

ISSN 0558-1125

УДК 631.541.1:634.20

Ю.Н. ПРИХОДЬКО, кандидат сельскохозяйственных наук

Т.С. ЖИВАЕВА, О.Н. МОРОЗОВА, младшие научные сотрудники

Ю.А. ШНЕЙДЕР, кандидат биологических наук

Федеральное государственное бюджетное учреждение (ФГБУ) «Всероссийский центр карантина растений», пос. Быково Московской области, Россия

С.А. ВАСЮТА, кандидат сельскохозяйственных наук

Институт садоводства (ИС) НААН, Киев, Украина

ВИРУС ШАРКИ СЛИВЫ (PLUM POX VIRUS) НА ВИШНЕ (*CERASUS VULGARIS* MILL.): РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, ДИАГНОСТИКА, ШТАММЫ

Y.N. PRIKHOD'KO, Y.A. SHNEIDER, PhDs

T.S. ZHIVAYEVA, O.N. MOROZOVA, Junior Research Workers

Federal State Budget Institution «All-Russian Centre of the Plant Quarantine», s. Bykovo, Moscow region, Russia

S.A. VASYUTA, PhD

Institute of Horticulture (NAAS), Kiev, Ukraine

PLUM POX VIRUS ON CHERRY (*CERASUS VULGARIS* MILL.): SPREADING, DIAGNOSIS, STAMMS

Приведены данные о выявлении в Российской Федерации нового штамма вируса шарки сливы – Plum pox virus Cherry Russian (PPV-CR), а также идентификации на вишне изолятов PPV штаммов Cherry (PPV-C) и Dideron (PPV-D).

Наведено дані про виявлення в Російській Федерації нового штаму вірусу шарки сливи – Plum pox virus Cherry Russian (PPV-CR), а також ідентифікацію на вишні ізолятів PPV штампів Cherry (PPV-C) і Dideron (PPV-D).

The authors report about the detection of the new Plum pox virus stamm – Cherry Russian (PPV-CR) and identification of the isolates PPV of the stamms Cherry (PPV-C) and Dideron (PPV-D).

Шарка сливы является наиболее вредоносной болезнью косточковых плодовых культур. Ее возбудитель – вирус (*Plum pox virus*, PPV) – включен в списки ограниченно распространенных карантинных объектов Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР), Российской Федерации и Украины. В настоящее время известно, что этот вирус представляет собой совокупность нескольких штаммов, различающихся на серологическом биохимическом и генетическом уровне, а также в известной степени – по кругу растений-хозяев, патогенности и эффективности переноса тлём. До 2012 г. было известно 7 таких штаммов: PPV-D (Dideron), PPV-M (Marcus), PPV-C (Cherry), PPV-W (Winona), PPV-EA (El Amar), PPV-Rec (Recombinant) и PPV-T (Turkish). В 2012 году мы сообщили об обнаружении нового штамма – PPV-CR (Cherry Russian) [21].

Длительное время считалось, что вирус шарки заражает лишь сливу, абрикос, персик, терн и некоторые другие растения рода *Prunus*, а вишня и черешня невосприимчивы к нему. Эта точка зрения была подвергнута сомнению после того, как удалось искусственно заразить сеянцы двух последних культур изолятами PPV с деревьев сливы. На листьях инокулированных сеянцев черешни развивались морщинистость, кольца, желтые пятна неправильной формы и такого же цвета рисунок вдоль жилок. У аналогичных сеянцев вишни наблюдались слаборослость и чаще всего сильная кустистость, листки были мелкие, морщинистые и сильно деформированные, окраска вдоль их жилок сохранялась нормальной, но межжилковая ткань приобретала интенсивный хлоротический оттенок [19, 20].

На вишне в природных условиях вирус шарки сливы (изолят SoC) был впервые обнаружен в Молдове с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) и иммуноэлектронной микроскопии (ИЭМ) [24, 25, 26], затем на этой же культуре и черешне в Болгарии с помощью первого из названных методов [44, 45]. В последующие годы о выявлении PPV на вишне и/или черешне сообщалось из Италии [11, 12, 13], Венгрии [28, 34, 37], Румынии [23, 31], Турции [43], Чехии [33], Украины [46], Белоруссии [30, 40] и Хорватии [27].

В Российской Федерации в предшествующие годы вирус шарки сливы фиксировали на вишне в коллекциях Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (г. Москва) и Крымской опытно-селекционной станции (Краснодарский край) [1, 39], а также на подвое В-5-88 во Всероссийском селекционно-технологическом институте садоводства и питомниководства (Московская область) [5]. Но в подавляющем большинстве этих случаев штамм PPV не был определен.

Детальному исследованию были подвергнуты два изолята PPV: SoC из Молдовы [34, 36] и SwC из Италии [12, 13], выявленные на вишне и черешне. На основании существенных

серологических и генетических отличий этих изолятов от известных штаммов PPV был сделан вывод об их принадлежности к новому штамму, названному Cherry (PPV-C) [18, 36, 38]. Для его диагностики были разработаны специфические моно- [32] и поликлональные антитела [14], а также специфические праймеры [35].

В настоящее время за рубежом, помимо вышеуказанных изолятов из Молдовы и из Италии, принадлежность к этому штамму установлена еще для четырех изолятов (BY-101, BY-154, BY-155, BY-181) из Беларуси [30] и одного из Хорватии [27]. В генбанк Национального центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information – NCBI) депонированы сиквенсы 6 зарубежных изолятов PPV-C: SoC, SwC, BY-101, BY-154, BY-155 и BY-181. О выявлении штамма PPV-C в полевых условиях на других растениях рода *Prunus* (кроме вишни и черешни) не сообщалось.

В нескольких странах были проведены лабораторные эксперименты по изучению потенциального круга растений-хозяев вишневых изолятов PPV. С использованием прививки и переноса зеленой персиковой тлэй (*Mizus persicae*) эти изоляты были перенесены на растения сливы, персика, *P. mahaleb*, *P. cerasifera*, *P. davidiana*, *P. laurocerasus* и различные гибридные формы [6, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 17, 26, 30]. Таким образом, круг растений-хозяев PPV-C потенциально не ограничивается вишней и черешней, а может включать большинство восприимчивых к шарке видов рода *Prunus* [17, 29]. С другой стороны, до настоящего времени имеется очень мало сведений о выявлении заражения вишни и черешни другими штаммами PPV. В генбанке NCBI опубликован сиквенс изолята SC (X81083), обнаруженного на растениях вишни в Молдове и относящегося к штамму PPV-D. Имеется также сообщение из Чехии о выявлении на этой же породе штамма PPV-Rec.

Материалы и методы. В наших исследованиях для обнаружения PPV использовали поликлональные антитела различных фирм-производителей (Adgen, Bioreba, DSMZ, Loewe), моноклональные 5B-IVIA и универсальные праймеры к PPV: P1/P2 [47, 48], M2/M3/M4 [42], s1/as2 (ООО «Агродиагностика»), NCuniFor/NCuni Rev [21, 22], а для изучения его штаммов – штаммспецифичные моноклональные антитела (4DG5, AL, AC и EA-24) и праймеры, рестрикционный анализ и секвенирование продуктов амплификации.

При идентификации штаммов вируса применяли следующие праймеры: штамма PPV-D – праймеры P1/PD [9] и M1/M5 [42], штамма PPV-M – P1/PM [9] и M6/M7 [42], штамма PPV-Rec – mM3/mD5 [41], штамма PPV-C – CSoC-2/HSoC-2 [35, 37], M10/M11 [42], штамма PPV-W – 3174-sp-R1/3174-sp-F3, штамма PPV-CR – CR8547F/CR9023R [21, 22]. Все пары праймеров, за исключением mM3/mD5, разработаны для различных участков гена белка оболочки PPV.

Реакции обратной транскрипции проводили с использованием наборов «Агродиагностика», «Евроген» и «Диалат Лтд», реакции амплификации – с применением мастер-миксов фирм «Диалат Лтд», «Евроген», Quagen и Fermentas. Концентрации праймеров и термоциклические условия полимеразной цепной реакции (ПЦР, PCR) соответствовали таковым в оригинальных методиках. PCR ставили на амплификаторах Mastercycler Personal, Mastercycler Gradient фирмы Eppendorf и ABI Veriti 96x0.2 фирмы Applied Biosystems.

Результаты RT-PCR регистрировали после проведения электрофореза в 1,5%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в гель-документирующей системе Quantum-ST-4-1500. Размер продуктов PCR определяли, используя маркеры молекулярного веса GeneRuler™ 100 и FastRuler™ (Fermentas).

Продукты из 243 пар оснований (п.о.), амплифицируемые праймерами P1/P2, очищали с применением набора GeneJET PCR фирмы Fermentas и подвергали обработке рестриктазами RsaI и Alu. Разделение продуктов после рестрикции проводили в 2%-м агарозном геле в течение 3 часов при напряженности 5В на 1 см геля. Продукты амплификации подвергали прямому секвенированию на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США) с использованием набора BigDye Terminator v.1.1 Cycle Sequencing Kit. Анализ последовательностей полученных сиквенсов выполняли с применением пакета программ BioEdit 7.051 и MEGA 4.0.

Результаты исследований. В ходе обследований, проведенных в 2008-2013 гг. в различных насаждениях вишни и черешни в Российской Федерации, мы выявили 111 изолятов PPV. Установлена принадлежность к штамму PPV-C 23 изолятов, обнаруженных на вишне и черешне в Белгородской и на вишне в Волгоградской, Московской, Самарской и Саратовской областях, преимущественно в коллекциях научных учреждений, на госсортоучастках (ГСУ) и в приусадебных садах. Эти изоляты реагировали с праймерами CSoC-2/HSoC-2 [35], M10/M11 [42] и моноклональными антителами линии AC, специфичных по отношению к изучаемому штамму.

Продукты 243 п.о., амплифицируемые праймерами P1/P2 выявленных нами изолятов BelR-19, BelR-131, MSXA-63, SamSad-5, VolK-143 и VolK-144 были секвенированы и подвергнуты анализу в сравнении с сиквенсами шести изолятов PPV-C, имеющимися в генбанке: SoC, обнаруженного на вишне в Молдове [34], SwC, описанного на черешне в Италии [18] и четырех изолятов из Белоруссии (BY-101, BY-131, BY-155 и BY-181) (рис. 1).

Филогенетически российские изоляты BelR-19, BelR-131, MSXA-63, VolK-143, VolK-144 и SamSad-5 образуют один кластер с референтными изолятами исследуемого штамма и генетически неродственны другим штаммам PPV: PPV-CR (референтные изоляты Kp8-2U, FI-1), PPV-W (LV-141pl. LV-145bt) и PPV-D (SC). При этом изоляты BelR-19, MSXA-63 и

SamSad-5 филогенетически наиболее близки к изолятам PPV-C из Беларуси, а BelR-131, VolK-143, VolK-144 образовали несколько обособленный подкластер (рис. 1). Принадлежность этих изолятов к штамму PPV-C подтверждает также отсутствие сайтов рестрикции RsaI и Alu I на 3'-конце гена белка оболочки.

За рубежом (Беларусь, Молдова, Италия и Хорватия) к настоящему времени выявлено всего 7 изолятов этого штамма. Таким образом, можно констатировать, что он, несмотря на довольно большой ареал, встречается значительно реже, чем штаммы PPV-D, PPV-M и PPV-Res. Его изоляты обнаружены только на вишне и черешне. Сведения о выявлении PPV-C на других культурах по-прежнему отсутствуют.

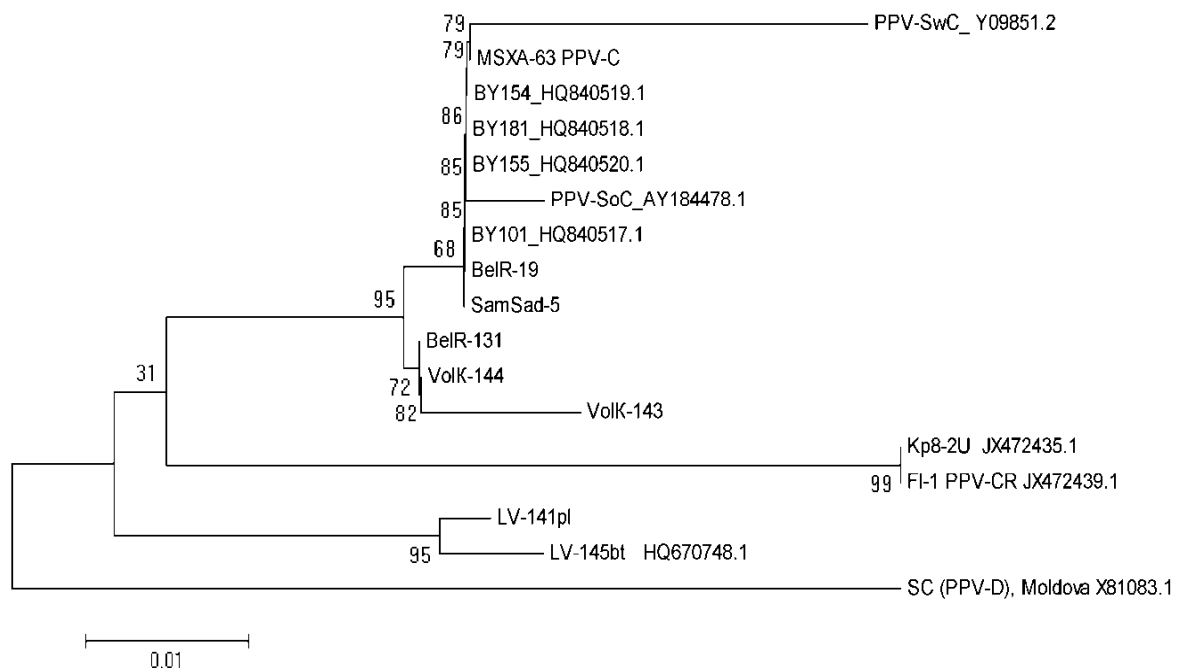


Рис. 1. Филогенетический анализ российских изолятов штамма PPV-C по продуктам 243 п.о., амплифицируемым праймерами P1/P2 (участок (N-ter)CP генома PPV)

В 2008 г. в Самарской области, в долине реки Сок, в двух кварталах сада опытного производственного объединения (ОПО) «Сокское» Самарского НИИ садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады» (раскорчеванных в том же году), на растениях вишни нами выявлен целый ряд изолятов PPV, отличающихся по серологическим и генетическим свойствам от всех известных штаммов этого вируса. Данные изоляты реагировали с поликлональными антителами к PPV различных фирм (Adgen, Bioreba, DSMZ, Loewe), но не с моноклональными антителами 4DG5, Al, AC и EA-24 (производства фирмы Agritest, Италия), специфичных по отношению к штаммам PPV-D, PPV-M, PPV-C и PPV-EA соответственно, а также с универсальными моноклональными антителами линии 5B.

Все обнаруженные изоляты нового штамма эффективно выявлялись в PCR-тесте с помощью универсальных праймеров к PPV P1/P2, s1/as2 NCuni For/NCuni Rev. Но они не реагировали с праймерами, специфичными по отношению к штаммам PPV-D (праймеры P1/PD, M1/M5), PPV-M (P1/PM, M6/M7), PPV-C (CSoc-2/HSoc-2, M10/M11), PPV-Rec (mM3/mD5) и PPV-W (праймеры 3174-sp-R1/3174-sp-F3, W8328F/W8711R).

PCR-RFLP продуктов 243 п.о., амплифицированных праймерами P1/P2, показал отсутствие у самарских изолятов сайтов рестрикции RsaI и AluI, что характерно для PPV-C и PPV-W. Однако по расшифрованным последовательностям данных продуктов самарские изоляты оказалось невозможным отнести к какому-либо штамму, поскольку их идентичность с PPV-D, PPV-C и PPV-W составила всего 92-94%. Комплекс изученных свойств позволил сделать предварительный вывод о принадлежности изолятов PPV из Самарской области к новому, ранее неизвестному штамму этого вируса, о чем было сделано сообщение в литературе [2, 3, 4].

В 2011-2012 гг. нами в двух областях Российской Федерации (Самарская, Саратовская) были выявлены другие изоляты, по совокупности свойств отнесенные к данному новому штамму. Согласно результатам анализа (рис. 2), изоляты нового штамма: SamS-5, SamD-36, SamS-22, SamD-34, SamS-3, SamS-21, SamD-38, SamSg-727, SamSg-22, SamSg-27, SamSg-28, SamS, SarG-79, SarG-75, SamM-41 и SarH-83 образуют четкую обособленную филогенетическую ветвь. Эти изоляты генетически наиболее близки, но не родственны штаммам PPV-C (изоляты PPV-SwC, BY-101, BY-181, Soc) и PPV-W (STNB-2, RD-1, StP-2, Moscow-1410, LV-141pl) и в то же время отчетливо дистанцируются от PPV-D, PPV-M, PPV-Rec, PPV-EA и PPV-T (AbTk). В дальнейшем изучение генома изолятов нового штамма было продолжено совместно с Институтом вирусологии Академии наук Словакии. Были получены сиквенсы полного генома для трех изолятов – SamSg-22 (RU-18sc), SamSg-27 (RU-17sc), SamSg-15/2 (RU-30sc), а также участка Nib-CP – для других 9 изолятов.

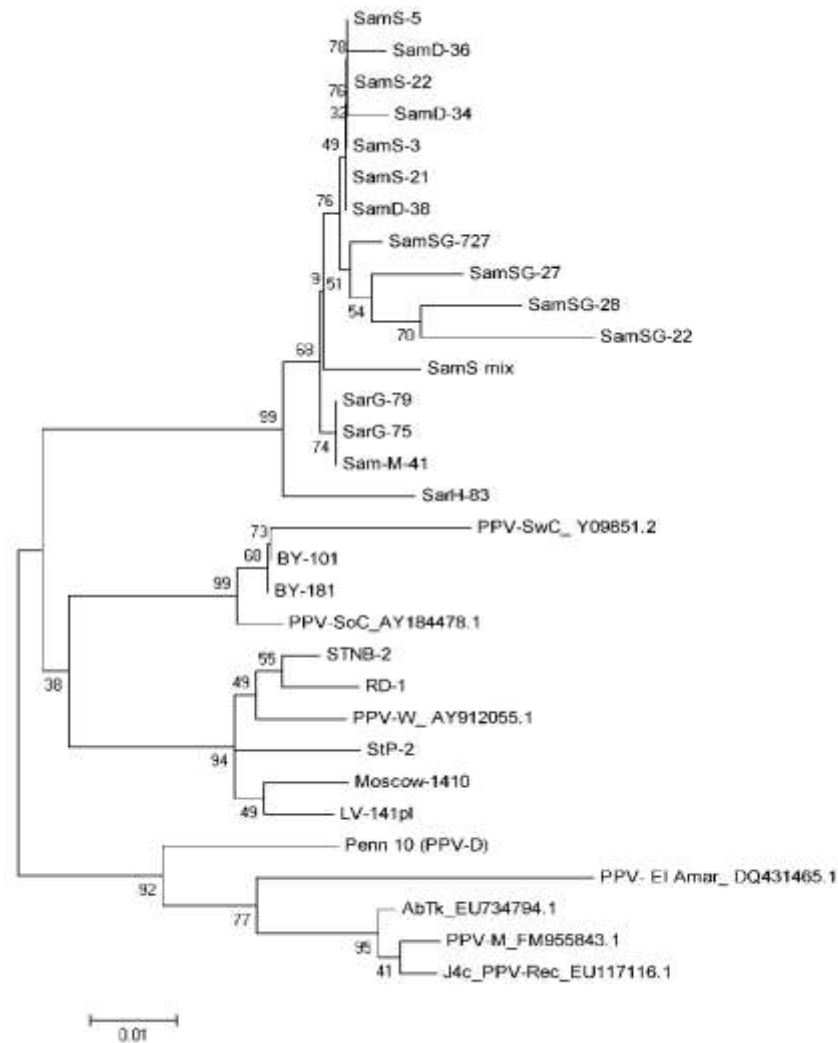


Рис. 2. Филогенетический анализ российских изолятов PPV из Самарской и Саратовской областей по продуктам 243 п.о., амплифицируемым праймерами P1/P2

Исследование полученных полных сиквенсов полностью подтвердило вывод об открытии нового штамма PPV. Было предложено назвать его Cherry Russian (PPV-CR, Российский вишневый). Сообщение о его открытии было сделано на 22-й Международной конференции по вирусам плодовых культур [21].

Установлено, что геном изолятов SamSg-22 (RU-18sc), SamSg-27 (RU-17sc) и SamSg-15/2 (RU-30sc) состоит из 9792 нуклеотидов, включая Poly-A-tail. Геномная организация этих изолятов является типичной для потивирусов и содержит большую открытую рамку считывания (ОРС), а также ОРС РЗН-РІРО. Эта же ОРС начинается с нуклеотида 147 и оканчивается стоп-кодоном UAA, соответствующим нуклеотидам 9573-9575. Далее следует 3'-нетранслируемый участок, включающий 217 нуклеотидов. Большая ОРС кодирует полипептид, состоящий из 3142 аминокислот. Молекулярный вес полипротеинов изолятов SamSg-27 (RU-17sc), SamSg-22 (RU-18sc) и SamSg-15/2 (RU-30sc) равен 355309, 355489 и 355609 кДа соответственно.

У всех этих элементов генома отмечена высокая степень сходства с другими штаммами PPV. По последовательности аминокислот, кодируемых геном белка оболочки, изоляты SamSg-22 (RU-18sc), SamSg-27 (RU-17sc) и SamSg-15/2 (RU-30sc) наиболее близки к штамму PPV-C. В частности, у этого штамма, а также PPV-CR на данном участке на две аминокислоты больше, чем у PPV-D, PPV-M и PPV-Rec. У исследуемых изолятов выявлен также ген P3N-PIPO, покрывающий участок гена P3 в позиции 2906-3217.

Для большого полипротеина установлено положение 9 сайтов рестрикции протеазами, что типично для других штаммов PPV и всех остальных потивирусов. Протеазы расщепляют полипротеин на 10 белков (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa, Nib) и белок оболочки (CP). Однако у изолятов PPV-CR все сайты рестрикции содержат от одной до трех мутаций по сравнению с другими штаммами PPV. В геноме изучаемых изолятов не претерпели видоизменений все консервативные мотивы, характерные для рода *Potyvirus*, включая FRNK₄₈₉₋₄₉₂, KITC₃₆₀₋₃₆₃ и РТК₆₁₈₋₆₂₀ в гене HC-Pro, а также DAG₂₈₂₃₋₂₈₂₅ на N-термине гена белка оболочки [22].

Идентичность сиквенсов полного генома изолята SamSg-15/2 (RU-30sc) и изолятов всех других известных штаммов PPV составляла 77,5-83,5%. Генетически данный изолят PPV-CR наиболее близок к ВУ181 штамма PPV-C, а наименее – к изоляту штамма PPV-EA. Идентичность последовательностей аминокислот большого геномного полипротеина изолята SamSg-15/2 (RU-30sc) и изолятов других известных штаммов PPV колебалась от 88 до 93,5% с наивысшим уровнем гомологичности у штамма PPV-C (табл. 1). Самый высокий уровень дивергентности в последовательности нуклеотидов между изолятами SamSg-15/2 (RU-30sc) и ВУ181 штамма PPV-C установлен для гена P1, 3'-терминальной части гена P3 и 5'-терминального участка гена белка оболочки. Они являются наиболее вариабельными участками генома PPV.

При использовании программы RDP3 не установлено наличие рекомбинантного сигнала в геноме изолятов SamSg-27 (RU-17sc), SamSg-22 (RU-18sc) и SamSg-15/2 (RU-30sc) [22].

Филогенетический анализ, проведенный для полных сиквенсов генома изолятов различных штаммов PPV, подтвердил результаты анализа гомологичности последовательностей нуклеотидов и аминокислот и четко показал, что изоляты SamSg-27 (RU-17sc), SamSg-22 (RU-18sc) и SamSg-15/2 (RU-30sc) составляют отдельный кластер, наиболее близкий к PPV-C и в меньшей степени – к PPV-W (рис. 3). Аналогичные результаты были получены при филогенетическом анализе исследуемых изолятов PPV-CR и 196 изолятов других штаммов PPV по сиквенсам гена белка оболочки.

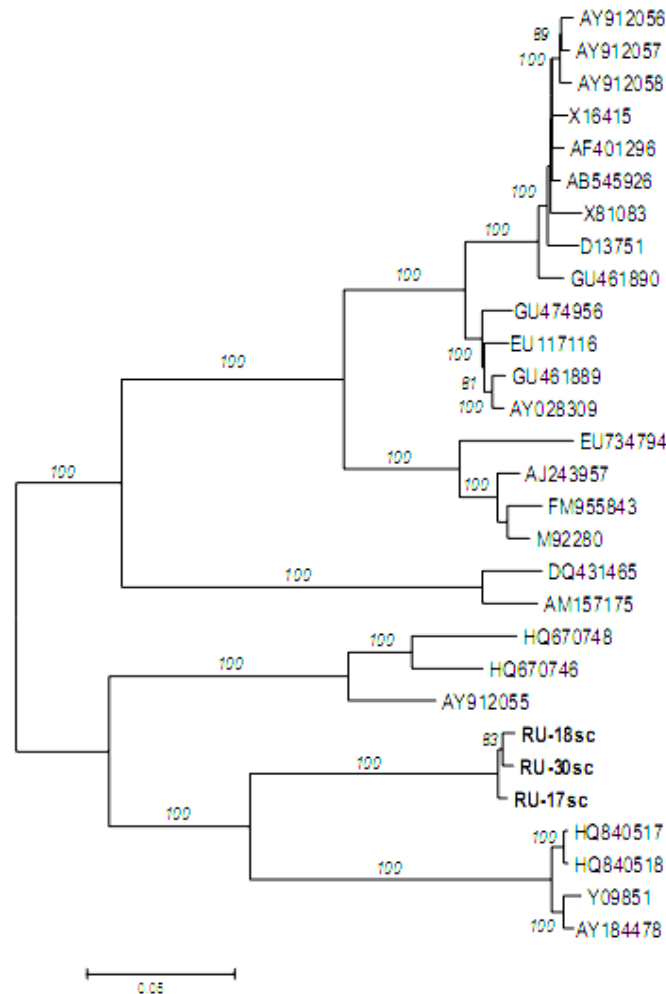


Рис. 3. Филогенетическое древо изолятов различных штаммов PPV, составленное по полным сиквенсам генома [22]

Изоляты: **PPV-D** – AY912056, AY912057, AY912058, X16415, AF401296, AB545926, X81083, D13751, GU461890; **PPV-Rec** – GU474956, EU117116, GU461889, AY028309; **PPV-T** – EU734794; **PPV-M** – AJ243957, FM955843, M92280; **PPV-EA** – DQ431465, AM157175; **PPV-W** – HQ670748, HQ670746, AY912055; **PPV-CR** – RU-17sc, RU-18sc, RU-30sc; **PPV-C** – HQ840517, HQ840518, Y09851, AY184478

Для специфической диагностики штамма PPV-CR были разработаны праймеры CR8597F (5'-ATG ATG TGA CGT TAG TGG AC-3') и CR9023R (5'-TCG TGT GTT AGA CAG GTC AAC-3'), комплементарные к участку 8597-9023 5'-терминального участка гена белка оболочки изолята SamSg-15/2 (RU-30sc). Эти праймеры реагировали со всеми изучаемыми изолятами штамма PPV-CR, но не с изолятами PPV-M, PPV-D, PPV-Rec, PPV-T, PPV-W, PPV-C и PPV-EA. Специфичность полученных продуктов амплификации была валидирована путем их прямого секвенирования [22].

К настоящему времени в трех районах Самарской и одном Саратовской областей нами обнаружены 84 изолята штамма PPV-CR. Однако их распространение не ограничивается только

регионом Среднего Поволжья. Это стало бесспорным после выявления сотрудниками кафедры вирусологии МГУ им. Ломоносова девяти изолятов этого штамма на растениях вишни в г. Москве [10].

Как уже упоминалось, в литературе отсутствуют сведения об обнаружении на вишне и черешне других штаммов PPV, кроме PPV-C и PPV-CR. Исключением является опубликованный в генбанке NCBI сиквенс относящегося к штамму PPV-D изолята SC (X81083), выявленного на вишне в Молдове. В Российской Федерации на этой же культуре нами выявлено четыре изолята штамма PPV-D, а именно: в 2008 году – BelR-130 и BelR-132 в маточнике клонового подвоя вишни П-7 в «Агрофирме Росток» (поселок Волоконовка Белгородской области), в 2011 г. – VolV-114 на дереве неидентифицированного сорта данной культуры на Волгоградской опытной станции ВИР, в том же году – изолят S-33 на растении вишни сорта Гриот Всех Святых в Московской области.

Все эти изоляты реагировали с поликлональными антителами производства различных фирм, универсальными моноклональными антителами 5B-IVIA и универсальными праймерами P1/P2 и s1/as2. Однако их реакция с моноклональными антителами 4DG5, специфичных по отношению к штамму PPV-D, была слабой и нестабильной. Секвенирование продуктов, амплифицированных праймерами P1/P2 и s1/as2, выявило несомненную принадлежность данных изолятов к штамму PPV-D. Дополнительным подтверждением этого является наличие сайтов рестрикции RsaI и AluI на 3'-конце гена белка оболочки. Согласно данным филогенетического анализа, выявленные нами изоляты BelR-132, S-33 и VolV-114 образуют один кластер с референтными изолятами Penn-12 и SC штамма PPV-D и не родственны с аналогичными изолятами штаммов PPV-C (SoC, BY-101), PPV-CR (FI-1, Kp8-2U) и PPV-W (LV-141pl, LV-145bt) (рис. 4).

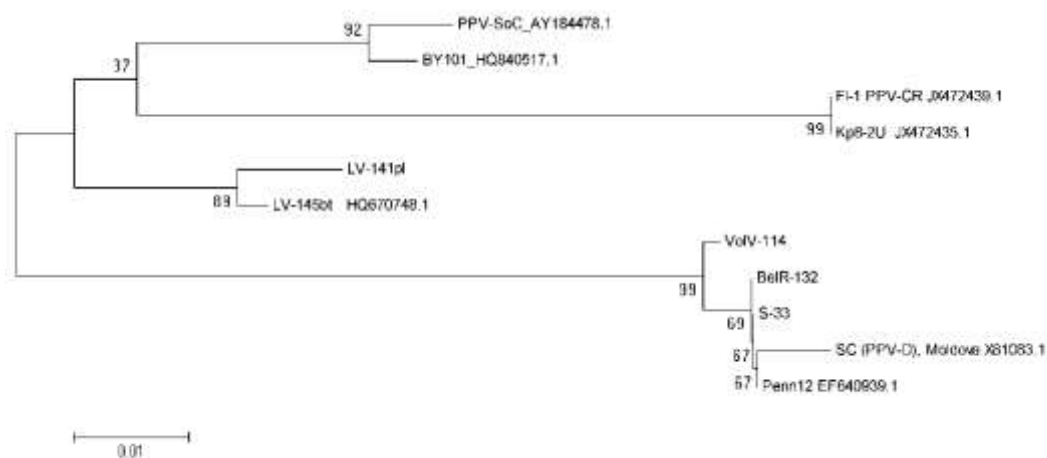


Рис. 4. Филогенетический анализ выявленных на вишне российских изолятов штамма PPV-D по продуктам 243 п.о., амплифицируемым праймерами P1/P2

Симптомы штаммов PPV-C, PPV-CR и PPV-D на инфицированных растениях вишни проявляют существенные различия. При заражении изолятами второго из названных штаммов в период проведения обследований (конец июня) на листьях в нижней части однолетних побегов преимущественно наблюдались отчетливые признаки пожелтения главных жилок, в средней части побегов – расположенный ближе к жилкам хлоротический или светло-зеленый рисунок и кольцевая, а на верхушечных листьях – слабовыраженная пятнистость в сочетании с деформацией листовых пластинок (рис. 5), а при инфицировании PPV-C зафиксированы симптомы кольцевой пятнистости и рисунка светло-зеленой окраски. Эти симптомы более чётко выражены на листьях корневой поросли, но в целом хорошо различимы лишь при просмотре в проходящем свете (рис. 6). Для штамма PPV-D было характерно наличие симптомов мозаики и слабой хлоротической пятнистости, а типичные для шарки кольца или кольцевая пятнистость не развивались (рис. 7).



а) листья у основания однолетних побегов



б) листки из средней части побегов



в) листья на верхушках однолетних побегов

Рис. 5. Динамика развития симптомов штамма PPV-CR (Самарская область, 2012 г.)



Рис. 6. Симптомы заражения растения вишни изолятом PPV- С (Волгоградская область, 2011 г.)



Рис. 7. Симптомы заражения растения вишни изолятом штамма PPV-D (Московская область, 2011 г.)

Выводы. В связи с тем, что вирус шарки сливы широко распространяется на новых территориях, целесообразно охватывать обследованиями все большие площади. Необходимо уделять особое внимание диагностике заболевания, так как затраты на нее несоизмеримы с потерями от заражения вирусом и расходами на искоренение инфекции и восстановление садов. Только своевременное выявление опасной болезни при выращивании и реализации посадочного материала косточковых плодовых позволит уменьшить распространение данного карантинного объекта на территории разных стран, где выращиваются эти культуры.

Список использованной литературы

1. Приходько Ю.Н. Распространенность вирусных болезней косточковых культур в Европейской части России / Ю.Н. Приходько, С.Н. Чирков, К.В. Метлицкая, Л.В. Цубера // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 1. – С. 26-32.

2. *Приходько Ю.Н.* Выявление необычных штаммов вируса шарки сливы (*Plum pox virus*) на косточковых культурах в Российской Федерации / Ю.Н. Приходько, Т.С. Живаева, Ю.А. Шнейдер // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Интегрированная защита растений: стратегия и тактика». Минск, Республика Беларусь. – 2011. – С. 567-574.
3. *Приходько Ю.Н.* Изучение штаммов вируса шарки сливы / Ю.Н. Приходько, Е.С. Мазурин, Т.С. Живаева, Ю.А. Шнейдер, Е.Е. Соколова // Защита и карантин растений. – 2011. – № 11. – С. 29-32.
4. *Приходько Ю.Н.* Выявление нового штамма вируса шарки сливы на вишне в Поволжском регионе / Ю.Н. Приходько, Т.С. Живаева, Ю.А. Шнейдер, Е.С. Мазурин // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ ВСТИСП. Т. XXIX, часть 2. – 2012. – С. 108-114.
5. *Упадышева Г.Ю.* Зараженность клоновых подвоев косточковых культур вирусами и их влияние на эффективность размножения зелеными черенками / Г.Ю. Упадышева, М.Т. Упадышев, П.А. Походенко // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. трудов ВСТИСП. Т. XXIV, часть 2. – 2010. – С. 127-131.
6. *Bodin M.* Distribution of the sour cherry isolate of Plum pox virus in infected Prunus rootstocks / M. Bodin, M. Glasa, D. Verger, E. Costes, F. Dosba // J. Phytopath. Vol. 151. – 2003. – P. 625-630.
7. *Bodin M.* Sour cherry isolate of Plum pox virus (PPV-SoC): monitoring of viral distribution in infected Prunus rootstocks / M. Bodin, D. Verger, E. Coste, F. Dosba, M. Glasa // Acta Horticulturae. – 2004. – № 657. – P. 225-229.
8. *Boeglin M.* Risk assessment of contamination of cherry trees by Plum pox virus in France / M. Boeglin, J.B. Quiot, G. Labon // Acta Horticulturae. – 2004. – № 657. – P. 221-224.
9. *Candresse T.* Analysis of the epitope structure of Plum pox virus coat protein / T. Candresse, P. Saenz, J.A. García, D. Boscia, M. Navratil, M.T. Gorris, M. Cambra // Phytopathology. Vol. 101. – 2011. – P. 611-619.
10. *Chirkov S.* Molecular analysis of Russian Plum pox virus isolates naturally infecting sour cherry / S. Chirkov, A. Kudryavtseva, P. Ivanov, A. Sheveleva, N. Melnikova // 2nd Int. Symp. on Plum pox virus. – Olomouc, September 3-6, 2013. – P.18.
11. *Crescenzi A.* Plum pox virus (PPV) on sweet cherry / A. Crescenzi, M. Nuzzaci, P. Piazzolla, A. Hadidi // Acta Horticulturae. – 1995. – № 386. – P. 219-225.
12. *Crescenzi A.* Further characterization of the sweet cherry isolate of plum pox potyvirus / A. Crescenzi, L. d'Aquino, S. Gomes, M. Nuzzaci, P. Piazzolla, A. Hadidi // Proceedings of the Middle European Meeting on Plum Pox. – Budapest, 1996. – P. 99-103.
13. *Crescenzi A.* Characterization of the sweet cherry isolate of plum pox potyvirus / A. Crescenzi, L. d'Aquino, S. Gomes, M. Nuzzaci, P. Piazzolla, D. Boscia, A. Hadidi // Plant Disease. Vol. 81. – 1997. – P. 711-714.
14. *Crescenzi A.* Production of strain specific antibodies against a synthetic polypeptide corresponding to the N-terminal region of the Plum pox potyvirus coat protein / A. Crescenzi, L. d'Aquino, M. Nuzzaci, A. Ostuni, A. Bavoso, S. Gomes, A. de Stradis, P. Piazzolla // J. Virol. Methods. Vol. 69. – 1997. – P. 181-189.
15. *Desvignes J.C.* Cherry plum pox potyvirus: receptivity of cherry trees and hosts of the sour cherry strain / J.C. Desvignes, N. Grasseau, R. Boye, P. Gentil // Acta Horticulturae. – 1998. – № 472. – P. 351-354.
16. *Dosba F.* Experimental transmission of plum pox virus (PPV) to Prunus mahaleb and Prunus avium / F. Dosba, P. Maison, M. Lansac, G. Massonnie // J. Phytopathology. Vol. 120. – 1987. – P. 199-204.
17. *Fanigliulo A.* Evaluation of cherry cultivars for their response to infection by plum pox virus sweet cherry strain / A. Fanigliulo, S. Gomes, A. Crescenzi // Acta Horticulturae. – 2004. – № 657. – P. 309-316.

18. *Fanigliulo A.* The complete nucleotide sequence of Plum pox virus isolates from sweet (PPV-SwC) and sour (PPV-SoC) cherry and their taxonomic relationships within the species / A. Fanigliulo, S. Gomes, E. Maiss, P. Piazzolla and A. Crescenzi // Arch. Virol. Vol. 148. – 2003. – P. 2137-2153.
19. *Festić H.* Prunus mahaleb novi domacini virusa šarka u prirodi / H. Festić // Microbiologia. – 1973. – № 1. – S. 7-30.
20. *Festić H.* Investigation of new sharka virus hosts / H. Festić // Acta Horticulturae. – 1977. – № 74. – P. 233-237.
21. *Glasa M.* Complete and partial genome sequences of the unusual Plum pox virus (PPV) isolates from sour cherry in Russia suggest their classification to a new PPV strain / M. Glasa, Y. Prichod'ko, T. Zhivayeva, Y. Shneider, L. Predajňa, Z. Šubr, T. Candresse // 22nd International Conference on Virus and Other Transmissible Diseases of Fruit Crops (ICVF), Rome, June 3-8, 2012. – P. 234.
22. *Glasa M.* Characterization of sour cherry isolates of Plum pox virus from the Volga Basin in Russia reveals a new cherry strain of the virus / M. Glasa, Y. Prikhodk'o, L. Predajňa, A. Nagyová, Y. Shneyder, T. Zhivaeva, Z. Šubr, M. Cambra, T. Candresse // Phytopathology. Vol.103. – 2013. – №9. – P.972-979.
23. *Isac M.* Detection of the viral diseases presently with the stone fruit species in Romania / M. Isac, C. Plopa, M. Calinescu, A. Myeta //XX Int. Symp. Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops // Acta Horticulturae. – 2008. – № 781. – P. 245.
24. *Kalashjan Y.A.* Plum pox virus in cherry / Y.A. Kalashjan, N.D. Bilkey // Conference of Czechoslovak Plant Pathologists. – 1989. – P. 276-306.
25. *Kalashjan Y.A.* Plum pox virus in cherry / Y.A. Kalashjan, N.D. Bilkey, E.V. Rubina // Acta Horticulturae. – 1988. – № 193. – P. 42-43.
26. *Kalashjan Y.A.* Plum pox potyvirus on sour cherry in Moldova / Y.A. Kalashjan, N.D. Bilkey, T.D. Verderevskaya, E.V. Rubina // Bull. OEPP/EPPO Bulletin. Vol. 24. – 1994. – № 3. – P. 645-649.
27. *Kajić V.* Plum pox virus on sour cherry in Croatia / V. Kajić, S. Černi and D. Škorić // 22nd Int. Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, Rome, June 3-8, 2012. Book of Abstracts. – P. 157.
28. *Kolber M.* A five-year study to determine the eventual occurrence of Plum pox virus in cherry cultivars in Hungary / M. Kolber, M. Nemeth, G. Tokes, L. Krizbai, S. Szonieg, I. Ember et al. // Acta Hort. – 1998. – № 472. – P. 495-502.
29. *Maejima K.* Molecular epidemiology of Plum pox virus in Japan / K. Maejima, M. Himeno, K. Komatsu, Y. Takinami, M. Hashimoto, S. Takahashi, Y. Yamaji, K. Oshima, S. Namba //Phytopathology. Vol. 101. – 2011. – P. 567-574.
30. *Malinovski T.* Partial characterisation of biological properties of PPV-C isolates found in Belarus and establishment of in vitro cultures of infected L2 and OWP-6 rootstocks / T. Malinovski, I. Sowik, A.V. Salavei, N.V. Kukharchyk // 22nd Int. Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, Rome, June 3-8, 2012 / Book of Abstracts. – P. 152.
31. *Maxim A.* Plum pox virus in cherry-trees / A. Maxim, M. Ravelonandro, M. Isac, I. Zagrai // XVIII Int. Plant Virus Epidemiol. Symp. – 2002. – P. 101-102.
32. *Myrta A.* Production of two monoclonal antibodies specific to cherry strain of plum pox virus (PPV-C) / A. Myrta, O. Potere, A. Crescendo, M. Nuzzaci, D. Boscia // J. Plant Pathol. Vol. 82. – 2000. – P. 95-103.
33. *Navratil M.* The occurrence of PPV in cherry trees in the Czech Republic / M. Navratil, D. Satafora, A. Crescenzi, A. Fanigliulo, S. Gomes, K. Petzik, M. Karesova // Acta Horticulturae. – 2004. – № 657. – P. 237-244.
34. *Nemchinov L.* Characterization of the sour cherry strain of plum pox virus / L. Nemchinov, A. Hadidi // Phytopathology. Vol. 86. – 1996. – P. 575-580.

35. *Nemchinov L.* Specific oligonucleotide primers for the direct detection of plum pox potyvirus – cherry subgroup / L. Nemchinov, A. Hadidi // *J. Virol. Methods.* 70. – 1998. – P. 231-234.
36. *Nemchinov L.* Sour cherry strain of plum pox potyvirus (PPV): molecular and serological evidence for a new subgroup of PPV strains / L. Nemchinov, A. Hadidi, E. Maiss, M. Cambra, T. Candresse, V. Damsteegt // *Phytopathology.* Vol. 86. – 1996. – P. 1215-1221.
37. *Nemchinov L.* Molecular evidence for the occurrence of plum pox virus-cherry subgroup in Hungary / L. Nemchinov, A. Hadidi, M. Kolber, M. Nemeth // *Acta Horticulturae.* – 1998. – № 472. – P.503-510.
38. *Nemchinov L.* Present status of the new cherry subgroup of Plum pox virus (PPV-C) / L. Nemchinov, A. Crescenzi, A. Hadidi, P. Piazzolla, T. Verderevskaya / In: *Plant Virus Disease Control.* Hadidi A., Khetarpal P.K., Koganezawa H. (eds). – MN, USA, St. Paul: APS Press, 1998. – P. 629-638.
39. *Prichod'ko Y.* Plum pox virus (PPV) in Russia / Current status of Plum pox virus and sharks disease worldwide / Y. Prichod'ko // *Bull. OEPP/EPPO Bull.* Vol. 36. – 2006. – P. 205-218.
40. *Salavey A.* Detection of Plum pox virus in regions of Belarus / A. Salavey, M. Kastriskaya, N. Valasevich, N. Kukharchyk // 22nd Int. Conference on Virus and Other Transmissible Diseases of Fruit Crops (ICVF), Rome, June 3-8, 2012. – P. 242.
41. *Šubr Z.* A simplified RT-PCR-based detection of recomb James D., Varga A., Thompson D., Hayes S. / Z. Šubr, S. Pittnerova, M. Glasa // *Detection of a new and unusual isolate of Plum pox virus in plum (Prunus domestica).* *Plant Disease.* Vol. 87. – 2003. – P. 1119-1124.
42. *Szemes M.* Integrated RT-PCR/nested PCR diagnosis for differentiating between subgroups of plum pox virus / M. Szemes, M. Kalman, A. Verta, D. Boscia, M. Nemrth, M. Kolber, L. Dorgai // *J. Gen. Methods.* Vol. 92. – 2001. – P. 165-175.
43. *Tolay Arikan E.* Identification of Plum pox virus and some ilarviruses of stone fruits in Kahramanmaras district of Turkey / E. Tolay Arikan, K. Caglayan, M.H. Gazel // *Acta Horticulturae.* – 2004. – № 657. – P. 269-273.
44. *Topchiiska M.* Sweet and sour cherries - natural hosts of plum pox (sharka) virus / M. Topchiiska // *Proceedings of the Middle European Meeting on Plum Pox.* – Budapest, 1997. – P. 91-93.
45. *Topchiiska M.* Plum pox (sharka) on some Prunus spp. in Bulgaria / M. Topchiiska // *Proceedings of the Middle European Meeting on Plum Pox.* – Budapest, 1997. – P. 94-98.
46. *Udovychenko V.M* Plum pox virus in plantings of stone fruit crops in Ukraine / V.M. Udovychenko, S.A. Vasyuta, N.V. Tryapitsyna, M.P. Taranukho, K.M. Udovychenko, K.I. Suprun // *V Int. Conf. «Bioresources and viruses».* – Kiev, 2007. – P. 204.
47. *Wetzel T.* Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of the RNA of the El Amar strain of plum pox potyvirus / T. Wetzel, T. Candresse, M. Ravelonardo, R.P. Delbos, H. Mazyad, A.E. Aboul-Ata, J. Dunez // *J. Gen. Virol.* Vol. 72. – 1991. – P. 1741-1746.
48. *Wetzel T.* A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection / T. Wetzel, T. Candresse, M. Ravelonardo, J. Dunez // *J. Gen. Methods.* Vol. 33. – 1991. – P. 355-365.

Одержано редколегією

05.01.14

1. Процент идентичности последовательностей нуклеотидов (верхняя строка) и аминокислот (нижняя строка в скобках) между различными участками генома изолята SamSg-15/2 (RU-30sc) и соответствующими участками генома изолятов других штаммов PPV [22]

Штамм, изолят, № в генбанке	5'UTR	P1	HC-Pro	P3	PIPO	6K1	CI	6K2	NIa	NIb	CP	3'UTR	Полный геном (nt)	Полный полипротеин (aa)
PPV-C, BY181 (HQ840518)	82.2	85.0 (93.8)	84.9 (96.7)	81.1 (86.3)	87.9 (77.9)	82.1 (92.3)	82.9 (96.5)	79.9 (88.7)	82.3 (94.7)	82.2 (93.2)	85.6 (90.7)	95.4	83.5	93.5
PPV-W, LV-145bt (HQ670748)	68.5	77.7 (79.9)	82.0 (93.7)	80.4 (84.6)	88.2 (79.8)	84.6 (92.3)	81.7 (95.7)	71.7 (75.5)	81.9 (92.9)	83.9 (93.6)	81.9 (83.9)	93.5	81.6	90.3
PPV-M, SK68 (M92280)	60.3	76.0 (79.5)	79.5 (91.7)	75.0 (77.4)	81.4 (69.2)	82.1 (88.5)	79.2 (94.0)	76.7 (83.0)	76.6 (89.7)	81.6 (92.9)	81.4 (80.9)	92.6	78.8	88
PPV-T, AbTk (EU734794)	63	75.9 (78.9)	79.4 (91.0)	74.7 (77.1)	80.5 (67.3)	78.8 (90.4)	79.8 (94.5)	75.5 (83.0)	76.5 (90.4)	81.7 (93.4)	80.3 (79.6)	92.2	78.7	88
PPV-Rec, BOR-3 (AY028309)	63	75.1 (77.9)	79.5 (91.9)	75.6 (78.9)	81.1 (68.6)	78.2 (90.4)	79.6 (95.3)	79.9 (90.6)	77.3 (90.1)	79.6 (93.6)	81.4 (81.5)	92.2	78.6	88.7
PPV-D, Vulcan (AY912057)	61.6	75.3 (78.6)	79.3 (91.5)	76.1 (78.9)	81.7 (69.6)	76.9 (90.4)	79.3 (94.8)	79.9 (88.7)	77.6 (90.4)	78.8 (92.5)	79.3 (79.3)	94.0	78.3	88.1
PPV-EA, ElAmar (DQ431465)	62.3	73.7 (79.9)	78.6 (90.4)	74.5 (81.1)	82.4 (71.2)	75.6 (84.6)	77.8 (94.6)	80.5 (94.3)	75.9 (89.0)	80.4 (92.7)	78.7 (78.9)	93.5	77.5	88.1

