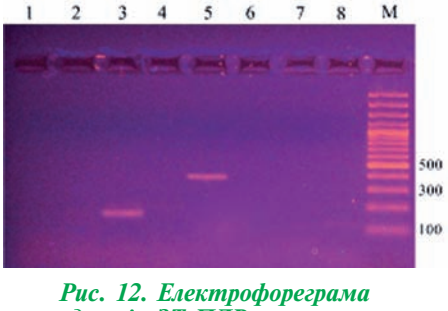

Рис. 12. Електрофореграма продуктів ЗТ-ПЛР з визначення ВЖКЯ (трек 1—4) та ВСМП (трек 5—8) у рослинах сортів пшениці озимої, треки:

1 — Смуглянка, Полтавська обл.;
2 — Смуглянка, поле № 2, Полтавська обл.;
3 — Антонівка, Миколаївська обл.;
4 — негативний контроль ВЖКЯ;
5 — Смуглянка, поле № 1, Полтавська обл.;
6 — Смуглянка, поле № 2, Полтавська обл.;
7 — Антонівка, Миколаївська обл.;
8 — негативний контроль ВСМП;
М — маркер ДНК 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000,1100, 1200, 1300, 1400 (п.н.)

Таким чином, вірусологічний моніторинг показав, що рослини пшениці озимої в умовах агроценозу Полтавської області у 2013 р. були інфіковані ВСМП. Присутність вказаного вірусу, на відміну від 2012 р., можна пояснити більшою кількістю опадів, порівняно з попереднім роком, що сприяло збільшенню чисельності переносників вірусу. Досліджено, що серед протестованих рослин чотирьох сортів, відібраних у Київській області, лише один сорт був уражений ВСМП і жоден із зразків не інфікований ВЖКЯ.

Нами встановлено, що більш пізні строки сівби знижують ризик інфікування рослин пшениці вірусом смугастої мозаїки пшениці. Такі результати пояснюються тим, що за ранніх строків сівби восени розвиток рослин відбувається за підвищених температур і період від появи сходів до початку зимівлі рослин, тобто період можливого ураження вірусом, значно збільшується. Переносники вірусів в цей час знаходяться ще в активному стані і їх чисельність за таких умов близька до максимальної.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Міщенко Л.Т.* Вірусні хвороби озимої пшениці / Л.Т. Міщенко — К.: Фітосоціоцентр, 2009. — 352 с.

2. *Вирусные* болезни — серьезная угроза для выращивания зерновых культур в Европе / Шпаар Д., Рабенштайн Ф., Кастирр У., Хабекус А. // Весці Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. Серыя аграрных навук. — 2006. — № 3. — С. 60—70.

3. *Поліщук В.П.* Прогнозування та закономірності розповсюдження вірусів рослин в біоценозах України: автореф. дис... д-ра біол. наук: 03.00.06 «Вірусологія» / В.П. Поліщук. — К., 2000.

4. *Вплив* екстремальних погодних умов на уражуваність злакових культур вірусами та прояв симптомів захворювань / Міщенко Л.Т., Дуніч А.А., Решетник Г.В., Поліщук В.П. // Карантин і захист рослин. — 2013. — № 3. — С. 2—5.

5. *Шевченко Ж.П.* Переносники вірусних хвороб зернових колосових та їх розвиток і поширення залежно від біотичних та інших факторів / Шевченко Ж.П., Мостов'як І.І., Курка С.М. // Зб. Наук. Праць Уманського національного університету садівництва. — 2011. — Вип. 76, Ч. 1. — С. 24—34.

6. *Чоловський С.М.* Вплив строків сівби на розвиток злакових попелиць та ураженість озимої пшениці вірусом жовтої карликовості ячменю / С.М. Чоловський, Н.І. Пінчук, Л.Т. Міщенко — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — С. 104. (Біоресурси та віруси: тези III Міжнародної конференції).

7. *Мостов'як І.І.* Біологічно-активні речовини в системі захисту озимої пшениці від вірусних хвороб в умовах Центрального Лісостепу України: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.11. «Фітопатологія» / І.І. Мостов'як. — Умань, 2002. — 20 с.

8. *Фактори*, що контролюють атрактивний, репелентний і антибіотичний вплив рослин озимої пшениці на злакових попелиць — переносників вірусу жовтої карликовості ячменю / Ж.П. Шевченко, І.І. Мостов'як, С.М. Курка, М.Я. Мусатенко — К.: Фітосоціоцентр, 2007. — С. 210.

9. *Николенко М.П.* Особенности эпифитотии вируса желтой карликовости ячменя и возможности предупреждения потерь урожая озимой пшеницы, ячменя и тритикале / Николенко М.П., Омельченко Л.И. // Сельскохозяйственная биология — 1987. — № 8. — С. 63—68.

10. *Шевченко Ж.П.* Цикадки как переносчики вирусов и микоплазм, поражающих озимую пшеницу и факторы, предупреждающие их распространение / Шевченко Ж.П., Тараненко О.В. // Пути коренного улучшения производственного обеспечения в новых условиях хозяйствования. — К., 1990. — С. 17.

11. *Уражуваність* озимої пшениці вірусом жовтої карликовості ячменю / Бойко А.Л., Міщенко Л.Т., Філенко О.М., Чоловський С.М., Пінчук Н.І. // Вісник аграрної науки. — 2004. — № 4. — С. 25—30.

12. *Hammond J.* Purification, Identity and Some Properties of An Isolate of Barley Yellow Dwarf Virus from Indiana / J. Hammond, R.M. Lister, J.E. Foster // General Virology. — 1983. — Vol. 64. — P. 667—676.

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

14. *Quantification* of yield loss caused by Triticum mosaic virus and Wheat streak mosaic virus in winter wheat under field conditions / Byamukama E., Wegulo S.N., Tatineni S., Hein G., Graybosch R.A., Baenziger P.S., French R. // Plant disease. — 2013. — http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-04—13-0419-RE.

15. *Performance* of different wheat cultivars to *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) and High Plains virus (HPV) by artificial infection with the vector *Aceria tosichella* Keifer under field conditions / Dumón A.D., Argüello Caro E.B., Alemandri V., Mattio M.F., Donaire G., Alberione E., Bainotti C.T., Rodríguez S.M., Truol G. // RIA, Revista de Investigaciones Agropecuarias. — 2013. — Vol. 39, No. 1. — P. 67—76.

16. *McKirdy S.J.* Effect of sowing time on barley yellow dwarf virus infection in wheat: virus incidence and grain yield losses / S.J. McKirdy, R.A.C. Jones // Australian Journal of Agricultural Research. — 1997. — Vol. 48, No. 2. — P. 199—206.

17. *Climate* change effects on plant disease: genomes to ecosystems / Garrett K.A., Dendy S.P., Frank E.E., Rouse M.N., Travers S.E. // Ann. Rev. Phytopathol. — 2006. — Vol. 44. — P. 489—509.

18. *Climate* change and plant diseases in Ontario / Boland G.J., Melzer M.S., Hopkin A., Higgins V., Nassuth A. // Can. J. Plant Pathol. — 2004. — Vol. 26. — P. 335—50.

19. *Bourgeois G.* Modelling the impact of climate change on disease incidence: a bioclimatic challenge / Bourgeois G., Bourque A., Deaudelin G. // Can. J. Plant Pathol. — 2004. — Vol. 26. — P. 284—290.

20. *Pangga I.B.* Climate change impacts on plant canopy architecture: implications for pest and pathogen management / Pangga I.B., Hanan J., Chakraborty S. // European Journal of Plant Pathology. — 2013. — Vol. 135, Issue 3. — P. 595—610.

21. *Murphy K.M.* Genomics and breeding for climate-resilient crops / Murphy K.M., Carter A.H., Jones S.S. // In: Evolutionary breeding and climate change. Vol.1. — [eds. C. Kole]. — 2013: Springer –Verlag Berlin Heidelberg. — P. 377—389.

22. *Гуляєва І.І.* Вплив строків сівби озимих зернових культур на ураження вірусами / Гуляєва І.І. // Аграрний вісник Причорномор'я. Сільськогосподарські та біологічні науки. — 2010. — Вип. 50. — С. 44—48.

23. *Агєєва О.В.* Анализ фитосанитарного состояния озимой пшеницы сорта Одесская 267 в зависимости от сроков посева / Агєєва О.В., Друзьяк В.Г., Пушкаренко В.К. // Аграрний вісник Причорномор'я. — 2010. — Вип. 50. — С. 35—39.

24. *Алферова П.А.* Закукливание и сроки сева пшеницы / Алферова П.А., Ралько А.А., Телюшенко А.Ю. // Зерновые культуры. — 1997. — № 4. — С. 91.

Мищенко Л.Т.,
Антипов И.А.,
Дунич А.А.,
Грынчук К.В.

Полосатая мозаика пшеницы и желтая карликовость ячменя в Лесостепи и Степи Украины

В 2013 году определили, что в условиях агроценоза Полтавской области растения пшеницы озимой поражены вирусом полосатой мозаики пшеницы (ВПМП), в Николаевской области — вирусом желтой карликовости ячменя, в Киевской — зарегистрированы единичные случаи поражения ВПМП. Установлено, что поздние сроки сева снижают риск инфицирования растений пшеницы озимой ВПМП.

пшеница озимая, вирус полосатой мозаики пшеницы, вирус желтой карликовости ячменя, сроки посева

Mishchenko L.T.,
Antipov I.O.,
Dunich A.A.,
Grynchuk K.V.

Wheat streak mosaic virus and barley dwarf yellow virus in Forest-Steppe and Steppe of Ukraine

It was revealed that in 2013 winter wheat plants are infected with Wheat streak mosaic virus in Poltava region and with Barely dwarf yellow virus — in Mykolaiv region. Also single cases of WSMV infection were registered in the Kiev region. It was established that the late terms of sowing reduce the risk of infecting of winter wheat plants with Wheat streak mosaic virus.

winter wheat, *Wheat streak mosaic virus, Barely dwarf yellow virus,* sowing terms

Рецензент:
Щербатенко І.С., доктор біологічних наук
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України