

София Виллемсон, Мильви АГУР

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНЫХ ФОРМ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ИНДИКАТОРНОГО ВИДА *NICOTIANA GLUTINOSA* L.

Виды *Nicotiana tabacum* L. и *N. glutinosa* L. широко применяются в фитовирусологической практике. При осмотре разных партий растений-индикаторов этих видов иногда отмечаются среди них растения, не отвечающие общепринятым требованиям (Агур, Виллемсон, 1981).

В предыдущих работах (Агур, Виллемсон, 1981; Агур и др., 1982) была приведена характеристика вирусных форм, изолированных из индикаторного вида *N. tabacum* L. Настоящая работа посвящена изучению инфекционных и физических свойств вирусных форм, изолированных из индикаторного вида *N. glutinosa* L.

Материал и методика

Объектами изучения служили три вирусные формы, изолированные из семян *N. glutinosa* L. и обозначенные условно как форма I (вызывающая мозаику), форма II (вызывающая узколистность) и форма III (вызывающая морщинистость).

Полученными формами путем механической инокуляции соком заражали растения 27 видов из 6 семейств (*Amaranthaceae*: *Gomphrena globosa* L.; *Chenopodiaceae*: *Chenopodium amaranticolor* L.; *Cucurbitaceae*: *Cucumis sativus* L.; *Ficoidaceae*: *Tetragonia expansa* Thunb.; *Papilionaceae*: *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., *Vigna sinensis* Endl.; *Solanaceae*: *Capsicum annuum* L., *Datura inermis* L., *D. innoxia* Mill., *D. stramonium* L., *D. tatula* (L.) Torr., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Nicandra physaloides* Gaertn., *Nicotiana glauca* Graham., *N. glutinosa* L., *N. langsdorffii* Weinm., *N. rustica* L., *N. sylvestris* Speg., *N. tabacum* L., *Physalis floridana* L., *Solanum acaule* Bitt., *S. chacoense* Bitt., *S. demissum* Lindl., *S. miniatum* Bernh. ex Willd., *S. nigrum* L., *S. villosum* L.).

Растения выращивали в теплице в условиях изоляции и регулярного опрыскивания для уничтожения насекомых на стерилизованной почве (80—100 °C в течение 1 ч). Инокуляции растений проводили в фазе, оптимальной для каждого вида. Число растений в опыте составляло 8—10. О заражаемости опытных растений судили по проявлению на них признаков заболевания, а также по данным контрольных пассажей как с инокулированных, так и с верхушечных листьев на *N. glutinosa* L. с целью выявления бессимптомной инфекции. Описание симптомов заболевания проводили регулярно в ходе их появления. Изучаемые формы вирусов сохраняли на растениях вида *N. glutinosa* L. Физические свойства изолированных форм: точку термической инактивации (ТТИ), точку предельного разведения (ТПР) и сохранение инфекционности вируса при выстаивании в соке при комнатной и пониженной температурах, а также в высушенных тканях листьев определяли по ранее описанной методике (Агур, Виллемсон, 1982).

Результаты исследования и их обсуждение

Ниже приводятся данные о типе реакции (локальная, системная, скрытая инфекция и невосприимчивость) и характере признаков заболевания у растений 27 видов при заражении их вирусными формами I, II, III.

AMARANTHACEAE

Gomphrena globosa L. (гомфрена головчатая). У растений этого вида, инокулированных вирусными формами I и III, признаков заболевания на инокулированных и верхушечных листьях не проявилось, и вирус из них не был изолирован, т. е. этот вид к изучаемым формам оказался невосприимчивым. При инокуляции формой II отмечалась локальная реакция — через 4 дня на инокулированных листьях появлялись светлые некрозы (рис. 1, а), и из этих листьев вирус был изолирован.

CHENOPODIACEAE

Chenopodium amaranticolor L. (марь гигантская). Этот вид реагировал на инфекцию изучаемыми формами лишь локально. При заражении формой I через 4 дня на инокулированных листьях появлялись мелкие светлые некрозы диаметром около 1 мм (рис. 2, в), при заражении формой II через 6 дней появлялись также светлые некрозы диаметром до 2 мм (рис. 2, б), а при заражении формой III через 14 дней — красноватые некрозы диаметром 1—2 мм (рис. 2, г). Все вирусные формы изолированы лишь из инокулированных листьев.

CUCURBITACEAE

Cucumis sativus L. (огурец 'Неросимый'). При инокуляции формой I через 6 дней на верхушечных листьях этого вида появлялась мозанка (рис. 3), и вирус был изолирован как из инокулированных, так и из верхушечных листьев. К формам II и III этот вид невосприимчив.

FICOIDACEAE

Tetragonia expansa Thunb. (шпинат новозеландский). Формы I и II заражали этот вид лишь локально. Форма I не вызывала признаков заболевания на инокулированных листьях, однако была изолирована (бессимптомная локальная инфекция). Форма II на 10-й день вызывала локальные хлоротичные пятна. При инокуляции формой III признаков заболевания не отмечено, и вирус не был изолирован.

PAPILIONACEAE

Phaseolus vulgaris L. (фасоль обыкновенная 'Донская белая'). Этот вид оказался невосприимчивым к заражению изучаемыми вирусными формами.

Pisum sativum L. (горох посевной 'Совершенство'). Этот вид оказался невосприимчивым к форме II и бессимптомным носителем (локальная инфекция) форм I и III.

Vigna sinensis Endl. (вигна китайская). При заражении формами I и II на инокулированных листьях через 8 дней появлялись коричневые некрозы. На верхушечных листьях симптомов заболевания не наблюдалось; обе вирусные формы из них изолировать не удалось. При заражении формой III признаков заболевания не отмечено ни на инокулированных, ни на верхушечных листьях, и вирус из них не был изолирован.

Рис. 1. Листья растения *Gomphrena globosa* L.:
а — при инфекции формой II,
б — здоровый.

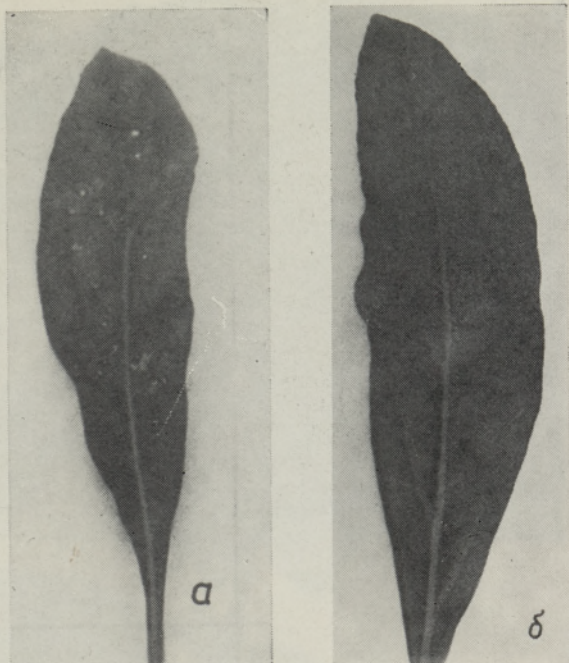
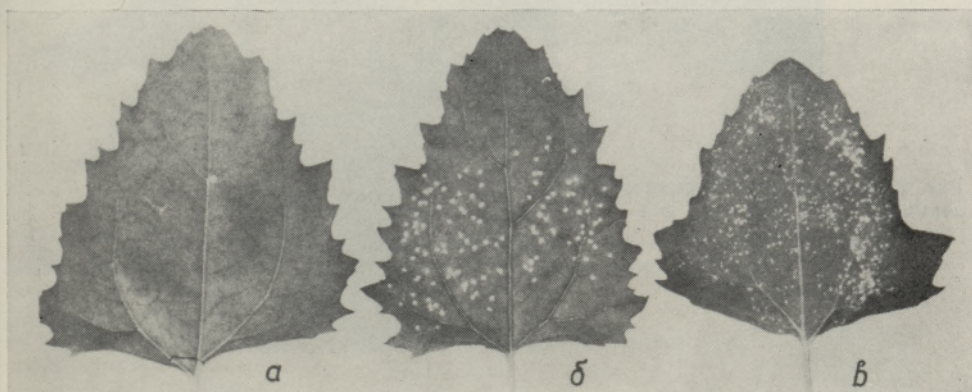


Рис. 2. Листья растения *Chenopodium amaranticolor* L.: а — здоровый, б — при инфекции формой II, в — формой I, г — формой III.





Рис. 3. Лист растения *Cucumis sativus* L. при инфекции формой I.



Рис. 4. Растение вида *Capsicum annuum* L. при инфекции формой II.



Рис. 5. Листья растения *Datura innoxia* Mill.: а — здоровый, б — при инфекции формой II.



Рис. 6. Лист растения *Lycopersicon esculentum* Mill. (томат 'Невский') при инфекции формой II.



Рис. 7. Растения вида *Lycopersicon esculentum* Mill. (томат 'Невский'): а — при инфекции формой II, б — здоровый.



Рис. 8. Листья растения *Nicandra physaloides* Gaertn.: а — здоровый, б — при инфекции формой I, в — формой II.

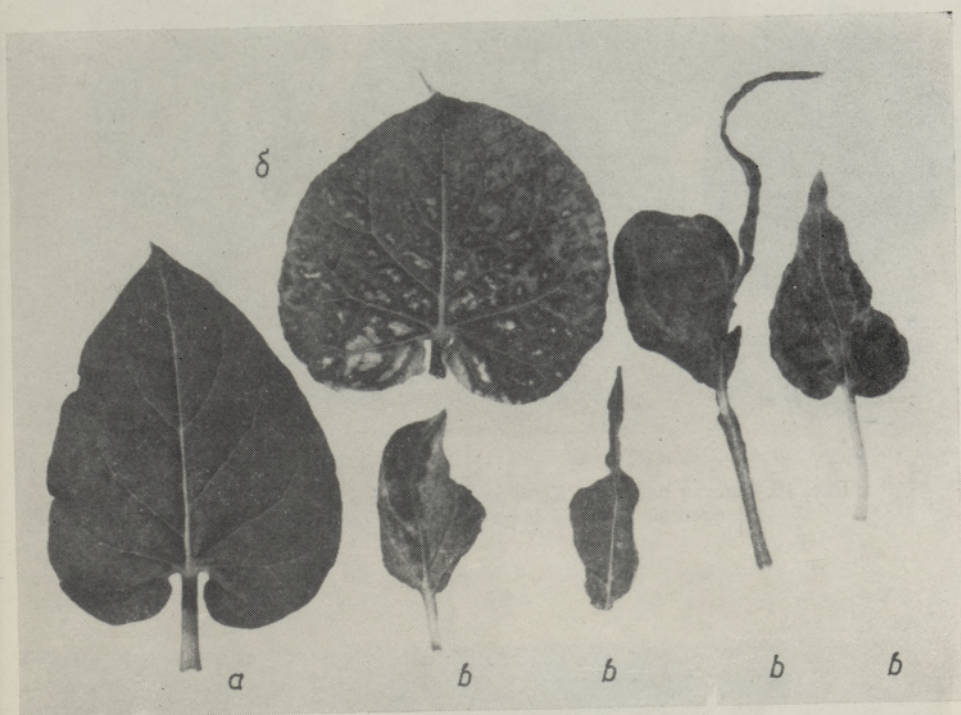


Рис. 9. Листья растения *Nicotiana glutinosa* L.: а — здоровый, б — при инфекции формой I, в — формой II, г — формой III.



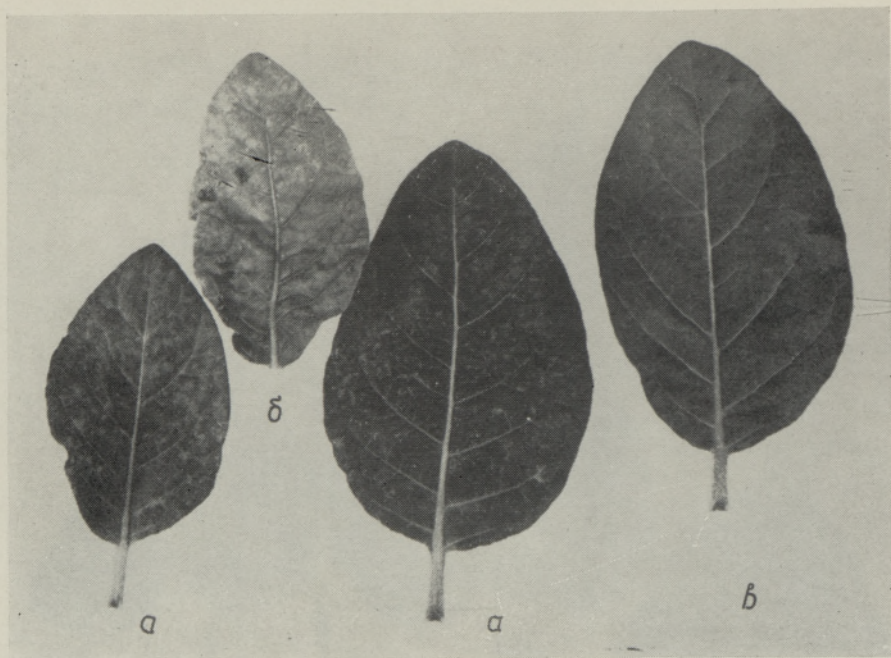


Рис. 10. Листья растения *Nicotiana rustica* L., а — при инфекции формой II, б — формой I, в — здоровый.



Рис. 11. Влияние формы II на вид *N. rustica* L.

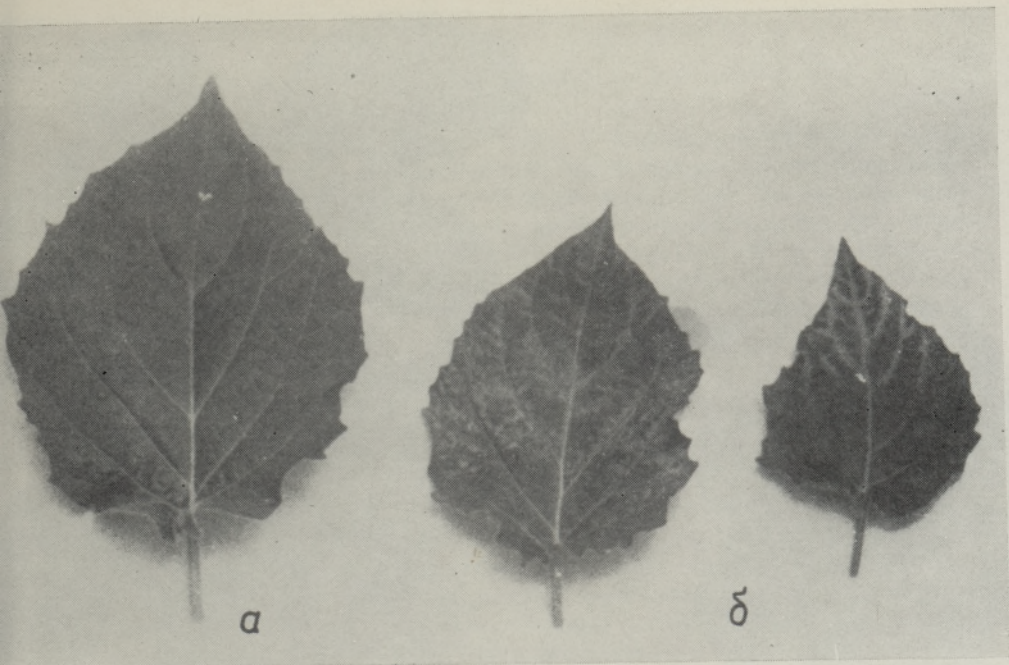


Рис. 12. Листья вида *Physalis floridana* L., а — здоровый, б — при инфекции формой II.



Рис. 13. Растение вида *Physalis floridana* L. при инфекции формой II.

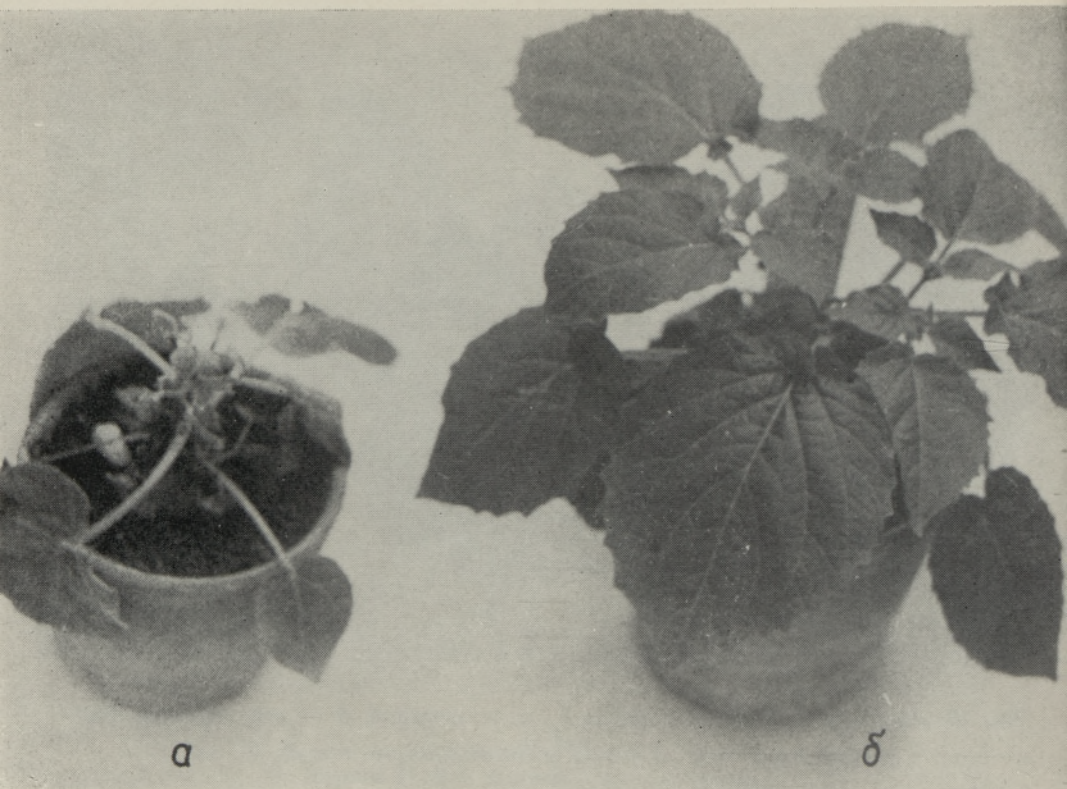


Рис. 14. Растения вида *Physalis floridana* L.: а — при инфекции формой III, б — здоровое.



Рис. 15. Листья растения *Solanum nigrum* L. при инфекции формой II.

Capsicum annuum L. (перец однолетний). У инфицированных формой I растений через 30 дней после инокуляции на верхушечных листьях отмечался хлороз, через 45 — опадение листьев и задержка роста. При инокуляции формой II через 12 дней отмечалась мозаика, слабое скручивание листьев, через 20 — вздутия между жилками (рис. 4) и через 45 — пятнистость плодов. При инокуляции формой III через 27 дней появлялся хлороз между жилками, который на 39 день исчезал. Все вирусные формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Datura inermis L. (дурман бесшипный). На верхушечных листьях растений, инфицированных формой I, через 14 дней после инокуляции отмечалось темно-зеленое окаймление жилок, через 24 дня — темно-зеленые пятна. У инфицированных формой II растений через 21 день после инокуляции отмечалась мозаика. Форма I была изолирована только из верхушечных, а форма II как из инокулированных, так и из верхушечных листьев. К форме III этот вид оказался невосприимчивым.

Datura innoxia Mill. Через 9 дней после заражения формой I на инокулированных листьях появлялись хлоротичные пятна, через 30 — светло-зеленая пятнистость на верхушке. При заражении формой II отмечалась мозаика (рис. 5, б), формой III — посветление жилок. Все вирусные формы были изолированы из верхушечных листьев.

Datura stramonium L. (дурман обыкновенный). Этот вид оказался бессимптомным носителем формы I. При заражении формой II на инокулированных листьях через 10 дней появлялись хлоротичные пятна, на верхушечных листьях через 18 — посветление жилок и через 21 — мозаика. Вирусные формы I и II были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев. К форме III этот вид оказался невосприимчивым.

Datura tatula (L.) Torr. (дурман фиолетовый). Этот вид — бессимптомный носитель формы I и невосприимчив к формам II и III.

Lycopersicon esculentum Mill. (томат 'Невский'). При заражении формой I через 24 дня на верхушечных листьях наблюдались мозаика и вздутия, через 32 — хлоротичные пятна и закручивание краев листьев вниз. При заражении формой II через 20 дней пигментирование, утолщенность верхушечных листьев, через 24 — вздутия (рис. 6). У растений отмечалась задержка роста (рис. 7, а). Заражение растений томата формой III через 24 дня вызывало на верхушечных листьях мозаику, через 30 дней — хлоротичные пятна и через 45 дней — вздутия. Все вирусные формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Lycopersicon esculentum Mill. (томат 'Перемога'). Этот сорт оказался невосприимчивым к форме I и бессимптомным носителем формы III. При заражении формой II через 17 дней после инокуляции на верхушечных листьях появлялись мозаика, утолщенность, а через 20 дней — пигментирование, свертывание листьев. На растениях с месячной инфекцией появлялись темно-зеленые вздутия. Формы II и III были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicandra physaloides Gaertn. (никандра пузыревидная). Через 12 дней после заражения формой I растения принимали вид 'шапки', спустя неделю на верхушечных листьях отмечался хлороз, мелкие некрозы, еще позже мозаика и вздутия (рис. 8, б). После заражения формой II через 12 дней на верхушечных листьях отмечался хлороз (рис. 8, в), спустя 3 дня — утолщенность. Растения принимали также вид 'шапки', которая через некоторое время исчезала. Через 26 дней после заражения на растениях появлялись вздутия. У инфицированных формой III растений

симптомов заболевания, кроме задержки роста, не отмечалось, однако вирус был изолирован как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicotiana glauca Graham. (табак сизый). Этот вид оказался бессимптомным носителем формы I и невосприимчивым к форме III. При заражении формой II через 17 дней на верхушечных листьях отмечалась светло-зеленая пятнистость, которая на 34-й день исчезала. Вирус был изолирован как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicotiana glutinosa L. (табак клейкий). При заражении формой I на 6—8-й день на инокулированных листьях появлялись хлоротичные пятна, а на верхушечных — мозаика (рис. 9, б), по своему характеру подобная той, которую вызывает вирус огуречной мозаики № 1. Заражение формой II на 11-й день вызывало появление хлоротичных пятен на инокулированных листьях и посветление жилок на верхушечных. Через 18 дней после инокуляции на растениях отмечалась мозаика, а через 20 — сильная деформация и узколистность (рис. 9, в). Форма III через 5 дней после инокуляции вызывала посветление жилок на верхушечных листьях (рис. 9, г), на 10-й день — рассеянную мозаику. На 18-й день на растениях появлялась морщинистость. Изолированы все вирусные формы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicotiana langsdorffii Weinm. (табак Лангсдорфа). Форма I на 11-й день после инокуляции вызывала мозаику и вздутия на верхушечных листьях. При заражении формой II признаки заболевания такого же типа появились позже — через 25 дней после инокуляции. Форма III признаков заболевания не вызывала. Все вирусные формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicotiana rustica L. (табак махорка). При заражении формой I на 8-й день после инокуляции на верхушечных листьях появлялось посветление жилок (рис. 10, б), а на 16-й — хлороз. Края листьев становились волнистыми. Заражение формой II на 8-й день вызывало также посветление жилок (рис. 10, а). На 11-й день появлялись светлые некротические точки на инокулированных и верхушечных листьях. На 23-й день на верхушечных листьях отмечалась мозаика (рис. 11). Заражение формой III на 4-й день вызывало мозаику и хлороз на нижней части листовой пластинки верхушечных листьев. На 11-й день на инокулированных листьях появлялись яркие хлоротичные пятна, а на верхушечных симптомы заболевания маскировались. Все вирусные формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicotiana sylvestris Speng. (табак лесной). На растениях этого вида, инокулированных формой I, признаков заболевания не отмечалось. Форма II вызывала посветление жилок на верхушечных листьях на 18-й день после инокуляции и на 30-й — слабую мозаику. При заражении формой III на верхушечных листьях через 8 дней после инокуляции наблюдалось сильное посветление жилок, которое начиналось с основания листа. На 13-й день между жилками появлялась мозаика. Все вирусные формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Nicotiana tabacum L. (табак настоящий 'Самсун'). При заражении формой I на верхушечных листьях через 8 дней после инокуляции наблюдались посветление жилок и мозаика на нижней части листовой пластинки верхушечных листьев. При заражении формой II на верхушечных листьях через 9 дней появлялось посветление жилок, через 14 — посветление пространства между жилками и через 16 — мозаика. При заражении формой III на 15-й день на верхушечных листьях появлялось слабое посветление жилок, которое на 23-й день усиливалось и переходило в окаймление жилок. Вирусные формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Physalis floridana L. (физалис флоридский). Форма I через 8 дней после инокуляции вызывала хлороз на верхней части листовой пластинки верхушечных листьев, на их нижней части небольшие вздутия и через 30 — мозаику на молодых листьях. При заражении формой II через 9 дней на верхушечных листьях появлялись темно-зеленые вздутия, через 17 — светлое окаймление жилок, через 26 — посветление верхней части листовой пластинки и через 43 — мозаика и деформация верхушечных листьев (рис. 12, б, 13). При заражении формой III через 15 дней после инокуляции листья опадали и вскоре растения погибали (рис. 14, а). Все вирусные формы изолировались как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Solanum acaule Bitt. Этот вид оказался бессимптомным носителем (локальная инфекция) форм I и II. При заражении формой III через 19 дней появлялся хлороз на инокулированных листьях, через 30 — эти листья опадали. Через 42 дня на верхушечных листьях отмечалась мозаика. Формы I и II были изолированы из инокулированных, а форма III как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Solanum chacoense Bitt. На заражение формами I и II этот вид не реагировал, а заражение формой III на 8-й день вызывало коричневые некрозы на инокулированных листьях. Опыты проводились в отдельных листьях, помещенных в чашки Петри.

Solanum demissum Lindl. (паслен лежащий). На растениях этого вида, инокулированных формой I, признаков заболевания не отмечалось. При заражении формой II через 12 дней на инокулированных листьях появлялись хлороз и коричневые некротические точки, через 24 дня — пигментирование нижних листьев. При заражении формой III через 23 дня инокулированные листья становились лиловыми. Форма I была изолирована из инокулированных, а формы II и III как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Solanum miniatum Bernh. ex Willd. Этот вид оказался невосприимчивым к форме I и бессимптомным носителем формы III. При заражении формой II на верхушечных листьях через 17 дней появлялась мозаика, через 30 — слабые вздутия и через 38 — хлоротичные пятна на молодых листьях. Вирусные формы II и III были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Solanum nigrum L. (паслен черный). Этот вид с трудом поддавался заражению изучаемыми формами. На растениях, инокулированных формой I, через 12 дней появлялась пятнистая мозаика. Заражение формой II вызывало вздутия на молодых листьях через 17 дней после инокуляции (рис. 15). На более старых растениях наблюдались деформация, мозаика и скручивание верхушечных листьев. Признаков заболевания на растениях, инокулированных формой III, не отмечалось. Все формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Solanum villosum L. (паслен мохнатый). При заражении формой I через 7 дней на инокулированных листьях этого вида появлялись хлоротичные пятна, а на верхушечных — мозаика. Через 3 недели после появления признаки заболевания маскировались. Форма II на 13-й день после инокуляции на верхушечных листьях вызывала посветление жилок, на 16-й день — мозаику и слабую морщинистость. При старении растений появлялись вздутия, верхняя часть листовой пластинки становилась светло-зеленой. После заражения формой III на верхушечных листьях на 13-й день появлялось посветление жилок, на 16-й — рассеянная и на 19-й — пятнистая мозаика. Все формы были изолированы как из инокулированных, так и из верхушечных листьев.

Результаты, полученные при изучении реакций 27 видов растений на заражение изучаемыми формами, показали, что эти формы легко пере-

даются механической инокуляцией соком и заражают растения разных семейств. Восприимчивыми к форме I оказались 13 видов растений из 4 семейств, к форме II — 21 вид из 4 семейств и к форме III — 10 видов из 3 семейств. Системная инфекция наблюдалась при заражении формой I на 12, при заражении формой II — на 17, а при заражении формой III — на 11 видах растений. Локальная инфекция появлялась при заражении формой I на двух, при заражении формой II — на четырех и при заражении формой III — на двух видах растений. Бессимптомная инфекция наблюдалась при заражении формой I на восьми, при заражении формой II — на одном, а при заражении формой III — на шести видах растений.

Кроме выяснения круга поражаемых растений и вызываемых на них симптомов заболевания, определяли и физические свойства изолированных форм: устойчивость к температуре, разведению, выстаиванию в соке при комнатной (20—22°) и пониженной (—5°) температурах, а также к высушиванию тканей листьев. Результаты изучения их приведены в таблице.

Физические свойства вирусных форм, изолированных из *N. glutinosa* L., и сопоставляемых с ними вирусов

Вирусная форма, вирус	ТПР	ТТИ, °С	Вываивание			Размеры вириона, нм	Источник литературы
			в соке при комнатной температуре	в соке при пониженной температуре	в высушенных тканях листа		
I	10 ⁻¹	55	до 4 сут	до 7 сут	2 недели		
II	10 ⁻²	60	до 2 сут	до 7 сут	3 недели		
III	10 ⁻⁴	57	до 8 сут	до 70 сут	4 недели		
ВКПТаб	10 ⁻⁴	65	21 сут			29	Klinkowski, 1977 а
УВК	10 ⁻² —10 ⁻³	55—60	2—3 сут			730	Klinkowski, 1977 а

Примечание: ВКПТаб — вирус кольцевой пятнистости табака, УВК — У-вирус картофеля, ТПР — точка предельного разведения, ТТИ — точка термической инактивации.

Электронномикроскопические исследования сока зараженного табака показали, что из изучаемых форм лишь форма III имеет нитевидные вирионы размером приблизительно 425—638 нм. Изучая свойства инфекционных начал, изолированных из *N. glutinosa* L., мы пришли к выводу, что источником инфекции могли быть лишь семена, так как возможность заражения извне была устранена. По данным литературы известно, что через семена *N. glutinosa* L. передается вирус кольцевой пятнистости табака (Phatak, 1974), имеющий сферическую форму. Однако инфекционные и физические свойства изолированных нами вирусных форм I и II не совпадают со свойствами этого вируса, откуда следует, что изолированные вирусные формы I и II являются новыми, ранее не описанными вирусами, передающимися семенами *N. glutinosa* L. Форма III по инфекционным свойствам и по передаваемости через семена видов *N. tabacum* L. и *N. glutinosa* L. близка группе *Potyvirus*. Передача У-вируса картофеля, являющегося типичным представителем этой группы, через семена вышеуказанных видов нами установлена ранее (Агур, Виллемсон, 1981).

Авторы глубоко благодарны старшему инженеру сектора вирусологии К. Тарасовой за выполненные ею фотографии.

- Агур М. О., Виллемсон С. В. Об индикаторных видах *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* и их роли в передаче семенами некоторых мозаичных вирусов. — В кн.: Тезисы докладов научно-производственной конференции «Защита растений в республиках Прибалтики и Белоруссии». Вильнюс, 1981, ч. II, 3—4.
- Агур М., Виллемсон С. Характеристика вирусных форм, изолированных из индикаторного вида *Nicotiana tabacum* L. I. Инфекционные свойства. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1981, 30, 313—321.
- Агур М., Виллемсон С., Ярвекюльг Л., Тарасова К. Характеристика вирусных форм, изолированных из индикаторного вида *Nicotiana tabacum* L. II. Дополнительные данные о свойствах и первичная идентификация. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1982, 31, 106—118.
- Klinkowski, M. Pflanzliche Virologie. Berlin, 1977, Band 2.
- Phatak, H. C. Seed-borne plant viruses — identification and diagnosis in seed health testing. — Seed Sci. and Technol., 1974, 2, 3—155.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/XI 1982

Sofia VILLEMSON, Milvi AGUR

INDIKAATORLIIGIST NICOTIANA GLUTINOSA L. ISOLEERITUD VIIRUSVORMIDE ISELOOMUSTUS

On uuritud indikaatorliigist *N. glutinosa* L. isoleeritud kolme viirusvormi (I, II ja III) infektsioonilisi ja füüsikalisi omadusi. Artiklis on toodud andmeid 27 taimeliigi (6 sugukonnast) vastuvõtlikkusest uuritud viirusvormide nakkusele ja taimedel avalduvate haigustunnuste kirjeldus. Viirusvormide iseloomustamiseks on määratud nende vastupidavus kuumutamisele (termilise inaktiveerumise täpp), lahjendamisele (lahjenduslõpptäpp), seismisele temperatuuril 20—22 °C (säilimislõpptäpp) ja -5° taimemahlas ning kuivatamisele taimelhetedes. Elektronmikroskoopiline uuring näitas, et vormi III virionid on niitjad. Selgus, et vormide I ja II näol on tegemist uute, varem mittekirjeldatud *N. glutinosa* L. seemnega levivate viirustega. Vorm III on infektsioonilistelt omadustelt ja võimelt üle kanduda *N. glutinosa* seemnega lähedane grupile *Potyvirus*, mille esindajatest kartuli Y-viiruse kohta on seemnetransmissiooni andmed autorite poolt varem saadud.

Sofia VILLEMSON, Milvi AGUR

STUDY ON THE VIRAL FORMS ISOLATED FROM INDICATOR PLANTS OF NICOTIANA GLUTINOSA L.

Investigations were carried out for characterizing the viral forms (I, II and III) isolated from indicator plants of *Nicotiana glutinosa* L.

The paper presents data on the susceptibility/insusceptibility of 27 plant species of 6 genera to infection with isolated viral forms, the symptoms caused by them, some physical properties (thermal inactivation point, dilution end-point, resistance to ageing, particle shape and size). The viral forms I and II are not identical with the tobacco ringspot virus, earlier known as a virus transmitted through the seeds of *N. glutinosa* L. A conclusion may be drawn that they are new seed-borne viruses of that plant species. The host range, symptoms and transmissibility through the seeds of *N. glutinosa* L. indicate that viral form III belongs to the *Potyvirus* group. Data about transmission through seeds of *N. glutinosa* and *N. tabacum* L. of potato Y virus belonging to the *Potyvirus* group have been reported by authors earlier.