

УДК 576.858.8 (3.3) : 632.38 (2)

**ВИРУСЫ И ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ СОИ
(РАЗНООБРАЗИЕ И ШТАММОВЫЙ СОСТАВ)**

**Ю. Г. Волков, Н. Н. Какарека, Т. И. Плешакова
(БПИ ДВО РАН)**

Вирусные болезни сои изучаются давно. Накоплен большой материал о вирусах и их штаммах, поражающих эту чрезвычайно важную культуру. Только в различных странах Азии выявлено более 40 вирусов из разных таксономических групп [1]. Многие вирусы вызывают на сое суровые поражения и при эпидемическом распространении наносят значительный ущерб. Например, вирусы кольцевой пятнистости табака и кустистой карликовости сои препятствуют образованию бобов. Некротические штаммы вируса мозаики сои (ВМС) вызывают гибель растений, вирус задержки роста сои уменьшает вегетативную массу и ухудшает качество семян и масла. Поэтому выявление и изучение вирусов, поражающих сою, представляет собой актуальную задачу.

Регулярные обследования и изучение зараженности с помощью иммунохимических методов на Госсортоучастках (ГСУ) Приморского края, в коллекциях ПримНИИСХ, ДальНИИСХ, ВНИИ сои показали, что вирусные болезни поражают большой процент растений (от 30 до 90%) в рядовых посевах и в коллекциях. Причем в коллекционных питомниках уровень зараженности сои выше.

На совещании, проведенном во ВНИИ сои в 1989 году, нами были доложены результаты по иммунодиагностике основного вируса, поражающего сою, – вируса мозаики сои (ВМС) – и по резервированию вирусов, поражающих сою, в дикорастущих бобовых [2, 3]. С этого времени был идентифицирован ряд новых штаммов ВМС, выявлены новые патогены, способные за-

ражать сою и вызывать значительные повреждения этой культуры. Были проведены комплексные исследования по изучению биологических (распространение, переносчики, видовое штаммовое разнообразие, эпидемиология), молекулярно-биологических (характеристики РНК, белка), и физико-химических свойств вируса.

Материал и методы

Определение биологических и физико-химических свойств вирусов проводили стандартными методами, описанными А. Гиббсом и Б. Харрисоном [4] и Шоймоши [5].

Препараты для электронной микроскопии готовили способом погружения, а вирус выявляли электронно-микроскопическим методом негативного контрастирования ураниацетатом [6].

Очищенные препараты исследуемых изолятов ВМС и идентифицируемых вирусов получали по методике Д. Хисачи, С. Вахимото [7] с небольшими модификациями.

Основным патогеном, поражающим сою, является вирус мозаики сои. Ранее было установлено наличие штаммов вируса мозаики сои на Дальнем Востоке России. Было описано 2 штамма, названных по симптомам заболевания сои слабым и средним [8]. Поскольку прошло уже много времени, поменялись сорта сои, завезено много материала из других регионов и стран, нами была продолжена работа по изучению штаммового разнообразия ВМС на Дальнем Востоке.

В результате полевых обследований было выявлено более 120 изолятов ВМС со значительным разнообразием симптомов. Изоляты с наиболее характерными симптомами были изучены с целью идентификации штаммов. Известно, что штаммы ВМС распределены по группам в связи с их способностью заражать сорта сои с различной степенью устойчивости. Слабые штаммы (группы А и В) не могут заражать устойчивые сорта, а сильные

(группа D) преодолевают устойчивость всех сортов сои. После проверки на специальных сортах-дифференциаторах было установлено, что ни один изолят не является сильнопатогенным. Большинство относится к группам А, В и С, т.е. слабо- и среднепатогенным.

Таким образом, было установлено, что среди изученных нами изолятов ВМС, выявленных в коллекционных питомниках, сильнопатогенных штаммов не обнаружено. В то же время среди них есть изоляты (А 15325 и А 15584), вызывающие сильное поражение (некротизацию, деформацию и даже гибель) испытанных нами сортов сои, районированных на Дальнем Востоке России. Это говорит о высокой восприимчивости этих сортов к среднепатогенным штаммам.

Вторым по значению патогеном на сое является вирус огуречной мозаики (ВОМ) из рода *Cuscutovirus*. ВОМ вызывает на этой культуре задержку роста и развития растений. Новые исследования показали, что на сое существует несколько штаммов ВОМ, различающихся по патогенности. В Северной Корее на сое нами был выявлен сильнопатогенный штамм, отличающийся следующими характеристиками: точка термической инактивации (ТТИ) - 60°C, период сохранения инфекционности в соке (ПСИ) - 10-11 сут. и предельное разведение сока (ПРС) - 10^{-3} - 10^{-4} [9]. Выявлен ряд растений в природе, являющихся резервуаром вируса огуречной мозаики. Кроме того, показано, что в пути циркуляции ВОМ в природных и искусственных растительных сообществах включаются посевы овощных культур и картофеля.

Обследования, проведенные в последние годы, показали, что в коллекционных посевах ПримНИИСх, в питомниках Госсортсети, в рядовых посевах сои выявляются вирусы желтой и обыкновенной мозаики фасоли из рода *Potyvirus*. По иммунохимическим характеристикам они близки ранее идентифицированным штаммам этих патогенов.

Вирус желтой мозаики фасоли (ВЖМФ) широко распространен на сое на Дальнем Востоке [8]. Полевые исследования показали, что вирус регулярно обнаруживается на рядовых и коллекционных посевах сои во всех регионах Дальнего Востока. Вызывает желто-зеленую, позднее буреющую крапчатость листьев. Болезнь может поразить до 50% растений. Нами показано, что постоянным источником инфекции для посевов сои являются дикорастущие клевера.

Обыкновенная мозаика фасоли (ВОМФ) встречается в посевах сои, особенно в рядовых, значительно реже [8]. Но ВОМФ отличается особой вредоносностью для этой культуры и в значительной степени распространяется семенами и глями. Механическая передача вируса на сою затруднена. ВОМФ на сое вызывает укорочение междоузлий и черешков, карликовость, деформацию листьев. Также показано резервирование ВОМФ на клевере полевым и, возможно, на горошках: однопарном, ложно-сочевичном и мышинном, во всяком случае, иммунохимическое тестирование показало наличие антигена ВОМФ в этих видах растений, находящихся в пределах 100-200 м от полей сои.

Вирус кольцевой пятнистости табака (ВКПТ) на сое вызывает некроз верхушечной почки и пролиферацию цветочных кистей. Встречается редко и не имеет в нашем регионе хозяйственного значения [8]. В то же время его способность в высокой степени передаваться семенами представляет опасность при завозе семян из регионов с высоким уровнем распространения этого вируса. Представляется важным проверить на присутствие ВКПТ сортовые коллекции, что при наличии хорошего иммунодиагностикума не составит большого труда.

Вирус мозаики люцерны (ВМЛ), как и ВОМ, – патоген с очень широким кругом растений-хозяев и большим числом тлей-переносчиков, может поражать растения из различных семейств. Впервые на сое был обнаружен Т.А. Поливановой [8]. Нами показано, что вирус мозаики люцерны часто выявляется на соседних с посевами сои дикорастущих видах бобовых и

сложноцветных (клеверах, горошке, доннике, осоте, бодяке). Также ВМЛ широко распространен и на картофеле. Все эти растения являются источником инфекции для сои. На сое ВМЛ вызывает яркую желтую пятнистость, часто проявляется желтое окаймление жилок.

В Черниговском районе иммунохимическими методами на сое с симптомами мозаики обнаружили поливирус, выявленный и идентифицированный ранее в Партизанском районе на клевере горном [10, 11].

Кроме описанных выше вирусов на коллекции сортов ВНИ-ИС (г. Благовещенск), на сое были выявлены заболевания, отличающиеся по некоторым характеристикам. С тремя изолятами (А 10213, А 15074, А 15091) был проделан комплекс исследований для диагностики возбудителей этих болезней.

Вирус слабой мозаики сои (изолят А15074) вызывал на сое симптомы слабой мозаики. Оригинален тем, что механической инокуляцией сою не заражал, а только переносчиками. Вирус удалось передать на ряд растений-индикаторов (табл. см. с. 49).

Семенами пораженных бобов изолят А15074 не передавался, но легко передавался персиковой тлей *Myzus persicae* Sulz (данные В.Ф.Толкач), ТТИ - $75 \pm 2^\circ\text{C}$, ПСИ - 7 сут. Вирионы нитевидной формы, в препарате присутствуют в большом количестве. Был получен очищенный препарат вирусного изолята и изучен ряд его характеристик.

Полученные данные по биологическим свойствам и морфологии вирусных частиц позволяют отнести исследуемый изолят А 15074, выявленный на сое, к роду потивирусов.

Вирусный изолят А15091 вызывал на сое симптомы общего хлороза с деформацией листьев и назван вирусом хлоротической деформации сои. Патоген удалось передать на растения-индикаторы (табл.).

Семенная передача составляла 14%. Персиковой тлей вирус не передавался.

ТТИ - менее $55 \pm 2^\circ\text{C}$. Вирионы - нитевидной формы, гибкие, длинные. Очищенный препарат имел типичный для нуклеопротеида спектр поглощения в ультрафиолете. Отношение E_{260}/E_{280} составляло 1,2, $E_{\text{мин}}$ - 240 нм, $E_{\text{макс}}$ - 260 нм. Выход вируса - 8,2 мг на 100 г зеленой растительной массы.

Таблица

Исследование экспериментального круга растений-хозяев вирусных изолятов, выявленных на сое (собственные результаты и данные В.Ф.Толкач)

№ п/п	Род и вид растений	Вирусные изоляты		
		A10213	A15074	A15091
1	<i>Cassia angustifolia</i>	-		O
2	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-	DotN	RiN
3	<i>C. murale</i>	N, ClSp	-	-
4	<i>C. quinoa</i>	N, ClSp	N	-
5	<i>Cucumis sativus</i>	-	N	-
6	<i>Faba bona</i>	-	M, ClMot	N
7	<i>Glycine hispida</i>	M, NSp	-	Cl, Dis
8	<i>Lotus tetragonolobus</i>	O	-	-
9	<i>Phaseolus lunatus</i>	N, CIV	N RiN	O
10	<i>P. vulgaris</i>	-	-	N, CIV
11	<i>Pisum sativum</i>	N	-	Vc
12	<i>Trifolium repens</i>	-	O	-
13	<i>T. fragiferum</i>	O	-	-
14	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	ClSp, N	-	O
15	<i>T. gladiata</i>	-	-	O
16	<i>Vigna sinensis</i>	DotN	Dis	O

Примечание.

O – бессимптомное заражение;

Cl – хлороз, хлоротический;

Sp – пятна, пятнистость;

Dis – деформация;

Dot – точечный;

Vc – посветление жилок;

N – некроз;

M – мозаика;

V – жилки;

Ri – кольца, кольцевой;

Mot – крапчатость;

“-” - не заразились.

Вирусный изолят A10213 на сое вызывал симптомы хлоротической крапчатости, поэтому и был назван вирусом хлоротической крапчатости.

Было показано, что хорошим индикатором является фасоль двух сортов - Perlicka и Michelite. Заболевание в эксперименте передалось на ряд растений (в основном бобовых) (табл.).

Передача семенами составляла 9%. Персиковой тлей патоген передать на сою не удалось. ТТИ - $65 \pm 2^\circ\text{C}$, ПСИ - 1 сут. Электронно-микроскопически в препаратах обнаружены длинные гибкие нитевидные частицы. По биологическим и физико-химическим свойствам изолят A10213 был предварительно отнесен к потивирусам, хотя передача тлей не установлена. Полученный очищенный препарат вируса имел типичный нуклеопротеидный спектр поглощения с локальным максимумом $E_{\text{max}} = 260$ нм и минимумом $E_{\text{min}} = 250$ нм. Отношение E_{260}/E_{280} равнялось 1,2. Выход вируса составил до 10 мг на 100 г листьев.

При изучении вирусов, выявленных на дикорастущих бобовых, было показано, что многие из них при искусственном заражении могут передаваться на сою, вызывая при этом серьезные поражения. Это вирус мозаики горошка однопарного из рода *Vernovirus*, выявленный в Приморском крае и в Амурской области, вирус некротической мозаики горошка ложносочевичного, обнаруженный в Хабаровском крае, вирус мозаики клевера горного (Приморский край) [12].

Многолетними исследованиями показано, что сортов сои, устойчивых к ВМС, не бывает. Селекция в селекционных центрах во всем мире ведется на устойчивость к группам штаммов этого вируса. В нашем регионе такая работа по созданию сортов сои, резистентных к различным группам штаммов, проводится в недостаточном объеме. Поскольку на Дальнем Востоке России отсутствуют сильнопатогенные штаммы, можно вполне использовать доноров устойчивости к группе D при селекции резистентных к средне- и

слабопатогенным штаммам ВМС. Для выявления доноров устойчивости необходимо поддерживать коллекцию штаммов ВМС и иммунодиагностикумов к ним. Выявление и дифференциацию групп штаммов вируса мозаики сои следует проводить на сортах, специально применяемых для этой цели.

Очень важным представляется мониторинг фитосанитарного состояния посевов сои в основных селекционных и семеноводческих центрах, что даст возможность на ранних стадиях выявлять и удалять вирусы, устойчивые формы и линии растений для дальнейшей селекции. При этом надо учитывать, что не бывает абсолютной резистентности и поэтому селекцию необходимо вести на устойчивость к местным штаммам вирусов, которые необходимо идентифицировать.

Литература

1. Plant viruses in Asia. Gadjan Mada University Press. - 1998. - 1263 p.
2. Волков Ю.Г. Резервуары вирусных болезней сои// Биологические аспекты защиты сои от вредителей и болезней. Научно-технический бюллетень СО ВАСХНИЛ. - 1990.- № 4. - С. 16-20.
3. Какарека Н.Н., Гнутова Р.В., Сибирякова И.И. Разработка иммунодиагностикумов против вирусных болезней сои// Биологические аспекты защиты сои от вредителей и болезней. Научно-технический бюллетень СО ВАСХНИЛ. -1990.- № 4. - С. 20-26.
4. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. - М.: Мир, 1978. - 429 с.
5. Шоймоши Ф. Вирусология. Методы фитопатологии. - М.: Колос, - 1974. - 690 с.
6. Развязкина Г.М., Полякова Г.П., Штейн-Марголина В.А. Упрощенный метод обнаружения в электронном микроскопе вирусных частиц из сока больных растений // Вопр. вирусологии. - 1968. - № 5. - С.633-634.

7. Hisachi J., Wakimoto S. And improved method for purification of soybean mosaic virus// Ann. Phytopath. Soc. Japan. – 1985. – Vol.39, № 5. – P. 314-315.

8. Поливанова Т.А. Возбудители вирусных болезней сои // Возбудители болезней с.-х. растений Дальнего Востока. - М.: Наука, 1980. - С. 51-70.

9. Козловская З.Н., Романова С.А., Леднева В.А, Волков Ю.Г. Сравнительная характеристика биологических и физико-химических свойств изолятов вируса огуречной мозаики, выявленных в странах Дальневосточного региона // Сельхоз. биология. - 2002. - № 5.

10. Какарека Н.Н. Сравнительная антигенная характеристика капсидных белков потивирусов (дальневосточные изоляты) и их иммунодиагностика: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. - Владивосток, 1995.- 25 с.

11. Волков Ю.Г., Моисеенко Л.И., Какарека Н.Н., Сибирякова И.И., Гнутова Р.В. Вирус мозаики клевера горного – новый патоген из группы Potyvirus // Микробиологический журнал. - 1994. - Т. 56. - № 6. - С. 30-35.

12. Волков Ю.Г., Костин В.Д. Аутовирuses в естественных и искусственных растительных сообществах Дальнего Востока России (экологические и эпидемиологические аспекты) // Становление и развитие фитовирусологии на Дальнем Востоке России. - Владивосток: Дальнаука, 2002. – С.136-154.

УДК 633.34.001.3(571.17)

**СЕЛЕКЦИОННАЯ ЦЕННОСТЬ
ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА СОИ
ДЛЯ УСЛОВИЙ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ
В. И. Заостровных, Т. А. Манакова (КемГСХИ)**

Проблема повышения производства белка для питания человека и кормления сельскохозяйственных животных приобретает