

ЗВИЧАЙНА МОЗАЙКА КВАСОЛІ НА КИЇВЩИНІ: ЕТИОЛОГІЯ ХВОРОБИ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКА

А.М. Кириченко, О.Г. Коваленко

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна
e-mail: kirangel.07@meta.ua*

*В роботі наведено результати обстежень посівів квасолі на ураження вірусами бобових у Київській області. Досліджено поширеність вірусного захворювання в культурі та на селекційних ділянках *Phaseolus vulgaris* L.; проведено ідентифікацію збудника захворювання – вірусу звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК). **Мета.** Вивчити поширеність вірусних інфекцій на Київщині. Здійснити діагностику захворювання та ідентифікацію збудника. Дослідити коло рослин-хазяїв ВЗМК та реакцію рослин-індикаторів на інокуляцію виділеним вірусним ізолятом. **Методи.** Польові дослідження посівів, візуальна діагностика, біологічне тестування вірусу, імуноферментний аналіз (ІФА), полімеразна ланцюгова реакція зі зворотньою транскрипцією (ЗТ-ПЛР). **Результати.** При обстеженні посівів квасолі виявлено рослини з чіткими ознаками вірусного захворювання. У відібраних зразках ураженої квасолі методами ІФА та ЗТ-ПЛР встановлено наявність ВЗМК. **Висновки.** За реакцією рослин-індикаторів і характером симптомів у відповідь на штучну інокуляцію виділений ізолят віднесено до некротичних варіантів цього вірусу. Висунуто припущення, що досліджуваний ізолят може належати до А серотипу ВЗМК, а саме – вірусу звичайної некротичної мозаїки квасолі (ВЗНМК).*

Ключові слова: вірус звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК), вірус звичайної некротичної мозаїки квасолі (ВЗНМК), полімеразна ланцюгова реакція зі зворотньою транскрипцією (ЗТ-ПЛР), рослини-індикатори, сорти квасолі.

Звичайна або зелена мозаїка квасолі – це одне із найбільш розповсюджених захворювань бобових, збудником якого є вірус звичайної мозаїки квасолі (ВЗМК, *Bean common mosaic virus*). ВЗМК вважається серйозною загрозою при вирощуванні квасолі у всьому світі, позаяк вірус зазвичай передається насінням. Інфікування рослин в польових умовах може досягати 100%, а втрати врожаю складати 35–98% [8, 11-13]. Частота передачі ВЗМК з насінням становить 0–93 % і залежить від виду рослини-хазяїна та часу інфікування: в рослинах, інфікованих після цвітіння, відсоток інфікованого насіння значно менший. Значному поширенню вірусу сприяє його перенесення різними видами попелиці, а впродовж вегетації рослин – з насінням та пилком [17].

Симптоми захворювання залежать від сорту рослин, часу їх інфікування, ґрунтово-кліматичних умов та умов навколишнього середовища, особливо температури. Найбільш типовою ознакою вірусного ураження є системна мозаїка у вигляді світло- та темно-зелених плям, що розвиваються на трійчастих листках (часто судини стають темно-зеленими, тоді як міжжилкові ділянки – світло-зелено-жовтими). Знебарвлення листя, як правило, супроводжується здуттям, пухирями, енаціями листової

пластинки; згодом листки стають жорсткими, скручуються донизу, черешки їх вкорочені. Плямистість і деформація первинних листків є свідченням того, що інфікування відбувалося через насіння [12]. Часто на рослинах з'являються чітко виражені локальні хлоротичні або некротичні ураження, які не пов'язані з судинною системою.

Практично всі інфіковані вірусом рослини різних сортів квасолі, а також сої, бобів, гороху стають низькорослими. На системно уражених рослинах утворюється менше бобів, в них зменшується кількість насінин, що призводить до їх низької якості та зменшення врожаю. Часто боби стають плямистими і дозрівають пізніше [16].

Окрім системної мозаїки, у різних видів квасолі часто спостерігають появу «чорного коріння»: на коренях рослини з'являються місцеві ураження, які поширюються на судини, викликаючи у провідній тканині системний некроз. Цей синдром є результатом індукції «надчутливості», що характерно для сортів з домінантним геном стійкості *I*. Некротизація може поширюватися на все коріння, стебло та меристему і, якщо рослина інфікована на ранній стадії, може призвести до її загибелі. За ураження рослин на пізніших стадіях їхнього розвитку вони залишаються життєздатними, але насіння втрачає товарні якості через зміну природного забарвлення [6, 10].

Матеріали та методи. *Обстеження посівів квасолі.* Польові дослідження ураженості посівів квасолі проводили в приватних фермерських господарствах Київщини та на дослідних ділянках Національного наукового центру «Інститут землеробства НААН» (ННЦЗ). Аналіз проводили в середині липня, в період максимального прояву симптомів ураження. Проби рослин відбирали по діагоналі ділянки, враховуючи їх загальну кількість та число хворих рослин на одному погонному метрі. Відбирали та досліджували не менше 20 рослин кожного сорту. Загальна кількість обстежених рослин (N) кожного сорту на дослідних ділянках ННЦЗ становила 400 штук. Кожна ділянка налічувала 4 ряди рослин, кожен сорт досліджувався на 4 ділянках. Поширеність хвороби (кількість уражених рослин чи окремих їх органів у відсотках) в посівах (P) розраховували за формулою:

$$P = n/N \times 100 \%,$$

де:

N – загальна кількість рослин в пробах;

n – кількість хворих рослин.

Рослини із симптомами вірусного ураження (загальна проба) відбирали із кожної дослідної ділянки для подальшого дослідження в лабораторних умовах.

Механічна інокуляція. Для приготування інокулюму інфіковане листя з системно інфікованих рослин подрібнювали в 0,01 М фосфатному буфері (1:10, г/мл), рН 7,2; екстракт втирали в попередньо опудрені карборундом листки тест-рослин на стадії 4-х листків.

Ідентифікація вірусомісного матеріалу. Тестування отриманих зразків рослинних тканин, що мали чітко виражені симптоми вірусного ураження, проводили на наявність специфічної РНК ВЗМК, вірусу жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК) та вірусу мозаїки сої (ВМС), які найчастіше ін-

фікують рослини квасолі. Сумарну РНК виділяли з використанням комерційного набору «РИБО-Сорб» («AmpliSens», Росія).

Наявність специфічних послідовностей вірусних РНК виявляли за допомогою полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Реакцію зворотної транскрипції проводили за допомогою комерційного набору «Реверта-L-100» («AmpliSens», Росія) згідно з протоколом виробника. В роботі використовували праймери, які дозволяють ідентифікувати фрагмент нуклеотидної послідовності, що кодує ген білка оболонки ВЗМК з такими нуклеотидними послідовностями: прямий праймер 5'-ttcggacgtcgtgagtgtta-3' та зворотній 5'-cccgagtccacattaattcc-3', розмір продукту ампліфікації становив 391 п.н. [1].

Для діагностики ВЖМК використовували праймери ВУМV1f, ВУМV2r, розроблені на базі проблемної лабораторії фітовірусології та біотехнології національного університету біоресурсів і природокористування України [2]. Синтез праймерів на наше замовлення виконано «Біолабтех» (Київ, Україна).

Реакційна суміш для проведення ПЛР об'ємом 15 мкл містила: 1х ПЛР буфер з 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів (дНТФ), 1 пМ кожного (прямого і зворотнього) з олігонуклеотидних праймерів, 10-40 нг кДНК, 0,5U Taq полімерази. Реакцію ампліфікації проводили в ДНК-ампліфікаторі «Терцик» ТП4-ПЦР-01 («НПО ДНК-Технологія», Росія).

Після проведення електрофорезу продуктів реакції у 1,5 % агарозному гелі (150 V, 90 хв) фрагменти ДНК візуалізували за допомогою УФ транслюмінатора (Т-312-С) з використанням стандартних маркерів Gene Ruller 100 bp DNA Ladder plus («Fermentas», США). Результат вважали позитивним (вірусний інфекційний матеріал присутній в досліджуваних зразках), якщо на агарозній пластині виявлені смуги, що відповідають розміру очікуваних фрагментів.

ВМС детектували за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) з ферментом лужною фосфатазою, використовуючи комерційний діагностичний набір фірми «Agdia» (США). Показники абсорбції фіксували за допомогою імуноферментного аналізатора (Dinatech, Швейцарія) через 1 хв після зупинки реакції за довжини хвилі 405 нм у програмі ELITA для БіоТек.

Обробка та аналіз результатів проведені на основі статистичних методів, що застосовуються в біологічних дослідженнях [5]. Отримані результати опрацьовували з використанням пакетів прикладної програми Excel, обчислюючи середнє арифметичне (M) та похибку середнього (m). Результати представлені у вигляді M ± m.

Результати. Впродовж 2011-2012 рр. нами були обстежені насадження квасолі (*Phaseolus vulgaris* L.) на дослідних ділянках ННЦІЗ та в фермерських господарствах Київщини. Досліджувались як сорти квасолі, що проходили сортовипробувальний термін в природному фоні (сорти 701-710), так і сорти квасолі Мавка, Перлина і Панна, внесені до Державного Реєстру сортів рослин, придатних до поширення в Україні. Рослини вирощувались з дотриманням всіх агротехнічних правил польового до-

сліду. Густота посіву рослин на досліджуваній площі становила 400 тис. насінин на 1 га, спосіб сівби – звичайний, рядковий з шириною міжрядь 15 см. Дослідні ділянки ННЦІЗ під посів квасолі були оброблені гербіцидом «Піонер» («Сімоніс», Нідерланди). При обстеженні насаджень квасолі було виявлено рослини з чіткими ознаками вірусного захворювання (рис. 1). Уражені рослини серед здорових вирізнялись мозаїчним строкатим забарвленням листя у вигляді світло-жовтих і зелених плям та нерівномірною мозаїкою вздовж листових жилок – тканини поблизу них були більш насиченого зеленого кольору. Окрім того, спостерігались деформації листової пластинки.



Рис. 1. Симптоми вірусного ураження квасолі *Phaseolus vulgaris* L. в польових умовах

1 – деформації листової пластинки, 2 – некрози, 3 – посвітління міжжилкових областей.

Результати обстеження рослин у польових дослідях свідчили про різний ступінь ураженості досліджуваних сортів квасолі (табл. 1). Так, найменш ураженими виявились сорти 702, 707-710 та Мавка. Ураження рослин було незначним і коливалось в межах 3–7 %. Дещо сприйнятливішими до вірусних інфекцій були сорти 701, 703-705 (9–16 %) та сорт Перлина (21 %). Ступінь ураження квасолі сорту 706 становив 76,5 %, тобто даний сорт не виявляв природної стійкості до збудників вірусної природи в польових умовах.

В насадженнях квасолі приватних господарств показники захворюваності рослин варіювали від повної відсутності симптомів до майже 100 % ураженості деяких сортів (дані не представлені). За симптомами чітко вирізнялись дві групи рослин. Так, листовка поверхня рослин першої групи була деформованою, нерівномірно розвинутою, а на окремих ділянках листка фіксувались незначні здуття (рис. 2а). Рослини другої групи мали жорсткі, сильно деформовані листки із вираженою зморшкуватістю листової поверхні (рис. 2б).

Таблиця 1

**Ураженість *Phaseolus vulgaris* L. вірусними хворобами
(ННЦ «Інститут землеробства НААН»)**

№	Сорт, селекційна лінія квасолі	Кількість уражених рослин ($M \pm m$), шт	Відсоток уражених рослин в посівах (P), %
1	710	20 ± 2	5,0 ± 0,5
2	709	11 ± 1	2,8 ± 0,3
3	708	26 ± 1	6,5 ± 0,3
4	707	17 ± 2	4,3 ± 0,5
5	706	306 ± 24	76,5 ± 6,0
6	705	52 ± 7	13,0 ± 1,5
7	704	36 ± 2	9,0 ± 0,5
8	703	37 ± 2	9,5 ± 0,5
9	702	29 ± 3	7,3 ± 0,75
10	701	64 ± 6	16,0 ± 1,6
11	Панна	36 ± 1	9,0 ± 0,3
12	Перлина	84 ± 3	21,0 ± 0,75
13	Мавка	12 ± 1	3,0 ± 0,3

Примітка. Обстежено 400 рослин кожного сорту/лінії.



Рис. 2. Симптоми типового вірусного ураження квасолі *Phaseolus vulgaris* L.
а – незначні деформації листової пластинки та здуття, системна мозаїка, пожовтіння міжжилкових областей; б – деформація та зморшкуватість листової поверхні, системна мозаїка.

Відомо, що у деяких сортів квасолі резистентність до вірусів, детермінована геном стійкості *I*, проявляється у вигляді надчутливої реакції, результатом якої є стан під назвою «чорний корінь» [7]. Інфікування деякими штамами ВЗМК зумовлює знебарвлення коренів та стебла, швидке в'янення рослини (системний некроз) і часто – відмирання всієї рослини [15]. При дослідженні посівів квасолі встановлено, що інфіковані листки обох груп рослин мали укорочені черешки, а коренева система, порівняно зі здоровими рослинами, характеризувалась досить слабким розвитком, і в цілому рослини значно відставали в рості. Серед інфікованих рослин

виявлено значний відсоток рослин із системним некрозом, на коренях яких фіксували чітко окреслені некротичні плями («чорний корінь»). В останній декаді липня у період формування урожаю (фаза технічної стиглості) нами було відмічено значну деформацію бобів, в більшості з них насіння було несформоване.

З уражених і безсимптомних рослин квасолі були відібрані зразки для проведення діагностичних досліджень в умовах лабораторії. Тестування відібраних зразків проводили на наявність вірусів ВЖМК, ВЗМК та ВМС, що викликають найбільш поширені на квасолі інфекції. В жодному із досліджуваних зразків не виявлено антигенів ВМС. За результатами ПЛР-аналізу ВЗМК було виявлено в обох групах інфікованих рослин, про що свідчить наявність в агарозному гелі специфічних продуктів ампліфікації довжиною 391 п.н. (рис. 3). Різну реакцію рослин на вірусну інфекцію (різні індуковані вірусом симптоми) в цих групах можна пояснити сортовими особливостями квасолі або інфікуванням їх різними штамми ВЗМК, оскільки ВЖМК, який викликає симптоми, подібні до таких в першій групі рослин, у відібраних зразках не виявлено.

Для дослідження кола рослин-хазяїв ВЗМК та реакцій рослин-індикаторів у відповідь на інфікування вірусом було застосовано метод біологічного тестування. Досліджувані тест-рослини належали до 7 родин: **Chenopodiaceae** (*Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste&Reyn., *Ch. alba* L.), **Cucurbitaceae** (*Cucurbita pepo* Duch., *Cucumis sativus* L.), **Fabaceae** (*Pisum sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Vicia faba* L., *Lupinus luteus* L., *Vigna unguiculata* L. Walp., *Glicine max* Merr.), **Solanaceae** (*Datura stramonium* L., *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* L. var. Samsun), **Aizoaceae** (*Tetragonia expansa* L.), **Amaranthaceae** (*Gomphrena globosa* L.) (табл. 1).

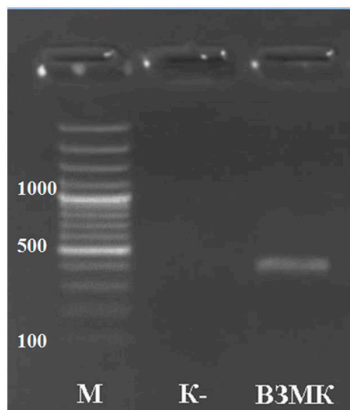


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ПЛР-аналізу визначення ВЗМК
М – маркер молекулярної маси (O'GeneRuler™ DNA Ladder, #SM1203),
К – негативний контроль.

Було встановлено, що досліджувані ізоляти ВЗМК викликали посвітління жилок, хлоротичну плямистість листової пластинки, зморшкуватість, відставання в рості та кваліть рослин *Phaseolus vulgaris* L. Перші симптоми вірусного ураження з'являлись у вигляді жовтуватого посвітління

ня жилок на молодому листі через 6-9 днів після ураження; через 2 тижні листки деформувались, на них починали з'являтися здуття (рис. 4с, 4д). Під кінець вегетації на листках з'являлись поодинокі некрози, кількість та розміри яких постійно зростали. Згодом нижні листки повністю всихали та відпадали, а деякі рослини гинули ще в період цвітіння (рис. 4а). Подібні симптоми вірус викликав на рослинах коров'ячого гороху (*Vigna unguiculata*). Боби на інфікованих рослинах kwasолі розвивались кволі, деформовані, з рясною плямистістю на поверхні (рис. 4с).

За даними літератури рослини *Vicia faba* L. не уражуються ВЗМК, або ж захворювання протікає безсимптомно (латентна інфекція) [4]. Виділений нами ізолят відрізнявся від описаних в літературі, позаяк на рослинах бобів вже через тиждень після інокуляції з'являлась системна мозаїка у вигляді жовтуватої плямистості (мармурові листки), молоді листочки значно деформувались та скручувались донизу (рис. 4е). На листковій поверхні утворювались поодинокі некрози з необмеженим ростом, і з часом листок повністю некротизувався та відпадав (рис. 4ж).

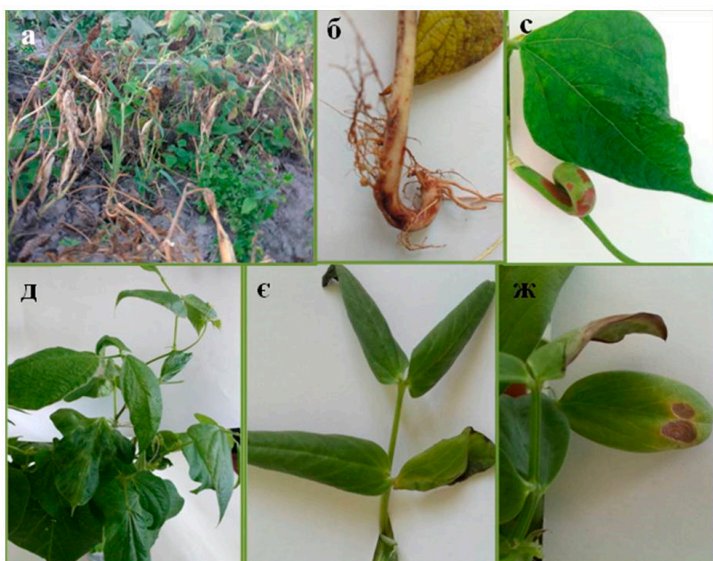


Рис. 4. Симптоми типового вірусного ураження на штучно інфікованих рослинах

- а – тотальна некротизація рослини, б – локальні некрози на корені;
- с – локальні некрози на бобі, д – системна інфекція на *Phaseolus vulgaris* L.,
- е – скручування листків *Vicia faba* L.; ж – некротизація листків *Vicia faba* L.

За результатами біологічного тестування встановлено, що досліджуваний ізолят спричинював появу локальних некрозів на діагностичних рослинах чутливих видів *Ch. amaranticolor* та *Ch. quinoa*, в той же час рослини *Ch. alba* L. не уражувались вірусом. Рослини родин *Cucurbitaceae*, *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, ***Solanaceae*** (*Datura stramonium* L., *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* L. var. Samsun та частково *Fabaceae* (*Glicine max*, *Lupinus luteus*, *Pisum sativum*) залишалися безсимптомними, і вірус в інфікованих рослинах методом ПЛР не детектувався.

Реакції рослин-індикаторів на інокуляцію ВЗМК

Родина	Вид рослини	Симптоми	Інкубаційний період, дні
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Ch. amaranticolor</i> (Coste & A. Reyn.)	Некротичні локальні ураження	6-9
	<i>Ch. quinoa</i> Willd	Хлоротичні локальні некрози	7-9
	<i>Ch. alba</i> L.	відсутні	–
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucumis sativus</i> L.	відсутні	–
	<i>Cucurbita pero</i> Duch.	відсутні	–
<i>Fabaceae</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Мозаїка, зморшкуватість листя, хлоротичні локальні некрози, некротичні локальні ураження, в'янення	18-21
	<i>Vicia faba</i> L.	Системна мозаїка, скручування листків, поодинокі локальні некрози	10-14
	<i>Lupinus luteus</i>	відсутні	–
	<i>Pisum sativum</i> L.	відсутні	–
	<i>Vigna unguiculata</i>	мозаїка, деформації листової пластинки, пожовтіння жилок, утворення смуг вздовж жилок	7-10
	<i>Glicine max</i> Merr	відсутні	–
<i>Solanaceae</i>	<i>Datura stramonium</i> L.	відсутні	–
	<i>Nicotiana glutinosa</i>	відсутні	–
	<i>N. tabacum</i> var. Samsun	відсутні	–
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Gomphrena globosa</i> L.	відсутні	–
<i>Aizoaceae</i>	<i>Tetragonia expansa</i> L.	відсутні	–

Примітка: за механічної інокуляції рослин в умовах теплиці

Вірусну етіологію збудника підтверджено за допомогою зворотньої інокуляції *Ch. amaranticolor* та ПЛР-аналізу. Так, в результаті механічної інокуляції екстрактами, отриманими із рослин з ознаками вірусної інфекції, на листках *Ch. amaranticolor* з'являлись симптоми вірусного ураження у вигляді чітких коричневих некрозів неправильної форми. В усіх рослинах-індикаторах із позитивною реакцією на штучну інокуляцію досліджуваним ізолятом встановлено наявність продуктів ампліфікації очікуваної довжини – 391 п.н.

Обговорення. На дослідних ділянках ННЦ «Інститут землеробства НААН» та в приватних посівах квасолі Київської області нами встановлено наявність природного інфікування квасолі, викликаного ВЗМК. Досліджено поширеність ВЗМК на різних сортах квасолі в умовах польового досліду та встановлено, що ступінь ураження квасолі сорту 706 становив 76,5 %, тобто даний сорт в польових умовах є високочутливим до збудників вірусної етіології. Для вирощування квасолі на великих площах земельних угідь можуть бути рекомендовані сорти 702, 707-710 та Мавка, оскільки відсоток інфікованих рослин даних сортів виявився найменшим.

Враховуючи значне ураження рослин (від 40 до 80 %) і відсутність головного переносника вірусу – попелиці, можна припустити, що головним джерелом вірусної інфекції є інфіковане вірусом насіння, оскільки збудник передається з насінням із високою ймовірністю [10].

Відомо, що за характером симптомів, індукованих вірусом на 10 сортах квасолі, штами ВЗМК класифікують у сім груп патогенності (I-VII) [6]. До 1992 р. за даними серологічного аналізу та протеолізу білків оболонки розрізняли два серотипи ВЗМК: А і В [9, 14]. Наразі ці серотипи класифікують, як окремі види – вірус звичайної некротичної мозаїки квасолі (ВЗНМК, *Bean common mosaic necrosis virus*, синонім *Bean common mosaic virus*-серотип А) та вірус звичайної мозаїки квасолі (синонім *Bean common mosaic virus*-серотип В) [3]. ВЗНМК на інфікованих рослинах викликає більш виражені симптоми захворювання, зокрема, сувору мозаїку з наступним пожовтінням жилок або некротизацію всього листка. Окрім того, в рослинах квасолі із домінуючим I-геном стійкості лише два штами ВЗМК (NL-2 і NL-6) можуть викликати почорніння коренів за температури доквілля вище 30°C, тоді як всі штами ВЗНМК – за будь-якої температури. Інші характеристики ВЗНМК, зокрема, особливості будови віріонів та способи поширення вірусу, не відрізняються від таких у ВЗМК [15].

За характером симптомів на рослинах-індикаторах виділених нами ізолят вірусу дещо відрізнявся від описаних раніше. Так, на рослинах квасолі та кінських бобів вірус спричинював не лише характерні для ВЗМК морфологічні зміни, а й системну некротизацію їх судинної системи. На листках та коренях утворювались нелімітовані некрози, і за значного ураження рослина засихала до фази цвітіння. Некрози на рослинах квасолі виникали спочатку на інокульованих листках, які згодом жовтіли та опадали, а з часом – і на вищих ярусах рослини.

За отриманими нами результатами досліджень кола рослин-хазяїв вірусу та реакції рослин-індикаторів у відповідь на штучну інокуляцію виділених ізолят можна віднести до некротичних. Очевидно, що цей ізолят належить до А серотипу ВЗМК – вірусу звичайної некротичної мозаїки квасолі (ВЗНМК). Донині циркуляції ВЗНМК в агроценозах України не спостерігалось. В подальшому буде проведено типування виявленого вірусу за допомогою прийнятих для цього рослин-диференціаторів, що дозволить уточнити приналежність ізоляту до некротичних штамів ВЗМК [6]. Також планується визначити молекулярну масу білка оболонки, дослідити його пептидний профіль і амінокислотну послідовність N-кінця білка оболонки, а також серологічні властивості виділеного ізоляту.

Таким чином, встановлено, що сорти квасолі 702, 707-710 та Мавка більш стійкі до вірусного ураження в умовах польового дослідження. За результатами імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції виділений ізолят вірусу ідентифіковано як ВЗМК. За характером симптомів на рослинах-індикаторах досліджуваний ізолят може бути віднесений до серотипу А, а саме – вірусу звичайної некротичної мозаїки квасолі. Подальші дослідження дозволять встановити видову приналежність виділеного вірусу.

Подяка. Автори висловлюють подяку старшому науковому співробітнику ННЦІЗ Романюк Лідії Сергіївні за надану можливість обстежити селекційні лінії та сорти квасолі на її дослідних ділянках.

ОБЫКНОВЕННАЯ МОЗАИКА ФАСОЛИ В КИЕВСКОМ РЕГИОНЕ: ЭТИОЛОГИЯ БОЛЕЗНИ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ

А.Н. Кириченко, А.Г. Коваленко

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

Резюме

В работе приведены результаты полевых исследований пораженности посевов фасоли вирусами бобовых. Исследована распространенность вирусного заболевания в насаждениях и на селекционных участках фасоли и проведена идентификация возбудителя заболевания – вируса обычной мозаики фасоли (ВОМФ). **Цель.** Провести полевые исследования распространенности вирусного инфицирования *Phaseolus vulgaris* L. в Киевском регионе. Осуществить диагностику заболевания и идентификацию возбудителя. Исследовать круг растений-хозяев ВОМФ и реакции растений-индикаторов на инокуляцию выделенным изолятом. **Методы.** полевые исследования посевов, визуальная диагностика, биологическое тестирование вируса, иммуноферментный анализ (ИФА), полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). **Результаты.** При обследовании насаждений фасоли нами выявлены растения с четкими признаками вирусного заболевания. В отобранных образцах пораженной фасоли методами ИФА и ОТ-ПЦР установлено наличие ВОМФ. **Выводы.** По реакции растений-индикаторов и характеру симптомов в ответ на искусственную инокуляцию выделенный изолят можно отнести к некротическим штаммам. Выдвинуто предположение, что исследуемый изолят может принадлежать к А серотипу ВОМК – вирусу обычной некротической мозаики фасоли (ВОНМФ).

Ключевые слова: вирус обычной мозаики фасоли (ВОМФ), вирус обычной некротической мозаики фасоли (ВОНМФ), полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), растения-индикаторы, сорта фасоли.

BEAN COMMON MOSAIC IN THE KIEV REGION: ETIOLOGY OF DISEASE AND PATHOGEN IDENTIFICATION

A.N. Kyrychenko, A.G. Kovalenko

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine
154 Akad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine*

Summary

The paper presents the results of field studies of bean cultures and bean breeding lines with a view to assessing the extent of plant damage by legume viruses. It is established through this study the prevalence of the viral disease in the cultivation area of different bean varieties and the study unveiled that diseased plants were infected by Bean common mosaic potyvirus (BCMV). **The aim** of the research was to conduct field observations evaluating the prevalence of *Phaseolus vulgaris* L. viral infections in the Kiev region. We also had to *detect and identify* the disease-causing pathogen, investigate the host plant range and a reaction of selected indicator plants to mechanical inoculation with the isolate of BCMV. **Methods.** field crop observation, visual diagnosis, biological testing of the virus, immunoassay (ELISA), polymerase chain reaction with reverse transcription

(RT-PCR). **Results.** The *Phaseolus vulgaris* L. plants showing clear viral infection symptoms in examined growing locations were found and the presence of BCMV in the selected samples was established by the ELISA and RT-PCR. **Conclusions.** By the reaction and type of symptom of selected indicator plants to mechanical inoculation with the virus, the causal agent is thought to be necrotic isolates of BCMV. It is suggested that the investigated isolate may belong to A serotype of BCMV – bean common necrotic mosaic virus (BCNMV).

Keywords: bean common mosaic virus (BCMV) virus, bean common necrotic mosaic virus (BCNMV), polymerase chain reaction with reverse transcription (RT-PCR), indicator plants, bean varieties.

1. Antipov I, Hrynychuk K, Duplyak O. [Development PCR systems for identification of mosaic virus ordinary beans (Bean common mosaic virus)]. Scientific herald of NULES of Ukraine. Series: biology, biotechnology, ecology. 2016; 234:40-46. Ukrainian.
2. Antipov I, Hrynychuk K, Sidorenko O.P. [PCR diagnosis and identification of the Bean yellow mosaic virus]. Proceedings of V All-Ukrainian scientific conference of young scientists and students. 2014; 22-23. Ukrainian.
3. Berger P, Wyatt S, Shiel P, Silbernagel M, Druffel K, Mink GI. Phylogenetic analysis of the Potyviridae with emphasis on legume-infecting potyviruses. Arch Virol. 1997; 142:1979-1999.
4. Bos L, Gibbs AJ. (1995). Bean common mosaic potyvirus. Plant viruses online – descriptions and lists from the VIDE Database. <http://sdb.im.ac.cn/vidе/descr068.htm>.
5. Dospekhov B.A. [The technique of field experience (with the basics of statistical analysis of research results)]. A textbook. 6 th ed. 2011. 350 pp. Russian.
6. Drijfhout E, Silbernagel MJ, Burke DW. Differentiation of strains of Bean common mosaic virus. Netherlands J Plant Path. 1978; 84:13-26.
7. Jordan R, Hammond J. Bean common mosaic virus and bean common mosaic necrosis virus. Encyclopedia Virol. 2008; 200:288-295. 3rd ed.
8. Larsen R, Miklas PP, Druffel K. Evidence of a genomic recombination event between a strain of bean common mosaic virus and bean common mosaic necrosis virus. American Society for Virology Meeting; 2004 July 10-14; Montreal: Canada. p. 40-51.
9. McKern NM, Mink GI, Barnett OW, Mishra A, Whittaker LA, Silbernagel MJ. et al. Isolates of bean common mosaic virus comprising two distinct potyviruses. Phytopathology. 1992; 82:923-929.
10. Morales FJ, Bos L. Descriptions of plant viruses: Bean common mosaic virus. DPV337. Wellesbourne UK: Association of Applied Biologists; 1988. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=337>
11. Prasad HP, Uday A, Shankar C, Bhuvanendra H, Kumar SH, Prakash HS. Management of Bean common mosaic virus strain blackeye cowpea mosaic (BCMV-BICM) in cowpea using plant extracts. Arch Phytopathology Plant Protect. 2007; 40(2):139-147.
12. Schwartz HF, Galvez GE. Bean production problems. Disease, insects, soil and climatic constraints of phaseolus vulgaris. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO, 1980; 424 p.
13. Shahraeen N, Ghotbi T. A survey of viruses affecting French bean (*Phaseolus vulgaris*) in Iran includes a first report of Southern bean mosaic virus and Bean pod mottle virus. Plant Disease. 2005; 89:1012.

14. Vetten H, Lesemann DE, Maiss E. Serotype A and B strains of bean common mosaic virus are two distinct potyviruses. *Arch Virol.* 1992; 5:415-431.
15. Worrall EA, Wamonje FO, Mukeshimana G, Harvey JJ, Carr JP, Mitter N. Bean common mosaic virus and bean common mosaic necrosis virus: relationships, biology, and prospects for control. *Adv Virus Res.* 2015; 93:1-46.
16. Zaumeyer WJ, Goth RW. A new severe symptom-inducing strain of common bean mosaic virus. *Phytopathology.* 1964; 54:1378-1385.
17. Zaumeyer WJ, Thomas HR. A monographic study of bean diseases and methods for their control. Technical Bulletin No. 868, United States Department of Agriculture, Washington, D.C., USA. 1957. 255 pp.

Отримано 5.03.2018