

## ВИЯВЛЕННЯ ВІРУСУ АСПЕРМІЇ ТОМАТИВ У РОСЛИНАХ ОРХІДНИХ ПРИРОДНОЇ ФЛОРИ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

**О.С. Перегудова**, аспірантка\*

**Г.В. Коротєєва**, кандидат біологічних наук

**Т.А. Компанець**, кандидат біологічних наук

**В.П. Поліщук**, доктор біологічних наук, професор

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Проведено обстеження орхідних *Dactylorhiza incarnata* та *Epiractis palustris* природної флори України, відібраних на території Київської області, на наявність вірусних інфекцій. У зразках рослин були детектовані два типи патогенів, один з яких ідентифіковано як вірус аспермії томатів.

**Ключові слова:** орхідні, віруси, природна флора

Родина *Orchidaceae* Juss. одна з найчисельніших з покритонасінних рослин, що налічує понад 35 тис. видів. Представники цієї родини поширені на всіх континентах земної кулі, крім полярних областей та пустель [5]. Вірусні захворювання орхідних відомі ще з середини ХХ сторіччя [7]. Нині вже описано понад 30 вірусів, здатних інфікувати представників родини *Orchidaceae* Juss. [10, 12]. Більша частина цих вірусів відомі як патогени тропічних та субтропічних орхідей, що вирощуються в умовах захищеного ґрунту. Проте віруси терестріальних орхідних помірної кліматичної зони вивчені значно гірше.

Усі орхідеї природної флори нашої країни занесені до Червоної книги України [2]. Вони характеризуються складною біологією розвитку – потребою у специфічних грибах-симбіонтах та чіткою ентомофілією. Тому для цих рослин властиві низький ступінь відновлення, висока чутливість до природних

змін та антропогенних факторів. Віруси, як біотичний чинник, здійснюють безпосередній вплив на загальний стан генофонду популяцій рослин. Найнебезпечнішими є віруси, що потрапляють у природні біоценози з агроценозів, оскільки вони високо патогенні для нових хазяїв.

При дослідженні орхідних природної флори України серед зразків, відібраних на території Криму та Карпат, були ідентифіковані антигени вірусів жовтої мозаїки квасолі (BYMV), погремковості тютюну (TRV), аспермії томатів (TAV) та мозаїки резухи (ArMV) [2]. Також описані випадки ураження інтродукованих орхідних родів *Cypripedium*, *Orchis*, *Ophrys* вірусом мозаїки турнепсу (TuMV) та вірусом погремковості тютюну (TRV) [7].

**Мета дослідження** – виявлення та ідентифікація збудників вірусних захворювань орхідних Київської області.

**Матеріали та методи дослідження.** Досліджували орхідні *Dactylorhiza incarnata* та *Epipactis palustris* природної флори України з симптомами вірусного ураження, відібрані в природних локалітетах Київської області.

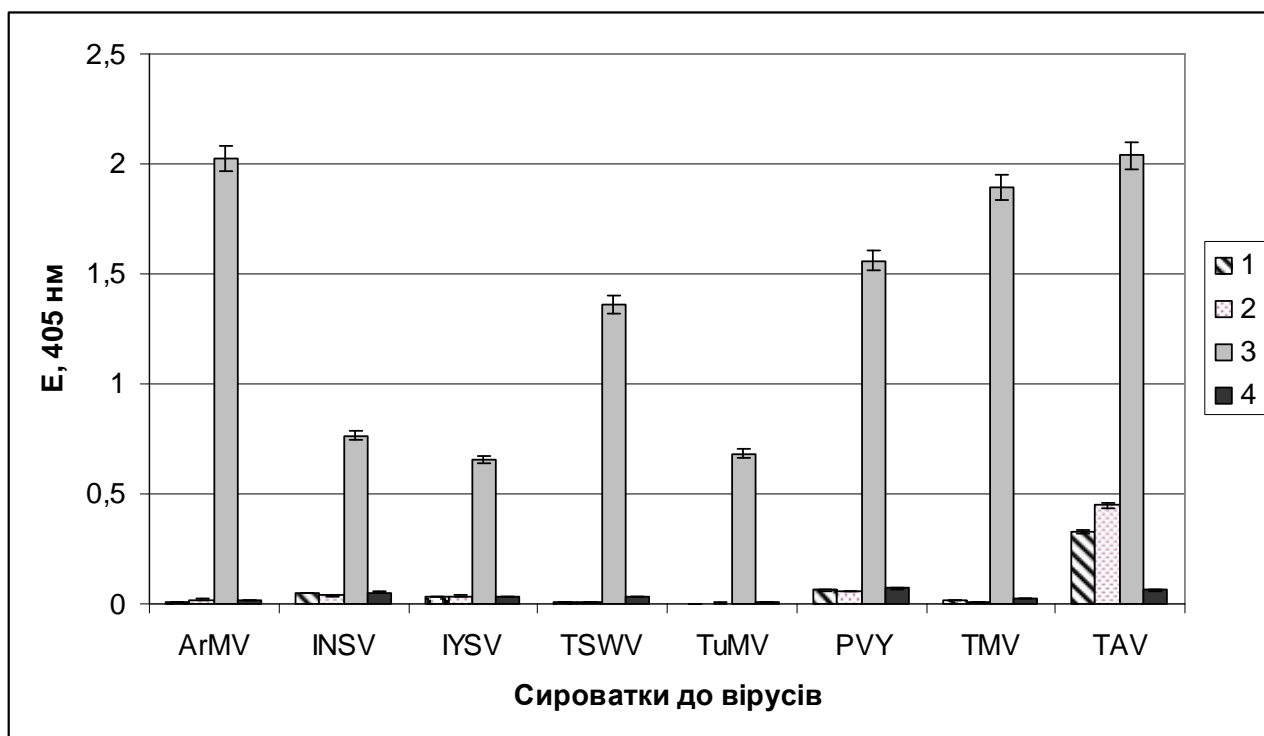
Віруси ідентифікували за допомогою непрямого імуноферментного аналізу (ІФА) та DAS-ELISA [1]. Для проведення ІФА зразки орхідних гомогенізували з додаванням 0,1М фосфатно-сольового буфера (рН 7,4) у співвідношенні 1:3 (m/v). Низькошвидкісне центрифугування здійснювали за допомогою центрифуги PC-6 при 5000 об/хв протягом 20 хв. Для діагностики вірусної інфекції використовували сироватки до вірусів тютюнової мозаїки (TMV) (сироватка отримана на кафедрі, чутливість та специфічність підтверджені експериментально), TuMV (люб'язно надана Lesemann D.E., Julius Kühn Institute, Federal Research Center for Cultivated Plants, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Germany), TAV, ArMV, плямистого в'янення томатів (TSWV), некротичної плямистості бальзаміну (INSV), жовтої плямистості ірису (IYSV) (Loewe, Германія), та У-вірусу картоплі (PVY) (Prime Diagnostics, Нідерланди).

Біологічні властивості патогенів орхідних вивчали на спектрі рослин-індикаторів: *Amaranthus caudatus*, *Celosia argentea*, *Gomphrena globosa*, *Zinnia elegans*, *Brassica oleracea*, *Chenopodium amaranticolor*, *Cucumis sativus*, *Phaseolus vulgaris*; *Datura stramonium*, *Nicotiana alata*, *N. benthamiana*, *N. rustica*, *N. tabacum*, *Petunia hybrida*, *Tetragonia expansa*. Ураження рослин-індикаторів проводили на ранніх стадіях розвитку методом механічної інокуляції.

Морфологію віріонів вивчали методом трансмісивної електронної мікроскопії за допомогою електронного мікроскопа JEOL-1400 (Японія), при інструментальному збільшенні 40000 та 60000. Препарати контрастували 2%-ним водним розчином уранілацетату.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Візуальне обстеження орхідних проводили у 2011-2012 рр. На рослинах *D. incarnata* у більшості випадків спостерігали некротичну плямистість, значно рідше – слабо виражену мозаїку. Рослини *E. palustris*, здебільшого, були без візуальних симптомів ураження, лише в поодиноких випадках детектувались окремі некрози.

Для ідентифікації вірусів у зразках орхідних природної флори проведено імуноферментне тестування з сироватками до вірусів, широко розповсюджених у агроценозах України та до раніш виявлених вірусів орхідних [2, 7]. У зразках соку рослин *D. incarnata* та *E. palustris* імуноферментним аналізом були детектовані антигени TAV (рис. 1).



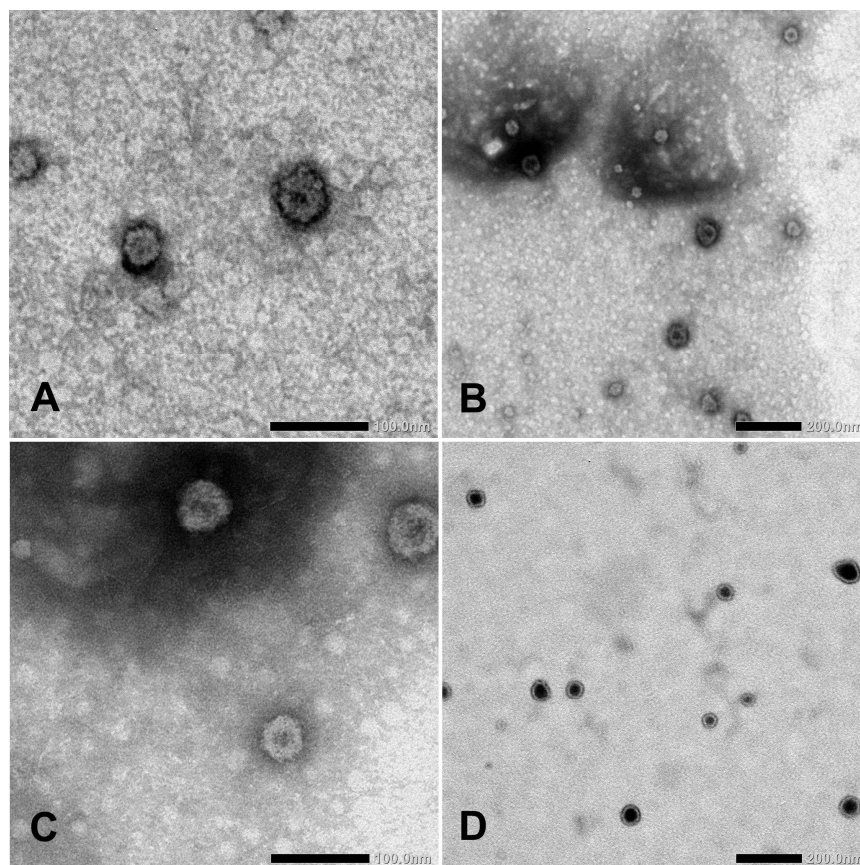
**Рис. 1. Результати імуноферментного тестування орхідних: 1 – *D. incarnata*, 2 – *E. palustris*, 3 – позитивний контроль, 4 – негативний контроль.**

Для підтвердження інфекційної природи захворювань *D. incarnata* та *E. palustris* здійснювали біологічне тестування на спектрі рослин-індикаторів, типових для багатьох вірусів декоративних рослин [5, 8]. При ураженні рослин-індикаторів соком орхідних спостерігали розвиток системної реакції на таких рослинах: *D. stramonium*, *N. benthamiana*, *P. vulgaris*, *T. expansa*. Слід відзначити, що переважна частина рослин-індикаторів при інокуляції соком *D. incarnata* або *E. palustris* реагували однаково, відрізняючись лише ступенем прояву симптомів (таблиця).

**Реакція рослин-індикаторів при інокуляції соком орхідних *D. incarnata*  
та *E. palustris***

Рослина-індикатор	Симптоми при інокуляції соком	
	<i>Dactylorhiza incarnata</i>	<i>Epipactis palustris</i>
<i>Amarantus caudatus</i>	–	–
<i>Brassica oleracea</i>	–	–
<i>Celosia argentea</i>	–	–
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	–	–
<i>Cucumis sativus</i>	–	–
<i>Datura stramonium</i>	Хлоротичні плями, деформація листкової пластинки	Хлоротичні плями, в'янення
<i>Gomphrena globosa</i>	–	–
<i>Nicotiana glauca</i>	–	–
<i>Nicotiana benthamiana</i>	Некрози, пожовтіння	Пожовтіння
<i>Nicotiana rustica</i>	–	–
<i>Nicotiana tabacum</i>	–	–
<i>Petunia hybrida</i>	–	–
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Просвітлення жилок, крапчастість	Крапчастість, пожовтіння
<i>Tetragonia expansa</i>	В'янення	В'янення
<i>Zinnia elegans</i>	–	–

Одночасно з біотестуванням проводили електронно-мікроскопічні дослідження соку *D. incarnata* та *E. palustris*. У зразках виявили два типи сферичних вірусоподібних часток діаметром 48-52 нм та 30-33 нм (рис. 2).



**Рис. 2.** Електронномікроскопічне зображення вірусоподібних часток у соці інфікованих рослин: **A, B** – *Dactylorhiza incarnata* (лінійка відповідно 100 нм та 200 нм), **C, D** – *Epipactis palustris* (лінійка відповідно 100 нм та 200 нм).

За літературними даними, сферичні віріони, діаметром близько 50 нм, характерні лише для представників родини *Caulimoviridae*: родів *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus*, *Soymovirus* [10]. Більшість представників цих родів здатні передаватися механічним шляхом, але віруси червоної кільцевої плямистості чорниці, скручування листя цеструму, просвітління жилок петунії та просвітління жилок тютюну передаються лише за допомогою векторів. Оскільки методом механічної інокуляції доведена інфекційність соку рослин *D. incarnata* та *E. palustris*, то детектований патоген цих орхідних не може належати до згаданих вірусів.

Враховуючи результати ІФА, можна припустити, що вірусоподібні частки діаметром приблизно 30 нм є віріонами вірусу аспермії томатів.



## ВИСНОВКИ

Встановлено інфекційну природу ураження орхідних *D. incarnata* та *E. palustris* природної флори України, відібраних у Київській області. Методом трансмісійної електронної мікроскопії у зразках рослин виявлені сферичні вірусоподібні частки діаметром близько 30 нм та 50 нм. За результатами ІФА вірусні частки діаметром 30 нм ідентифіковані як віріони вірусу аспермії томатів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Серология и иммунохимия вирусов растений/ Р.В. Гнутова / М.: Наука, 1993. – 301 с.
2. Віруси зозулинцевих природної флори України / Г.В. Коротєєва, В.П. Поліщук // Мікробіол. Журн. – 2004. – Т. 66– № 2. – С. 74-80.
3. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Дідух Я.П. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900с.
4. Тропические и субтропические орхидеи / Т.М. Черевченко. / – К.: Наукова думка,1993. – 253с.
5. Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J. (eds.) (1996 onwards). `Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996.
6. Mosaic of Cymbidium orchid / D.D. Jensen // Phytopathology. – 1950. – Vol. 40. – P. 966–967.
7. The occurrence of tobacco rattle and turnip mosaic virus in *Orchis ssp.*, and of an unidentified potyvirus of *Cypripedium calceolus* / D.E. Lesemann, H.J. Vetten // Acta Hortic. – 1985. –Vol.64. – P. 45–54.
8. Dekoratyvinių augalų virusinės ligos ir jų sukėlėjai Lietuvoje. Monografija / M. Navalinskienė, M. Samuitienė / Kaunas:Lutute, 2006, – 256 p.
9. Orchid biotechnology II // eds. Chen H.-W. and Chen H.-H. - World Scientific Publishing Co Pte Ltd, Singapore. – 2011. – 380 p.

10. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / [King A. M. Q., Adams M. J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J.] – New York: Elsevier Academic Press., 2012. – 1338 p.

11. Viruses of orchids and their control / F.W. Zettler, G.C. Wistler, M.S. Elliot, N.-J. Ko // Plant. Disease. – 1990. – Vol. 74. – P. 621–626.

## **ВЫЯВЛЕНИЕ ВИРУСА АСПЕРМИИ ТОМАТОВ У РАСТЕНИЙ ОРХИДНЫХ ПРИРОДНОЙ ФЛОРЫ КИЕВСКОЙ ОБЛАСТИ**

*А.С. Перегудова, А.В. Коротева, Т.А. Компанец, В.П. Полищук*

Проведено обследование орхидных *Dactylorhiza incarnata* и *Epipactis palustris* природной флоры Украины, отобранных на территории Киевской области, на наличие вирусных инфекций. В образцах растений были детектированы два типа патогенов, один из которых идентифицировано как вирус аспермии томатов.

**Ключевые слова:** *орхидные, вирусы, природная флора*

## **DETECTION OF TOMATO ASPERMY VIRUS IN WILD-GROWING ORCHIDS IN KYIV REGION**

*A.S. Peregudova, G.V. Korotyeyeva, T.A. Kompanets, V.P. Polischuk*

The orchids *Dactylorhiza incarnata* and *Epipactis palustris* of natural Ukrainian flora collected in Kyiv region were studied. Two types of pathogens were detected in samples of orchids. One of these pathogens was identified as Tomato aspermy virus.

**Key words:** *orchids, viruses, natural flora*