

УДК 578.85/86.083:2:577.152

DOI: 10.25684/0513-1634-2024-150-63-68

ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИРУСОВ В НАСАЖДЕНИЯХ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Юрий Николаевич Приходько, Татьяна Степановна Живаева,
Юрий Андреевич Шнейдер, Максим Олегович Кондратьев

Всероссийский центр карантина растений (ФГБУ ВНИИКР)
140150, Московская область, г.о. Раменский, р.п. Быково, ул. Пограничная, д. 32
E-mail: prihodko_yuri59@mail.ru

В рамках научного мониторинга, проводимого ФГБУ «ВНИИКР» проведено тестирование методом иммуноферментного анализа образцов косточковых культур, отобранных на территории 20 субъектов Российской Федерации на наличие следующих вирусов: ACLSV, ArMV, APLPV, ArMV, CLRV, CRLV, PBNPaV, PDV, PNRSV, PPV, PRMV, RpRSV, SLRSV, TBRV, ToRSV и TRSV. Установлено распространение потивируса шарки слив (PPV), иларвируса некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV) и иларвируса карликовости сливы (PDV), которые были выявлены на территории 12, 12 и 8 субъектов Российской Федерации соответственно в 14,9%, 11,9% и 1,7% тест-образцов. Наличие этих вирусов было подтверждено методом полимеразной цепной реакции с последующим сиквенированием полученных продуктов амплификации. Проведен анализ встречаемости этих вирусов в зависимости от типа насаждений, видов растений и географического региона.

Ключевые слова: ИФА; ПЦР; вирус шарки слив (PPV); вирус карликовости сливы (PDV); вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV)

Введение

На косточковых культурах в различных регионах мира выявлено 58 вирусов, относящихся к 17 родам семи таксономических семейств. Целый ряд из них: потивирус шарки слив (PPV), черавирус рашпилевидности листьев черешни (CRLV), неповирусы кольцевой пятнистости томата (ToRSV), кольцевой пятнистости табака (TRSV), кольцевой пятнистости малины (RpRSV) и розеточной мозаики персика (PRMV) включены в список карантинных вредных организмов ЕАЭС.

В ФГБУ «ВНИИКР» начиная с 2007 г. осуществляется регулярный мониторинг насаждений косточковых культур РФ с проведением скрининговых тестов методом иммуноферментного анализа (ИФА) и подтверждающих тестов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Целью исследований являлось изучение видового состава и распространенности вирусов на косточковых культурах в Европейской части РФ и использованием серологических и молекулярных методов диагностики.

Объекты и методы исследования

Отобранные образцы растений косточковых плодовых культур тестировали методом ИФА на наличие потивируса шарки слив (PPV), иларвирусов карликовости сливы (PDV), некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV), мозаики яблони (ArMV) и американского линейного узора сливы (APLPV), триховируса хлоротической пятнистости листьев яблони (ACLSV), неповирусов розеточной мозаики персика (PRMV), скручивания листьев черешни (CLRV), кольцевой пятнистости томата (ToRSV) и кольцевой пятнистости малины (RpRSV), черавируса рашпилевидности листьев черешни (CRLV). Образцы растений исследовались с

помощью тест-систем производства Adgen (Великобритания), Agdia (США), Agritest (Испания), Biogebra (Швейцария), DSMZ и Loewe (обе - Германия). Тесты проводили в соответствии с прилагаемыми инструкциями фирм-производителей. Часть образцов тестировали также на наличие неповирусов мозаики резухи (ArMV), кольцевой пятнистости табака (TRSV), черной кольчатости томата (TBRV), ампеловируса некроза и ямчатости коры сливы (PBNSPaV) и стралавируса латентной кольцевой пятнистости земляники (SLRSV).

Подтверждающие тесты на наличие потивируса шарки слив (PPV) методом ПЦР проводили с использованием комплекса универсальных и штаммспецифичных праймеров [2, 5]. Подтверждающие тесты на наличие PNRSV и PDV проводили методом ПЦР в реальном времени с наборами реагентов для ПЦР-ПВ к PNRSV и PDV фирмы Синтол (Россия) и методом классической ПЦР с парами праймеров PNRSV-C (TTC TGT ACC TGC CAA TAT CCT ACT TCG) и PNRSV-H (AGA CGT CGT GAC AGA CGT CGA AG), PDV-C (TAG TGC AGG TTA ACC AAA AGG AT и PDV-H (CCG GTA TGA TAT CTC GTA CCG AG) [12], PNRSV-10F (TTC TTG AAG GAC CAA CCG AGA GG) и PNRSV-10R (GCT AAC GCA GGT AAG ATT TCC AAG C) [10]. Большинство полученных продуктов амплификации было подвергнуто сиквенированию.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований в 2007-2022 гг. в насаждениях косточковых культур Европейской части РФ выявлена распространенность потивируса шарки слив (PPV) и иларвируса некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV). А также достаточно широкая распространенность иларвируса карликовости сливы (PDV) (таблицы 1-3). Было выявлено также несколько образцов с сероположительной реакцией к иларвирусам мозаики яблони (ArMV) и американского линейного узора сливы (APLPV), триховирусу хлоротической пятнистости листьев яблони (ACLSV), неповирусам кольцевой пятнистости малины (RpRSV) и черной кольчатости томата (TBRV), но наличие этих вирусов не было подтверждено методом ПЦР, что говорит о ложноположительной реакции тест-систем. Неповирусы скручивания листьев черешни (CLRV), розеточной мозаики персика (PRMV), мозаики резухи (ArMV), кольцевой пятнистости томата (ToRSV), кольцевой пятнистости табака (TRSV), ампеловирус некроза и ямчатости коры сливы (PBNSPaV) и стралавирус латентной кольцевой пятнистости земляники (SLRSV) во всех протестированных образцах отсутствовали.

Анализ распространенности и штаммового состава вируса шарки слив был изложен нами в ряде предшествующих публикаций [2-11], поэтому в данной статье для этого вируса представлен лишь табличный материал без его комментария. Большинство выявленных очагов вируса шарки слив к настоящему времени успешно ликвидированы.

Вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV) был выявлен во всех типах насаждений косточковых культур и на дикорастущих растениях. Встречаемость этого вируса в промышленных питомниках, приусадебных и дачных садах и на дикорастущих растениях косточковых культур варьировала от 12,3% до 14,3%, а в промышленных садах и коллекциях сортов научных учреждений – от 7,1% до 16,8% (табл. 1).

Вирус карликовости сливы (PDV) был зарегистрирован во всех типах насаждений косточковых культур с частотой встречаемости от 1,4% до 2,8%, но не был выявлен в дикорастущих косточковых растениях (табл. 1).

Таблица 1

Встречаемость PPV, PNRSV и PDV в различных типах насаждений косточковых культурах в Европейской части РФ

Тип насаждения	PPV		PNRSV		PDV	
	Кол.во тест-образцов	Заражено (%)	Кол.во тест-образцов	Заражено (%)	Кол.во тест-образцов	Заражено (%)
Промышленные сады	394	16,2	168	7,1	168	1,8
Промышленные питомники	273	10,3	251	16,8	215	2,8
Приусадебные и дачные сады	1081	13,1	871	12,3	830	1,7
Коллекции сортов	378	25,7	329	8,5	276	1,4
Дикорастущие растения косточковых	83	16,9	63	14,3	46	0

Как известно, PNRSV и PDV характеризуются широким кругом растений-хозяев. Оба этих вируса были выявлены нами на сливе домашней, абрикосе обыкновенном, вишне обыкновенной, вишне войлочной терне. PNRSV, в отличие от PDV, был выявлен также на черешне, персике, алыче (или сливе русской), клоновых подвоях вишни и черешнево-вишневых гибридах. При этом на последних PNRSV был выявлен в 53,3% тест-образцов. В особенно сильной степени были заражены сорта черешнево-вишневых гибридов 'Спартак', 'Кормилица' и 'Ивановна'.

Таблица 2

Встречаемость PPV, PNRSV и PDV на различных косточковых культурах в Европейской части РФ

Культура	PPV		PNRSV		PDV	
	Кол.во тест-образцов	Заражено (%)	Кол.во тест-образцов	Заражено (%)	Кол.во тест-образцов	Заражено (%)
Слива домашняя	956	23,1	709	6,6	626	2,6
Алыча (слива русская)	149	4,1	90	4,4	88	0
Абрикос обыкновенный	169	4,7	104	3,8	93	13,9
Вишня обыкновенная	470	21,9	456	18,2	409	0,9
Черешня	137	3,6	126	12,7	96	0
Вишня войлочная	27	25,9	25	8,0	27	7,4
Персик обыкновенный	79	10,1	26	3,8	20	0
Черешнево-вишневые гибриды	29	0	30	53,3	23	0
Терн	22	4,5	22	4,5	22	4,5
Вишня песчаная	4	0	3	0	3	0
Вишня степная	3	0	3	0	3	0
Церападусы	17	0	12	0	12	0
Вишня магалебская	4	0	4	0	4	0
Миндаль махровый	5	0	5	0	4	0
Клоновые подвои вишни	6	0	6	83,3	6	0

На вишне обыкновенной и сливе домашней PNRSV встречался значительно чаще, чем PDV, но для абрикоса обыкновенного имело место обратная закономерность.

Оба вируса не были выявлены в растениях вишни песчаной, вишни степной, вишни магалебской, церападусов и миндаля махрового.

Таблица 3

Встречаемость PPV, PNRSV и PDV на косточковых культурах в различных субъектах Российской Федерации

Регион	PPV		PNRSV		PDV	
	Кол-во тест- образцов	Заражено (%)	Кол-во тест- образцов	Заражено (%)	Кол-во тест- образцов	Заражено (%)
Астраханская область	114	0	90	1,1	53	0
Белгородская область	91	20,9	81	12,3	81	1,2
Волгоградская область	107	25,2	113	12,4	113	0
Воронежская область	120	14,2	107	30,8	107	2,8
Курская область	51	0	-	-	-	-
Липецкая область	328	14,9	300	21,3	261	3,1
г. Москва	351	13,7	325	8,9	248	1,2
Новгородская область	65	0	65	0	65	0
Орловская область	20	0	-	-	-	-
Пензенская область	50	0	50	6,0	50	6,0
Ростовская область	35	34,3	35	0	35	0
Рязанская область	9	0	9	11,1	9	11,1
Самарская область	184	49,5	184	2,2	184	2,2
Саратовская область	85	0	85	0	85	0
Тамбовская область	57	14,1	32	9,4	32	9,4
Тульская область	59	3,4	59	0	59	0
Краснодарский край	92	11,9	-	-	-	-
Ставропольский край	94	38,3	15	6,7	15	0
Республика Дагестан	241	0	141	3,5	141	0
Республика Карачаево-Черкессия	3	33,3	3	0	3	0
ИТОГО	2156	14,9	1694	11,9	1541	1,7

В общем итоге PNRSV был выявлен в 11,9% образцов, а PDV – в 1,7% случаев, вирус шарки слив был выявлен в 14,9% образцов (табл. 2, 3).

В общей сложности на наличие PNRSV и PDV были протестированы образцы косточковых культур, отобранные на территории 17 субъектов Российской Федерации, а на наличие PPV – на территории 20 субъектов. PPV, PNRSV и PDV были выявлены на территории 12, 12 и 8 субъектов РФ соответственно.

PNRSV был выявлен в 21,3% и 30,8% тест-образцов из Липецкой и Воронежской областей соответственно. Образцы из Белгородской, Волгоградской, Московской, Рязанской и Тамбовской областей были заражены этим вирусом на уровне 8,9-12,4%. В образцах из прочих субъектов РФ вирус был выявлен менее чем в 6,7%.

PDV чаще всего встречался в образцах из Рязанской (11,1%) и Тамбовской (9,4%) областей. В образцах из прочих субъектов РФ встречаемость этого вируса варьировала от 1,2% до 6,0% (см. табл. 3).

Таким образом, в результате проведенных исследований нами установлено распространение на косточковых культурах в РФ потивируса шарки слив (PPV) и иларвирусов некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV) и карликовости сливы (PDV), что характерно также для большинства стран Восточной и Центральной Европы [1]. В то же время, ни в одном из 679 протестированных образцов нами не был выявлен неповирус скручивания листьев черешни (CLRV), который заражает косточковые плодовые растения в 25 странах Европы [8].

Для выявления CLRV нами были апробированы тест-системы для ИФА фирм Adgen и DSMZ, содержащие антитела для универсального выявления всех штаммов этого вируса, а также тест-системы фирм Bioreba и Loewe, содержащие специфические антитела к штамму CLRV-cherry. Все эти тест-системы эффективно реагировали с референтными изолятами CLRV (PV-0200, PV-0275, PV-0276, PV-0277, V-0278 и PV-0797), полученными из коллекции DSMZ, а также позволили нам выявить CLRV в образцах растений бузины черной из Белгородской области и растений березы бородавчатой из Московской области. Следовательно, отсутствие выявления CLRV в протестированных нами образцах косточковых культур не может быть обусловлено низким качеством используемых тест-систем.

Выводы

По результатам многолетнего серомониторинга установлена распространенность на косточковых культурах в Европейской части Российской Федерации потивируса шарки слив (PPV) и иларвируса некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV), которые были выявлены в 12 различных субъектах РФ для каждого из вирусов, соответственно, на широком круге растений-хозяев. PPV был выявлен в 14,9% образцов из 2156 протестированных, а PNRSV – в 11,9% образцов из 1694 протестированных. Значительно реже встречался иларвирус карликовости сливы (PDV), выявленный в 8 субъектах РФ в 1,7% тест-образцов из 1541 протестированных. Неповирус скручивания листьев черешни (CLRV), распространенный в большинстве европейских стран, не был выявлен в 679 протестированных образцах. Карантинные объекты, входящие в Единый Перечень карантинных организмов ЕАЭС – вирусы CRLV, PRMV, ToRSV и TRSV не были обнаружены в исследуемых образцах.

Список литературы

1. Приходько Ю.Н., Магомедов У.Ш. Вирусы семечковых и косточковых плодовых культур // Воронеж: «Научная книга». – 2011. – 468 с.
2. Приходько Ю.Н., Мазурин Е.С., Живаева Т.С., Шнейдер Ю.А., Соколова Е.Е. Изучение штаммов вируса шарки сливы // Защита и карантин растений. – 2011. – № 11. – С. 29-32.
3. Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Шнейдер Ю.А., Морозова О.Н., Мазурин Е.С. Выявление в Российской Федерации нового штамма вируса шарки слив – CherryRussian (CR) // Карантин растений. Наука и практика. – 2013. – № 2(4). – С. 18-33.
4. Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Шнейдер Ю.А., Морозова О.Н. Распространенность, диагностика и штаммовый состав вируса шарки слив (PPV) // Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем / Материалы III Всероссийского съезда по защите растений. – Санкт-Петербург. – 2013. – Т.1. – С. 265-268

5. Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Шнейдер Ю.А. Скрининговые методы выявления комплекса штаммов вируса шарки слив (PPV) // Садоводство и виноградарство. – 2019. – № 1 – С. 36-42.

6. Чирков С.К., Приходько Ю.Н. Генетическое разнообразие и структура популяции вируса оспы (шарки) сливы в России // Сельскохозяйственная Биология. – 2015. – Т. 50, № 5. – С. 529-539

7. Chirkov S., Ivanov P., Sheveleva A., Kudryavtseva F., Prikhodko Y., Mitrofanova I. Occurrence and characterization of plum pox virus strain D isolates from European Russia and Crimea // Arch. Virol. – 2016. – Vol. 161. – P.425-430.

8. EPPO, 2023. EPPO Global Database. – [Electronic resource] – URL: <https://gd.eppo.int>.

9. Glasa M., Prikhodko Y., Predajňa L., Nagyová A., Shneyder Y., Zhivaeva T., Šubr Z., Cambra M., Candresse T. Characterization of sour cherry isolates of Plum pox virus from the Volga Basin in Russia reveals a new cherry strain of the virus // Phytopathology. – 2013. – Vol.103, № 9. – P. 972-979.

10. Marbot S., Salmon M., Vendrame M., Huwaert A., Kummert J., Dutrecq O., and Lepoivre P. Development of real-time RT-PCR assay for detection of Prunus necrotic ringspot virus in fruit trees // Plant Disease. – 2003. – Vol.87. – P.1344-1348.

11. Prikhodko Yu., Shneider Yu., Zhivaeva T., Morozova O. The PPV-W strain in Russia: distribution and identification // Book of Abstracts 3rd International Symposium on Plum pox virus. – Antalya – Turkey, 9-13 May 2016. – P.45-46.

12. Rowhani A., Biardi L., Routh G., Daubert S.D., Golino D.A. Development of a sensitive colorimetric-PCR assay for detection of viruses in woody plants // Plant Disease. – 1998. – Vol. 82. – P. 880-884.

Статья поступила в редакцию 09.07.2023 г.

Prikhodko Yu.N., Zhivaeva T.S., Shneyder Y.A., Kondratiev M.O. Species composition and prevalence of viruses in stone fruits plantations in the European part of the Russian Federation // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2024. – № 150. – P. 63-68

In the framework of scientific monitoring conducted by the All-Russian Centre of Plant Quarantine (VNIIKR), the following viruses were tested by ELISA on samples of stone fruit crops collected on the territory of 20 regions of the Russian Federation: ACLSV, ApMV, APLPV, ArMV, CLRV, CRLV, PBNPaV, PDV, PNRSV, PPV, PRMV, RpRSV, SLRSV, TBRV, ToRSV and TRSV. The spread of plum pox potyvirus (PPV), prunus necrotic ring spot ilarvirus (PNRSV) and prune dwarf ilarvirus (PDV) were found in 12, 12, and 8 regions of the Russian Federation, respectively, in 14.9%, 11.9% and 1.7% of test samples. The presence of these viruses was confirmed by polymerase chain reaction followed by sequencing. An analysis of the occurrence of these viruses depending on the type of plantations, plant species, and geographic region was performed.

Key words: ELISA; PCR; plum pox virus (PPV); prune dwarf virus (PDV); prunus necrotic ringspot virus (PNRSV)