

<https://doi.org/10.61308/PPZI6845>

Pepper vein mottling virus (PVMV) – нов вирус по тютюна в България

Йонко Йончев¹, Йовко Дюлгерски², Ганчо Пасев³, Весела Радева-Иванова³

Селскостопанска академия, ¹Институт по овощарство – Пловдив, ²Институт по тютюна и тютюневите изделия – Марково, ³Институт по зеленчукови култури – Марица, България

E-mail: ionkogi@abv.bg

Резюме

Целта на настоящето изследване е да се проследи появата и развитието на TEV и PVMV, нови вируси за тютюна в България, при трите сортови групи тютюн Бърлей, Виржиния и Басми, отглеждани в централната част на Южна България. През периода 2017 – 2019 г. са извършени имунологични проучвания за доказване на нови за тютюна в България вируси от група потивирус PVMV и TEV. За доказване на вирусите е използван кит за серологична идентификация на Френската фирма SEDIAG S.A.S. За установяване на TEV, е извършен TAS-ELISA, а за установяване на PVMV - DAS-ELISA - с разреждане на IgG е 1:100. При сортови групи тютюн Виржиния и Басми е доказан серологично потивируса PVMV, като вирусът е идентифициран за първи път при тютюна в България. PVMV е установен в моно инфекция и в комплекс с TEV при изолати от сортова група Виржиния и Басми. TEV и PVMV не са установени в изолатите от сортова група Бърлей. При тютюна, двата потивируса не могат да бъдат разграничени само на база проявени симптоми. Точната диагноза е възможна чрез прилагането на ELISA или PCR тест.

Ключови думи: сортова група Бърлей; сортова група Виржиния; сортова група Басми; TEV; PVMV

Pepper vein mottling virus (PVMV) – a new virus for tobacco in Bulgaria

Yonko Yonchev¹, Yovko Dyulgerski², Gancho Pasev³, Vesela Radeva-Ivanova³

Agricultural Academy, ¹Fruit growing Institute - Plovdiv, ²Tobacco and Tobacco Products Institute (TTPI), ³Institute of Vegetable Crops - Maritsa, Bulgaria

E-mail: ionkogi@abv.bg

Citation

Yonchev, Y., Dyulgerski, Yo., Pasev, G., & Radeva-Ivanova, V. (2023). Pepper vein mottling virus (PVMV) – a new virus for tobacco in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 60(5), 70-75 (Bg).

Abstract

The aim of the present study is to trace the emergence and development of TEV and PVMV, new viruses for tobacco in Bulgaria, in the three varietal groups of Burley, Virginia and Basmi tobacco grown in the central part of southern Bulgaria. During the period 2017-2019, immunological studies were carried out to prove new viruses for tobacco in Bulgaria from the group of potyviruses PVMV and TEV. A kit for serological identification of the French company SEDIAG S.A.S. was used to prove the viruses. To detect TEV, TAS-ELISA was performed with IgG dilution of 1:100 and DAS-ELISA - to detect PVMV with IgG dilution of 1:100. In Virginia and Basmi tobacco variety groups, the potyvirus PVMV was serologically proven, and the virus was identified for the first time in tobacco in Bulgaria. PVMV was demonstrated in monoinfection and in complex with TEV in isolates from the cultivar group Virginia and Basmi. TEV and PVMV were not detected in isolates from the Burley cultivar group. In tobacco, the two potyviruses cannot be distinguished based on symptoms alone. Accurate diagnosis is possible by applying an ELISA or PCR test.

Key words: Burley cultivar group; Virginia cultivar group; Basmi cultivar group; TEV; PVMV

ВЪВЕДЕНИЕ

Растителните вируси са едни от най-важните патогени, причинители на болести, с важно икономическо значение при много от основните земеделски култури, в това число и тютюна, като редуцират добива и качеството (Maiss, 2004). Тютюнът е естествен гостоприемник за повече от 20 вируса, между които най-важни икономически и нанасящи значителни щети на тютюнопроизводството са TMV (Tobacco mosaic virus) род Tobamovirus; TSWV (Tomato spotted wilt virus) род Tospovirus; CMV (Cucumber mosaic virus) род Cucumovirus; AMV (Alfalfa mosaic virus) род Alfamovirus; TRSV (Tobacco ringspot virus) род Nepovirus; PVY (Potato virus Y); TEV (Tobacco etch virus) и TVMV (Tobacco vein mottling virus) род Potyvirus, (Dukić, et al., 2006; Dimitrov & Bozukov, 2004).

Вирусите от род Potyvirus са най-често срещаните вируси по тютюна и причиняват сериозни икономически загуби при тази култура. Основен вектор, отговорен за разпространението на вирусите от тази група, са листните въшки от вида *Myzus persicae* Sulz (Lukas, 1975; Gooding, 1985; Kovachevski et al., 1999). Трите потивируса PVY, TEV и TVMV често се разглеждат от някои автори като вирусен комплекс (Greenwell, 2011; Dietrich & Maiss, 2003; Yonchev, 2015). В литературата те са описани като вируси, имащи важно икономическо значение за тютюнопроизводството в САЩ, особено в региони като Тенеси, Кентъки, Виржиния и Северна Каролина (Pirone, 1989).

Pepper veinal mottle virus (PVMV), група potyvirus за първи път е открит при заразни чушки (*Capsicum annuum* и *C. frutescens*) и *Petunia hybrida* в източния регион на Гана (Brunt & Kenten, 1971; Gorsane, et al., 2001; Uzest, et al., 2007). По късно, PVMV е изолиран в Тунис, Етиопия, Близкия изток, Афганистан и Индия (Lal & Singh, 1988; Nagaraju & Reddy, 1980; Hiskias et al., 1999). Естествени гостоприемници на PVMV са пипер (*Capsicum* spp.), домати (*Lycopersicon esculentum* Mill.), тютюн (*Nicotiana tabacum* L.), патладжан (*Solanum melongena* L.), черно куче

грозде (*S. nigrum* L.) видове татул (*Datura metel* L., *D. stramonium* L.), *Physalis angulata* L., *P. micrantha* Link, и *Telfairia occidentalis* Hook fil (Alegbejo, 1999; Atiri, 1986; Givord, 1982).

Nicotiana tabacum “Xanthi” и “Samsun” реагират на PVMV с циклични хлоротични локални лезии, които понякога биват последвани от некротични пръстенни и пръчици с диаметър 2-3 mm. *Nicotiana megalosiphon* реагира с некротични или хлоротични локални лезии, но е възможно след четири до пет дни върху инокулираните листа да се появят пръстеновидни напътнявания (Brunt et al., 1978; Olawale, et al., 2015).

Гравировката е болест по тютюна, предизвикана от TEV. Вирусът е съобщен за първи път през 1928 г. в САЩ – щата Кентъки от Valleau & Johnson (1928). След това е установена и в Канада, Венецуела, Никарагуа, Индия и Япония. Mitskovsky (1984) смята, че гравировката не се среща по тютюна, отглеждан в страните на Балканския полуостров. В България, Kovachevski et al. (1999) съобщават, че болестта е установена по домати и татул. През 2004 г. Dimitrov & Bozukov (2004) на база симптоматична диагностика съобщават за наличие на TEV по тютюна в България. През 2010 г. вирусът на гравировката – TEV е диагностициран серологично, чрез имуноензимен тест ELISA при сортова група Виржиния в района на гр. Пловдив (Yonchev et al., 2010). Вирусът се среща по тютюна основно в смесени инфекции с други вируси от род потивирус, но най-често се доказва в смесена инфекция с PVY (Yonchev, 2015).

Целта на настоящето изследване е да се проследи появата и развитието на TEV и PVMV, нови вируси за тютюна в България, при трите сортови групи тютюн, отглеждани в централната част на Южна България.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През периода 2017 – 2019 г. са извършени имунологични проучвания за доказване на два нови за тютюна в България вируси от група потивирус PVMV и TEV. По литературни данни

при тютюна са разпространени три потивируса TVMV, TEV и PVY, които се разглеждат като комплекс и предизвикват сходни симптоми. (Shew & Lucas, 1991, Kennedy, 2011; Uzest, 2007). Базирайки се на литературата, в периода на проучването от трите сортови групи тютюн, отглеждани на опитните полета на ИТТИ е събран свеж материал – листа със симптоми на болестта сипаница. Изследваните проби (изолати) са взети от 70 тютюневи растения и съответно през 2017 година са тествани 19 тютюневи растения: 13 от сортова група Виржиния, 4 от сортова група Бърлей и 2 от сортова група Басми. През 2018 година се работи с изолати от 25 тютюневи растения – 20 от сортова група Виржиния и 5 от сортова група Басми. През 2019 година са взети проби от 26 тютюневи растения – 10 от сортова група Виржиния, 10 от сортова група Бърлей и 6 от сортова група Басми. Изборът на изолати е на база симптоматично определяне, като визуалното обследване на площите е осъществено по маршрутният метод.

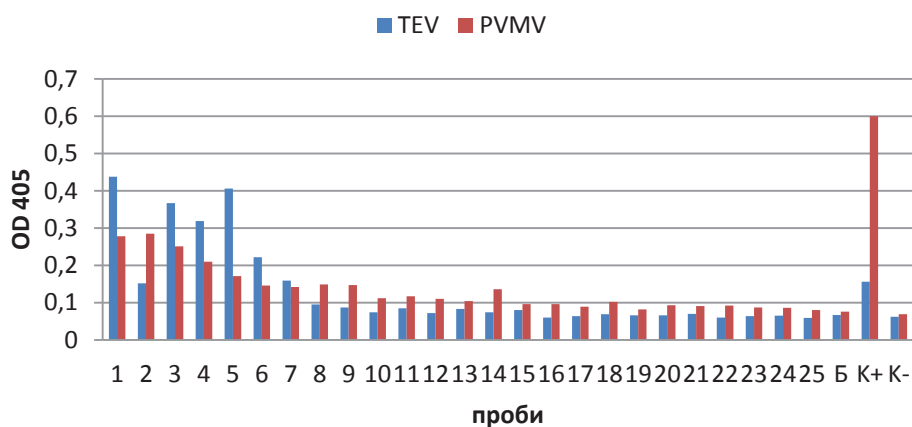
За доказване на двата потивируса е използван серологичния метод на ензимно свързване – ELISA. Работено е с кит за серологична идентификация на френската фирма SEDIAG S.A.S. За установяване на TEV, е извършена TAS-ELISA, а за установяване на PVMV – DAS-ELISA, като

разреждането на IgG и при двата вируса е 1:100. При извършването на анализите е спазван протокол на фирмата производител на ELISA китовете. Отчитането на оптичната плътност (OD) при ELISA теста става с помощта на спектрофотометър Biotek Elx 808 при дължина на вълната 405 nm, 60 минути след накапване на субстрата. За позитивни се приемат сигнали със стойности на OD минимум два пъти по-високи от тези на отрицателната контрола.

Серологичното доказване на вирусите е осъществено в лабораторията по имунитет на вирусни болести на ИЗК – Марица, град Пловдив.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите, получени от извършеното през периода на изследването серологично диагностициране на PVMV и TEV са представени на Графики 1, 2 и 3. От графиките се вижда, че от тестваните през 2018 г. проби, PVMV е доказан самостоятелно при два изолата (10%) от сортова група Басми (Снимка 1). TEV не е установен в самостоятелна инфекция. Двата потивируса са диагностицирани в комплекс при 100% от тестваните ориенталски образци и при два (10%) от анализиранияте виржински изолата (Снимка 2).



*изолати: 1-5 – сортова група Басми
 *isolates: 1-5 – Basmi cultivar group
 *изолати 6-25 – сортова група Виржиния
 *isolates 6-25 – cultivar group Virginia

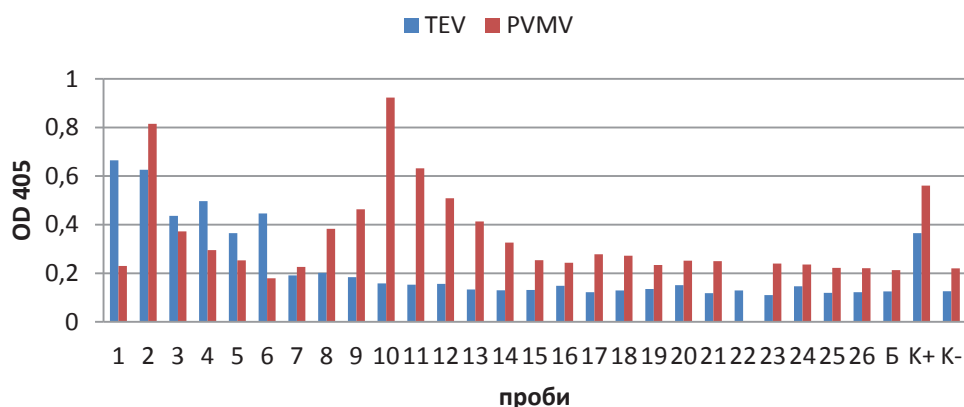
Фигура 1. Идентифициране на TEV и PVMV в растения от генотипове тютюн от сортови групи Виржиния и Басми през 2018 г.

Figure 1. Identification of TEV and PVMV in plants of tobacco genotypes from cultivar groups Virginia and Basmi in 2018

От тестваните през 2019 г. проби, при 3 изолата (33%) от сортова група Басми и в две проби (20%) от сортова група Виржиния, се доказва PVMV в моно инфекция. При 5 виржински изолата (50%) TEV беше доказан в самостоятелна инфекция. Вирусният комплекс от TEV и PVMV, се уста-

нови в един изолат (1%) от сортова група Виржиния. При тютюн Бърлей не се доказва вирусна инфекция. През 2017 година двата потивируса не са установени в тестваните проби.

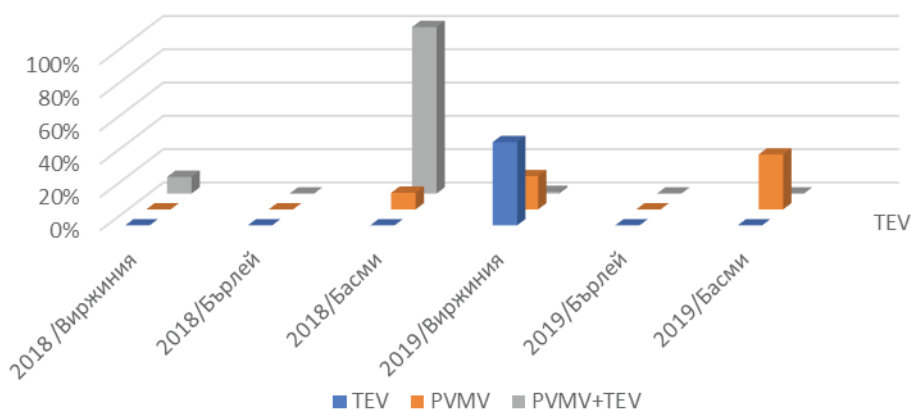
Получените резултати показват, че при конкретните екологични условия на отглеждане



*изолати: 1-10 – сортова група Виржиния
 *isolates: 1-10 – cultivar group Virginia
 *изолати 11-16 – сортова група Басми
 *isolates 11-16 – Basmi cultivar group
 *изолати 17-26 – сортова група Бърлей
 *isolates 17-26 – cultivar group Burley

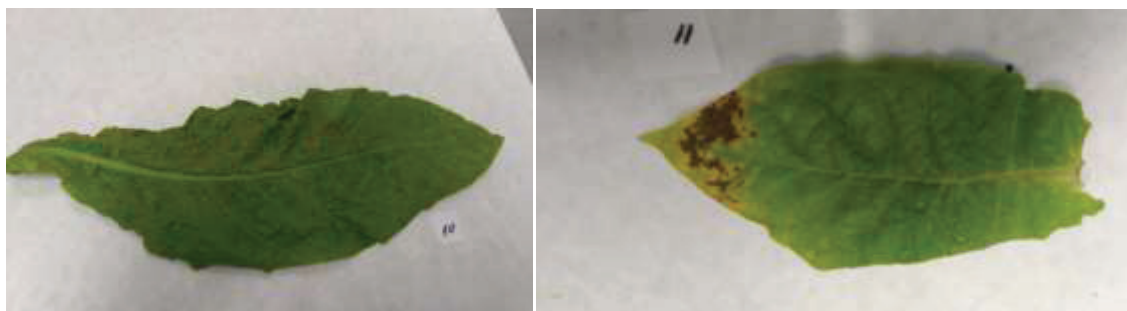
Фигура 2. Идентифициране на TEV и PVMV в растения от генотипове тютюн от сортови групи Бърлей, Виржиния и Басми през 2019 г.

Figure 2. Identification of TEV and PVMV in plants of tobacco genotypes of cultivar groups Burleigh, Virginia and Basmi in 2019.



Фигура 3. Процентното разпределение на единични и смесени инфекции на двата потивируса по сортови групи тютюн през 2018 и 2019 г.

Figure 3. The percentage distribution of single and mixed infections of the two potyviruses by varietal groups of tobacco in 2018 and 2019



Снимка 1. PVMV в моноинфекция при тютюн от сортава група Виржиния и Басми
Photo 1. PVMV in monoinfection in Virginia and Basmi variety group tobacco



Снимка 2. PVMV в комплекс с TEV при тютюн от сортава група Виржиния
Photo 2. PVMV in complex with TEV in Virginia variety group tobacco

на тютюна и наличния инфекциозен фон, двата потивируса не могат да бъдат разграничени само на база проявени симптоми. Аналогични заключения правят и редица други автори (Gooding & Lapp, 1980; Kennedy, 2011; Chi et al., 2011; Gooding & Sun, 1972). Точна идентификация е възможна чрез прилагането на ELISA или PCR тестове. (Kennedy, 2011).

ИЗВОДИ

За първи път при тютюна в България, е доказан серологично потивируса PVMV.

Двата вируса TEV и PVMV се срещат в самостоятелна инфекция и в комплекс при сортови групи тютюн Виржиния и Басми.

През 2018 г. двата потивируса са установени в комплекс при 100% от тестваните образци от сортава група Басми.

През 2019 г. вирусния комплекс от TEV и PVMV са установени в един изолат (1%) от сортава група Виржиния.

Двата вируса TEV и PVMV не са установени в изолатите от сортава група Бърлей.

При тютюна, двата потивируса не могат да бъдат разграничени само на база проявени симптоми. Точна идентификация е възможна чрез прилагането на ELISA или PCR тест.

ЛИТЕРАТУРА

- Alegbejo, M. D.** (1999). *Physalis micrantha* L., a weed host of pepper veinal mottle virus. *J. Veg. Crop Prod.* 5, pp. 59-66 (Bg).
- Atiri, G. I.** (1986). A disease of fluted pumpkin (*Telfaira occidentalis* Hook. F.) caused by a yellow vein-clearing strain of pepper veinal mottle virus in Nigeria. *J. Plant Prot. Tropics* 3, pp. 105-110.
- Brunt A. A., & Kenten, R. H.** (1971) Pepper veinal mottle virus. A new member of the potato virus Y group from

- peppers (*Capsicum annum* L. and *C. frutescens* L.) in Ghana. *Ann Appl Biol.* 1971; 69, pp. 235–43.
- Brunt, A. A., Kenten, R. H., & Phillips, S.** (1978). Symptomatically distinct strains of pepper vein mottle virus from four West Africa solanaceous crops. *Ann. Appl. Biol.* 88, pp. 115-119.
- Chi, E., Hunter, M., & Swanson, R.** (2011). Engineered Plant Cysteine Proteases and Their Uses. *US Patent Application* Publication No. WO2011130533 A1.
- Dietrich, C., & Maiss, E.** (2003). Fluorescent labelling reveals spatial separation of potyvirus populations in mixed infected *Nicotiana benthamiana* plants. *J. General Virology*, 84, pp. 2871-2876.
- Dimitrov, A., & Bozukov, H.** (2004). Viral diseases of tobacco in Bulgaria and the fight against them. *Bulgarian Tobacco*, 5: 11-18 (Bg).
- Dukich, N., Bulajich, A., Berenji, J., Dekich, I., Duduk, B., & Krstich, B.** (2006). Presence and Distribution of Tobacco Viruses in Serbia. *Pesticides. Phytomed.* (Belgrade), 21, pp. 205-214.
- Givord, L.** (1982). Pepper vein mottle virus in the weed *Physalis angulate* in the Ivory Coast. *Plant Dis.* 66, pp. 1081-1082.
- Gooding, G. Jr., & Sun, M.** (1972). A newly recognized virus disease of burley tobacco in North Carolina. *Phytopathology*, 62, p. 803.
- Gooding, G. Jr. & Lapp, N.** (1980). Distribution, incidence and strains of potato virus Y in North Carolina. *Tobacco Science*, 24, pp. 89-92.
- Gooding, G. J.** (1985). Relationship between strains of potato virus Y and breeding for resistance, cross-protection and interference. *Tobacco Science*, 29, pp. 99-104.
- Gorsane, F., Fakhfakh, H., Tourneur, C., Marrakchi, M., & Makni, M.** (2001). Nucleotide sequence comparison of the 3' terminal region of the genome of pepper vein mottle virus isolates from Tunisia and Ivory Coast. *Arch. Virol.* 146, pp. 611-618.
- Greenwell, R.** (2011). *Selecting of Burley tobacco variety.*
- Hiskias, Y., Lesemann, D.-E., & Vetten, H. J.** (1999). Occurrence, distribution and relative importance of viruses infecting hot pepper and tomato in the major growing areas of Ethiopia. *J. Phytopathol.* 147, pp. 5-11.
- Kennedy, B.** (2011). CORESTA integrated pest management taskforce, 31-34 pp. http://www.uky.edu/Ag/Agronomy/IPM_Taskforce/assets/jan2011_update/Final%20Report%20Jan-18-2011.pdf
- Kovachevski, I., Markov, M., Yankulova, M., Trifonov, D., Stoyanov, D., & Kacharmazov, V.** (1999) *Viral and virus-like diseases of cultivated plants* (Bg).
- Lal, SB, & Singh, S.** (1988). Identification of some virus diseases of vegetable crops in Afghanistan. *Plant Prot Bull* (Faridabad), 36(2), 83-89.
- Lukas, G.** (1975). Diseases of tobacco. *Biological Consulting Associates, North Carolina*, pp. 493-494.
- Maiss, E.** (2004). Recombination and spatial separation of potyviruses in transgenic plants and in mixed infections, *The 8th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*, Montpellier, France, 26-30, pp. 39-41.
- Mitskovsky, J.** (1984). *Tougnotic Diseases*. Skopje, pp. 223-229.
- Nagaraju, R., & Reddy, H. R.** (1980). Occurrence and distribution of bell pepper viruses around Bangalore. *Current research*, University of Agricultural Sciences, Bangalore: 10(9/10), 155, 6.
- Olawale, A., Olusegun Samuel, B., Sunday, A., Solomon O., & Lava Kumar, P.** (2015). Surveys of virus diseases on pepper (*Capsicum* spp.) in South-west Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 14(48), pp. 3198-3205, 2 December, 2015 DOI: 10.5897/AJB2015.14803, ISSN 1684-5315.
- Pirone, T.** (1989). Comparison of tobacco vein mottling and pepper vein mottle viruses, *Plant Disease*, 73, pp. 336-339.
- Shew, D. & Lucas, G.** (1991). *Compendium of Tobacco Diseases*. APS Press.
- Uzest, M., Gargani, D., Drucker, M., Hubrard, E., Garzo, E., Candres, T., Fereres, A. & Blanc, S.** (2007). A protein key to plant virus transmission at the tip of the insect vector stylet. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104, pp. 17959-64.
- Valleau, W., & Johnson, E.** (1928). Some virus diseases of tobacco in Kentucky. *Phytopathology*, 18, pp. 132-133.
- Yonchev, Y., Bozukov, H., Stoimenova, E., & Pasev, G.** (2010), Tobacco ETCH virus - tev on tobacco in Bulgaria. *Tobacco*, 60, pp. 33-36.
- Yonchev, Y.** (2015). Study of the spread of some viral diseases and resistance to them in large-leaf tobacco in southern Bulgaria. *Thesis* (Bg).