

Дальневосточный федеральный университет  
Казахский национальный исследовательский технический университет им. К.И. Сатпаева  
Международная академия наук экологии и безопасности жизнедеятельности  
Администрация Приморского края  
Дальневосточное отделение Российской академии наук  
Международная организация сотрудничества по экологической безопасности (МОСЭБ)  
Тихоокеанская академия наук экологии и безопасности жизнедеятельности (ТАНЭБ)  
Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет

# Приморские зори - 2017

## МЕЖДУНАРОДНЫЕ НАУЧНЫЕ ЧТЕНИЯ

20–22 апреля 2017 года

### **Сборник научных трудов**

*Под общей редакцией президента ТАНЭБ,  
доктора технических наук, профессора А.И. Агошкова*

Владивосток  
Дальневосточный федеральный университет  
2017

© ФГАОУ ВО «ДВФУ», 2017  
ISBN 978-5-7444-4010-7

УДК 082.2

ББК 94.3

*Редакционная коллегия:*

В.П. Лушпей (отв. редактор), г. Владивосток

О.Н. Русак, г. Санкт-Петербург

Ю.И. Трофимцев, г. Якутск

Р.А. Цзян Минцзюнь, г. Пекин, КНР

К.М. Касенов, г. Алматы, Казахстан

С.А. Голобоков, г. Владивосток

Н.В. Земляная, г. Владивосток

П.Ф. Кику, г. Владивосток

И.Н. Ким, г. Владивосток

А.С. Короткова, г. Владивосток

Приморские зори – 2017 [Электронный ресурс] : междунар. науч. чтения, 20–22 апреля 2017 года : сб. науч. трудов / под общ. ред. А.И. Агошкова ; [отв. ред. В.П. Лушпей]. – Электрон. дан. – Владивосток : Дальневост. федерал. ун-т, 2015. – 1 CD ROM. – Систем. требов.: процессор с частотой 1,3 ГГц (Intel, AMD) ; оперативная память 256 МБ, свободное место на винчестере 335 МБ ; Windows (XP; Vista; 7 и т.п.). – Загл. с экрана. – ISBN 978-5-7444-4010-7.

В сборнике научных трудов представлены материалы, в которых изложены результаты научно-исследовательских работ ученых, специалистов и общественных деятелей, молодежного звена ТАНЭБ, учеников школ, студентов и аспирантов вузов Дальнего Востока.

Рассмотрен широкий спектр вопросов в области современных наукоемких технологий и охраны окружающей среды, рационального природопользования, проблемы охраны труда, промышленной и пожарной безопасности, сохранения жизни и здоровья человека в процессе трудовой деятельности и при чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера, особенности влияния региональных факторов среды на здоровье и продукты питания человека.

*Текстовое электронное издание*

Минимальные системные требования:

процессор с частотой 1,3 ГГц (Intel, AMD) ; оперативная память 256 МБ, свободное место на винчестере 335 МБ ; Windows (XP; Vista; 7 и т.п.)

© ФГАОУ ВО «ДВФУ», 2017

Козловская З.Н., к.б.н., Плешакова Т.И., Щелканов М.Ю., д.б.н.  
Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты  
Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

## НОВЫЕ ФИТОВИРУСЫ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

Приводятся результаты лабораторных исследований семи образцов растений с вирусоподобными симптомами, отобранных в процессе мониторинга. Идентифицированы четыре новых изолята, которые были отнесены к разным представителям рода *Nepovirus*. Один изолят определен как новый некротический штамм вируса мозаики горошка однопарного (род *Bromovirus*), другой был идентичен карловирусу, вызывающему некротическую мозаику вики ложночиновой, также впервые на Дальнем Востоке был обнаружен вирус огуречной мозаики на злаковых культурах.

The work contains laboratory survey results of seven plant species with virus-like symptoms selected in the process of monitoring. There are identified four new isolates referred to various representatives of *Nepovirus* species. One isolate is defined as a new necrotic strain of *Vicia unijuga* A. Br. mosaic virus (*Bromovirus* species), the other was identical to carlovirus triggering necrotic mosaic of *Vicia pseudorobus* Fisch. et Mey. Besides, for the first time in the Far East, the cucumber mosaic virus was identified in cereals.

Во всем мире описано большое количество фитопатогенных вирусов, вредоносных для большинства сельскохозяйственных культур. Очень важным является тот факт, что кроме прямого ущерба продуктивности растений, они снижают устойчивость и к неблагоприятным условиям существования. Даже латентное вирусоносительство при стрессовой ситуации может проявляться серьёзным заболеванием. Многие вирусы достаточно быстро проникают в природные растительные сообщества и образуют там постоянные очаги инфекции.

На Дальнем Востоке России нами, с целью выявления новых штаммов и изолятов фитовирусов и их идентификации, регулярно проводится мониторинг фитосанитарного состояния сельскохозяйственных посевов и природных растительных сообществ в фермерских хозяйствах, возделывающих большой ассортимент культур, и использующих посевной и посадочный материал, ввезенный из других регионов и импортированный из-за рубежа. С этой же целью регулярно обследуются питомники хозяйств и организаций, занимающихся селекцией, семеноводством и реализацией своей продукции.

В результате мониторинга нами были отобраны образцы растений с вирусоподобными симптомами на сельскохозяйственных культурах (баклажан, перец, пажитник, кукуруза), а так же дикорастущих сорных растениях (коммелина, горошек однопарный). Основной задачей этой работы являлась идентификация возбудителей заболеваний и изучение способов и путей их распространения и разработка мер профилактики.

### Материалы и методы

Материалом для исследований послужили образцы больных растений баклажана, кукурузы, томата, горошка однопарного, привезенных из Партизанского района Приморского края, а также, горошка однопарного из Чугуевского района, перца и коммелины из Надеждинского района, кукурузы взятой при обследовании смешанных посевов фермерского хозяйства Яковлевского района и пажитника, обнаруженного в коллекции ДВОС ВНИИР.

Для определения круга растений хозяев осуществляли механическую передачу традиционным методом. Препараты для электронной микроскопии готовили методом погружения [6]. Спектры поглощения ультрафиолета снимали на спектрофотометре СФ-26 в диапазоне длин волн 230-280нм. Концентрацию рассчитывали по величине поглощения излучения при длине волны 260нм, с использованием известных коэффициентов для изучаемых вирусов. Чистоту вирусных препаратов определяли методом электрофореза в полиакриламидном геле [10]. Молекулярную массу определяли по Веберу и Осборну [12]. Получение очищенных вирусных препаратов проводили по методикам, разработанным для каждого рода вирусов [9,11]. Для выявления антигенных взаимоотношений применяли реакцию двойной диффузии в геле (РДД) [3] и непрямой метод иммуноферментного анализа (ИФА) [1] с использованием ранее полученных антисывороток к вирусам характерным для групп.

### Результаты и обсуждения

Соком больного растения баклажана, привезенного из Партизанского района, с симптомами задержки роста и сильной деформации листовых пластин инокулировали 12 видов растений из 4 семейств. В результате была выявлена совместная инфекция из двух вирусов, один из которых по биологическим и физико-химическим свойствам идентифицирован, предположительно, как *Nepovirus*. Для дальнейшей работы вирус был отделен с помощью корневой передачи, характерной для этой группы.

Размер его изометрических частиц в полученных очищенных препаратах (28-30нм), молекулярная масса основных белков 55,2кД – основной и 12,5 кД – минорный, установленное серологическое родство с представителем группы *Nepovirus* подтвердили наши предположения.

Для выявления экспериментального круга растений-хозяев изолята из перца инокулировали 34 вида растений из 6 семейств. Инфекцию удалось передать на 15 видов, больше всего семейства паслёновых (7 видов), затем амарантовые и бобовые (по 3 вида) и маревые (2 вида). Наилучшим тест-растением для исследуемого вируса оказался дурман вонючий *Datura stramonium L.* Электронной микроскопией в очищенных препаратах вируса было показано наличие изометрических частиц с диаметром  $30 \pm 3$  нм.

Электрофорез в ПАГ показал наличие, в полученных препаратах, два вида белка с молекулярной массой 55кД – основной и 12,6 кД – минорный, что характерно для представителей рода *Nepovirus*. Принадлежность к неповирусам была подтверждена и физико-химическими свойствами: точка термической инактивации (ТТИ) исследуемого изолята в соке дурмана составила 75-80°C; период сохранения инфекционности *in vitro* (ПСИ) при температуре 25°C – 3 сут.; предельное разведение сока (ПРС), при котором сохранялась инфекционность, составило  $10^{-3}$ - $10^{-4}$ .

В коллекционном питомнике Дальневосточной станции ВНИИР на пажитнике *Trigonella foenum-graecum L.*, интродуцированном из Индии, было обнаружено около 60% растений с симптомами кольцевой пятнистости, деформации и некроза жилок. Всхожесть семян пажитника, собранных с больных растений была очень низкой. Заболевание легко передавалось на ряд индикаторных растений. Наилучшие температурные условия для проявления симптомов – 22-24°C, при более высоких температурах симптомы заболевания исчезали. Были изучены физико-химические свойства вирионов. ТТИ исследуемого изолята вируса в соке составила 55°C, ПСИ при температуре 25°C – 4-5 сут., ПРС при котором сохранялась инфекционность –  $10^{-3}$ - $10^{-4}$ .

Электроннограммы препарата из сока больных растений бобов показали наличие изометрических вирионов диаметром  $29 \pm 2$  нм. Методом электрофореза в полиакриламидном

геле показано присутствие в препаратах очищенного вируса пяти полипептидов с молекулярными массами 54,5 кД, 36 кД, 26 кД, 16,6 кД, 13 кД.

Полученные результаты позволяют предположить, что изучаемый вирус близок к вирусу кольцевой пятнистости табака (ВКПТ) из рода *Nepovirus*, широко распространенного в регионах с умеренным климатом.

В результате электронно-микроскопических исследований в соке больных растений кукурузы с симптомами кустистой карликовости из Яковлевского района, были обнаружены три вида частиц: палочковидные, изометрические и нитевидные частицы. Размеры вирусных частиц соответствовали родам *Hordeivirus*, *Cucumovirus* и *Potyvirus*.

Методом механической инокуляции на тест растения удалось передать изометрический вирус растения сем. *Cucurbitaceae* Juss. Электронно-микроскопический анализ, в соке зараженных растений выявил присутствие изометрических частиц диаметром 28 нм. Метод электрофореза в полиакриламидном геле показал наличие одного белка оболочки вириона с молекулярной массой 24 кД. Полученные результаты позволили определить этот изолят, как вирус огуречной мозаики (ВОМ), что было подтверждено результатами постановки РДД и ИФА с использованием специфической антисыворотки к ВОМ.

Заболевание, обнаруженное на сорном растении *Commelina communis* L. в Надеждинском районе с симптомами полосатости и мозаики, легко передалось на индикаторы 20 видов растений из 5 семейств. ТТИ вируса в соке махорки превышала 60°C. Сохранение инфекционности *in vitro* в соке махорки – 24 часа. В полученных очищенных вирусных препаратах были выявлены изометрические частицы диаметром 30±2 нм. Электрофорезом в ПААГ показано наличие двух полипептидов с молекулярной массой 54,8 кД - основной и 12,4 кД - минорный.

По характерным симптомам кольцевой пятнистости на растениях индикаторах, изометрической форме вирионов и их размерам, электрофоретическим исследованиям полипептидов вирус, вызывающий мозаику на коммелине обыкновенной, был идентифицирован как представитель рода *Nepovirus*.

В соке растения горошка однопарного с вирусоподобными симптомами задержки роста и ярко-желтой мозаикой на измельченных листьях, привезенного из Партизанского района, электронно-микроскопическим методом были обнаружены изометрические частицы 26 нм в диаметре. Механически вирус передавался на 14 видов растений из 4 семейств. ТТИ исследуемого изолята вируса в соке, составила 65-70°C на *Ch. murale*, ПСИ при температуре 22°C – 3 суток. На электрофореграммах в ПААГ очищенных вирусных препаратов выявлено наличие одного полипептида с ММ 22 кД. Методом РДД в агаре было установлено антигенное родство с представителями рода *Bromovirus*.

Растение горошка однопарного с мозаичными симптомами и деформацией листьев, взятое из обнаруженного очага заболевания в Чугуевском районе Приморского края, послужило в качестве источника другого вируса. Вирус хорошо передавался механической инокуляцией на 14 видов растений из 5 семейств, используемых в качестве индикаторов. В основном это растения сем. бобовых. Температура термической инактивации на *Faba bona* и *Ch. quinoa* составила 60-70°C. Инфекционность вируса при комнатной температуре сохранялась в течение 1-2 суток.

Электрофорез в ПААГ выделенных препаратов показал наличие в составе вирионов одного типа белка с молекулярной массой 35,7 кД. По результатам РДД установлено антигенное родство с вирусами, относящимися к группе карлавирусов.

Ранее, на Дальнем Востоке на основании симптоматологического анализа и серологического тестирования было установлено присутствие неповирусов на территории Приморского края на ягодниках: кольцевой пятнистости томатов – на малине и смородине; кольцевой пятнистости малины – на смородине и малине; мозаики резухи – на смородине [4, 8]. В результате мониторинга, в последние годы, было идентифицировано четыре новых изолята на овощных культурах и дикорастущих растениях, которые были отнесены к роду *Nepovirus*. Биологические, физико-химические и иммунохимические исследования позволяют предположить, что они относятся к разным представителям этого рода.

На растениях горошка однопарного в разные годы на территории Дальнего Востока было обнаружено несколько изолятов вируса мозаики горошка однопарного (ВМГО) [2] относящегося к роду *Bromovirus*. Изолят из растения горошка однопарного, обнаруженного нами в Партизанском районе, идентифицирован как новый некротический штамм ВМГО.

Изолят из растения горошка однопарного, выявленного в Чугуевском районе, по некоторым характеристикам был идентичен карлавирусу, обнаруженному ранее на вике ложночиновой [7].

Самым распространенным на Дальнем Востоке является вирус огуречной мозаики (род *Cucumovirus*). Он поражает овощные, декоративные, плодово-ягодные, садовые и дикорастущие растения [5]. Нами впервые на Дальнем Востоке был обнаружен изолят ВОМ, поражающий злаковые культуры.

Изученные новые изоляты, относящиеся к таким родам как *Bromo* –, *Cucumo*- и *Carlovi*-*gus* легко передаются как механически, так и многочисленными насекомыми-переносчиками. Кроме энтомофильных возбудителей заболеваний, существуют вирусы, имеющие специфических переносчиков – свободно живущих нематод, паразитирующих на корнях растений. К ним относится род *Nepovirus*, представители которого легко передаются и семенами.

Фитовирусы, имеющие большой спектр распространения и поражающие широкий круг растений, создают на многолетних и однолетних растениях постоянно действующие очаги инфекции, которые наносят существенный ущерб агро- и биоценозам. Поэтому возникает необходимость проведения профилактических мер при отборе посадочного материала. Поскольку неповирусы распространяются нематодами, которые не наносят существенного ущерба урожаю, борьба с переносчиками обычно не ведется и эти вирусы очень легко проникают в агроценозы, поражая широкий круг растений, и обратно в природные растительные сообщества. Поэтому борьба должна вестись путем элиминирования больных растений из ценозов. Важным аспектом борьбы с распространением вирусов являются агротехнические мероприятия, соблюдение пространственной изоляции, применение ранних сроков посевов, борьба с сорняками переносчиками.

#### Библиографический список

1. Буракова О.В. Иммуноферментный анализ / Практикум по иммунологии. 2001, М. Изд-во МГУ. С. 69-82.
2. Волков Ю.Г., Дьяконов К.П., Костин В.Д. Вирус мозаики вики однопарной. 1 Биологические свойства / Биолого-почвенный институт. Владивосток, 1989б. 24с. Деп. В ВИНТИ 22.02. 1989. № 1166- В89.
3. Воробьева Н.В. Иммунодиффузия в геле и иммуноэлектрофорез / Практикум по иммунологии. – М.: Изд-во МГУ. 2001 С. 42-63.
4. Гордейчук О.Г. Вирус кольцевой пятнистости томатов на некоторых представителях родов *Ribes* и *Rubus* в Приморском крае / Вирусологические исследования на Дальнем

Востоке. Труды Биолого-почвенного института. Владивосток. ДВНЦ АН СССР. 1975. Том 28. С. 131.

5. Крылов А.В. Вирусы растений Дальнего Востока / М.: Наука, 1992. С.73-83.

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. N 5. С. 633-634.

7. Толкач В.Ф., Коротаева С.Г., Волков Ю.Г., Какарека Н.Н., Гнутова Р.В. Некоторые характеристики карлавируса, вызывающего некротическую мозаику вики ложночичковой (*Vicia pseudorobus* Fisch. et mey.) в Хабаровском крае / Фитовирусы Дальнего Востока. Труды Биолого- почвенного института. Владивосток ДВО РАН, 1993. С. 96-103.

8. Gordejchuk O.G., Krylov A.V., Krylova N.V., Samonina I.N. Virus diseases of berry crops in the Soviet Far East. 1. Identification of the some mechanically transmitted viruses detected in Primorye territory//Zbl. Bakteriол. Parazitenk. Infectionskarankh und Hug. Abt.2. 1977. Bd.132, N 8.S. 686-707.

9. Ladipo J.L. and de Zoeten G.A. Influence of host and seasonal variation on the components of tobacco ring spot virus// Phytopathology. 1971. V .62. P.195-201.

10. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature . 1970. V. 227. P.680-685.

11. Lane L.S. Bromoviruses // Handbook of Plant Virus Infections; Comparative Diagnosis (E.Kurstak, ed.). – Elsevier North-Holland, Amsterdam. 1981.

12. Weber K., Osborn M. The reability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrilamide gel electrophoresis // J. Biol. Chem. 1969. V. 224. P. 4406-4410.

*Меркулова Г.А.<sup>1</sup>, к.м.н., Пегова Е.В.<sup>1</sup>, к.б.н., Шенарев А.А.<sup>2</sup>, д.м.н.*

<sup>1</sup>Научно-исследовательский центр «Арктика» ДВО РАН, г. Магадан, Россия

<sup>2</sup>Тихоокеанский медицинский университет, г. Владивосток, Россия

## **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕРОПРИЯТИЙ, НАПРАВЛЕННЫХ НА СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ РАБОТАЮЩИХ, С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМПЬЮТЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

Обосновываются принципы разработки технологии интегральной оценки состояния здоровья с применением диагностического комплекса ДгКТД-01 для организации мониторинга здоровья детей. Таким образом, использованный системный подход На основании полученных нами данных показана профессиональная обусловленность нарушений репродуктивного здоровья и зависимость его от стажа профессиональной деятельности медицинских работников. О повышенном профессиональном риске для здоровья медицинских работников и доказанной профессиональной обусловленности нарушений репродуктивного здоровья и зависимости Уделено внимание репродуктивному здоровью медицинских работников. Выделено два основных круга заболеваний (кишечная и внекишечная патология), которые могут быть предупреждены с помощью донозологического подхода, позволяющему устранять функциональные отклонения. Раннее восстановление регулярности циркадианного ритма