

**ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСОВ НА ГЕОРГИНАХ**

Р.В. Гнутова¹, В.Ф. Толкач¹, О.М. Шелехова²

¹ Биолого-почвенный институт ДВО РАН,
690022, Владивосток, просп. 100-летия Владивостока, 159, e-mail: ibss@eastnet.febras.ru

² Ботанический сад-институт ДВО РАН,
690024, Владивосток, ул. Маковского, 142, e-mail: gardens@yandex.ru

Многолетними исследованиями показано, что в Дальневосточном регионе России *Cucumber mosaic virus* рода *Cuscutovirus* семейства *Bromoviridae* на георгинах – самый распространенный вирус. Выявлен узкоспециализированный *Dahlia mosaic virus* рода *Caulimovirus* семейства *Caulimoviridae* и новый для рода *Dahlia* Cav. *Dahlia mild green mottle virus* рода *Potyvirus* семейства *Potyviridae*.

Ключевые слова: георгина, вирус, биологические свойства, идентификация, ПЦР-анализ.

**THE ESTIMATION OF RESULTS IDENTIFICATION
FAR EASTERN ISOLATIES VIRUSES ON DAHLIA SPECIES**

R.V. Gnutova¹, V.F. Tolkach¹, O.M. Shelekhova²

¹ Institute of Biology and Soil Science, FEB RAS, Vladivostok,
690022, 100-letia Vladivostok, Pr. 159, e-mail: ibss@eastnet.febras.ru

² Botanical Garden-Institute, FEB RAS, Vladivostok,
Makovskogo str., 142, Russia, e-mail: gardens@yandex.ru

In Far East region of Russia viruses *Cucumber mosaic virus* genus *Cuscutovirus* family *Bromoviridae* and *Dahlia mosaic virus* genus *Caulimovirus* family *Caulimoviridae* are found, as it is shown by long-term research. *Cucumber mosaic virus* is most common virus on *Dahlia*. New *Dahlia mild green mottle virus* genus *Potyvirus* family *Potyviridae* is identified for genus *Dahlia* Cav.

Key words: *Dahlia* spp., virus, biological properties, identification, PCR-analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в решении проблемы охраны растительного мира и тесно связанной с ней интродукцией растений важная роль принадлежит ботаническим садам. К сожалению, в настоящее время в России выявлением и изучением вирусов и болезней, ими вызываемых, в ботанических садах практически не занимаются. Хотя давно назрела необходимость на научной основе защищать интродуцируемые растения от вредителей и болезней. Особенно это важно для многолетних декоративных растений, например, георгинов. По богатству цветовой гаммы и редчайшей красоты соцветий георгины ставят на первое место среди цветущих растений. Кроме того, специально выведены низкорослые сорта для оформления рабаток, бордюров, озеленения балконов, что сейчас очень популярно. Сорта с высокими стеблями используются на срезку. Георгины (*Dahlia* Cav.) – многолетние растения из семейства *Asteraceae* Dum. Род объединяет 27 видов, распространенных в горных районах Центральной Америки. Культурные георгины пред-

ставлены сортами гибридного происхождения, объединенными в один вид – георгина культурная *Dahlia X cultorum* Thorsr. et Reis. В настоящее время насчитывается более 15 тыс. сортов.

Основными вредителями георгинов являются насекомые – трипсы, тля и паутинный клещ. Иногда наблюдается поражение корневым раком, вызывающим образование на клубнях георгинов наростов, которые со временем загнивают, и растение погибает. В ботанических садах, промышленном цветоводстве, частных фермерских хозяйствах и приусадебных участках многие растения открытого грунта, в том числе и георгины, поражаются вирусами, которые не только влияют на рост растения, но и снижают его товарный вид и привлекательность. Из сотни существующих вирусов лишь только более десятка из них способны заразить георгины. Вирусы различаются по типу вектора, ответственного за распространение, типу наносимого им ущерба посевному материалу, по происхождению источников вируса и по процедуре контро-

ля. Ниже приводим список вирусов, поражающих георгины в мире (Brunt, 1971; Kameya-Iwaki, 1998; Pappu, Wyatt, 2008):

1. *Beet mosaic virus* (BMV).
2. *Beet yellow virus* (BYV).
3. *Chrysanthemum virus B* (CBV).
4. *Cucumber mosaic virus* (CMV).
5. *Red current ringspot virus* (RCRV).
6. *Dahlia mosaic virus* (DMV).
7. *Impatiens necrotic spot virus* (INSpV).
8. *Tomato spotted wilt virus* (TSWV).
9. *Tobacco streak virus* (TSV).
10. *Tobacco ringspot virus* (TRV).
11. *Tobacco mosaic virus* (TMV).
12. *Potato X virus* (PVX).
13. *Tobacco necrosis virus* (TNV).
14. *Tomato ringspot virus* (ToRV).

Наиболее часто георгины поражаются узкоспециализированным *Dahlia mosaic virus* (Fauquet, Mayo, 2001), а также неспецифическими вирусами, имеющими большой круг естественных и экспериментальных растений-хозяев, такими как *Tobacco streak virus* (Brunt et al., 1997), *Tomato spotted wilt virus* (Fauquet, Mayo, 2001), *Potato X virus* (Bercks, 1970), *Cucumber mosaic virus*, *Tobacco necrosis virus* и *Tomato ringspot virus* (Navalinskiene, Samuitiene, 2006). На листьях георгинов обычно вирусы вызывают хлоротичную кольцевую пятнистость, яркую крапчатость, дубовидный узор, деформацию листьев и стеблей, асимметрию цветов и задержку роста растений. Георгины, пораженные вирусом, сохраняют его в клубнях в зимний период при хранении и поэтому являются источником вирусной инфекции не только для здоровых растений георгинов, но и других декоративных и овощных культур. Остановимся на краткой характеристике наиболее распространенных вирусов для этой культуры.

Tomato spotted wilt virus из рода *Tospovirus* семейства *Bunyaviridae* вызывает у георгинов симптомы в виде хлоротичной кольцевой пятнистости на листьях и дубовидного листового узора (Fauquet, Mayo, 2001). Хотя георгины являются одним из основных хозяев этого вируса, он может заражать многочисленные виды растений из семейств: *Asteraceae* Dum., *Bromeliaceae* Juss., *Convolvulaceae* Juss., *Fabaceae* Lindl., *Solanaceae* Juss., *Tropaeolaceae* DC. Переносчиком TSWV считаются несколько видов трипсов: *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *T. parvi* и др. (Boonham et al., 2002). Вирус передается механической инокуляцией, прививкой, но не передается контактно, пылью и семенами. Экспериментально вирус заражает *Cucumis sativus* L., *Petunia hybrida* Vilm., *Nicotiana clevelandii* L., *N. glutinosa* L., *N. tabacum* L., *N. rustica* L., *Catharanthus roseum* G. Don, *Gomphrena globosa* L. и *Tropaelum majus* L. Вирионы изометрические, 85 нм в диаметре. Во всех частях зараженного растения выявлены вирусные вклю-

чения. Вирус довольно нестабильный, имеет точку термической инактивации (ТТИ) – 45 °С, сохраняется при комнатных условиях (ПСИ) не более 5 ч, предельное разведение вируса в соке (ПРС) – 10^{-3} , при котором он может заражать чувствительные тест-растения. Георгина – основной резервуар вируса, поэтому необходима пространственная изоляция посадок георгинов, например от посадок томатов, которые этот вирус поражает довольно часто.

Tobacco streak virus из рода *Ilarvirus* семейства *Bromoviridae* на георгине проявляется в виде яркой крапчатости на листьях или бессимптомно (Brunt et al., 1997). Естественными хозяевами вируса являются *Phaseolus vulgaris* L., *Glycine max* L., *Rosa* L., *N. tabacum*, *Melilotus albus* Desr., *Trifolium pratense* L., *Asparagus officinalis* L. Векторную передачу вируса осуществляют трипсы. Кроме того, вирус может передаваться прививкой, механической инокуляцией, семенами и пылью, но контактно между растениями передачи вируса не происходит. При механическом заражении вирусом чувствительными растениями являются *Suamopsis tetragonolobus* (L.) Taub., *Ph. vulgaris*, *Vigna unguiculata* Walpers, *Datura stramonium* L., *C. roseum*, *C. sativus*, *N. tabacum* и *G. globosa*. Вирионы квазиизометрические – 30 нм в диаметре, иногда бациллоподобные, ТТИ – 64 °С, ПРС – 10^{-4} , ПСИ – 1 сут.

Potato X virus из рода *Potexvirus* семейства *Flexiviridae* имеет естественные растения-хозяева среди овощных и декоративных культур. Распространяется вирус контактно и механической инокуляцией, не отмечена передача вируса семенами, пылью. Кроме того, до сих пор не выявлено насекомое-переносчик вируса. Экспериментальный круг растений-хозяев ограничен видами из трех семейств: *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae* и *Solanaceae* (*G. globosa*, *Chenopodium quinoa* Willd. и *Ch. amaranticolor* Coste et Reyn, *D. stramonium* и *N. tabacum*). Морфология вирионов представляет собой слегка извилистые палочки, длина которых 515 нм, а ширина 13 нм. У инфицированных вирусом растений выявлены вирусные включения в виде аморфных Х-тел (Bercks, 1970). ТТИ – 68–76 °С, ПРС – 10^{-5} – 10^{-6} , ПСИ – 40–60 сут.

Cucumber mosaic virus из рода *Cucumovirus* семейства *Bromoviridae* – полифаг, поражает множество дикорастущих растений, а также овощные, плодовые, ягодные, бобовые и декоративные культуры (Гнутова, Толкач, 2002; Толкач, Гнутова, 2007; Гнутова, 2009). Основными естественными растениями-хозяевами вируса считаются *C. sativus*, *Lycopersicon esculentum* Mill., *Spinacia oleracea* L. У георгинов вирус вызывает симптомы на листьях в виде светло- и темно-зеленой мозаики, измельчения и деформации листьев, стеблей, асимметрии цветов, карликовости растений. В естественных условиях CMV передается более чем 60 видами тлей. Вирионы изометрические, 29 нм в диаметре. Диагностическими растениями-индикаторами являются *V. unguiculata*, *C. sativus*, *L. esculentum*,

Ch. quinoa и *Ch. amaranticolor*, *N. glutinosa*, *N. tabacum*, *N. clevelandii*. ТТИ – 55–70 °С, ПРС – 10^{-3} – 10^{-6} , ПСИ – 1–10 сут.

Dahlia mosaic virus относится к роду *Caulimovirus* семейства *Caulimoviridae*. Впервые вирус описан в 1928 г. (Brandenburg, 1928, цит. по: Brunt, 1971). Вирусные частицы изометрической формы, 50 нм в диаметре. Естественным хозяином вируса является *Dahlia pinnata* Cav., однако по литературным данным вирус может инфицировать растения семейств: *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Chenopodiaceae*, *Solanaceae* (Brunt, 1971). При естественном заражении вирусом *Dahlia* spp. симптоматика во многом зависит от сорта растения. При инфицировании DMV одних сортов георгинов он вызывал хлоротичное посветление жилок листьев и их искривление; у других, наиболее чувствительных к заражению, – приостановку роста; у третьих, менее восприимчивых, – латентную инфекцию. У большинства сортов, пораженных вирусом, ткань листьев, окаймляющая среднюю и боковые жилки, имела зеленовато-желтую окраску. В зависимости от сорта георгины форма и ширина окаймлений бывает различной. У одних сортов листья имели почти желтую окраску, у других – естественная окраска сохранялась, однако они становились деформированными, морщинистыми, с пузырчатymi вздутиями. Отмечены также растения, имеющие карликово-кустистый вид с множеством боковых побегов,

укороченными междоузлиями, с мелкими мозаичными листьями. Цветоносы сильно укорочены, иногда наблюдалась деформация цветков. Растениями – индикаторами вируса – являются: *Verbesina encelioides* (Cav.) Benth. & Hook. F. ex A. Gray, *Dahlia pinnata*, *Zinnia elegans* Jacq., *Amaranthus caudatus* L., *Ageratum* L., *Chenopodium capitatum* (L.) Aschers. В природе передача вируса осуществляется непersistентным способом 16 видами тлей (*Myzus persicae*, *Aphis fabae*, *Macrosiphum euphorbiae* и др.), прививкой, соком – с трудом. Сохраняется вирус в клубнях больных растений и распространяется при вегетативном размножении. Перенос вируса семенами и повиликой не зарегистрирован. Свойства вирусных частиц в соке: ТТИ – 75–80 °С, ПРС – 10^{-4} , ПСИ – от 16 дней до 1 мес. (Макутенайте-Навалинскене, 1981; Билай и др., 1988; Kameya-Iwaki, 1998).

На юге Дальнего Востока (ДВ) России *Dahlia* spp. цветут с июля до конца октября, т. е. весьма продолжительный и теплый период времени, хотя в диком виде растут в условиях короткого дня и прохладных ночей. С 2000 г. нами проводились ежегодные обследования посадок георгинов как в частных хозяйствах Приморского и Хабаровского краях, так и в Ботаническом саде-институте (БСИ) ДВО РАН г. Владивостока с целью выявления и идентификации вирусов. Полученные данные сравнивались с литературными для достоверной детекции изучаемого вируса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе коллекции георгинов БСИ ДВО РАН. Материалом служили различные сорта георгинов, пораженные вирусной инфекцией. Для идентификации вирусов биологическим тестированием применяли модификацию экспериментального подбора тест-растений в тепличных условиях, используемую нами более 10 лет (Толкач, 1995). Для изучения роли насекомых в передаче вирусной инфекции использовали *Myzus persicae* Sulz. Для электронно-микроскопического исследования вирусных частиц в соке применяли метод негативного контрастирования 2%-м водным раствором уранилацетата

(Развязкина и др., 1968). Вирусные включения изучали под световым микроскопом. По ранее разработанным методикам определяли антигенные свойства капсидных белков и антигенное родство среди изучаемых вирусов (Гнутова, 1985). Для постановки реакции иммунодиффузии (РДД) использовали 1%-й бакто-агар (Serva, ФРГ) в 0.15 М растворе хлористого натрия с добавлением 1.5 % ПЭГ (м.м. 6000) для более четкого проявления линий преципитации. Детекцию дальневосточных изолятов DMV и CMV проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Богун, 2006; Nesmelov et al., 2009).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 2000 г. впервые в Дальневосточном регионе на георгине был обнаружен *Dahlia mosaic virus* с симптомами яркого хлороза и слабой деформации листовой пластинки (Tolkach, Gnutova, 2002). Ранее вирус был найден в бывшем СССР только в Литве (Макутенайте-Навалинскене, 1981). Дальневосточный изолят DMV имеет изометрические частицы диаметром около 50 нм. Для изучения круга растений-хозяев и симптоматики выявленного патогена инокулировали вирусом растения 38 видов и сортов из семейств: *Aizoaceae*, *Asteraceae*, *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Fabaceae*, *Solanaceae*. Восприимчивыми к

вирусу оказались растения 10 видов и сортов из семейств *Aizoaceae* (*Tetragonia expansa* Murr.) и *Chenopodiaceae* (*Ch. amaranticolor* и *Ch. murale*), *Asteraceae* (*D. pinnata*, *Zinnia elegans*, *Verbesina encelioides*) и *Solanaceae* (*N. tabacum* cvs. Xanthi, Samsun, *N. rustica*, *Petunia hybrida*). Определены физические свойства дальневосточного изолята DMV: ТТИ – 65–70 °С, ПРС – 10^{-4} , ПСИ – 6 сут. Исследуемый изолят оказался менее стабилен по сравнению с описанными в литературе: ТТИ – 75–80 °С, ПРС – 10^{-3} , ПСИ – 2 сут. (Brunt, 1971) и ТТИ – 85 °С, ПРС – 10^{-3} (Макутенайте-Навалинскене, 1981). Вирус легко передавался *M. persicae*. Георги-

Таблица 1

Коллекционные сорта георгинов, выявленные с симптомами поражения CMV в БСИ ДВО РАН

Сорт	Симптомы поражения листьев
Анхем	Яркая хлоротичная пятнистость
Анюта	Яркий хлороз жилок, хлоротичная кольцевая мозаика
Апачи	Хлоротичная пятнистость
Апаш	Хлоротичная кольцевая мозаика
Астероид	Хлоротичная пятнистость, искривление листьев
Бамбино	Мозаичное окаймление жилок
Bony blue	Яркий хлороз жилок, морщинистость
Боярыня	Хлороз средних и мелких жилок, хлоротичная крапчатость между жилками
Breinshtein	На молодых листьях слабый хлороз жилок
Burgundii	Мозаичное окаймление жилок
Gelery Pablo	Яркий хлороз жилок и темно-зеленые вздутия листовой пластинки
Gold Carbe	Хлоротичная кольцевая мозаика вдоль главной жилки
Дамский каприз	Хлоротичная крапчатость, пятнистость
Diana	Мозаика, деформация
Дуэт	Яркое окаймление главной и средних жилок
Дыхание Арктики	Измельчение листьев, хлоротичная мозаика
Золотое руно	Светло-зеленая пятнистость
Инара	Хлороз всех жилок
Индира Ганди	Деформация, мозаичность листьев
Колхозница	Яркое окаймление средних и мелких жилок
Лев Толстой	Светло-зеленая мозаика
Лунная династия	Темно-зеленые вздутия листовой пластинки
Маяковский	Хлороз ткани
Милые детки	Хлоротичное окаймление жилок, деформация
Oziris	Хлоротичная пятнистость на листьях всех ярусов
Пантера	Яркая хлоротичная кольцевая мозаика
Park Princess	Светло-зеленая мозаика
Петр I	Вдоль главной жилки хлоротичная пятнистость
Purpul Game	Яркий хлороз жилок
Riga	Мозаичное окаймление жилок
Rose Preference	Зеленое окаймление жилок
Rubin	Хлоротичная пятнистость, морщинистость
Сакура	Деформация, измельчение листьев
Смедович	Яркая хлоротичная кольцевая мозаика
Смутлянка	Хлороз ткани листа
Spensenmeer	Светло-зеленая пятнистость
Gloconda	
Triumph de Paris	Светло-зеленая крапчатость
Vaidala	Измельчение листьев, яркая хлоротичная крапчатость
Chimene Carnaval	Темно-зеленые вздутия листовой пластинки
Cha-cha	Яркая светло-зеленая кольцевая мозаика
Цыганский барон	Хлороз всех жилок, хлоротичная крапчатость между жилками
Черный лебедь	Вдоль главной жилки хлоротичная пятнистость
Evelin	Морщинистость, деформация
Юра	Едва заметная зеленая крапчатость

на и все системно инфицируемые изучаемым вирусом растения содержали в цитоплазме сферические и эллипсоидные включения, очень сходные с теми, что индуцирует *Caulimoflower mosaic virus (CaMV)* из семейства *Caulimoviridae* (Богунов, Гнутова, 2002).

В РДД инфекционный сок (исходный образец) с антисывороткой с высоким титром специфических антител против *CMV*, полученной из приморского изолята *CMV*, выявленного из *C. sativus* (Чернявская, 2003), не реагировал, что свидетельствовало о моноинфекции. Кроме того, *DMV* в РДД показал антигенное родство с антисывороткой, полученной нами ранее против *CaMV*. Тем не менее, несмотря на близкие антигенные свойства капсидных белков и другие общие свойства, вирусы *DMV* и *CaMV* по кругу растений-хозяев не совпадали и инфицировали различные растения-хозяева. По биологическим, антигенным и физическим свойствам вирионов дальневосточный изолят *DMV* незначительно отличался от изолятов *DMV*, описанных в литературе (Kameya-Iwaki, 1998; Parpu, Wyatt, 2008) и не имел сходных свойств с вирусами, представленными нами во введении в перечне вирусов, поражающих георгины. Для дальнейшей детекции дальневосточного изолята *DMV* использовали ПЦР. О присутствии ДНК *DMV* в образцах (соках), инфицируемых вирусом, свидетельствовали треки при постановке электрофореза длиной ~1440 пар нуклеотидов при амплификации с праймерами 1D-F-1D-R. Для доказательства специфичности амплифицируемых фрагментов *DMV* был разработан вариант гнездовой ПЦР с праймерами 2D-R и 2D-F (5'-AAAGAACATCAACTTAGTAGCC-3') и (5'-GCTTGGGCCTAGTATATTTTC-3'). Амплифицированный фрагмент (локализация 843–1165 последовательности AY291588) длиной 323 п.н. был секвенирован (регистрационный номер в GenBank AY971810) и сравнен с таковым из GenBank (Богунов, 2006). Гомология с последовательностью AY291588 составила 97.7 %, что свидетельствовало об амплификации ДНК *DMV*. Предложенный вариант детекции генома *DMV* был использован автором для скрининга вируса в естественно-зараженных растениях георгины. Образцы были взяты нами в результате ежегодного мониторинга, проводимого в различных регионах ДВ в 2004–2005 гг. Из 55 образцов георгинов в 12 присутствует ДНК *DMV*. Результаты скрининга свидетельствовали о распространении вируса на юге ДВ, особенно в Приморском крае. В образцах георгинов из Хабаровского края *DMV* не был обнаружен. Итак, на ДВ России идентифицирован узкоспециализированный для георгинов вирус мозаики, который весьма распространен там, где выращивают эту декоративную культуру.

Коллекция георгинов в БСИ ДВО РАН ежегодно пополняется, и в 2007 г. она состояла из 85 сортов. У 44 сортов георгинов были выявлены симптомы вирусного поражения, вызванные *CMV* (табл. 1). Методом РДД с антисывороткой против *CMV* был выявлен

этот вирус во всех 44 образцах растений. Исключение составил только образец георгина сорта Юра с симптомами едва заметной зеленой крапчатости на листьях. Полученные данные подтвердили наличие в коллекции довольно распространенного *CMV*. Об этом свидетельствуют и литературные источники (Гнутова, 2009; Navalinskiene, Samuitiene, 2006). В результате комплексного вирусологического исследования георгинов нам удалось показать широкое распространение *CMV* и в частных хозяйствах. Растения георгинов на инфицирование вирусом реагировали хлоротичным окаймлением жилок и яркой крапчатостью листьев, иногда наблюдали измельчение и деформацию цветков. Дальневосточный изолят *CMV* легко переносился тлей, механически и прививкой, перезимовывал в клубнях и не распространялся с помощью семян.

Для *CMV* характерно большое видовое разнообразие. Известно более 60 штаммов, которые классифицируются на две группы на основе обнаруженных различий в последовательности их генома, а также антигенных и биологических свойств (Lin et al., 2003). Популяция дальневосточного *CMV* довольно многочисленна, выявлено более 40 изолятов вируса на декоративных, овощных, бобовых культурах и на картофеле (Толкач, Гнутова, 2007; Гнутова, 2009). В 90-е годы прошлого столетия все приморские изоляты *CMV*, согласно данным, полученным методами количественной иммунохимии, были отнесены к дальневосточному серотипу со слабыми иммуногенными свойствами (Гнутова, 1993). Это указывало на то, что они отличаются по структуре эпитопов капсидных белков от других известных штаммов и изолятов *CMV*. Для более убедительного доказательства существования самостоятельной российской дальневосточной популяции вируса требовалось изучение структуры их генома. В 2008 г. в результате совместной работы с ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН была исследована группа новых приморских изолятов *CMV*, поражающих декоративные растения, – *Petunia hybrida* и орхидеи родов *Cattlea* spp. и *Cambria* spp. Оказалось, что они принадлежат, как свидетельствовали результаты ПЦР-анализа, по современной международной классификации, к подгруппе изолятов IV (восточно-азиатские изоляты *CMV*). Филогенетический анализ первичных последовательностей 2b гена изолятов *CMV*, например из *Cattlea* spp. и *Cambria* spp., показал, что эти приморские изоляты *CMV* объединяются в самостоятельную группу, достаточно отстоящую от зарубежных штаммов *CMV* (Nesmelov et al., 2009). Ранее нами природная популяция *CMV* на ДВ России по биологическим свойствам была отнесена к группе I *CMV*. Исследование видового разнообразия *CMV* имеет большую практическую значимость, так как вредоносность вируса для декоративных культур, в том числе и для георгинов, очень велика. У большинства декоративных растений отсутствует иммунитет к данному вирусу,

поэтому очень трудно выделить не только виды, но и сорта, устойчивые к *CMV*. Успешная защита культурных видов растений от этого вируса зависит от своевременного его выявления. Важнейшим мероприятием в борьбе с *CMV* является предварительное тщательное визуальное обследование растений. Так симптомы проявления *CMV* на растениях хорошо заметны. Больные растения необходимо сразу же уничтожать.

Итак, изученные нами вирусные инфекции, поражающие георгины, включали как узкоспециализированный вирус – *DMV*, так и широко распространенный – *CMV*. Идентификация третьего возбудителя заболевания георгина сорта Юра усложнялась, так как патоген имел морфологию частиц, физические свойства вирионов, вирусные включения в клетке больного растения, антигенное родство с дальневосточными изолятами потивирусов, характерные для видов рода *Potyvirus*. К сожалению, в литературе мы не встретили сообщения о том, что георгины могут заражаться вирусами из этого рода. По специфическим внешним симптомам проявления на георгинах мы назвали новую вирусную инфекцию *Dahlia mild green mottle virus (DMGMV)*.

Для достоверной идентификации вируса изучали его биологические и антигенные свойства. Исследуемым изолятом вируса инокулировали растения 68 видов и сортов из семейств: *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Fabaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Tropaeolaceae*. Вирусом заразились растения 26 видов и сортов (табл. 2). Локальную реакцию *DMGMV* вызывал только у растений *Ch. quinoa* и *Ch. murale*, а *Ch. amaranticolor* оказалась невосприимчивой к заражению. По результатам исследований отмечено, что наиболее чувствительны тест-растения из семейства *Cucurbitaceae*. Практически все используемые сорта *C. sativus*: Маркетер, Турниф, ДВ-27, Водолей, Лотос, Восток, Хабаров заражались изучаемым изолятом *DMGMV*. Устойчивыми к вирусу оказались только два сорта *C. sativus*: ДВ-6 и Каскад. *DMGMV* заражал экспериментально растения – *Cucurbita pepo* var. *patisson* Duch. сортов Белый, Солнышко и Зонтик; *Cucurbita maxima* сортов Ананская, Миндальная, а также *Cucurbita pepo* L. сортов Итальянский полосатый, Оранжевый, Желтоплодный, Грибовский, Золотинка (исключение составил сорт Цукеша). Из других растений заражались вирусом: *P. hybrida* сорт Снежный шар и *Physalis floridana* Rydb. сорт Кондитерский (семейство *Solanaceae*); *Trigonella foenum-graecum* L. и *Melilotus albus* L. (семейство *Fabaceae*); *Z. elegans* и *D. pinnata* (семейство *Asteraceae*), *Spinacea oleracea* L. (семейство *Chenopodiaceae*). Экспериментально заражаемые растения, у которых внешне не проявлялись симптомы вирусного поражения, проверяли на наличие латентной инфекции. Для этого спустя 1 мес. после инфицирования, верхними листьями этих растений заражали чувствительные

Таблица 2

Окончание табл. 2

Реакция тест-растений на заражение DMGMV, выявленным из георгины сорта Юра	
Тест-растения	Симптомы поражения
1	2
<i>Antirrhinum majus</i>	o
<i>Amaranthus caudatus</i>	o
<i>Calendula officinalis</i>	o
<i>Callistephus chinensis</i>	o
<i>Capsicum annuum</i>	
сорт Свежесть	o
Виктория	o
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	o
<i>Chenopodium quinoa</i>	L:N
<i>Ch. murale</i>	L:N
<i>Chrysanthemum</i> spp.	o
<i>Celosia argentea</i>	o
<i>Citrullis vulgaris</i> сорт Огонек	o
<i>Cosmos</i> sp. сорт Морские ракушки	o
<i>Cucumis sativus</i>	
сорта Маркетер	S:ClVe, Mot
Водолей	S:Mot
ДВ-6	o
Турниф	S: GrM, Dis
ДВ-27	S: ClVe, GrBdVe
Каскад	o
Лотос	S: GrMot
Восток	S: ClMot
Хабар	S: ClMot
<i>Cucurbita maxima</i>	
сорта Ананасная	S:GrBdVe
Миндальная	ClMot, S: ClMot
<i>C. pepo</i> var. <i>patisson</i>	
сорта Солнышко	S:GrBdVe, S: Cl, Dis
Зонтик	S: ClMot
Белый	S: ClMot
<i>C. pepo</i>	
сорта Итальянский полосатый	S: ClVe, GrMot
Оранжевый	o
Цукеша	S: GrBdVe
Желтоплодный	ClMot
Грибовский	S: ClVe, ClMot
Золотинка	S: Cl, Dis
<i>Dahlia pinnata</i> сорт Помпонная	S: ClMot
<i>Datura stramonium</i>	o
<i>Dianthus barbatus</i> sp.	o
<i>Faba bona</i>	o
<i>Gailardia</i> sp.	o
<i>Gomphrena globosa</i>	o
<i>Gypsophylla grandiflora</i>	o
<i>Hyoscyamus niger</i>	o
<i>Lactuca sativa</i> сорт Лолло Росо	o
<i>Petunia hybrida</i>	
сорта Снежный шар	S: ClVe, Nve
Fayer chif	o
<i>Phaseolus vulgaris</i>	
cvs. Top crop	o
Perlicka	o

1	2
<i>Pisum sativum</i>	o
<i>Lycopersicon esculentum</i>	
сорта Волгоградский	o
Хабар-308	o
Хабаровский	o
<i>Physalis floridana</i>	
сорт Кондитерский	S: GrMot, ClMot
<i>Melilotus albus</i>	S: Dis, ClVe
<i>Nicandra physaloides</i>	o
<i>Nicotiana alata</i> сорт Зеленый цвет	o
<i>N. debney</i>	o
<i>N. glutinosa</i>	o
<i>N. tabacum</i>	
cvs. Samsun	o
Xanthi	o
<i>Spinacia oleracea</i>	L:N
<i>Tagetes erecta</i> sp.	o
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	S: ClVe
<i>Tropaeolum majus</i>	o
<i>Verbesina encelooides</i>	o
<i>Vigna sinensis</i>	o
<i>Vigna unquiculata</i>	o
<i>Zinnia elegans</i>	
сорт Новый аттракцион	S: ClVe

Примечание. S – системное поражение; L – локальное поражение; ClVe – хлороз жилок; NVe – некроз жилок; N – некрозы; Dis – деформация; Mot – крапчатость; GrMot – зеленая крапчатость; ClMot – хлоротичная крапчатость; GrBdVe – зеленое окаймление жилок; o – не заражается; GrM – зеленая мозаика; Cl – хлороз.

тест-растения. Симптомов выявлено не было. DMGMV удалось передать *M. persicae* с больного растения *C. maxima* сорта Ананасная на здоровые растения *C. pepo* var. *patisson* сорта Солнышко и *C. maxima* сорта Ананасная. Инфицированной тлей заражали растения *N. tabacum* cv. Samsun. Симптомы вирусного поражения на растениях не отмечены.

Провели проверку семенной передачи DMGMV у зараженных растений *P. hybrida*. Растения, выросшие из семян больных растений, имели симптомы вирусного поражения. Изучили физические свойства вируса: ТТИ – 50–55 °С, ПРС – 10⁻⁴–10⁻⁵, ПСИ – 1 сут. При просмотре препаратов, приготовленных из сока зараженных растений, под электронным микроскопом были обнаружены нитевидные частицы, размер которых соответствовал 640 нм. Кроме того, в ультратонких срезах *P. hybrida*, зараженной изучаемым изолятом DMGMV, найдены вирусные включения типа “pinwills”, являющиеся характерным признаком вирусов, относящихся к роду *Potyvirus* (работа выполнена Ю.В. Богуновым).

Установлено антигенное родство исследуемого DMGMV с вирусами рода *Potyvirus* – *Tobacco etch virus* и *Potato virus Y*. Как отмечалось выше, георгины, по

литературным данным, заражаются вирусами пяти родов – *Cucumovirus*, *Potexvirus*, *Tospovirus*, *Iarvirus* и *Caulimovirus*. По биологическим и антигенным свойствам выявленный нами вирус ни к одному из них отнести нельзя. Данные по изучению морфологии и размеров вирусных частиц; симптоматологии и круга поражаемых растений, положительной реакции изучаемого *DMGMV* с антисывороткой против вирусов рода *Potyvirus*; физическим свойствам вирионов, передачи вируса тлями и сравнительный анализ литературных с нашими результатами свидетельствуют о том, что нами впервые на ДВ России выявлен из георгины сорта Юра *Dahlia mild green mottle virus*. Это новый для георгины вирус рода *Potyvirus* семейства *Potyviridae*. Вероятнее всего, он занесен на юг ДВ двумя путями: либо с посадочным материалом, либо на растение тлями из дикой флоры. В последние годы на российский ДВ официально ввозится огромное количество посадочного материала из-за рубежа. Учитывая, что посадочный материал закупается коммерчес-

кими структурами по низким ценам, а это зачастую отработанный или выбракованный, то велика вероятность заноса материала, пораженного вирусами, а как результат – его массовое распространение луковичками и корневищами. Кроме того, существующая система фитосанитарного контроля не позволяет выявить наличие вирусов в поступающих из-за рубежа луковичках и корневищах декоративных культур. В настоящее время стали популярными многолетние и однолетние декоративные растения, поступающие к потребителю с закрытой корневой системой, что позволяет культивировать их в открытом грунте и более продолжительное время размножать черенками и розетками. Поэтому возникает реальная опасность появления и быстрого распространения новых, ранее не встречавшихся вирусных заболеваний, а также их переносчиков. Следовательно, необходимо детальное изучение поступающего материала и мониторинг фитосанитарного состояния интродуцированных культур, их видов и сортов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, многолетними исследованиями показано, что на ДВ России на георгинах самым распространенным и вредоносным является *Cucumber mosaic cucumovirus* семейства *Bromoviridae*. Второй по распространенности и вредоносности – узкоспециализированный *Dahlia mosaic caulimovirus* семейства *Caulimoviridae*. Идентифицирован новый для рода *Dahlia* Cav. *Dahlia mild green mottle potyvirus* семейства *Potyviridae*.

Авторы благодарят Ю.В. Богунова за проведенный скрининг сортов георгинов и детекцию ПЦР при изучении *DMV* и за участие в работе по идентификации *DMGMV*, В.К. Вишниченко за определение групповой принадлежности приморских изолятов *CMV* методом ПЦР, а также признательны Т.Ф. Коцарь за поставляемый материал из частных коллекций.

ЛИТЕРАТУРА

- Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. Киев, 1988. 550 с.
- Богунов Ю.В. Идентификация вируса мозаики георгины молекулярно-биологическими методами // Мол. биол. 2006. Т. 40, № 1. С. 184–185.
- Богунов Ю.В., Гнутова Р.В. Результаты и перспективы изучения вируса цветной капусты // Вестн. ДВО РАН. 2002. № 3. С. 118–126.
- Гнутова Р.В. Иммунологические исследования в фитовирусологии. М., 1985. 183 с.
- Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов растений. М., 1993. 301 с.
- Гнутова Р.В. Таксономия вирусов растений Дальнего Востока России. Владивосток, 2009. 462 с.
- Гнутова Р.В., Толкач В.Ф. Вирусы и их штаммы, поражающие овощные культуры (дальневосточные изоляты) // Агроеколог. журн. 2002. Спецвыпуск. С. 6–14.
- Коев Г.В., Клешнена Л.Г., Махартов В.В. Болезни цветочных культур. Кишинев, 1985. 58 с.
- Макутенайте-Навалинскаене М.К. Вирусные и микоплазменные болезни цветочных растений. Вильнюс, 1981. 70 с.
- Развязкина Г.Т., Полякова Г.П., Штейн-Марголина В.А. Упрощенный метод обнаружения вирусных частиц из сока больных растений // Вопросы вирусологии. 1968. № 5. С. 633–635.
- Толкач В.Ф. Идентификация и биологическая характеристика поти- и тобамовирусов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1995. 24 с.
- Толкач В.Ф., Гнутова Р.В. Растения семейства *Orchidaceae*, пораженные вирусом огуречной мозаики // Изв. ТСХА. 2007. № 4. С. 165–173.
- Толкач В.Ф., Чернявская Н.М., Гнутова Р.В. Вирус мозаики арбуза – новый патоген для дальневосточного региона // Вестн. защ. раст. 2001. № 3. С. 40–45.
- Толкач В.Ф., Гнутова Р.В. Вирус огуречной мозаики, выявленный на овощных культурах (хабаровские изоляты) // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2008. № 10. С. 29–37.
- Чернявская Н.М. Штаммовый состав вирусов, поражающих овощные культуры на Дальнем Востоке России: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2003. 24 с.
- Bercks R. *Potato X virus* // CMI/AAB Descriptions Plant Viruses. 1970. N 4. 4 p.
- 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.

- Brunt A.A. *Dahlia mosaic virus* // CMI/AAB Descriptions Plant Viruses. 1971. N 51. 4 p.
- Brunt A.A., Crabree K., Dallwitz M.J. et al. *Tobacco streak virus ilarvirus* // Plant Viruses Description and Lists from the VIDE Database. 1997. P. 1271–1274.
- Fauquet C.M., Mayo M.A. *Tomato spotted wilt virus* из рода *Tospovirus* // Arch. Virol. 2001. N 146. P. 189–194.
- Kameya-Iwaki M. *Dahlia mosaic virus (Caulimovirus)* // Plant Viruses in Asia. Yogyakarta. 1998. P. 560–562.
- Lin H.S., Rubio L. Smythe A. et al. Genetic diversity and biological variation among California isolates of cucumber mosaic virus // J. Gen. Virol. 2003. V. 84. P. 249–258.
- Navalinskiene M., Samuitiene M. Dekoratyviniu augalu virusines ligos ir ju sukelejai lietuvoje. Kaunas, 2006. 254 p.
- Nesmelov I.B., Gnutova R.V., Tolkach V.Fh. Phylogenetic analysis of a new group of orchid isolates *CMV* from Far East Russian based on 2b gene sequencing // Abstr. MAPEEG-2009. Vladivostok, 2009. P. 38.
- Pappu H.R., Wyatt S.D. Viral Diseases of *Dahlia*. A web page with information on diagnosis and management of viral diseases of dahlia. 2008. <http://dahlia.wsu.edu>
- Tolkach V.F., Gnutova R.V. The new for South Far East Russia of *Caulimovirus: cauliflower mosaic and dahlia mosaic* // Abstr. VIIth Intern. Symp. Plant Virus Epidemiology. Aschersleben. 2002. P. 123.