

УДК 578.1

Дем'яненко Ф. П., Будзанівська І. Г., Поліщук В. П.

## ОЦІНКА ЙМОВІРНОСТІ КОІНФІКУВАННЯ ВІРУСАМИ РОСЛИН

У статті наведено відомості про розповсюдженість 15 найшкідливіших вірусів на території України, які збирали протягом чотирьох років. Спираючись на дані жатстатистики, проаналізовано деякі залежності між складовими ценозів. Показано підходи до обрахунку ймовірності сумісного інфікування рослин вірусами штрихуватої мозаїки ячменю (ВІПМЯ), вірусу жовтої карликовості ячменю (ВЖКЯ) та вірусу смугастої мозаїки пшениці (ВСПП). Зроблено висновки щодо особливостей циркуляції вірусів та її кореляцій з характеристиками середовища. Показано можливі шляхи прогнозування та попередження епіфітотій.

### Вступ

Шість регіонів України, обраних за різним ступенем антропогенного навантаження, кліматичними умовами, типами ценозів та ін., досліджували протягом чотирьох років двічі на рік. Зразки ґрунту, культурних рослин та бур'янів відбирали в одних і тих самих точках і перевіряли на наявність антигенів 15 найшкідливіших вірусів. Для виявлення антигенів використовували імуноферментний аналіз (ІФА). Отримані результати було зібрано у спеціально створеній базі даних.

Розроблено підходи до аналізу взаємозв'язків між компонентами ценозів. Отримані результати потверджують наявність кореляційної присутності деяких вірусів рослин. Побудовано моделі циркуляції вірусів у ценозах та зроблено висновки щодо засобів попередження епіфітотій без застосування методів хімічного захисту рослин.

### Матеріали та методи

Всім зразкам було проведено ІФА не менше, ніж у трьох повторностях з використанням позитивних та негативних контролів. Наявність антигенів у зразку визначали, використовуючи Т-критерій Ст'юдента за умов перевищення значень екстинкції досліджуваних зразків порівняно з усіма контролями на рівні  $P = 95\%$ . Далі, до даних, накопичених у базі даних, де кожний зразок, окрім загальних характеристик типу: час відбору, тип зразка (ґрунт, культурна рослина, бур'ян), місце відбору, тип ценозу (дикий, с.-г.) та ін., додавались результати ІФА. Тобто кожний зразок набував ознак наявності 15 вірусних антигенів у форматі *так/ні*. Дані в такому вигляді при подальшому аналізі можуть бути легко скомбіновані за різними ознаками, такими як регіон, поле, тип ценозу, ґрунт, час відбору, вірусний антиген та ін.

Наступним етапом була перевірка гіпотези, що певні властивості зразків, наприклад, одночасна присутність певних вірусних антигенів, корелюють між собою. Для перевірки цієї гіпотези відбирали великий масив даних, що виглядають як двовимірний масив: (наявність двох ознак) \* (п-зразків). Обраховували ймовірності появи двох ознак одночасно в одному зразку. Для обрахунку ймовірностей було розроблено і застосовано такий підхід. Розташуємо вихідні дані у два лінійних одновимірних масиви довжиною  $n$ -комірок, де кожна комірка відповідає одному тестованому на певну властивість зразку. Тоді, ймовірність одночасної появи пари подій можна розрахувати за системою рівнянь (1). Розрахувавши ймовірності випадкової появи пари подій для  $m = 1, 2, 3$  можна зробити висновок про ймовірність випадковості розподілу, отриманого в експерименті.

$$P_{k_1, k_2}^{(n)}(m) = \begin{cases} \frac{C_{k_1}^m \cdot C_{n-k_1}^{k_2-m}}{C_n^{k_2}}, & \text{коли } \max(0; k_1 + k_2 - n) \leq m \leq \min(k_1, k_2), \\ 0, & \text{коли } m < \max(0; k_1 + k_2 - n) \text{ or } \\ & m > \min(k_1, k_2), \end{cases} \quad (1)$$

де  $n$  — довжина масиву;  $k^1$  — кількість подій першого типу;  $k^2$  — кількість подій другого типу;  $m$  — кількість одночасної появи подій.

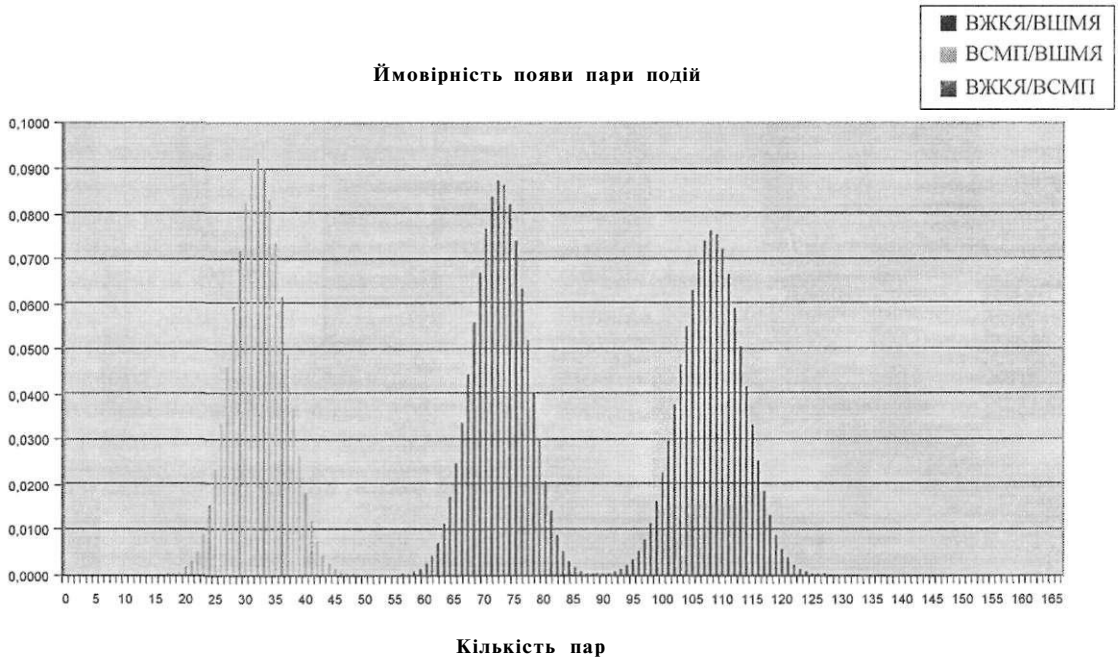
При обробці результатів ІФА також використовували метод *незважених парних середніх (unweighted pair-group method using arithmetic averages, UPGMA)*. Вихідними даними, що обраховували UPGMA, був розподіл вірусних антигенів серед усієї маси зразків (квадратна матриця).

**Результати та їх обговорення**

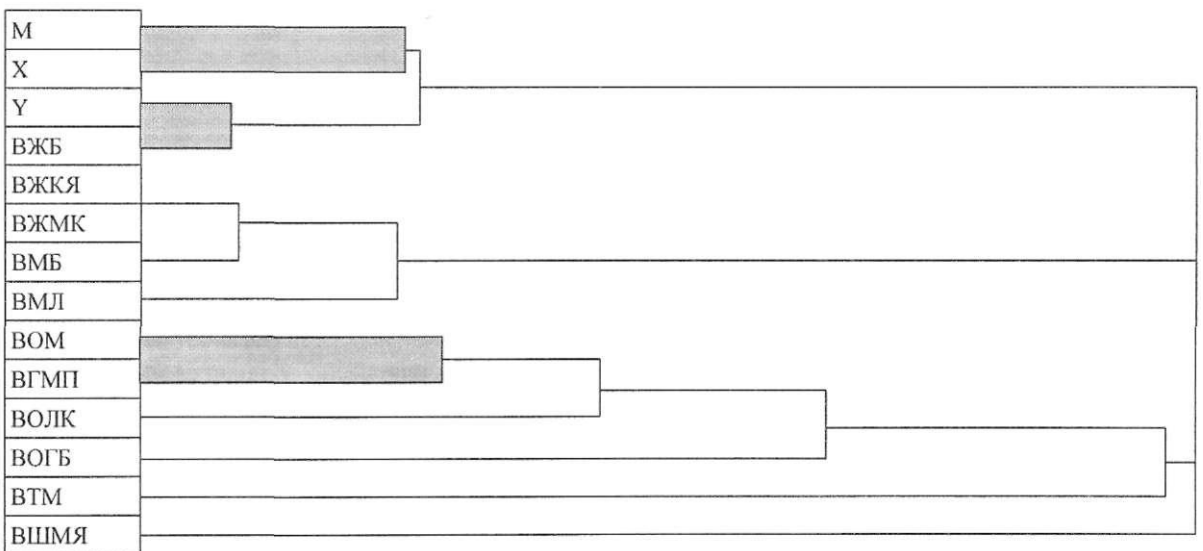
Отримані дані дозволяють проаналізувати кореляційні зв'язки між будь-якими дослідженими складовими агроценозу. Відмічено, що деякі пари вірусних антигенів присутні або відсутні одночасно в переважній більшості зразків. Виникло питання, чи може бути такий розподіл випадковим, або,

інакше кажучи, яка ймовірність ураження рослини обома вірусами за умов ураження одним з них?

Отже, було відібрано дані щодо наявності антигенів вірусів у шести регіонах (Волинський, Київський, Вінницький, Кримський, Харківський та Одеський) і за формулою (1) розраховано ймовірності сумісної інфекції для вірусу штрихуватої мо-



**Рис. 1.** Розподіл ймовірностей одночасної появи m-пар подій. На осі ординат — ймовірність у частках одиниці, абсцис — кількість пар (збіг появи подій). Наведено розподіли ймовірностей сумісної появи трьох вірусних антигенів при попарному комбінуванні: штрихуватої мозаїки ячменю (ВШМЯ), вірусу жовтої карликовості ячменю (ВЖКЯ) та вірусу смугастої мозаїки пшениці (ВСМП)



**Рис. 2.** Дендрограма (за UPGMA) найшкідливіших вірусів сільськогосподарських культур. Оцінювали частоту одночасної присутності вірусних антигенів у зразках, тобто чим ближче розташовані віруси на дендрограмі, тим частіше їх детектували одночасно, що також свідчить про подібність шляхів циркуляції, кола хазяїв, стратегії резервації у ценозі

**Таблиця 1.** РОЗРАХОВАНІ ЙМОВІРНІСТІ СУМІСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ДЛЯ ЗАДАНОЇ КІЛЬКОСТІ ПАР (ОДНОЧАСНА ПРИСУТНІСТЬ ВІРУСНИХ АНТИГЕНІВ У ЗРАЗКУ) – МАКСИМУМ ЙМОВІРНІСТІ ПРИ ВИПАДКОВОМУ РОЗПОДІЛІ ТА ЙМОВІРНІСТЬ, ЩО СПОСТЕРІГАЛАСЯ У ДОСЛІДІ (ПОЯСНЕННЯ ПОЗНАЧЕНЬ ДИВ. ДЛЯ ФОРМУЛИ (1))

ВЖКЯ	ВШМЯ	N	603	$P_{max}$	$P_{real}$
		$K_1$ -ВЖКЯ	393	7,61%	1,15E-03%
		$K_2$ -ВШМЯ	166	Кількість пар	Кількість пар
		M	86	108	86
ВШМЯ	ВСМП	N	605	$P_{max}$	$P_{real}$
		$K_1$ -ВШМЯ	110	9,22%	2,87E-33%
		$K_2$ -ВСМП	177	Кількість пар	Кількість пар
		M	88	32	88
ВСМП	ВЖКЯ	N	592	$P_{max}$	$P_{real}$
		$K_1$ -ВСМП	112	8,70%	6,68%
		$K_2$ -ВЖКЯ	382	Кількість пар	Кількість пар
		M	69	72	69

**Таблиця 2.** КОЛО ХАЗЯЇВ ТА ШЛЯХИ ПЕРЕДАЧІ ВІРУСІВ В С М П, В Ж К Я, В Ш М Я (БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ)

Вірус	ВЖКЯ	ВСМП	ВШМЯ
Переносники та шляхи передачі			
Вектор	Комахи (попелиці)	Кліщ	—
Механічно	—	+	+
Насіння	—	+ (незначна кількість)	+ (90–100%)
Шилок	—	—	+
Родини, що уражуються			
Chenopodiaceae	—	—	(5/5)
Gramineae	(30/30)	(19/24)	(35/35)
Solanaceae	—	—	(1/1)

зайки ячменю (ВШМЯ), вірусу жовтої карликово-сті ячменю (ВЖКЯ) та вірусу смугастої мозаїки пшениці (ВСМП) в попарній комбінації. Чисельні результати обрахунків наведено у табл. 1.

Так, для пари ВШМЯ/ВСМП, у нашому випадку, ймовірність випадкової появи 88 пар приблизно дорівнює  $2,87 \times 10^{-33}$  %, тоді як максимум ймовірності є поява 32 пар подій -- - 9,22%. Таким чином, наведені дані свідчать, що одночасне ураження вірусами ВСМП та ВШМЯ має високий ступінь ймовірності для досліджених ценозів. Ситуація, що спостерігається для пари ВЖКЯ — ВШМЯ також не є випадковою, але наближується до такої — лише  $1,15 \times 10^{-3}$  %. Навпаки, для пари ВЖКЯ — ВСМП розраховані ймовірності, отримані для дослідних даних, збігаються з ймовірністю для даних випадкового розподілу (72 пари при випадковому

та 69 пар у досліді). Така наявність або відсутність кореляції у присутності вірусних антигенів деякою мірою може бути пояснена подібністю біологічних властивостей — колом хазяїв, шляхами перенесення та зберігання. Справді, віруси з подібними біологічними властивостями (табл. 2) повинні частіше зустрічатись одночасно. У такий само спосіб може бути проаналізовано взаємовідносини між іншими складовими ценозу. Отже, використовуючи наведену методику, стає можливим досліджувати тонкі взаємодії між різнотиповими об'єктами.

Будуючи просторову модель для одного ценозу, часто необхідно знати, як широко вона може бути застосована, наскільки якісно ця модель буде описувати інші ценози, що різняться, наприклад, типом ґрунту або середньорічною температурою. Використовуючи UPGMA, можна розрахувати різни-

цю (відстань) між будь-якою кількістю ценозів або їх компонентами і, таким чином, використовувати цю відстань як коригуючий коефіцієнт при адаптації загальної моделі до конкретного ценозу (з певними обмеженнями, звичайно). Дендрограма (рис. 2) побудована на основі даних, отриманих з Волинського регіону (територія Національного парку) і охоплює понад 1800 зразків, зібраних за чотири роки. Біологічний сенс цієї дендрограми — показати подібність біологічних властивостей вірусів, тобто віруси з подібними шляхами циркуляції, колом хазяїв та стратегією зберігання на дендрограмі є найближчими. Таким чином, маючи лише деякі ознаки ценозу, можна передбачити усі інші. Наприклад, якщо в ґрунті агроценозу виявлено антиген ВШМЯ, то з ймовірністю майже 100 % можна стверджувати про наявність у ньому антигену ВСМП.

Дослідження з тривалого моніторингу природних та агроценозів дають можливість передбачати з високим ступенем ймовірності рівень ураженості культурних рослин певними вірусами, виходячи з властивостей цього ценозу та розповсюдженості

вірусів у попередні роки. Розуміючи передумови та правила розвитку епіфітотій, стає можливим попередження їх появи завдяки впровадженню відповідного сівообігу, своєчасному застосуванню методів хімічного захисту рослин, їх посіву, обробки, збирання та ін. Такий підхід суттєво зменшить антропогенний вплив на ценози, посприє зменшенню обсягів використання хімікатів. Ми впевнені, що подальші дослідження допоможуть у розумінні взаємовідносин між складовими ценозів, зокрема, шляхів циркуляції та зберігання вірусів рослин.

Аналіз отриманих даних дозволив створити просторово-часову модель розповсюдженості вірусів на площі досліджуваних ценозів. Ця модель дозволяє дослідити, які фактори навколишнього середовища і яким чином впливають на циркуляцію вірусів (сівообіг, агротехнічні прийоми, погодні умови) з точки зору довгострокового моніторингу. Таким чином, знаючи концентрації (частоту зустрічаємості) певного вірусного антигену у ґрунті певного поля, можна рекомендувати тип сівообігу або оцінити швидкість та напрямок розвитку епіфітотії.

1. *Лакун Г. Ф.* Биометрия.— М: Высш. школа.— 1980.
2. Антитела. Методы / Пер. с англ. А. Брэдуелл, Д. Кэтти, Д. Дайкс: Под. ред. Д. Кэтти.— М.: Мир, 1991.— Кн. 2.— 421 с.
3. Introduction to plant disease epidemiology / Ed. by C. Lee Campbel, L. V. Madden.— A Wiley: Interscience publication, 1990.— P. 1—129.
4. Plant virus disease control / Ed. By A. Haididi, R. K. Khetarpal, H. Koganezawa.— APS Press, 1998.— P. 448—670.
5. *Crowther J. R.* ELISA. Theory and practice.— N.Y.: Humana Press, 1995.— P. 38—39.
6. *Kegler H., Fuchs H., Spaar D., Kegler J.* Viruses in soil and ground water 1995 // Arch. Phytopath. Pflanz, 1995.— № 29.— P. 349—371.
7. *Nelson M. R.* GIS and geostatistics in the design and validation of regional PVMP // Phytopathology.— 1994.— № 84.— P. 898—905.

*Demyanenko F. P., Budzanivska I. G., Polischuck V. P.*

## PLANT VIRUS CO-INFECTION PROBABILITY ESTIMATION

*Data on 16 most harmful viruses spreading on Ukraine territory have been collected during fore years. Lying on statistical analyzes results certain relations between cenosis components have been revealed. It was shown new approaches for co-infection probability estimation for barley stripe mosaic hordeivirus (BSMV), barley yellow dwarf luteovirus (BYDV) and wheat stripe mosaic tritimovirus (WSMV). Correlation between virus circulation and environment properties was established. New ways of epiphytotion prognosing and prevention were proposed.*