

# ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В ФГБНУ ФНЦО (МОНИТОРИНГ, ИММУНИТЕТ, ИСТОЧНИКИ УСТОЙЧИВОСТИ)

KEY RESEARCH AREAS FOR VEGETABLE CROPS IN FEDERAL STATE BUDGETARY SCIENTIFIC INSTITUTION FEDERAL SCIENTIFIC VEGETABLE CENTER (FSBSI FSVC) (MONITORING, IMMUNITY, RESISTANCE SOURCES)

Енгальчева И.А., Козарь Е.Г.

ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства  
143080, Московская область, п.ВНИИССОК,  
ул. Селекционная, 14  
E-mail: engirina1980@mail.ru, kozar\_eg@mail.ru

В последние десятилетия на овощных культурах в условиях Нечерноземной зоны отмечается нарастание вредоносности фитовирусов, проявляющееся в снижении продуктивности и качестве возделываемых культур. К главным причинам следует отнести возделывание сортов со слабой устойчивостью к фитовирусам, неконтролируемая торговля посадочным и семенным материалом, появление новых, более агрессивных штаммов. В настоящее время самым эффективным методом борьбы с вирусными болезнями остается селекция устойчивых сортов и гибридов овощных культур. Поэтому в наших иммунологических исследованиях актуальными остаются направления по мониторингу распространения и идентификации вирусопатогенов на овощных культурах и поиск источников устойчивости к экономически значимым фитовирусам для создания исходного материала. В задачи наших исследований входило: идентификация и изучение свойств московских изолятов фитовирусов; комплексная оценка устойчивости и других хозяйственно ценных признаков коллекционного и селекционного материала овощных культур ФГБНУ ФНЦО в условиях искусственного заражения, провокационного и естественного инфекционного фонов с помощью методов визуальной диагностики, серологической диагностики, биотестирования и электронной микроскопии. Проведенный сотрудниками лаборатории иммунитета и защиты растений мониторинг фитосанитарного состояния овощных и декоративных культур (2002–2018 годы) позволил выделить наиболее вредоносные и экономически значимые вирусопатогены. Проведена идентификация и выявлены особенности физико-химических характеристик московских изолятов вирусов родов *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*. Описаны основные симптомы, вызываемые данными изолятами на растениях-индикаторах и на растениях-хозяевах в условиях Московской области. На основе оценки коллекционного и селекционного материала овощных культур выделены источники резистентности к вирусопатогенам с комплексом хозяйственно ценных признаков. Данные образцы включены в селекционную программу ФГБНУ ФНЦО по созданию высокопродуктивных сортов фасоли овощной, отвечающих требованиям современного рынка.

**Ключевые слова:** вирусный изолят, сортообразец, устойчивость, методика оценки.

**Для цитирования:** Енгальчева И.А., Козарь Е.Г. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В ФГБНУ ФНЦО (МОНИТОРИНГ, ИММУНИТЕТ, ИСТОЧНИКИ УСТОЙЧИВОСТИ). *Аграрная наука*. 2019;(3):79–85.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-79-85>

Engalycheva I.A., Kozar E.G.

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Vegetable Center"  
14, Selektionnaya, VNISSOK, Odintsovo region, Moscow district, Russia  
E-mail: engirina1980@mail.ru, kozar\_eg@mail.ru

During the last decades there has been an increase in harmfulness of phytoviruses reflected in production loss and quality impairment of the cultivate crops in Non-Chernozem belt. The principal reasons for this are cultivation of the varieties lacking adequate resistance to phytoviruses, unsupervised planting material and seed trading, and appearance of more aggressive new strains. At present selection of resistant varieties and hybrids of vegetable crops is still the most efficient method of viral disease control. Therefore identification and monitoring of propagation of viral pathogens of the vegetable crops and the search of the sources of resistance to commercially significant phytoviruses are the most urgent areas of our immunological research aimed on creation of parent material. The tasks of our phytopathological research included: identification and study of the properties of Moscow phyto-viral isolates; comprehensive assessment of resistance and other commercially valuable characters of collection and selection vegetable crop material in FGBNU FSVC under conditions of artificial inoculation, challenging and natural infection background with the use of visual diagnostics, serological diagnostics, biotesting and electron microscopic methods. Monitoring of phytosanitary status of vegetable and ornamental crops, which was performed by the personnel of the Laboratory of Plant Immunity and Protection (2002–2018) has revealed the most harmful and economically significant viral pathogens. Key physical-chemical characteristics of Moscow viral isolates belonging to the genera *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, and *Tospovirus* were identified and demonstrated. The main symptoms caused by those isolates in indicator plants and in host plants under conditions of Moscow region have been described. Based on evaluation of collection and selection material of the vegetable crops the sources of resistance to viral pathogens exhibiting economically important characters have been identified. These specimens are incorporated into FGBNU FSVC program aimed on creation of high-productivity varieties of green bean meeting the current market requirements.

**Key words:** viral isolate, varieties, resistance, method of evaluation.

**For citation:** Engalycheva I.A., Kozar E.G. KEY RESEARCH AREAS FOR VEGETABLE CROPS IN Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Vegetable Center (FSBSI FSVC) (MONITORING, IMMUNITY, RESISTANCE SOURCES). *Agrarian science*. 2019;(3):79–85. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-79-85>

## Введение

В связи с изменением климата фитомониторинг распространения наиболее вредоносных вирусопатогенов на посевах овощных культур приобретает все большую значимость, так как в последние десятилетия отмечено нарастание их вредоносности. К главным причинам следует отнести возделывание сортов со слабой устойчивостью к фитовирусам, неконтролируемая торговля посадочным и семенным материалом, появление новых, более агрессивных штаммов. Нельзя исключать и своеобразные климатические условия Нечерноземной зоны РФ, когда наблюдается большой перепад дневных и ночных температур, а в отдельные годы — обилие насекомых-переносчиков, которые создают высокий инфекционный фон [1].

Вирусы различаются по типу вектора, ответственному за распространение, типу наносимого им ущерба посевному и посадочному материалу, по происхождению источников вируса и по процедуре контроля [2]. Степень поражения овощных культур и проявления заболевания не постоянна и может усиливаться или ослабляться в зависимости от экологии того или иного вируса и растения-хозяина. Нередко в условиях открытого грунта отмечается поражение смешанной вирусной инфекцией, и потеря урожая от такого взаимодействия достаточно высока.

В настоящее время в мире известно около 3000 фитовирусов, из них к началу 21 века было описано и в разной степени охарактеризовано более 100 вирусных и вирусоподобных заболеваний овощных растений. К сожалению, в настоящее время в России идентификации, изучению вирусов и болезней, вызываемых ими на овощных культурах, уделяется очень мало внимания. Поэтому в современных иммунологических исследованиях актуальными остаются направления по идентификации вирусопатогенов на овощных культурах и скрининг генофонда растений коллекционных и селекционных образцов на устойчивость к болезням вирусной этиологии для селекции на иммунитет и поиск устойчивых форм.

## Материал и методы исследований

Фитосанитарный мониторинг развития вирусной инфекции на посевах овощных культур в агроценозах Московской области осуществляли на базе ФГБНУ ФНЦО. Работу по идентификации и изучению свойств выделенных вирусных изолятов проводили на базе лаборатории иммунитета и защиты растений ФГБНУ ФНЦО и лаборатории вирусологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Материалом для исследования являлись:

- изоляты вирусопатогенов, выделенные из пораженных растений овощных культур семейств *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Comp sitae*, *Api ceae*.

- коллекционные и селекционные образцы исследуемых овощных культур различного географического и генетического происхождения, представленные лабораториями: селекции и семеноводства пасленовых культур, селекции и семеноводства бобовых культур, генетики и цитологии ФГБНУ ФНЦО. В их число вошли районированные и перспективные сорта российской (в т.ч. ФГБНУ ФНЦО), а также сорта иностранной селекции.

**Идентификация фитовирусов.** Наличие антигенов вируса в листьях растений определяли методом иммуноферментного анализа по сэндвич-варианту с использованием реагентов фирмы Agdia. Оценку результатов ИФА проводили с помощью спектрофотометра при длине волны 480 нм, определяя относительную концен-

трацию вирусных частиц в пробах. Для идентификации фитовирусов также применяли иммунологический экспресс-метод диагностики заболеваний с использованием иммунострипов фирмы Agdia.

Биотестирование проводили на тест-растениях следующих видов: клевер луговой (*Trifolium pratense* L.), томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.), петуния (*Petunia x hybrida hort. ex Vilm.*), фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.), горох посевной (*Pisum sativum* L.), горошек душистый (*Lathyrus odoratus* L.), пекинская капуста (*Brassica pekinensis* Rupr.), табак (*Nicotiana tabacum* L.) сортов Ксанти и Самсун, гомфрена шаровидная (*Gomphrena globosa* L.), дурман обыкновенный (*Datura stramonium* L.), кабачок (*Cucurbita pepo* L.), марь белая (*Chenopodium album* L.), бобы овощные (*Faba bona Medik. var. major* Harz.), вигна (*Vigna sinensis* (Hassk.) Endl.) пажитник (*Trigonella foenum-graecum* L.).

Электронная микрография препаратов вирусов проводилась на оборудовании Центра Коллективного пользования «Дальневосточный центр электронной микроскопии»: ННЦМБ ДВО РАН (электронный микроскоп «Libra 200 FE HT»).

Оценку изучаемых образцов овощных культур по признаку устойчивости к вирусопатогенам проводили путем искусственного заражения (лабораторные условия), на провокационном и естественном инфекционных фонах (поле, теплицы) с использованием методов визуальной диагностики и серодиагностики характерных симптомов на листьях растений по методике [4]. Устойчивость каждого образца оценивали по общепринятым показателям: распространенность (%), индекс поражения (средний балл), степень развития болезни (%). По совокупности всех оценок образцы дифференцировали на группы устойчивости и выделяли перспективные источники устойчивости.

## Результаты исследований

Проводимый нами с 2002 года ежегодный мониторинг по фитосанитарному состоянию овощных и декоративных культур позволил выделить наиболее вредоносные и экономически значимые фитовирусы. С помощью методов визуальной диагностики, серологической диагностики, биотестирования и электронной микроскопии проведена идентификация и выявлены особенности физико-химических характеристик московских изолятов вирусов родов *Tobamovirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Tospovirus*, которые приведены в этой статье.

**Вирус табачной мозаики** (*Tobacco mosaic Tobamovirus*, *TMV*) был идентифицирован на растениях перца сладкого и томата в условиях защищенного грунта, малообъемной технологии и открытого грунта.

В процессе визуальной диагностики отмечено, что на культуре перца сладкого вирус вызывал два типа проявления симптоматики. В первом случае, отмечены растения с симптомами зеленой мозаики, хлоротичности, искривлением центральной жилки на верхушечных листьях, скручиванием листовой пластинки вовнутрь; на плодах отмечена деформация и мозаичность. Степень развития болезни на плодах и листьях некоторых образцов составила 100%. Растения табака (*Nicotiana glutinosa*) и перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) на искусственное заражение отреагировали появлением морщинистости, точечных некрозов и зеленой мозаики, табака сорта Ксанти — появлением мелких локальных некрозов серого цвета (таблица 1).

На растениях со вторым типом симптоматики отмечена ярко-желтая мозаика, морщинистость, на плодах —

Таблица 1.

Реакция растений — индикаторов на инокуляцию соком, полученным из растений перца сладкого с симптомами зеленой и желтой мозаики

Зеленая мозаика				Желтая мозаика		
<i>Nicotiana glutinosa</i>	Томат <i>Solanum lycopersicum</i>	Перец <i>Capsicum annuum</i>	Табак <i>Nicotiana tabacum</i> (Ксанти)	Табак <i>Nicotiana tabacum</i> (Ксанти)	Табак <i>Nicotiana glutinosa</i>	Томат <i>Solanum lycopersicum</i>
Светло-зеленая мозаика	Нет	Светло-зеленая мозаика	Мелкие локальные некрозы серого цвета	Мелкие локальные некрозы серого цвета	Желтая мозаика	Желтая мозаика
Деформация листовой пластины		Деформация листовой пластины			Деформация листовой пластины	Деформация листовой пластины
Точечный некроз		Точечный некроз			некроз	точечный некроз

деформация и мозаичность. Симптомы проявились на верхних листьях к концу вегетации. Это обусловлено более поздним поражением растений вирусом. Степень развития болезни на листьях и плодах в среднем составила 10,5–25%.

При инокуляции соком на растениях томата (*Solanum lycopersicum*) и табака (*Nicotiana glutinosa*) отмечена морщинистость, некроз и желтая мозаика, на растениях табака Ксанти — мелкие локальные некрозы серого цвета (таблица 1). При электронной микроскопии, проведенной сотрудниками лаборатории вирусологии Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН Волковым Ю.Г., в соке инфицированных растений перца сладкого с симптомами желтой и зеленой мозаики обнаружены палочковидные частицы вируса табачной мозаики размером 300x18 нм. По результатам экспресс-метода с использованием иммунострипов и иммуноферментного анализа во всех образцах идентифицирован вирус табачной мозаики (TMV). По данным Белянкиной О.Г. (1995) зеленую мозаику на перце вызывает штамм ВТМ К<sub>2</sub>, а желтую — ВТМ Н<sub>4</sub>.

На растениях томата в условиях открытого грунта вирус табачной мозаики вызывает симптомы желтой мозаики, неравномерного разрастания листовой пластины. Сильное проявление симптоматики зачастую отмечалось в процессе дозаривания плодов и характеризовалось внутренним поражением плодов. Внешне на плодах проявлялись желтоватые или хлоротические пятна (в зависимости от окраски плода), внутри плода отмечалась некротизация проводящих пучков. При электронной микроскопии в соке инфицированных растений томата с симптомами желтой мозаики также обнаружены палочковидные частицы вируса табачной мозаики размером 300x18 нм.

В некоторые годы вирус табачной мозаики наносил наиболее значительный экономический ущерб, если находился в смешанной инфекции с другими вирусами, например, вирусом огуречной мозаики (*Cucumber Mosaic Virus — CMV*), X-вирусом картофеля (*Potato virus X — PVX*), Y-вирусом картофеля (*Potato virus Y — PVY*), вирусом мозаики люцерны (*Alfalfa mosaic virus — AMV*).

Симптомы поражения вирусом табачной мозаики отмечены также на сорной растительности: мари белой, клевере луговом, осоте, подорожнике, которые являются резервуарами данной вирусной инфекции в условиях Московской области.

**Вирус бронзовости томата** (*Tomato spotted wilt Tospovirus, TSWV*) из рода *Tospovirus* идентифицирован в условиях защищенного грунта Московской области на растениях перца сладкого со следующими симптомами:

в фазе бутонизации на молодых верхушечных листьях появлялись пятна желто-коричневой окраски. К началу фазы плодоношения на стеблях, ветвях, черешках, плодоножках появлялись продольные кольца желто-коричневого цвета. Часто наблюдалась очень сильная некротизация, приводящая к быстрой гибели отдельных побегов или целого растения. На плодах появлялись бронзовые или желтые зональные пятна (в зависимости от окраски плода). Зачастую пораженные ткани плода отмирали и приобретали вид вдавленных буро-коричневых колец. Однако у отдельных растений, при поражении на ранних стадиях развития, наблюдали отмирание точки роста и верхней части стебля, пораженных этим вирусом, и новое отрастание внешне здоровых побегов, на которых затем образовывались стандартные плоды.

Вирус может заражать многочисленные виды растений из семейств: *Asteraceae*, *Bromeliaceae*, *Convolvulaceae*, *Fabaceae*, *Solanaceae*, *Tropaeolaceae*. Переносчиком TSWV считаются несколько видов трипсов: *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *T. parvi* и др. [7]. Установлено, что вектор-переносчиком TSWV в условиях Московской области является *Thrips tabaci* [3]. TSWV также передается механической инокуляцией, прививкой, но не передается контактно, пыльцой и семенами.

Вирус обыкновенной мозаики фасоли (*Bean common mosaic potyvirus, BCMV*) был идентифицирован визуально на растении фасоли обыкновенной с симптомами темно-зеленой мозаики, вздутий, отставания в росте и кустистости. Электронная микроскопия препарата из листьев пораженных растений фасоли показала наличие гибких нитевидных частиц размером 700–800 нм. При заражении изолятом BCMV растений-индикаторов чувствительными оказались только растения фасоли, которые реагировали на заражение слабой мозаикой (таблица 2).

BCMV передается векторно тлями *Acyrtosiphon pisum*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* и *Aphis fabae* [6], а также механически, но имеет очень ограниченный круг поражаемых растений. В основном это фасоль обыкновенная, у которой известна высокая степень передачи вирусной инфекции, свыше 80%, семенами.

**Вирус желтой мозаики фасоли** (*Bean yellow mosaic potyvirus, BYMV*) идентифицирован на растениях фасоли овощной и бобов конских (*Vicia faba*) с симптомами желтой мозаики, крапчатости листьев, скручивания листовой пластины внутрь, формирования у поверхности почвы розетки из мелких листьев. В стручках бобов образовывались недоразвитые семена.

Методом электронной микроскопии в соке инфицированных растений бобов, фасоли и растений-инди-

каторов обнаружены нитевидные частицы длиной 800 нм, шириной 15–20 нм, относящиеся к роду потивирус. Московский изолят ВУМВ, выделенный с фасоли овощной, при механической инокуляции растений-индикаторов вызвал различные системные симптомы (таблица 3).

Так, растения пажитника (*Trigonella*) на заражение отреагировали угнетением и задержкой роста, на горохе отмечена темно-зеленая мозаика и крапчатость, на бобах морщинистость и мозаика, на горошке душистом — мозаика и угнетение роста растений. В то же время, по сообщению других исследователей, Приморский фасолевый изолят ВУМВ, в отличие от Московского, заражал только растения семейства *Fabaceae*, но также наносил наиболее значительный экономический ущерб, если находился в смешанной инфекции с другими вирусами, например, с вирусом скручивания листьев гороха [5].

Электронная микроскопия препарата из листьев некоторых сильно пораженных растений фасоли с симптомами мозаичности, увядания и карликовости, проявившихся в условиях Московской области, также показала наличие трех видов вирионов: изометрических частиц ~40 нм, нитевидных гибких — 900x10–15 нм, жестких — 850–900x10–15 нм и палочковидных — ~400–500x15 нм.

Размеры нитевидных вирионов соответствовали роду Potyvirus и были представлены изолятами вирусов желтой (ВУМВ) и обыкновенной (ВСМВ) мозаики фасоли. Более короткие вирионы по морфологии сходны с частицами рода Potexvirus и были идентифицированы как вирус мозаики белого клевера — широко распространенного возбудителя болезней бобовых растений. Изометрические частицы принадлежат вирусу огуречной мозаики (*Cucumber mosaic virus*). Присутствие этих вирусов было подтверждено иммунологическим экспресс-методом диагностики с использованием иммунострипов. При такой смешанной инфекции степень развития болезни на отдельных образцах фасоли в разные годы в условиях Московской области также доходила до 100%.

**Вирус обыкновенной мозаики гороха** (*Pea mosaic potyvirus*, PMV) идентифицирован на культуре горошка душистого с симптомами в виде хлороза, мозаичности на листьях, измельчения и скручивания листовой пластинки. На некоторых образцах отмечено фенотипическое изменение признака окраски цветка. Растения, пораженные PMV в ранние сроки, не зацвели, тем самым снизив выход цветочной продукции с единицы площади. Известно, что описанные симптомы на горошке душистом сходны с симптомами, появляющимися при заражении вирусом обыкновенной мозаики гороха (*Pea*

Таблица 2.

**Реакция растений-индикаторов на инокуляцию соком, полученным из растений фасоли обыкновенной с симптомами темно-зеленой мозаики**

Исходный образец — фасоль с симптомами мозаики					
Пажитник ( <i>Trigonella foenum</i> )	Горох ( <i>Pisum sativum</i> L.)	Фасоль ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Бобы ( <i>Faba bona Medik.</i> )	Горошек душистый ( <i>Lathyrus odoratus</i> )	Возбудитель
отсутствуют	отсутствуют	Слабая мозаика	отсутствуют	отсутствуют	Гибкие нитевидные частицы 700–800 нм

Таблица 3.

**Реакция растений-индикаторов на инокуляцию соком, полученным из растений фасоли обыкновенной с симптомами темно-зеленой мозаики**

Исходный образец — бобы с симптомами мозаики					
Пажитник ( <i>Trigonella foenum</i> )	Горох ( <i>Pisum sativum</i> L.)	Фасоль ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Бобы ( <i>Faba bona Medik.</i> )	Горошек душистый ( <i>Lathyrus odoratus</i> )	Возбудитель
Угнетение	Крапчатость	Мозаика	Морщинистость	Мозаика	Нитевидные частицы длина 800 нм ширина 15–20 нм
Задержка роста	Темно-зеленая мозаика		Мозаика	Угнетение роста	

Таблица 4.

**Сравнительный анализ симптомов заболевания тест-растений, инокулированных соком горошка душистого**

Растения-индикаторы	Симптомы исследуемого изолята	Симптомы Pea mosaic potyvirus	Симптомы Pea enation dwarf virus
Фасоль <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Симптомы не проявились	Отсутствуют	Системная мозаика с истончением и деформацией листовой пластинки
Бобы <i>Faba bona Medik.</i>	Яркая выраженная мозаика	Системная мраморная мозаика	Системная мозаика с истончением и сморщиванием
Горох <i>Pisum sativum</i> L.	Слабая системная мозаика	Системная мозаика	Системная мозаика с деформацией
Фасоль красная <i>Phaseolus coccineus</i>	Симптомы не проявились	Отсутствуют	Системная мозаика с истончением и деформацией

*mosaic potyvirus*) и вирусом деформирующей мозаики гороха (*Pea enation dwarf virus*). Поэтому был проведен сравнительный анализ симптомов заболеваний, вызываемых этими вирусами на основе литературных данных, и симптомов на индикаторных тест-растениях, механически инокулированных изучаемым изолятом (табл. 4).

Установлено, что симптомы на растениях фасоли не проявились, что характерно для вируса обыкновенной мозаики гороха, в то время как вирус деформирующей мозаики гороха проявляется на фасоли яркими симптомами. На бобах проявилась ярко выраженная мозаика, а на горохе — системная мозаика. По литературным данным при поражении этих индикаторных растений вирусом деформирующей мозаикой гороха наблюдается системная мозаика с деформацией листовых пластинок.

При электронной микроскопии в эпидермисе листьев горошка душистого были обнаружены нитевидные вирионы. Морфометрия показала, что модальные разме-

Таблица 5.

Характер проявления симптомов при инокуляции тест-растений изолятом *Tomato aspermy cucumovirus* из пораженных растений салата и моркови

Исходные образцы	Растения-индикаторы			
	Капуста пекинская ( <i>Brassica rapa</i> )	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	Табак <i>Nicotiana tabacum</i> (сорт Ксанти)	Табак <i>Nicotiana tabacum</i> (сорт-Самсун)
Салат	Желтуха Карликовость Не образовывались семена	Карликовость Не образовывались семена	отсутствуют	отсутствуют
Морковь столовая	Желтуха Карликовость Не образовывались семена	Карликовость Не образовывались семена	отсутствуют	отсутствуют

ры частиц составляют 670–800 нм×12–15 нм. Подобная морфология вирионов характерна для патогенов из рода *Potyvirus*. Реакцией двойной диффузии в агаре было установлено наличие общих антигенных детерминант с *BYMV* и *BCMV*. При использовании непрямого варианта ИФА для определения антигенных взаимоотношений изолята горошка душистого было установлено, что исследуемый вирус также имеет отдаленное родство с *BYMV* и *BCMV*, типовыми представителями рода *Potyvirus*. Наиболее высокий аффинитет показан с вирусом обыкновенной мозаики фасоли.

Известно, что *Pea mosaic potyvirus* распространяется с помощью гороховой и персиковой тлей, а также контактным способом, семенами не передается. Сохраняется патоген на многолетних бобовых культурах [8]. Поскольку этот вирус поражает 32 культурных сорта и 28 видов из девяти родов семейства Бобовых, он представляет собой потенциальную опасность для сельскохозяйственного производства.

**Вирус аспермии томата** (*Tomato aspermy cucumovirus*, *AsTV*) идентифицирован на растениях моркови столовой, салата и астры однолетней. Поражение моркови *AsTV* происходило на растениях первого и второго года, начиная от появления всходов и до момента образования семенников. В процессе вегетации на листьях появлялись неравномерные белые пятна, которые постепенно приобретали красно-фиолетовый цвет. Как правило, ботва формировалась слабой, что приводило к замедлению роста корнеплодов. У пораженных корнеплодов ухудшалась способность к длительному хранению и формировалось большое количество мелких корешков на поверхности.

На растениях салата симптомы вируса аспермии томата чаще появлялись в фазу хозяйственной годности, когда на единичных растениях наблюдалось мозаичное пожелтение. А массовое проявление симптомов на растениях было приурочено к периоду бутонизации — начала цветения. В это время наблюдалось осветление жилок на листьях, образование укороченной розетки листьев, зональной крапчатости, образование недоразвитых семян или их отсутствие.

На основании данных биологического тестирования описаны симптомы, вызываемые *Tomato aspermy cucumovirus* на растениях-индикаторах. Так, на растениях пекинской капусты и томата при инокуляции соком наблюдалась желтуха, карликовость (таблица 5). Кроме того, вирус вызывал изменение репродуктивных органов на этих растениях-индикаторах, вследствие чего не образовались семена.

При электронной микроскопии в соке инфицированных растений салата, моркови, пекинской капусте

и томате с симптомами угнетенного роста и мозаичного пожелтения обнаружены изометрические частицы 40 нм, принадлежащие *Tomato aspermy cucumovirus*. На данном этапе продолжается исследование физико-химических характеристик этого фитовируса.

В условиях 2014 года на культуре салата вирус аспермии томата наносил наиболее значительный экономический ущерб, когда находился в смешанной инфекции с другими вирусами: вирусом огуречной мозаики (*Cucumber Mosaic Virus — CMV*) и вирусом мозаики салата (*Letuce*

*mosaic virus —LMV*).

**Иммунологические исследования** с целью выделения источников резистентности к экономически значимым фитовирусам в лаборатории иммунитета ведутся на разнообразном селекционном и коллекционном материале овощных культур, представленного селекционными лабораториями ФГБНУ ФНЦО. В зависимости от биологических особенностей растения-хозяина и вирусопатогена, оценка по признаку устойчивости соответственно проводится на провокационном и естественном инфекционных фонах (поле, теплицы), а также с использованием искусственного заражения в лабораторных условиях.

Так, в отношении ряда вирусов, в частности вируса бронзовости томата (*TSWV*), наши данные фитопатологического мониторинга подтверждают, что теплолюбивые вирусопатогены получают все большее распространение не только в южных, но и в более северных районах, а в отдельные годы носит эпифитотийный характер [3]. Хотя распространение вируса бронзовости томата на культуре перца сладкого у нас в стране пока еще носит очаговый эпизодический характер, но в ФГБНУ ФНЦО ведется селекционная работа на упреждение, так как в последнее время появляются сообщения о появлении нового вирулентного штамма *TSWV* перца, поражающего растения с геном устойчивости *Tsw*, где этот штамм начали систематически обнаруживать в Венгрии с 2012 года [12]. По мнению автора, основной причиной его появления считается слабая борьба с переносчиком западным цветочным трипсом *Frankliniella occidentalis*, ввиду исключения из списка разрешенных пестицидов ряда эффективных препаратов для борьбы с ним.

К настоящему времени генетика вируса бронзовости томата довольно полно изучена рядом исследователей [9,10,11]. Однако методика определения степени поражения перца этой болезнью в литературе не описана, хотя растения могут быть поражены ею в разной степени. Поэтому на начальном этапе нами были разработаны методические рекомендации по оценке и отбору исходного материала перца с устойчивостью к вирусу бронзовости томата [4]. Одними из важных элементов методики явилось создание провокационного инфекционного фона для оценки и выделения устойчивого материала, разработка пяти-бальной шкалы на основе визуальной оценки и результатов иммуноферментного анализа, подобраны фазы для оценки и дифференциации сортообразцов по степени устойчивости.

С другой стороны, специфические агроклиматические условия зоны умеренного климата с пониженной теплообеспеченностью требуют научно обоснованных подходов комплексного решения целого ряда других

аспектов селекционного процесса, особенно при работе с теплолюбивыми культурами. Поэтому в ФГБНУ ФНЦО разработаны основы сопряженной селекции по созданию сортов и гибридов  $F_1$  перца сладкого с пониженной теплолюбивостью и высокой устойчивостью к болезням с использованием различных подходов, в том числе и методов гаметной селекции. Так, для получения исходного материала с комплексной устойчивостью к низкотемпературному стрессу и вирусу бронзовости томата предложена схема индивидуального отбора ценных генотипов на основании их поэтапной оценки: на ювенильной (по проросткам) и генеративной (по пыльце) стадиях развития по уровню холодостойкости, а в фазе биологической спелости плодов по степени устойчивости к TSWV (на провокационном инфекционном фоне). Установлено, что наиболее холодостойкие генотипы (по спорофиту и гаметофиту) более устойчивы к поражению вирусом бронзовости томата, между данными признаками отмечена высокая взаимосвязь ( $r=0,80$ ). Такая ступенчатая схема отбора позволила на основе различных сортопопуляций получить перспективный линейный материал, у которого процент пораженных растений был в 3–4 раза ниже, чем в исходных популяциях [3].

Также при тесном сотрудничестве лабораторий иммунитета и защиты растений, биотехнологии, генетики и цитологии с селекционерами ФГБНУ ФНЦО проведена большая работа по межвидовой гибридизации с привлечением диких видов, преодолению их нескрещиваемости, иммунологической оценке материала различных поколений на устойчивость к вирусным болезням (TSWV и AsTV) таких овощных культур, как перец и салат.

Среди представителей разных видов *Capsicum* для гибридизации выделены следующие устойчивые к вирусной инфекции образцы: *C. annuum* — Огненный вулкан; *C. frutescens* — Созвездие; *C. chinense* — Огненная дева; *C. baccatum* — Маленький принц. Между этими образцами проведены рецiproкные межвидовые скрещивания и проанализированы репродуктивные взаимоотношения. В результате проведения последовательного беккроссирования, жесткого отбора на провокационном инфекционном фоне, молекулярной и морфологической оценки межвидовых гибридов различного поколения разработана технология создания исходного материала перца (*Capsicum L*) устойчивого к TSWV с использованием современных методов фитопатологии, биотехнологии и молекулярной биологии.

На провокационном инфекционном фоне проведена иммунологическая оценка культурных и диких видов

салата, гибридов различных поколений, полученных при межвидовом скрещивании, и перспективных форм по признаку устойчивости к вирусу аспермии салата (AsTV). На основании данных визуальной диагностики и ИФА выделены дикие виды салата салата *L. saligna*, *L. scariola*, *L. serriola*, *L. livida* и гибриды разных поколений с их участием, проявившие относительную устойчивость к AsTV.

Высокая напряженность естественного инфекционного фона при развитии вируса обыкновенной мозаики фасоли (BCMV) и желтой мозаики фасоли (BYMV) в 2014–2018 годах позволила провести оценку и отбор коллекционного и селекционного материала лаборатории селекции и семеноводства бобовых культур на устойчивость к данным фитовирусам.

Распространение болезни, вызванной BCMV и BYMV на культуре фасоли, в зависимости от образца значительно варьировало и составляло от 2% до 100%. Балльная оценка выявила, что наибольшее число образцов из разных питомников вошло в группу сильновосприимчивых. Их доля при поражении вирусами от общего числа изученных составила 85%.

Степень распространения болезни, вызванной BYMV на бобах овощных также варьировала и в зависимости от образца составляла от 30% до 90%. Оценка состояния бобов, проведенная в фазу технической спелости на устойчивость к BYMV, показала, что 35% изученных образцов были в сильной степени поражены вирусом (степень развития болезни в зависимости от образца составила 50–77%).

На основе комплексной оценки коллекционного и селекционного материала двух культур семейства *Fabaceae* были выделены источники с высоким уровнем резистентности, как исходный материал для селекции на устойчивость к BCMV и BYMV. Особую селекционную ценность представляют сортообразцы фасоли овощной и бобов овощных, проявившие высокую степень устойчивости на протяжении всего периода вегетации в разные годы исследований.

Таким образом, на основе комплексного подхода изучения коллекционного и селекционного материала овощных культур с использованием различных методов фитопатологии, биотехнологии, межвидовой и гаметной селекции выделены и созданы резистентные к вирусопатогемам новые источники с комплексом хозяйственно ценных признаков. Наиболее перспективные формы включены в селекционные программы ФГБНУ ФНЦО по созданию высокопродуктивных сортов овощных культур, отвечающих требованиям современного рынка.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гнутова Р.В., Золотарёва Е.В. Болезни овощных культур и картофеля на Дальнем Востоке России. — Владивосток, Дальнаука. — 2011. — 169 с.
2. Гнутова Р.В. Основные достижения в изучении разнообразия и видовой изменчивости вирусов растений на Дальнем Востоке. — Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам. — Третья международная конференция. — С.-П.-2012. — с. 14–17.
3. Енгальцева И.А., Пышная О.Н., Козарь Е.Г. Предбридинговая селекция перца сладкого на устойчивость к вирусу бронзовости томата (TSWV). — Вестник защиты растений. — Санкт-Петербург: Пушкин. — 2015. — № 4(86). — С. 40–44
4. Методические рекомендации по оценке и созданию исходного материала перца сладкого с устойчивостью к вирусу бронзовости томата. — Москва. — 18с.
5. Толкач В.Ф., Гнутова Р.В. Некоторые свойства дальневосточных изолятов вируса желтой мозаики фасоли, выявлен-

ных на бобовых культурах. // Сельскохозяйственная биология. — 2011. — с. 104–111.

6. Biddle A.J., Cattlin N.D. Pests, diseases, and disorders of peas and beans // NW: Publishing Manson. — 2007.

7. Boonham N., Smith P., Walsh K. et al. The detection of Tomato spotted wilt virus (TSWV) in individual thrips using real time fluorescent RT-PCR (Taq Man) // J. Vir. Methods. — 2002. — V. 101. — P. 37–48.

8. Brunt A.A. Crabtree K., Dallwitz M., Gibbs A.J., Watson L. Viruses of plants (Descriptions and lists from the VIDE Database) // UK, CAB International. — 1996.

9. Jahn M., Paran I., Hoffmann K., Radwanski E.R., Livingstone K.D., Grube R.C., Aftergoot E., Lapidol M., Moyer J. Genetic mapping of the Tsw locus for resistance to the tospovirus tomato spotted wilt virus in *Capsicum* spp. and its relationship to the Sw-5 gene for resistance to the same pathogen in tomato // Mol. Plant Microbe Interact. — 2000. — V. 13. — P. 673–682.

10. Moury B., Pflieger S., Blattes A., Lefebvre V., Palloix A.

A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper/Genome.-2000.-V.43.-P.137–142.

11. Rosello S., Dies M.J., Nuez F. Viral diseases causing the greatest losses to the tomato crop.1. The tomato spotted wilt virus — a review. *Scienia horticulturae*.-1996.-vol.67–4.-P.117–150.

#### REFERENCES

1. Gnutova R.V., Zolotarëva E.V. Diseases of vegetable crops and potatoes in the Far East of Russia. — Vladivostok, Dal'nauka. — 2011. — 169 p.

2. Gnutova R.V. Major advances in studying the diversity and species variability of plant viruses in the Far East. - Modern problems of plant immunity to harmful organisms.-S.-P.-2012.-P.14–17.

3. Engalycheva I.A., Pyshnaya O.N., Kozary E.G. Pre-breeding

12. Almási A1, Csilléry G, Csömör Z, Nemes K, Palkovics L, Salánki K, Tóbiás I. Phylogenetic analysis of Tomato spotted wilt virus (TSWV) NSs protein demonstrates the isolated emergence of resistance-breaking strains in pepper./*Virus Genes*. 2014.-50(1):71–8.

of sweet pepper for resistance to tomato wilt virus (Tswv).- *Plant Protection News*. - .-S.-P.-2015.- № 4(86).-P.40–44.

4. Guidelines for assessing and creating the source material of sweet pepper with resistance to the tomato spotted wilt virus. Moscow-18с.

5. Tolkach V.F., Gnutova R.V. Some properties of Far Eastern isolates of yellow bean mosaic virus identified on legumes. — *Agricultural biology*. — 2011. — C.104–111.

#### ОБ АВТОРАХ:

**Енгалычева И.А.**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

**Козарь Е.Г.**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник

#### ABOUT THE AUTHORS:

**Engalycheva I.A.**, Ph.D. in Agriculture, Senior Researcher

**Kozar E.G.**, Ph.D. in Agriculture, Senior Researcher