

УДК 632: 630.44

**И.И. Гуляева<sup>1</sup>, Г.А. Снигур<sup>2,3</sup>, В.П. Полищук<sup>2,3</sup>, Б.Н. Милкус<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Одесский государственный аграрный университет, ул. Пантелеймоновская, 13, Одесса, 65012, Украина;

<sup>2</sup> Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ул. Владимирская, 64, Киев, 01033, Украина; тел.: 8 (048) 717 13 88, e-mail: lvirus@biocc.univ.kiev.ua

<sup>3</sup> Институт защиты растений УААН, ул. Васильковская, 33, Киев, 03022, Украина.

## ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ ЗЕРНОВЫХ В ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ

*На посевах пшеницы и ячменя в Одесской области обнаружены вирусы желтой карликовости ячменя, полосатой мозаики пшеницы и мозаики костра. Часто наблюдалась смешанная инфекция. Вирусы идентифицированы с помощью иммуноферментного анализа. Показана зависимость степени поражения растений вирусами от сроков посева.*

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* вирус желтой карликовости ячменя, вирус полосатой мозаики пшеницы, вирус мозаики костра, иммуноферментный анализ.

Вирус желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ) — один из наиболее опасных возбудителей заболеваний зерновых культур во всем мире. Заболевание вызывает комплекс вирусов, который состоит из штаммов вируса желтой карликовости ячменя (BYDV-MAV и BYDV-PAV) и вируса желтой карликовости зерновых (CYDV-RPV). Вирус находится во флоэме и переносится тлями [7]. Штаммы BYDV-PAV распространены во многих странах мира. В Украине ВЖКЯ на посевах зерновых выявлен Г.А. Снигур [4]. Визуально диагностировать ВЖКЯ невозможно, так как аналогичные симптомы могут быть вызваны другими вирусами, грибами и даже абиотическими факторами [8]. Заболевание часто бессимптомно, концентрация вируса в растении низкая [1].

Вирус полосатой мозаики пшеницы (ВПМП), который переносится клещом *Aceria tulipae*, был выявлен в 60-е гг. XX века в республиках бывшего СССР [2] и в Румынии [10], а в начале 70-х гг. обнаружен во многих странах. В Украине ВПМП обнаружен Л. Т. Мищенко [3]. В последние годы широкое распространение этого вируса отмечено в южно-европейских странах [6, 11], причем у восьми генотипов установлена передача ВПМП семенами от 0,5 до 1,5 % [9].

У большинства зерновых культур вирус мозаики костра (ВМК) вызывает симптомы хлоротичности, мозаики и деформации листьев, задержку роста и кустистость. Устойчивая циркуляция ВМК в природе осуществляется посредством имаго и личинок пшавицы (*Ouleta melanopus* L.), способных переносить вирус с дикорастущих однодольных сорняков на культурные зерновые. ВМК заражает



виды растений из сем. Gramineae, принадлежащих к 50 родам. Из двудольных в круг растений-хозяев входит несколько родов из шести семейств. В природе вирус сохраняется на многолетних сорняках-резерваторах: *Bromus inermis*, *Aegilops cylindrica* и другие [5]. Широкая специализация ВМК позволяет ему заражать широкий круг культурных растений, однако вредоносность вируса документально пока не доказана.

Цель исследований заключалась в выявлении вирусов зерновых на посевах озимой и яровой пшеницы и озимого и ярового ячменя в Одесской области.

### Материалы и методы

Вирусные болезни зерновых культур в агроценозах могут существенно снижать урожай, нарушая процесс образования зерна и ухудшая его качество. Для идентификации вирусных болезней зерновых обычно используют биологические (визуальная диагностика, тли-переносчики) и инструментальные (электронная микроскопия, серология) методы. В настоящее время наиболее доступным, достаточно специфичным и надежным является иммуоферментный анализ (ИФА). Преимущество иммунологических методов заключается в скорости получения результата в сочетании с высокой специфичностью.

С целью выявления вирусов, поражающих озимую и яровую пшеницу, озимый и яровой ячмень в хозяйствах Ананьевского, Килийского, Беяевского и Овидиопольского районов Одесской области посева были обследованы следующим образом: по диагонали поля на каждые 100 га посева выделяли 8–10 учетных участков размером 0,5 x 0,5 м, на которых отбирали растения с симптомами вирусных и вирусоподобных заболеваний, а также внешне здоровые растения. Отбор образцов для последующей идентификации вирусов, проводили во второй декаде мая 2008 года. Собранные образцы высушивали и сохраняли при комнатной температуре, а также хранили в замороженном виде, при температуре 18 °С.

Для идентификации вирусов применяли «сэндвич»-метод иммуоферментного анализа, с использованием диагностических наборов Института биоорганической химии имени М. М. Шемякина (ИБХ, Россия), Наборы включали моноклональные антитела и конъюгаты с пероксидазой 4В5 и 4В5-ПХ для выявления штаммов PAV и SGV вируса желтой карликовости ячменя и 4В6 и 4В6-ПХ для выявления штаммов MAV, RPV и RMV этого же вируса. В качестве экстрагирующего буфера использовали 0,1 М фосфатный буфер pH 7,0. Антитела и конъюгат разводили по методике ИБХ. Так как антитела были конъюгированы с пероксидазой, учет проводили на приборе DYNATEC (США) при 492 нм. Для определения вируса желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ), вируса полосатой мозаики пшеницы (ВПМП), вируса штриховатой мозаики ячменя (ВШПМЯ) и вируса мозаики костра (ВМК) использовали коммерческие диагностические наборы фирм Agdia (США) и Loewe (Германия). В связи с тем, что поликлональные антитела были конъюгированы со щелочной фосфатазой, продукт ферментативной реакции измеряли при 405 нм. Реакцию считали положительной в том случае, если показатель оптической плотности при анализе тестируемых растений превышал отрицательный контроль не менее, чем в 2 раза.

### Результаты и их обсуждение

В результате визуальных обследований посевов зерновых культур в 4 районах Одесской области обнаружены растения с симптомами вирусной инфекции.



Идентификация вирусов, как было указано выше, проведена с помощью различных тест-систем. Использование тест-системы с моноклональными антителами Института биоорганической химии (Россия) позволила выявить в посевах озимой и яровой пшеницы, озимого и ярового ячменя в Одесской области обе группы штаммов ВЖКЯ: PAV + SGV и MAV+ RPV+ RMV. Установить наличие каждого из штаммов в отдельности не представлялось возможным, так как тест-система была получена на группы штаммов. Поликлональные тест-системы к штаммам ВЖКЯ, полученные в лаборатории вирусологии Киевского национального университета имени Т.Г. Шевченко подтвердили возможность их использования для диагностики ВЖКЯ, который был обнаружен на посевах озимой пшеницы сортов Одесская 267, Селянка, Знахидка, Куяльник, на яровом ячмене сорта Вакула и на озимом ячмене сортов Основа и Абориген. В результате проведенных исследований было установлено, что поражение растений ВЖКЯ составило 41,4 %. Чаще всего вирус выявляли в Беляевском районе.

Вирус полосатой мозаики пшеницы и вирус мозаики костра были обнаружены на озимой пшенице сортов Альбатрос Одесский, Одесская 267, Знахидка, Куяльник и Селянка, а также на озимом ячмене сортов Основа и Абориген. Процент растений зараженных этими вирусами почти не отличался и составил для ВПМП 44,8 %, а для ВМК 48,2 %. Однако степень распространения ВПМП и ВМК в обследованных районах Одесской области была разной. Так, в хозяйствах Ананьевского, Беляевского и Овидиопольского районов идентифицировано 3 вируса (ВЖКЯ, ВПМП и ВМК), а в посевах Килийского района определён только вирус мозаики костра.

Исследования показали наличие смешанной инфекции ВПМП +ВМК и ВПМП + ВМК + ВЖКЯ. Около 7 % образцов были поражены одновременно ВПМП и ВЖКЯ, и только 3 % образцов поражены ВЖКЯ совместно с ВМК.

Результаты идентификации вирусов зерновых при разных сроках сева показали 100-процентное поражение озимой пшеницы ВЖКЯ, посеянной в конце сентября (табл. 1). При более поздних сроках сева озимой пшеницы поражённость ВЖКЯ была намного ниже.

Таблица 1  
Выявление вирусов зерновых культур на пшенице разных сроков сева

Table 1  
Revealing of grains viruses on wheat of different sowing terms

С о р т	Сроки сева											
	25.09.07			5.10.07			15.10.07			25.10.07		
	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ
Одесская 267	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Селянка	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+
Знахидка	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
Куяльник	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+

Однако озимый ячмень оказался наиболее поражен ВЖКЯ, ВПМП и ВМК при последнем сроке сева в начале ноября (табл. 2).

Таблица 2

## Выявление вирусов зерновых культур на ячмене

Table 2

## Revealing of grains viruses on barley

Сорт	Сроки сева											
	10.10.07			17.10.07			20.10.07			1.11.07		
	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ	ВПМП	ВЖКЯ	ВМБ
Основа	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
Абориген	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+

Причиной этого может быть плохое физиологическое состояние растений в связи с очень поздним сроком сева, и, как результат, высокая восприимчивость этих растений к возбудителям вирусных инфекций. Не исключено, что озимый ячмень с очень поздним сроком сева был поражен вирусами в весенний период вегетации. Представляет интерес и тот факт, что ВПМП и ВМК наиболее поражена озимая пшеница, посеянная 15 октября, но при этом на этих же растениях не идентифицирован ВЖКЯ. Возможно, это оптимальный срок сева озимых зерновых культур с целью их защиты от поражения ВЖКЯ. Однако при этом возникает благоприятная экологическая ниша для других вирусов.

Таким образом, на посевах пшеницы и ячменя в ряде районов Одесской области обнаружены как смешанные ВЖКЯ+ВПМП+ВМК, ВПМП+ВМК, так и моно- ВЖКЯ, ВПМП и ВМК инфекции. Дальнейшее изучение сроков сева пшеницы и ячменя позволит рекомендовать наиболее оптимальные из них для снижения вредоносности вышеуказанных вирусов, и установить вредоносность каждого из вирусов в отдельности при смешанной инфекции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кастальева, Т. Б. Т. Б., Ерохина Т. Н., Васильева Т. Я., Можаяева К. А. Диагностика вируса желтой карликовости ячменя с помощью иммуноферментной тест-системы на основе моноклональных антител. // Доклады Россельхозакадемии — 1966. — № 5. — С. 19-21.
2. Развязкина Г. М., Карпова Е. А., Белянчикова Ю. В. Вирус полосатой мозаики пшеницы. // Защита растений от вредителей и болезней. — 1963, — № 9. — С. 54-55.
3. Мищенко Л.Т. Вирус полосатой мозаики пшеницы в Украине и его биологические свойства //Защита растений. — Минск, 2006. — Вып. 30, Ч. 1 — С. 263-266.
4. Снігур Г. А. Епідеміологія вірусів зернових культур в агроценозах України. Автореферат здобуття наук. ступ. канд. біол. наук, Київ, 2006. — 20 с.
5. Цыпленков А. Е. Профилактика вирусных болезней зерновых культур //АГРО. — 1999.— Т. 21, № 4. — С. 16-17.
6. Bakardjieva N., Krasteva C, Habekuss A., Rabenstein F. Detection of cereal viruses and study of aphid population in Bulgaria //Bulgarian J. Agricultural Science. — 2004. — № 10. — P. 161—164.
7. D'Arcy C. J, Domier L. L, and Torrance L. Detection and diagnosis of luteoviruses // In: Smith H. G. and Barker H (eds) The Luteoviridae. CAB International Publishing, Oxford, UK. — 1999. — Pp. 147-168.
8. Irwin M. E., Tresh J, M. Barley yellow dwarf virus epidemiology: a study in economical complexity. /In: BYDV in West Asia and North Africa. (A Commeau and K. M. Makkouk (eds). Syria. ICARD. — 1992.— P. 234-278.
9. Jones R. A. C, Coulls B, A., Mackie A. E, Dwyer G. I. Seed transmission of Wheat streak mosaic virus shown unequivocally in wheat // Plant Dis. — 2005.— Vol. 89. № 10. — P. 1048-1050.



10. Pop I. Die Strichelvirose des Weizens in der Rumanischen Volksrepublik. //Phytopathol. — 1962, — № 43. — P. 325-336.

11. Rabenstein RSeifers D. L., Schubert J. Phylogenetic relationships, strain diversity and biogeography tritritimoviruses // J. Gen. Virol. — 2002, — Vol. 83. № 6. — P. 895-906.

**I.I. Гуляева<sup>1</sup>, Г.О. Снігур<sup>2,3</sup>, В.П. Поліщук<sup>2,3</sup>, Б.Н. Мілкус<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Одеський державний аграрний університет,<sup>1</sup>, вул. Пантелеймонівська, 13, Одеса, 65012, Україна.

<sup>2</sup> Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирівська, 64, Київ 01033, Україна; тел.: 8 (048) 717 13 88, e-mai: lvirus@biocc.univ.kiev.ua

<sup>3</sup> Інститут захисту рослин УААН, вул. Васильківська, 33, Київ, 03022, Україна

## **ВИРУСНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЗЕРНОВИХ В ОДЕСЬКІЙ ОБЛАСТІ**

### **Реферат**

В результаті обстеження посівів різних сортів озимої пшениці, озимого та ярового ячменю в ряді районів Одеської області було встановлено, що вони уражені ВЖКЯ, ВСМП і ВМБ. Вірус штрихуватої мозаїки ячменю у відібраних зразках не виявлений. Часто спостерігалась змішана інфекція ВЖКЯ+ВСМП+ВМБ і ВСМП+ВМБ. Показана залежність ступеню ураження рослин вірусами від строків сівби. Для зниження шкодочинності вищевказаних вірусів рекомендується змінювати строки сівби, що дозволить не допустити їх поширення.

**К л ю ч о в і с л о в а:** вірус жовтої карликовості ячменю, вірус смугастої мозаїки пшениці, вірус мозаїки бромусу, імуноферментний аналіз.

**I.I. Guljaeva<sup>1</sup>, H.O. Snigur<sup>2,3</sup>, V.P. Polischuk<sup>2,3</sup>, B.N. Milkus<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Odesa State Agrarian University, Panteleymonivska Str.,13, Odesa, 65012, Ukraine.

<sup>2</sup>T.G. Schevtchenko Kyiv National University, Volodumyrska Str., 64, Kyiv, 01033, Ukraine;

phone: 8 (048) 717 13 88, e-mail: virus@biocc.univ.kiev.ua

<sup>3</sup>Institute of plant protection UAAS, Vasylkivska Str., 33, Kyiv, 03022, Ukraine.

## **VIRUSES DISEASES OF GRAINS IN THE ODESA REGION**

### **Summary**

As a result of inspection of various crop cultivars of winter wheat, winter and summer barley in a number of a districts of Odesa regions it has been established that they are infected by barley yellow dwarf virus (BYDV), wheat streak mosaic virus (WSMV) and brome mosaic virus (BMV). The barley strip mosaic virus was not found out in the selected samples. Mixed infection by BYDV+ WSMV + BMV and WSMV + BMV was often observed. It is recommended to change the sowing terms for decreasing of injuriousness of the above-mentioned viruses that will allow to prevent the viruses distribution.

**К e y w o r d s:** barley yellow dwarf virus, wheat streak mosaic virus, brome mosaic virus, ELISA test.

