

## БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ВІРУСУ ОГІРКОВОЇ МОЗАЇКИ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР

В.О. Цвігун<sup>1</sup>, Н.П. Сус<sup>2</sup>, Т.П. Шевченко<sup>3</sup>, А.Л. Бойко<sup>4</sup>

<sup>1</sup>кандидат біологічних наук

<sup>3</sup>доктор біологічних наук

<sup>4</sup>доктор біологічних наук, професор, академік НААН

<sup>1, 2, 4</sup>Інститут агроєкології і природокористування НААН  
вул. Метрологічна, 12, м. Київ, 03143, Україна

<sup>3</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна

e-mail: <sup>1</sup>yika-natceвич@ukr.net, <sup>2</sup>nazar.sus@gmail.com

ORCID: <sup>1</sup>0000-0002-9517-9810, <sup>2</sup>0000-0001-6919-0920,

<sup>3</sup>0000-0003-2764-9013, <sup>4</sup>0000-0002-5577-9600

Надійшла 23.10.2020

**Мета.** Провести діагностику та встановити шляхи поширення вірусу огіркової мозаїки на території України. **Методи.** Використано спектр методів, який включав візуальну діагностику, імуноферментний аналіз, метод у різних модифікаціях, метод електронної мікроскопії та метод статистичної обробки даних. **Результати.** Проведено моніторинг сільськогосподарських культур у різних кліматичних регіонах України за візуальними симптомами. За допомогою методу імуноферментного аналізу встановлено, що симптоми на рослинах були спричинені вірусом огіркової мозаїки. За допомогою електронної мікроскопії досліджено морфологічні властивості вірусу, виявлено сферичні вірусні частки розміром 29 нм. Проведено перевірку комерційного насіння різних сортів рослин огірків, кабачків, томатів і перцю овочевого на можливість їх вірусної контамінації. Установлено, що комерційне насіння виявилось контаміноване антигенами вірусу огіркової мозаїки. **Висновки.** Проведено відбір рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* за характерними симптомами. З використанням електронної мікроскопії та імуноферментного аналізу доведено наявність вірусу огіркової мозаїки на території України. Вірусифіковані рослини діагностовано у агроценозах Вінницької, Одеської та Херсонської областей. Перевірено різні комерційні сорти насіння рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* щодо вірусної контамінації і виявлено, що 37 % його уражене вірусом огіркової мозаїки, а отже, є потенційно небезпечним резерватором вірусної інфекції і, як наслідок, серйозною причиною з'явлення захворювань овочевих культур у відкритому ґрунті.

**Ключові слова:** сільськогосподарські культури, імуноферментний аналіз, моніторинг, діагностика.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202012-04>

Вірусні захворювання є одним з основних обмежувальних чинників у вирощуванні культурних рослин. Кількість вірусів різних

таксономічних груп, які інфікують культурні рослини, невпинно зростає через адаптацію нових сільськогосподарських практик,

глобальне потепління та поширення векторів, а також глобалізацію, що супроводжується масовим і швидким обміном насіннєвим та посадковим матеріалом між різними регіонами земної кулі. Згідно з останнім звітом комітету з таксономії вірусів нині відомо понад 1000 вірусів рослин [1]. Очевидно, що взаємодія рослин, їх вірусів і чинників довкілля є комплексною і включає інші патогени, комах-переносників, рослини, а також абіотичні та антропогенні чинники.

Єдиним дієвим заходом протистояння вірусним інфекціям є вчасна діагностика та проведення упереджувальних профілактичних заходів щодо ліквідації переносників і джерел інфекції, упровадження стійких сортів рослин та отримання безвірусного посадкового матеріалу [2].

Вірус огіркової мозаїки (ВОМ) *Cucumber mosaic virus* (CMV) належить до роду *Cuscutovirus* родини *Bromoviridae*. Вірус ізометричний, розміром 26–30 нм. Нуклеїнова кислота вірусу становить 18%. Геном представлений трьома молекулами одноланцюгової лінійної геномної рибонуклеїнової кислоти (РНК). Кожна молекула відрізняється за молекулярною масою. Наявна субгеномна матрична РНК, яка кодує білок оболонки [3]. ВОМ може поширюватися внаслідок механічного контакту рослин, насінням і комахами-переносниками. Передача за допомогою насіння може відбуватися двома способами: коли вірус знаходиться у середині насіння або на поверхні насіннєвої шкірки. Вірус може передаватися також через ґрунт. Вірусні частки тривалий час (10–40 діб) можуть знаходитися у відмерлих рештках рослин. ВОМ уражує до 200 видів рослин, що належать до 60-ти родин, але найбільшої шкоди завдає огіркам відкритого ґрунту. Викликаючи суворі симптоми на рослинах і плодах, він різко знижує врожайність гарбузових культур [4]. Останнім часом, як свідчать наші дослідження, ВОМ набуває поширення на багаторічних рослинах, це хміль, клен гостролистий, ліщина звичайна та береза повисла. Усе частіше з'являються нові дані, що свідчать про розширення ареалів вірусних захворювань, поширення змішаних і латентних інфекцій, появу їх нових форм зі зміненою патогенністю [5]. ВОМ переноситься неперсистентно за допомогою 75 видів попелиць.

**Мета досліджень** — провести діагностику та встановити способи поширення вірусу огіркової мозаїки на території України.

**Матеріали та методи досліджень.** Зразки відбирали способом візуального обстеження рослин на наявність вірусних симптомів. Для перевірки на наявність вірусних антигенів було відібрано та протестовано 79 зразків рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae*. Рослинні зразки відбирали з агроценозів таких регіонів України: Київської, Одеської, Вінницької, Черкаської і Херсонської областей. Для детекції вірусу рослинний матеріал гомогенізували у 0,1М фосфатно-сольовому буфері, рН 7,4 у співвідношенні 1:2. Очищення від рослинних компонентів проводили центрифугуванням у режимі 5000 об./хв протягом 20 хв при +4°C на центрифугу PC-6 [7]. Надосад відбирали для подальшого використання в імуноферментному аналізі (ІФА). Постановку ІФА проводили відповідно до рекомендацій виробника тест-систем для сендвіч-ІФА у 96-лункових полістиролових планшетах «Labsystem». Результати реєстрували на рідері Termo Labsystems Opsis MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink за довжини хвиль 405/630 нм. Для детекції вірусних антигенів у ІФА використовували тест-системи виробництва Loewe (Німеччина) [8]. Очищення та концентрацію вірусного препарату здійснювали методом дифузного центрифугування з освітленням хлороформом і тритоном X-100. Чистоту отриманого препарату визначали спектрофотометрично за співвідношенням E260/E280. Морфологію віріонів досліджували на електронному мікроскопі Jeogs (JEM 1400), використовуючи як контрастер 2%-й ураніл ацетат [9–11].

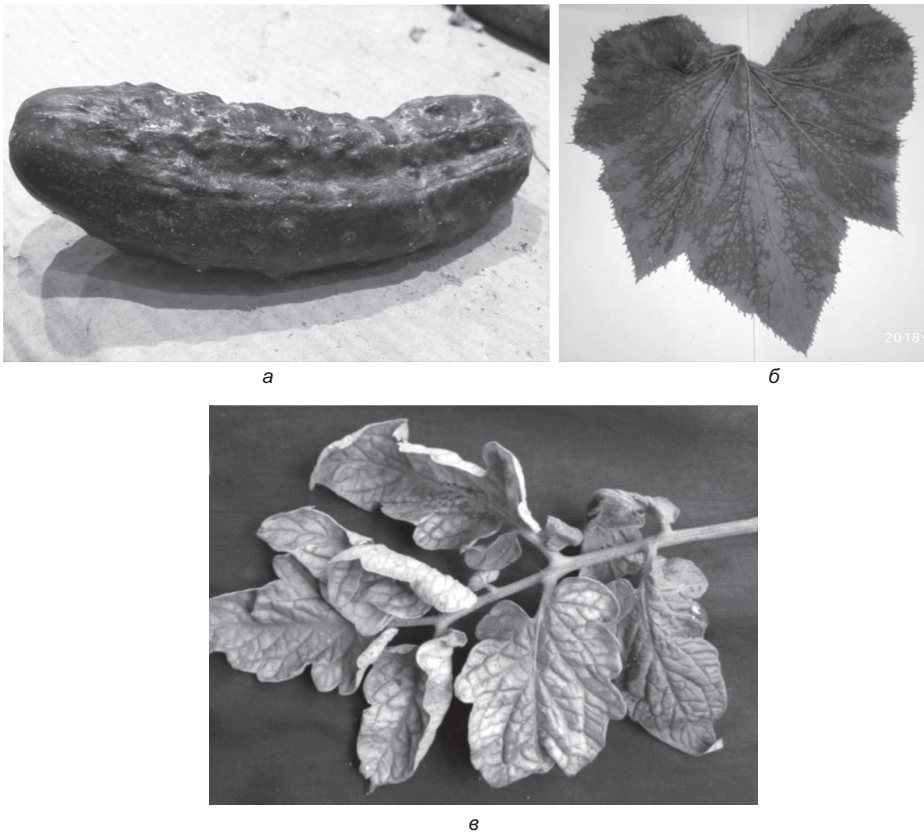
**Результати та обговорення досліджень.** На рослинах родини *Cucurbitaceae* (огірках, кабачках, гарбузах, цукіні) спостерігали симптоми зморшкватості, деформації, гофрування та пожовтіння листових пластинок; жовту мозаїку і ниткоподібність листових пластинок; темно-зелені плями різного розміру, бугристі нарости на плодах та їх деформацію (рис. 1). На рослинах родини *Solanaceae* (томатах, перці та баклажанах) симптоми захворювання спостерігали через 1–1,5 міс. після сівби,

у період бутонізації. Перші ознаки хвороби проявлялися на молодих листках у вигляді жовтуватих плям і просвітління тканини вздовж головних жилок. Надалі на рослинах розвивалися симптоми жовтої або зеленої системної мозаїки, з'являлися хлорози та точкові некрози. На плодах спостерігали симптоми у вигляді пухирчастого здуття та каймистих плям на шкірці плодів.

Візуальне спостереження за зовнішніми симптомами ураження є досить ненадійним методом виявлення та діагностики вірусних інфекцій, оскільки прояв вірусних симптомів залежить, головним чином, від взаємодії вірусу та хазяїна. Крім того, досить часто штамми одного й того самого вірусу здатні викликати різні симптоми на рослинах одного виду, змінюючи водночас зовнішні

прояви від надчутливості до безсимптомного вірусоносійства. Оскільки усі симптоми на рослинах, спричинені вірусною інфекцією, дуже подібні між собою і не дають змоги чітко визначити вид вірусу, подальші дослідження були спрямовані на встановлення виду вірусів, використовуючи сучасні методи ідентифікації. За допомогою ІФА у модифікації «сендвіч» з тест-системами виробництва Loewe (Німеччина) було проведено ідентифікацію антигенів вірусів у відібраних рослинних зразках (рис. 2).

Отже, у результаті перевірки 79 зразків овочевих культур було встановлено, що 28 з них — інфіковано ВОМ. Вірусінфіковані рослини діагностовано в агроценозах Вінницької, Одеської та Херсонської областей. На рослинах родини *Cucurbitaceae*



**Рис. 1.** Симптоми вірусної етіології рослин огірків, томатів, кабачків; а — темно-зелені пухирчасті здуття шкірки плоду огірка *Cucumis sativus*; б — некрози та жовто-зелена мозаїка на листковій пластині томата *Solanum lycopersicum*; в — темно-зелена прижилкова мозаїка на листі кабачка *Cucurbita pepo*

ВОМ виявлено у Вінницькій, Одеській та Херсонській областях. На рослинах родини *Solanaceae* вірус діагностовано в Одеській та Херсонській областях. ВОМ детектовано переважно у вигляді моноінфекції з поодинокими випадками змішаної інфекції. Так, у попередніх наших дослідженнях ВОМ виявлено у комбінації з вірусами тютюнової мозаїки, мозаїки кавуна 2 і жовтої мозаїки цукіні.

Отже, виходячи з результатів ІФА, можна зробити висновок про досить серйозну ситуацію поширення ВОМ в агроценозах України. Як відомо із літературних даних, особливо велика кількість хворих рослин спостерігається на ділянках, де огірки вирощують як монокультуру. Урожайність може знижуватися від 3,3 до 80,2% залежно від сорту огірків.

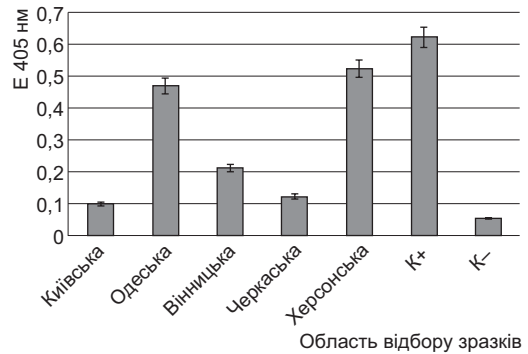
Наступним етапом роботи було виділення ВОМ з інфікованих рослин для подальшого вивчення його властивостей. Для прямого виявлення ВОМ, визначення його морфології, розміру вірусних часток, а також підтвердження результатів ІФА було застосовано метод електронної мікроскопії.

У результаті електронномікроскопічних досліджень високоочищеного, концентрованого препарату виявлено сферичні вірусні частки розміром 29 нм, які за літературними даними характерні для вірусів роду *Sisimovirus*, зокрема для ВОМ (рис. 3).

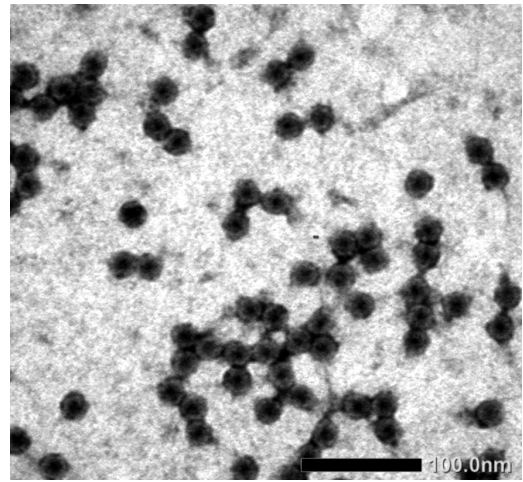
Отже, у результаті електронномікроскопічних досліджень було підтверджено наявність ВОМ у рослинних зразках. ВОМ може поширюватися комахами-переносниками, механічно та зараженим насінням. Саме тому потрібно особливо увагу приділити обстеженню насіння ще до його висівання. Надалі ми провели перевірку комерційного насіння різних сортів рослин огірків, кабачків, томатів і перцю овочевого на можливість їх вірусної контамінації для вчасного запобігання поширенню вірусних хвороб на території України.

Було протестовано насіння 5-ти фірм: Agromaksi seeds, Golden Garden, Свитязь, НК Еліт і Світ Насіння.

Загалом на наявність вірусних антигенів протестовано 19 сортів насіння, 5 з яких сорти огірків, 3 — кабачків, 7 — томатів, 4 — перцю овочевого. Результати



**Рис. 2. Результати тестування рослин огірків, кабачків, томатів і перцю овочевого ІФА на наявність вірусних антигенів: ■ — ВОМ**



**Рис. 3. Електронномікроскопічне зображення вірусу огіркової мозаїки**

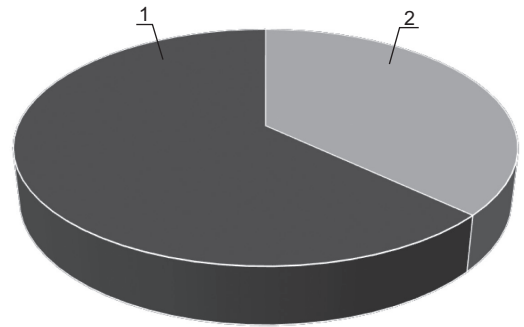
досліджень свідчать, що 37% серед асортименту перевіреного насіння огірків і томатів виявилось контамінованим ВОМ. Його антигени виявлено у насінні томату сорту Сонька, Андреевський сюрприз, Ефимер та насінні перцю овочевого сорту Оранжевое чудо. Вірусні антигени детектувалися у насінні огірка сорту Отелло F1, Ласточка F1 та кабачка сорту Скворушка (таблиця).

Результати досліджень свідчать, що 37% серед асортименту перевіреного насіння огірків і томатів виявилось контамінованим ВОМ (рис.4).

Отже, існує серйозна ситуація з контамінацією вірусними антигенами комерційного

**Перевірка насіння рослин родини гарбузових на контамінацію АГ ВОМ**

Рослина	Сорт	Е 405 нм ВОМ
Томат	Сонька	+
»	Ріо Фуего	-
»	Андрєєвський сюрпріз	+
»	Чері	-
»	Де-Барао красний	-
»	Кобзар Тарасенко	-
»	Ефимер	+
Перець овочевий	Красний циган	-
»	Богатир	-
»	Оранжевоє чудо	+
Огірок	Отелло F1	+
»	Феникс	-
»	Ізид F1	-
»	Паризький корнішон	-
»	Аіст	-
»	Ласточка F1	+
Кабачок	Белоплодний	-
»	Скворушка	+
»	Водограй	-



**Рис. 4. Результати перевірки різних сортів насіння овочевих культур на наявність вірусних антигенів: 1 – насіння без вірусних антигенів; 2 – насіння з антигенами ВОМ**

насіння на ринку України, адже близько 37% перевірених сортів виявилися контамінованими вірусами.

Наведені вище результати слугують підтвердженням необхідності комплексного підходу до захисту сільськогосподарських культур від вірусних інфекцій, починаючи з передпосівного тестування насіння до контролю стану посівів на різних стадіях вегетації.

**Висновки**

Проведено відбір рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* за характерними симптомами. З використанням електронної мікроскопії та ІФА доведено наявність ВОМ на території України. Вірусифіковані рослини діагностовано в агроценозах Вінницької, Одеської та Херсонської областей. Нами було

перевірено різні комерційні сорти насіння рослин родини *Cucurbitaceae* та *Solanaceae* щодо вірусної контамінації і виявлено, що 37% його уражене ВОМ, а отже, є потенційно небезпечним джерелом вірусної інфекції і, як наслідок, серйозною причиною появи захворювань овочевих культур у відкритому ґрунті.

**Tsvihun V.<sup>1</sup>, Sus N.<sup>2</sup>, Shevchenko T.<sup>3</sup>, Boiko A.<sup>4</sup>**  
<sup>1</sup>Institute of Agroecology and Environmental Management of NAAS, 12 Metrolohichna Str., Kyiv, 03143, Ukraine, <sup>2</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64/13 Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine; e-mail: <sup>1</sup>vika-natcevich@ukr.net, <sup>2</sup>nazar.sus@gmail.com; ORCID: <sup>1</sup>0000-0002-9517-9810, <sup>2</sup>0000-0001-6919-0920, <sup>3</sup>0000-0003-2764-9013, <sup>4</sup>0000-0002-5577-9600

**Biological properties of cucumber mosaic virus of vegetables**

**Goal.** To carry out diagnostics and to establish

ways of spreading cucumber mosaic virus on the territory of Ukraine. **Methods.** A range of methods was used, which included visual diagnostics, enzyme immunoassay, method in various modifications, electron microscopy method, and statistical data processing method. **Results.** Monitoring of crops in different climatic regions of Ukraine for visual symptoms was carried out. Enzyme immunoassay revealed that the symptoms on the plants were caused by cucumber mosaic virus. Using electron microscopy, the morphological properties of the virus were studied, and spherical viral particles with

a size of 29 nm were detected. Commercial seeds of different varieties of cucumbers, zucchini, tomatoes, and vegetable peppers were tested for the possibility of their viral contamination. Commercial seeds were found to be contaminated with cucumber mosaic virus antigens. **Conclusions.** Plants of the Cucurbitaceae and Solanaceae families were selected according to their characteristic symptoms. The presence of cucumber mosaic virus in Ukraine has been proved using electron microscopy and enzyme immunoassay. Virus-infected plants were

diagnosed in agrocnosis of Vinnytsia, Odesa, and Kherson regions. Various commercial seed varieties of Cucurbitaceae and Solanaceae were tested for viral contamination. It was found that 37% of them were infected with cucumber mosaic virus and therefore became a potentially dangerous reservoir for viral infection and, as a consequence, a serious cause of outdoor vegetable disease.

**Key words:** crops, enzyme immunoassay, monitoring, diagnostics.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202012-04>

## Бібліографія

1. Бойко А.Л. Безпека і віруси. Екологічна безпека агропромислового виробництва; за ред. О.І. Фурдичка, А.Л. Бойка. Київ: ДІА, 2013. С. 18–44.
2. Fauquet M., Mayo M.A., Maniloff J. et al. Virus taxonomy. Eight report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London: Academic Press, 2006. 1259 p.
3. Virus taxonomy. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. Andrew King et al. Wien: Springer-Verlag, 2012. 1327 p.
4. Поліщук В.П., Будзанівська І.Г., Рижук С.М. та ін. Моніторинг вірусних інфекцій рослин в біоценозах України. Київ: Фітосоціоцентр, 2001. 220 с.
5. Mauck K.E., de Moraes C.M., Mescher M.C. Biochemical and physiological mechanisms underlying effects of Cucumber mosaic virus on host-plant traits that mediate transmission by aphid vectors. *Plant, Cell & Environment*. 2014. V. 37. P. 1427–1439.
6. Boyko A., Opryshko N., Tsvigun V., Orlovskaya G. Diagnosis of seed viral infection of vegetable crops. *Агроекологічний журнал*. 2015. № 3. С. 93–97.
7. Tsvigun V., Shamraichuk V., Bysov A. et al. Novel viral pathogens of vegetable crops in Ukraine and Belarus. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія*. 2012. № 62. С. 54–56.
8. Crowther J.R. (Ed.) ELISA. Theory and practice. Humana Press. N.Y. 1995. 223 p.
9. Calil P.B., Fontes E.P. Plant immunity against viruses: antiviral immune receptors in focus *Annals of Botany*. 2017. V. 119. Is. 5. P. 711–723.
10. Shevchenko T.P., Tymchyshyn O.V., Kosenko I.A. et al. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Ukrainian isolates of Cucumber mosaic virus based on the partial sequences of three genes. *Biopolymers and Cell*. 2018. V. 34(1). P.32–40.
11. Rudneva T.O., Shevchenko T.P., Budzanivska I.G. et al. Virus diseases of Cucurbitaceae plants on the territory of Ukraine. *Plant science*. 2006. № 6. P. 508–510.