

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА «ФИТОВИРИН» ДЛЯ ОБРАБОТКИ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В УСЛОВИЯХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА

Наталья В. Блажко^{1*}, Султан Х. Вышегуров¹, Юрий И. Хрипко¹,
Валерия А. Рябинина², Андрей В. Седунов², Наталья Ю. Мошкина²

¹ФГБОУ ВО Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, РФ

²ООО Тепличный комбинат «Новосибирский», Новосибирская область, РФ

THE USE OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY ANTIVIRAL DRUG FOR THE TREATMENT OF VEGETABLE CROPS GROWN IN GREENHOUSES

Natalie V. Blazhko¹, Sultan H. Vyshegurov¹, Yuri I.Hripko¹, Ryabinina A. Valeriya¹, Andrey V. Sedunov², Natalia Yu. Moshkina² (Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia; Limited liability Company Greenhouse complex "Novosibirsk", Novosibirsk region, Russia)

Резюме. Были проведены сравнительные исследования экологически чистого противовирусного препарата «Фитовирин» в условиях закрытого грунта. Препарат был разработан с применением биотехнологических методов, не содержал веществ, которые могли бы повлиять на качество производимых овощей. Препарат вносили методом опрыскивания листовых пластин овощных культур. Сравнивали контрольную и опытную группы, в самых благоприятных для развития вирусных инфекций условиях. Действие препарата оценивали по отрастанию верхнего яруса культуры, а также восстановлению, ранее поврежденных участков растений. Эффект полученный от препарата в 3 раза превышал эффект, полученный от аналога.

Abstract. Comparative study of organic antiviral drug in greenhouses. The drug was developed using biotechnological methods, does not contain substances that could affect the quality of vegetables produced. The preparation was introduced by spraying leaf plates of vegetable crops. We compared control and experimental groups in the most favorable conditions for the development of viral infections. The effect of the drug was assessed by the growth of the upper tier of the culture, as well as the restoration of previously damaged areas of plants. The effect obtained from the drug is 3 times higher than the effect obtained from the analog.

Ключевые слова: противовирусный препарат, экологически чистый препарат, защита растений.

Keywords: antiviral medicine, organic preparation, plant protection.

*Блажко Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, Новосибирский Государственный Аграрный Университет, 630039, Новосибирск, ул. Добролюбова 160, РФ, тел. +79137234044, e-mail: 9137234044@mail.ru

Поступила в редакцию: 23 февраля 2018

1. Введение

При возделывании зеленых и теплолюбивых овощных культур потери от фитопатогенов были и остаются основным фактором, оказывающим негативное влияние на урожайность и продуктивность (Nakano et al., 2006).

Как известно, овощные культуры, поражают многочисленные вирусы, виоиды, бактериальные и грибные инфекции. Некоторые из них являются серьезной угрозой при выращивании овощей. В Сибири в последние годы интенсивно изучают вирусы, поражающие овощные культуры (Huseynova *et al.*, 2007). Комплексные исследования с использованием новых современных высокочувствительных методов диагностики вирусов позволяют выявлять ранее не идентифицированные в регионе штаммы. Симптомы вирусного поражения овощных культур часто трудно отличить от поражений, возникающих у растений под воздействием различных неинфекционных стрессовых факторов (засуха, холод, длительное переувлажнение, недостаток питательных веществ и др.) (Lenardon *et al.*, 2001). Точная диагностика фитопатогенных вирусов в настоящее время стала возможна при дополнении классических приемов идентификации современными генно-инженерными и иммунохимическими методами: полимеразная цепная реакция (ПЦР) и иммуноферментный анализ (ИФА) (Zhou *et al.*, 2006). Процесс идентификации вирусов начинается с выявления растений с признаками вирусной инфекции. Дальнейшие лабораторные исследования позволяют идентифицировать вид и штамм вируса. Особое значение при этом уделяют оценке биологических свойств вирусов, которые обуславливают ответную реакцию растения на инфекцию. До настоящего времени вирусологи при идентификации вирусов и их штаммов прежде всего учитывают симптоматику инфекции (Rahoutei *et al.*, 2000).

После качественной диагностики, а соответственно и идентификации вируса, следующим важным этапом является подбор комплекса мер по борьбе с инфекционным заболеванием, или заболеваниями. В частности, при борьбе с бактериальными инфекциями, в силу многих факторов, часто следующей проблемой становится грибковое поражение. На данном этапе борьбы с возникающими инфекциями не существует комплексного препарата по борьбе с последними, который не оказывал бы влияния на физико-химические показатели растений. Еще сложнее подобрать препарат, который бы не оказывал влияния на качество получаемой продукции (Sampol *et al.*, 2003; Zou *et al.*, 2005; Palanisamy *et al.*, 2009). В связи с вышесказанным основной целью наших исследований стала разработка экологически чистого, универсального препарата по борьбе с вирусными инфекциями, не являющегося антагонистом других препаратов по борьбе с инфекционными агентами.

2. Результаты исследований и обсуждения

Разработанный с применением биотехнологических методик препарат «Фитовирин» является экологически чистым, чувствительным ко всем известным вирусам и виоидам. Препарат является органической, белковой биотехнологической конструкцией, обладающей свойствами фермента. Препарат разрезая ДНК и РНК вирусов, полностью расходуется, не оставляя следов в растениях и плодах.

С целью предотвращения распространения вирусной инфекции на испытательном участке ТК «Новосибирский» был заложен первый опыт, который предполагал четырехкратную обработку противовирусным препаратом. До обработки на участке было выявлено 34 растения с признаками вирусной инфекции. На основании визуального осмотра была составлена карта

расположения растений, у которых были выявлены признаки вирусной инфекции. Данную карту дополняли на каждом этапе опыта.

На рисунке представлены растения на этапе начала плодоношения (рис.1), хорошо развиты, корневая система без признаков нарушений, белая, маты заполнены полностью.



Рисунок 1. Листовые пластины растений до начала обработки
Figure 1. The leaves of a plants before processing

На некоторых растениях, при визуальном осмотре были обнаружены изменения листовой пластины в виде хлороза и сморщивания листовых пластин.

Обработку производили методом опрыскивания листовой поверхности растений. Опрыскивание производили с использованием малолитражного (600 л) сельскохозяйственного опрыскивателя Empas. Всего обработано 8352 растения. Расход раствора на 1 ряд составил 40 л, препаратом обработано 15 рядов. В качестве активатора фермента в раствор вносили магний сернокислый.

После первой и последующих обработок была произведена визуальная оценка на наличие признаков инфекции, по результатам были составлены скрининговые карты, отражающие состояние растений относительно проявлений вирусных инфекций.

Так, была составлена карта с растениями, у которых проявления признаков вирусной инфекции были только на верхних ярусах культуры.

Опытные ряды с 25 по 40 обрабатывали противовирусным препаратом. Контрольные ряды с 1 по 24 обрабатывали противовирусным препаратом «Вирон».

Анализируя данные Таблицы 1, можно отметить, что вирусная нагрузка на участках в начале исследований была одинаковой.

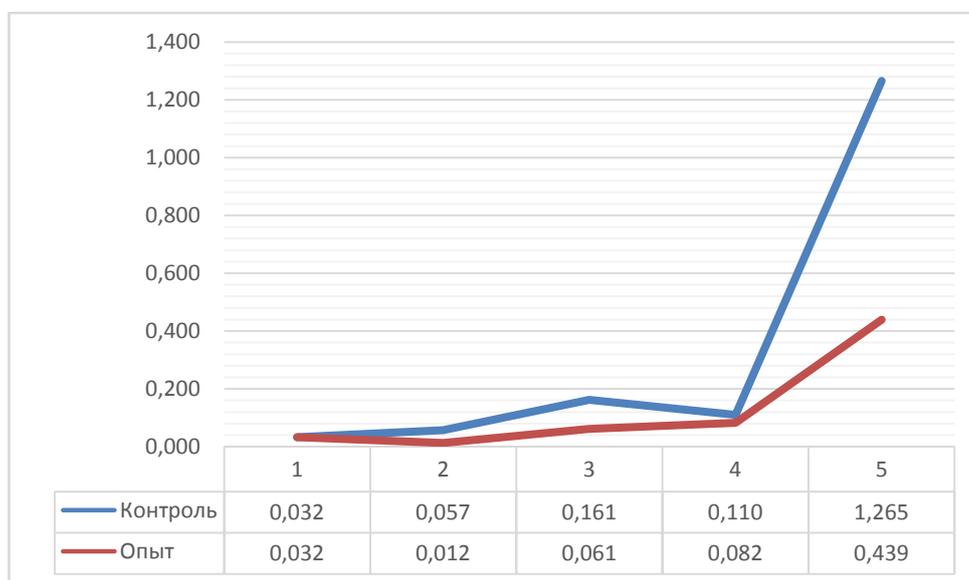
После первой обработки количество растений с проявлением признаков вирусной инфекции в верхнем ярусе растений опытной группы сократилось до 4, что в 7,5 раз ниже чем на контрольном участке. После второй обработки было выявлено в 20 растений, что в 4,5 раза меньше чем на контрольном участке. После третьей обработки ситуация изменилась (Табл.1), что возможно объясняется достижением максимальной напряженности иммунитета растений, за счет стимуляторов в контрольной группе, после чего произошла вспышка инфекции.

Таблица 1. Результаты скрининговых обследований растений на наличие проявлений вирусных инфекций в верхнем ярусе на опытном и контрольном участках**Table 1.** Results of screening surveys of plants for manifestations of viral infections in the upper tier at the experimental and control sites

Наименование участка	Период проведения обследования				
	Количество растений с признаками инфекции до начала опыта, шт	Количество растений с признаками инфекции, после каждой из обработок, шт			
		1	2	3	4
Контрольный, обработан препаратом «Вирон»	17	30	85	58	668
Опытный, обработан препаратом «Фитовирин»	17	4	20	27	145

Для получения статистически значимых результатов и возможности сравнения двух участков разной площади, с разным количеством растений, вирусная нагрузка была рассчитана исходя из количества растений с признаками инфекции на 1 кластер. Под кластером понимаем 1 пролет в одном ряду, то есть условная единица измерения (22 кластера на 1 ряд). Таким образом, в контрольных рядах 528 кластеров, а в опытных 330, соответственно, для получения статистически значимых показателей количество растений, полученных с участков было разделено на количество кластеров.

Данные статистической обработки представлены на Рисунке 2. Расчет произведен по вновь выявленным растениям с признаками вирусной инфекции в верхнем ярусе.

**Рисунок 2.** Вирусная нагрузка на опытном и контрольном участках (верхний ярус)**Figure 1.** The viral load in experimental and control areas (top tier)

Анализируя данные кривой распределения вирусной нагрузки на 1 кластер по периодам обработки можно сделать следующие выводы, в контрольной группе

после второй обработки коэффициент возрастал, а после третьей принял свое минимальное значение, однако тенденции к дальнейшему снижению вирусной нагрузки не наблюдалось, уже после четвертой обработки значение увеличилось в 11,5 раз по сравнению с предыдущим периодом. Как уже отмечали ранее данный факт может быть связан с предельным уровнем иммунной реакции организма растения на фитопатоген. Данный эффект дает кратковременный неустойчивый результат.

Относительно опытной группы наблюдалось снижение коэффициента после первой обработки, а затем постепенное увеличение вирусной нагрузки, при этом показатель не превышал значения 0,5, что в 2,9 раза ниже чем в контрольной группе.

По результатам обследований была составлена таблица выявленных растений с признаками поражения вирусной инфекцией листовых пластин среднего яруса, краткие данные представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Результаты скрининговых обследований растений на наличие проявлений вирусных инфекций в среднем ярусе, с верхушками без наличия признаков инфекции на опытном и контрольном участках

Table 2. Results of screening surveys of plants for manifestations of viral infections in the middle tier, with tops without signs of infection in the experimental and control areas

Наименование участка	Период проведения обследования				
	Количество растений с признаками инфекции до начала опыта, шт	Количество растений с признаками инфекции, после каждой из обработок, шт			
		1	2	3	4
Контрольный	17	8	18	119	475
Опытный	17	37	13	45	158

После статистической обработки данных Таблицы 2 в перерасчете на 1 кластер была составлена следующая диаграмма (Рис.3).

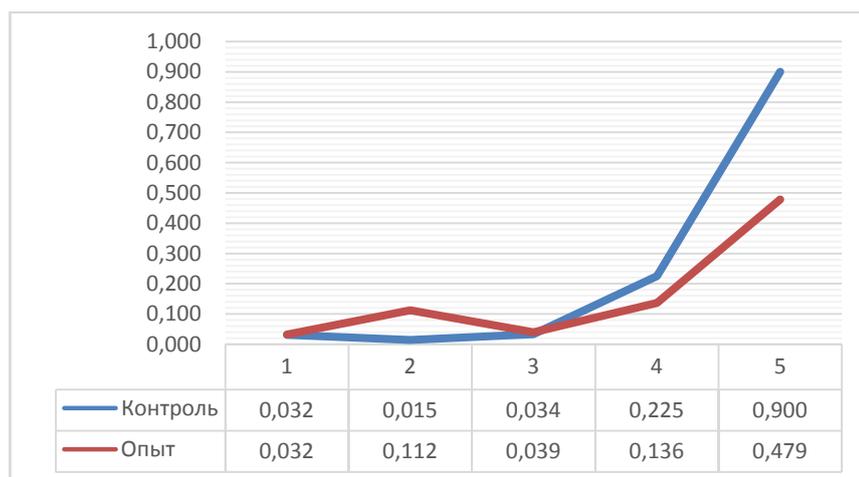


Рисунок 3. Вирусная нагрузка на опытном и контрольном участках (средний ярус)

Figure 3. The viral load in experimental and control areas (middle tier)

На рисунке видны кривые накопления вирусной нагрузки на опытных и контрольных участках. Сравнивая показатели, представленные на Рисунках 2 и 3, следует отметить, после первой обработки в опытной группе значительно снизилось количество растений с поражениями верхнего яруса отмечалось отрастание верхних листьев без признаков инфекции, но в среднем ярусе оставались мозаичные проявления на листовых пластинах. После второй обработки картина в опытной и контрольной группах была практически идентичной, но уже при следующем обследовании увеличилось количество инфицированных растений в 1,7 раза, по сравнению с опытной группой, а после четвертой обработки, при общей тенденции к увеличению коэффициента, соотношение между группами сохранялось.

В таблице 3 представленные обобщенные данные по выявленным растениям с признаками вирусной инфекции в верхнем и среднем ярусах, статистически обработанные данные представлены на диаграмме (Рис 4).

Таблица 3. Результаты скрининговых обследований растений на наличие проявлений вирусных инфекций на опытном и контрольном участках (общее)

Table 3. Results of screening surveys of plants for manifestations of viral infections at the experimental and control sites (total)

Наименование участка	Период проведения обследования				
	Количество растений с признаками инфекции до начала опыта, шт.	Количество растений с признаками инфекции, после каждой из обработок, шт.			
		1	2	3	4
Контрольный	17	38	103	177	1143
Опытный	27	41	33	72	303

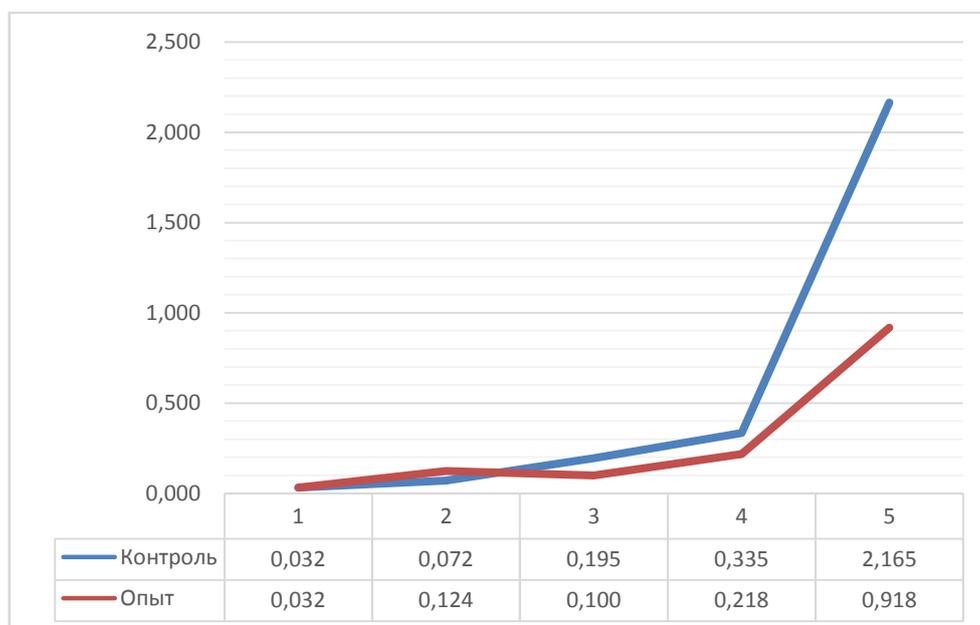


Рисунок 4. Вирусная нагрузка на опытном и контрольном участках (суммарная)

Figure 4. The viral load in experimental and control areas (total)

Анализируя графики, следует отметить постепенное накопление вирусной нагрузки в контрольной группе до 4 обработки, а после нее на фоне истощения иммунной системы произошло резкое увеличение показателя в 6,5 раз. В опытной группе картина несколько отличалась от таковой в контроле, так, до второй обработки включительно общее количество инфицированных растений снижалось, затем, после третьей увеличилось в 2 раза, а затем к следующему периоду учета еще в 4 раза. Такое резкое увеличение накопления инфицированных растений вероятно объяснимо изменением микроклимата в комплексе с повышением температуры и количества солнечных дней, что является одним из факторов катализирующим процесс репликации вирусов.

3. Заключение

По мере увеличения температуры окружающей среды резко возрастало количество растений с признаками вирусной инфекции. Препарат «Вирон» отличался быстрым и временным снижением вирусной нагрузки на контрольном участке, однако, в дальнейшем его противовирусное действие также резко снижалось. Противовирусный препарат «Фитовирин» в 2,8 раза (относительно контрольной группы) снизил количество растений с признаками инфекции и предотвратил дальнейшее распространение вирусной инфекции, то есть обладал устойчивым противовирусным действием. Кроме того, «Фитовирин» оказывал терапевтический эффект в 1,8 раза выше по сравнению с контрольной группой, о чем свидетельствовало снижение численности растений с признаками инфекции в среднем ярусе. Следует обратить внимание, на тот факт, что данные растения ранее были с признаками наличия вирусной инфекции, и под действием препарата, и снижении циркуляции вирионов в растении, мы наблюдали отрастания верхнего яруса растений без признаков инфекции.

Противовирусный препарат «Фитовирин» в 2,4 раза (относительно контрольной группы) эффективнее борется с появлением признаков вирусной инфекции.

Учитывая все вышеперечисленные преимущества, данный препарат имеет ряд преимуществ по сравнению с аналогами, кроме того не ограничивается количество обработок «Фитовирином». Целесообразно применение данного «Фитовирина» как в качестве профилактического, так и в качестве терапевтического противовирусного препарата.

Литература

- Huseynova, I.M., Suleymanov, S.Y., Aliyev, J.A. (2007). Structural-functional state of thylakoid membranes of wheat genotypes under water stress. *Biochim. Biophys. Acta*, 1767(6), 869-875.
- Lenardon, S.L., Giolitti, F., Leyn, A. et al. (2001). Effect of sunflower chlorotic mottle virus infection on sunflower yield parameters, *HELIA*, 24, 55–66.
- Nakano, R., Ishida, H., Makino, A., & Mae, T. (2006). In vivo fragmentation of the large subunit of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase by reactive oxygen species in an intact leaf of cucumber under chilling-light conditions. *Plant and cell physiology*, 47(2), 270-276.

- Palanisamy, P., Michael, P.I., Krishnaswamy, M. (2009). Physiological response of yellow vein mosaic virus-infected bhendi [*Abelmoschus esculentus*] leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74, 129-133.
- Radwan, D.E.M., Fayez, K.A., Mahmoud, S.Y., Lu, G. (2010). Modifications of antioxidant activity and protein composition of bean leaf due to Bean yellow mosaic virus infection and salicylic acid treatments, *Acta Physiologia Plantarum*, 32, 891-904.
- Rahoutei, J., García-Luque, I., Barón, M. (2000) Inhibition of photosynthesis by viral infection: effect on PSII structure and function, *Physiologia Plantarum*, 110, 286-292.
- Sampol, B., Bota, J., Riera, D., Medrano, H. et al. (2003). Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines. *New Phytologist*, 160, 403–412.
- Zhou, Y.H., Yu, J.Q., Mao, W.H. et al. (2006). Genotypic variation on rubisco expression, photosynthetic electron flow and antioxidant metabolism in the chloroplasts of chill-exposed cucumber plants. *Plant and Cell Physiology*, 47, 192–199.
- Zou, J., Rodriguez-Zas, S., Aldea, M. et al. (2005). Expression profiling soybean response to *Pseudomonas syringae* reveals new defense-related genes and rapid HR-specific down regulation of photosynthesis, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18, 1161-1174.