

УДК 632.38 : 632.9(0.14)563.1.527.12

Альфред ТИИТС, Мильви АГУР

О КАТЕГОРИЯХ ФИТОВИРУСОЛОГИИ, СВЯЗАННЫХ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

В селекции картофеля, томата, огурца и других культур в настоящее время особенно важным является выведение устойчивых к вирусам сортов. В этом отношении уже достигнуты некоторые успехи. Однако при ознакомлении с выведенными вирусостойчивыми сортами можно обнаружить несоответствие аттестационных данных с фактическими. Довольно часто новый по аттестату «устойчивый» сорт при инокуляции заражается вирусом бессимптомно (напр., сорта томата 'Катя' и 'Карлсон' в отношении вируса мозаики табака). Согласно фитовирусологическим категориям, мы имеем дело с толерантным сортом. По-видимому, такое явление встречается довольно часто. Иногда селекционеры склонны обращать внимание лишь на видимые у растений изменения и принимают отсутствие явных признаков за устойчивость к вирусу (Cooper, Jones, 1983).

Также в сельскохозяйственной литературе понятия устойчивость к вирусу (вирусоустойчивость) и устойчивость к проявлению синдрома (толерантность или нечувствительность) часто принимаются одно за другое. Это может приводить к разногласиям между селекционерами и фитопатологами и дезориентировать сельскохозяйственных работников.

В настоящее время в связи с интенсивной селекционной работой в целях получения устойчивых сортов возникла необходимость в уточнении некоторых терминов фитовирусологии.

Нами предпринята попытка осмыслить терминологию, связанную с ответной реакцией растений на вирусную инфекцию, основываясь на представлении Дж. Купера и А. Джонса (Cooper, Jones 1983). Рассматриваются следующие пары категорий: иммунный — заражающийся, резистентный — восприимчивый, толерантный — чувствительный.

Кроме того затрагиваются вопросы, касающиеся вирусологического анализа материала, использованного в процессе селекции.

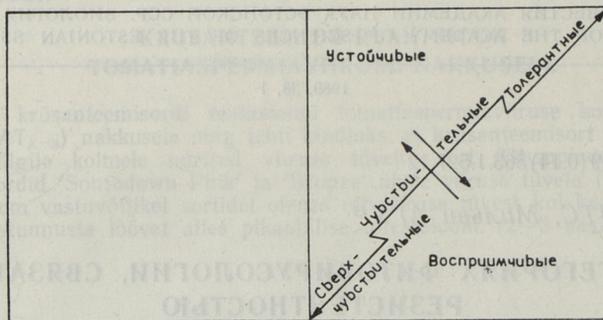
При рассмотрении взаимоотношения растение—вирус исходным пунктом является понятие «заражение», которое либо состоится, либо нет. Соответственно этому растения можно разделить на **заражающиеся** (infectible) и **незаражающиеся/иммунные** (immune) в отношении определенного вируса/вирусов. Большинство культурных растений относится к первым — их защитой занимаются вирусологи, фитопатологи и селекционеры.

Следующую пару категорий характеризует ответная реакция зараженных растений на вирусную инфекцию. Растения, в которых процесс инфекции, репликация вируса и распространение его от места заражения протекают успешно, называют **восприимчивыми** (susceptible), а растения, в которых эти процессы в той или иной мере заторможены — **устойчивыми/резистентными** (resistant). В популяции растений восприимчивость к данному вирусу может выражаться в разных степенях (degree of susceptible): от высокой восприимчивости до высокой устойчивости.

Восприимчивость и резистентность являются противоположными полюсами одного и того же явления (схема). Если говорят, что тот или

Незаражающиеся (иммунные) растения

Заражающиеся растения



Взаимоотношение типов ответных реакций растений на вирусную инфекцию.

иной сорт отличается высокой резистентностью к определенному вирусу, это означает одновременно и то, что сорт слабо восприимчив к данному вирусу.

Некоторые растения одной культуры по реакции на инфекцию определенным вирусом в некоторой мере резистентнее, чем другие. Если это свойство выражено слабо, его возможно усилить (Тийтс, 1984). При этом следует учитывать, что резистентность может быть разного типа к заражению, к репликации и к распространению вируса внутри растения (Köhler, 1947; Tiits, 1982). При сочетании этих типов можно получить сорта с высокой степенью резистентности.

В селекции необходимо учитывать прежде всего устойчивость—восприимчивость генеративной сферы (половых клеток и семян) растений к вирусной инфекции.

Передаваемость вирусов через семена свойственна более чем 90 вирусам и 100 видам растений (Phatak, 1974). Такая передача характерна непо- и иларвирусам и другим группам (Гиббс, Харрисон, 1978). В сеянцах картофеля и табака отмечено проявление вирусов, незарегистрированных в родительских растениях. Это объясняется загрязненностью генома названных видов провирусом и активацией его в сеянцах (Нурмисте и др., 1983).

Так как в большинстве комбинаций вирус—вид растения частота передачи вируса генеративному потомству остается низкой (в пределах нескольких процентов), для селекции можно подобрать такой материнский и отцовский материал, в потомстве которого семена или геном остаются безвирусными (Тийтс, 1986). Без регулярного отбора на отсутствие вируса и на резистентность генома восприимчивость генеративной сферы следующих поколений к вирусной инфекции может повышаться.

В восприимчивых растениях происходит синтез вирусов, который может сопровождаться или проявлением, или отсутствием признаков. Отсюда вытекает третья пара категорий: чувствительность—толерантность.

Чувствительность (sensitivity) является проявлением признаков заболевания растения и выражается в разной степени (degree of sensitivity): от сильной реакции (острые признаки заболевания) до слабой. Степени чувствительности и восприимчивости выражают в шестибалльной системе (Vrčák, Vrčák, 1980).

Следует отметить, что интенсивность признаков заболевания не коррелирует с уровнем концентрации вируса в растениях (Хёдреярв и др., 1968; Агур, 1974).

Признаки заболевания у зараженных вирусом растений проявляются не всегда. В случаях их отсутствия растение называется **нечувствитель-**

ным или **толерантным** (tolerant). Однако отсутствие признаков заболевания (толерантность) не означает устойчивости растения к вирусу, так как вирус в растении репродуцируется. Ценным следует считать сорта, которые устойчивы к вирусу, а не к вирусному заболеванию, т. е. не являются толерантными.

Толерантность растения к определенному вирусу описана примерно у 30 видов культурных растений (Мэтьюз, 1973). В наших опытах из 83 растений-хозяев N-вируса картофеля 18 видов оказались бессимптомными его носителями, из них 16 видов с системной и 2 вида с локальной инфекцией (Agur, 1975). Многие из этих видов оказались представителями сорных растений и их можно считать потенциальными резервуарами этого вируса в природе (Агур, 1978).

В сельскохозяйственной практике принято ценить сорта, не страдающие вирусом, т. е. не реагирующие признаками заболевания, или слабо реагирующие на вирусную инфекцию. Однако вирусологи считают выращивание таких толерантных сортов нежелательным, так как они служат источником инфекции для других растений, их урожайность часто ниже незараженных сортов, они более восприимчивы к грибным патогенам (Hutton, 1951; Holmes, 1965; Мэтьюз, 1973) и, наконец, создают условия для мутации и образования более патогенных штаммов вирусов. Из этого вытекает, что использование в гибридизации толерантных зараженных вирусами растений может внести в культуру новые формы заболевания. Такое явление было зарегистрировано у плодовых культур (Tiits, 1970, 1982). Можно полагать, что генеративная (в том числе и геномная) передача вирусов может развиваться на базе толерантности. Только в некоторых случаях наблюдается связь между толерантностью и резистентностью (Tiits, Vilemson, 1988).

При рассмотрении пары категорий «чувствительность—толерантность» надо остановиться еще на понятиях **сверхчувствительности** и **крайней интолерантности**. В первом случае на растениях появляется лишь местная реакция и вирус локализуется в отмерших тканях — некрозах, системного распространения вируса в этом случае не происходит. При крайней интолерантности зараженные растения полностью/целиком погибают, в результате чего исчезает и источник инфекции. Эти реакции являются основой для так называемой **полевой резистентности** сорта.

В Институте экспериментальной биологии АН ЭССР разработана система вирусолого-генетического анализа семян картофеля для выявления вирусостойчивого исходного материала (Тийтс, 1986). На основе этой работы можно предложить схему проверки селекционного материала на зараженность вирусами и вирусостойчивость.

Успешная селекция на иммунитет предопределяет проведение вирусологического анализа как при выборе исходного материала (родителей), так и при оценке гибридов. Поскольку неизвестно, какие именно биохимические механизмы определяют восприимчивость и вирусостойчивость (Atabekov, 1975), следует проводить как искусственное заражение растений, так и контроль наличия в них инфекционного начала, антигена и вириона.

При выборе исходного материала, 10—15 молодых растений гомозиготной популяции изучаемого сорта искусственно заражают механической инокуляцией определенным вирусом с использованием не менее двух штаммов или изолятов вируса, разных по патогенности.

У инокулированных растений признаки заболевания могут проявляться как на инокулированных, так и на верхушечных листьях. В обоих случаях можно говорить о восприимчивости и чувствительности сорта к данному вирусу. Сверхчувствительность выражается в виде локальных некрозов и вирус из нормальных тканей листа не изолируется.

При отсутствии признаков заболевания зараженность растений проверяют индикаторным методом (обратными пассажами на индикаторные растения), серодиагностически или электронной микроскопией. Обратные пассажи проводят как из инокулированных (через 10—14 дней после инокуляции), так и из верхушечных листьев (через 20—30 дней после инокуляции). В зависимости от того, в каких листьях определяется наличие вируса — в инокулированных или верхушечных, говорят соответственно о локальной (locally) или системной скрытой инфекции (systemically infected symptomless host). Например, носителем системной скрытой инфекции ВТМ являются сорта томата 'Катя' и 'Карлсон'.

По нашим данным, самым чувствительным методом вирусологического анализа можно считать индикаторный метод с использованием системно реагирующих видов, за ним следуют иммуноферментный анализ (ELISA-тест) и индикаторный метод с использованием локально реагирующих видов. Наименее чувствительными являются капельный метод серодиагностики и электронная микроскопия (Агур, 1985).

Выявление отдельных резистентных растений из популяции гетерозиготного материала (сеянцы картофеля, гибридные сеянцы томата, табака и др.) осуществляется вирусологическим анализом на клонах. Часть клонов дважды инокулируют вирусом через 7—10 дней, остальные служат контрольными и используются в дальнейшей селекционной работе.

Инокулированные растения проверяют вышеописанным способом. Для проверки растений картофеля используется комбинированный метод (Агур, 1985), в рамках которого растения анализируются серологически (капельная агглютинация или ИФА) дважды — сначала опытные, а затем индикаторные растения картофеля, инокулированные соком опытных растений, т. е. используют «усилительный эффект» индикаторного растения. Если вирус выявляется не в опытных, а только в индикаторных растениях, можно говорить о резистентности опытных растений к репликации вируса или к распространению его внутри растения.

Самые надежные данные получают посредством прививки опытных и индикаторных растений. Прививка на индикаторные растения может в некотором случае, особенно при резистентности растений к эндогенной вирусной инфекции, сократить время проведения опыта. Так, например, прививки сеянцев картофеля на томат могут активировать провирус (Нурмисте, 1960). Надо отметить, что для определения того, являются ли сеянцы картофеля свободными от геномного вируса или резистентными к вирогению, нужно выращивать сеянцы в течение двух-трех вегетативных поколений (Тийтс, 1986).

При анализе резистентности растений к вирусу обязательно следует учитывать внешние условия, особенно температуру, так как, например, некоторые сорта картофеля при нормальной температуре к X-вирусу картофеля иммунны, а при низкой — сверхчувствительны (Коваленко и др., 1983). (Это называется крайней резистентностью.)

Итак, в процессе селекции необходимо применять специальный вирусологический анализ. В связи с этим желательно, чтобы на каждой селекционной станции была основана вирусологическая лаборатория или организовано сотрудничество с вирусологами других учреждений. Этим была бы создана база для выведения вирусоустойчивых сортов сельскохозяйственных культур и предотвращено наличие несоответствующих сортовых характеристик.

ЛИТЕРАТУРА

Агур М. О динамике относительной концентрации некоторых мозаичных вирусов и интенсивности симптомов заболевания // Изв. АН ЭССР. Биол., 1974, 23, № 4, 233—245.

Агур М. О. Возможные очаги инфекции вируса N картофеля в природе // Тез. докл.

Всесоюз. совещ. «Вирусные болезни растений и меры борьбы с ними». Л., 1978, 151.

- Агур М. О. Сравнение методов диагноза вирусов в растениях картофеля, оздоровленных методом меристемно-тканевой культуры // Тез. докл. региональной научно-практ. конф. по защите растений. Таллин, 1985, 3.
- Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений. М., 1978.
- Коваленко А. Г., Щербатенко И. С., Олещенко Л. Т. О природе крайней устойчивости картофеля к X-вирусу // Tagber. Dt. Akad. Landw.-Wiss. DDR, 1983, N 216(1), 85—99.
- Мэтьюз Р. Вирусы растений. М., 1973.
- Нурмисте Б. О некоторых так называемых эколого-генетических формах вырождения сеянцев картофеля // Тр. Ин-та экспериментальной биологии АН ЭССР. I. Таллин, 1960, 47—68.
- Нурмисте Б. Х., Агур М. О., Тийтс А. А. Новые представления в селекции картофеля на вирусостойчивость // Вест. с.-х. науки, 1983, № 11, 31—38.
- Тийтс А. А. О наследовании вирусостойчивости у картофеля // Тез. докл. VIII Всесоюз. совещ. «Теория и практика использования иммунитета с.-х. культур к вирусным болезням. Вильнюс, 1984, 83—84.
- Тийтс А. А. Вирусолого-генетический анализ в селекции безвирусных сортов картофеля // С.-х. биол., 1986, № 9, 46—50.
- Хёдрейрв У., Олсперт К., Тарасова К. Некоторые данные о так наз. вирусе N картофеля // Изв. АН ЭССР. Биол., 1968, 17, 385—388.
- Агур, М. The host range of the potato virus N // ENSV TA Toim. Biol., 1975, 24, 151—161.
- Atabekov, J. G. Host specificity of plant viruses // Annu. Rev. Phytopathol., 1975, 13, 127—145.
- Brčák, J., Brčák, J. jun. Computer aided evaluation of differences in host reactions between isolates of turnip mosaic virus from *Sisymbrium loeseli* // Biol. Plant., 1980, 22, 366—373.
- Cooper, J. I., Jones, A. T. Responses of plants to viruses: proposals for the use of terms // Phytopathol., 1983, 73, 127—128.
- Holmes, F. O. Genetics of pathogenicity in viruses and of resistance in host plants // Adv. Virus Res., 1965, 11, 130—161.
- Hutton, E. M. Possible genotypes conditioning virus resistance in the potato and tomato // J. Aust. Inst. Agric. Sci., 1951, 17, 132.
- Köhler, E. Das Verhalten der Pflanzen gegen Virusinfektion. Versuch eines Systems der Resistenzerscheinungen unter besonderer Berücksichtigung der Kartoffelzüchtung // Festschrift Appel Biol. Zentralanst. Berlin—Dahlem, 1947.
- Phatak, H. C. Seed-borne plant viruses. Identification and diagnosis in seed health testing // Seed Sci. Technol., 1974, 2, 3—155.
- Tiits, A., Villemson, S. Virus resistance connected with tolerance in tomato plants // Proc. Acad. Sci. ESSR. Biol., 1988, 37, N 3, 245—246.
- Tiits, A. Viiruslik patoloogia ning viljapuude ja marjakultuuride viroosid. Tln., 1970.
- Tiits, A. Aiakultuuride viroosid ja nende tõrje. Tln., 1982.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
16/IX 1987

Alfred TIITS, Milto AGUR

RESISTENTSUSEGA SEOTUD FÜTOVIROLOOGIA KATEGOORIADEST

Sordikirjelduste viirusresistentsuse andmed ei vasta sageli virooloogiliste uuringute andmetele. Vastuolude selgitamiseks on artiklis käsitletud taimede reaktsioone viirusnakkusele ja arutletud vastavate kategooriate suhteid. Kategooriaid on vaadeldud loomulike paaridena: mittenakatu (immuunne)—nakatu, vastupidav (resistentne)—vastuvõtlik, mittetundlik (tolerantne)—tundlik. Samuti antakse ülevaade virooloogilisest analüüsist ja meetoditest, mis võimaldavad välja selgitada, missuguste kategooriate abil sorti ühe või teise viiruse suhtes iseloomustada.

Alfred TIITS, Milto AGUR

ABOUT CATEGORIES OF PHYTOVIROLOGY CONNECTED WITH RESISTANCE

Data about virus resistance while describing varieties do not often correspond to the data of virological research. The authors deal with the reaction of plants to virus infection and examine relations between the corresponding categories (immune—infected, resistant—susceptible, tolerant—sensitive) in order to avoid the incorrect use of virological terms in future. The authors also give a survey of virological analysis that enables us to elucidate virus resistance.