УДК 578:632.3

І.Д. Жунько[1], Н.В. Ліманська[1], Б.Н. Мілкус[2], В.О. Іваниця[1]

[1]Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: zynkin@te.net.ua
[2]Одеський державний аграрний університет,
вул. Пантелеймонівська, 13, Одеса, Україна

ВІРУСИ ТА ВІРУСНІ ХВОРОБИ ВИНОГРАДУ (*VITIS SP.*)

В огляді розглянуто літературні дані щодо шкодочинних вірусів – збудників захворювань винограду. Наведено таксономічне положення вірусів, їх морфологічні властивості, особливості геному та реплікації. Описано симптоми захворювань, які вони викликають. Розглянуто епідеміологічні питання, заходи боротьби та сучасні методи діагностики.

Ключові слова: вірус коротковузля винограду, вірус мармуровості винограду, вірус скручування листя винограду, комплекс борознистості деревини.

В різних кліматичних зонах, у багатьох країнах світу широко культивується виноград (*Vitis sp*.), але з причин вірусних захворювань щорічні втрати урожаю становлять не менше 10 % [8]. Вірусні захворювання можуть пригнічувати ріст коренів, пагонів, листя, ягід, перешкоджати запиленню, викликати пігментацію різних органів і порушувати різні аспекти метаболізму – дихання, фотосинтез, перенесення асимілятів [46]. Хворі кущі можуть загинути. Досить часто перебіг вірусних хвороб спостерігається у прихованій формі – без наявних симптомів захворювання [17, 26]. Найчастіше виявляються серед виноградних кущів рослини, уражені такими вірусами, як коротковузля (GFLV), скручування листя винограду 1–9 серотипів (GLRaV 1–9), мармуровості винограду (GFkV), вірусами А та В винограду (GVA, GVB), вірусами борознистості деревини Рупестріс (RSPaV) та ямкуватості деревини ЛН 33 [38, 44]. GVA і GVB пов’язані, відповідно, з такими захворюваннями, як ямкуватість деревини Кобера і опробковіння кори [6]. Віруси розповсюджуються з ураженим посадковим матеріалом та нематодами [3]. Зрідка вони переносяться під час цвітіння з пилком та насінням, а також механічним шляхом. Частіше віруси виявляються на щепленій культурі винограду порівняно з кореневласною. Тільки сертифікація посадкового матеріалу дає впевненість у тому, що рослини вільні від шкодочинних вірусних інфекцій [26, 38, 46].

© І.Д. Жунько, Н.В. Ліманська, Б.Н. Мілкус, В.О. Іваниця, 2015

Найбільш шкодочинними вірусними захворюваннями є коротковузля та скручування листя. Вони поширені в усіх виноградарських районах світу, призводять до значних втрат винограду і погіршують його якість [10, 31, 44].

Розглянемо детальніше вищезазначені віруси і захворювання, які вони спричиняють.

Вірус коротковузля винограду (Grapevine fanleaf virus – GFLV) згідно з 9-м повідомленням Міжнародного комітету з таксономії вірусів (Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV) належить до роду *Nepovirus* підродини *Comovirinae* родини *Secoviridae* порядка *Picornavirales* [10, 25]. GFLV представлений трьома групами штамів: коротковузля, жовтої мозаїки та облямування жилок [3].

Як і у всіх представників роду *Nepovirus*, капсид GFLV складається з одного білка з молекулярною масою (Mr) 55–60 кДа, що має гідрофобні властивості [40]. Кожна вірусна частинка містить 60 субодиниць даного білка. Вірус ізометричний без зовнішньої оболонки, з ікосаедричним типом симетрії (T=1), у діаметрі 28–30 нм, містить дві молекули лінійної одноланцюгової (+) РНК ($_{ол}$РНК), які несуть вірусний білок, ковалентно зв'язаний з геномом (viral genome-linked protein – VPg) на 5'-кінці [35, 40]. Очищені препарати вірусу розділяються в градієнті щільності цукрози на три фракції: T – top, що містить порожні частинки, M – middle, який містить покривний білок (СР) і РНК2 (70 % та 30 %, відповідно) і B – bottom, що містить СР і РНК1 (58 % та 42 %), котрий, у свою чергу, складається з двох компонентів [1, 10, 31]. РНК1 має довжину 7342 основи (о.), одну відкриту рамку зчитування (ВРЗ) розміром 6852 о., розташовану між 243 і 7101 нуклеотидами, котра кодує поліпротеїн P1 з Mr 253 кДа, що складається з 2284 амінокислот, з якого протеолітичним розщепленням формується нуклеозидтрифосфат (НТФ)-зв'язувальний білок 1A, геліказа 1B, VPg 1C, протеїназа 1D і полімераза 1E, які відповідають за реплікацію як РНК1, так і РНК 2 [10, 36, 40]. РНК2 має довжину 3900 о., одну ВРЗ розміром 3555 о. і кодує поліпротеїн P2 з Mr 122 кДа, із котрого внаслідок протеолізу (протеїназа 1D) утворюються структурні і неструктурні білки: 2A білок, який відповідає за реплікацію РНК2, покривний 2C білок, зв'язаний з передачею вірусу ґрунтовими нематодами, і транспортний 2B білок (MP), котрий акумулюється у великих концентраціях у цитозолі інфікованих клітин і зв'язується з клітинними стінками [10, 35, 36]. Іноді ідентифікується лінійна сателітна РНК3 ($_{sat}$РНК) довжиною 1114 о. з одною ВРЗ розміром 341 о., яка кодує гідрофільний поліпептид з Mr 37 кДа. В геномних РНК та в $_{sat}$РНК є полі(A) хвіст на 3'-кінці і VPg 4–6 кДа на 5'-кінці [15, 36, 40]. РНК3 потребує РНК1 і РНК2 для реплікації та інкапсидації, її присутність впливає на прояв симптомів і зменшення продукування вірусу [15, 35, 40]. Наявність двох (+) $_{ол}$РНК є необхідною для системної інфекції, спільна геномна РНК є інфекційною, розділені РНК самостійно неінфекційні. Інфекційність асоціюється в основному з нижнім (B) компонентом.

Реплікація вірусу відбувається в цитоплазматичних включеннях, мембранні везикули котрих є місцем процесингу вірусних поліпротеїнів і реплікації РНК.

Так через 48 год після проникнення вірусної РНК в клітину агрегати вірусних компонентів, що кодуються РНК1, акумулюються навколо ядра. Транспортний білок 2В (MP) з'єднується з плазмодесмами і формує тубули, через котрі вірусні частинки проникають до незаражених клітин, або вбудовуються у виступи клітинних стінок [1, 10, 35]. Віріони збираються і акумулюються в цитоплазмі клітин мезофіла, часто у вигляді кристалів. Виявляються також в тубулах, що проникають з клітини в клітину, і можуть бути місцем їх міжклітинного транспорту [7]. Агрегати вірусних часточок входять до складу великих везикулярно-вакуолярних включень, що складаються з рибосом, ендоплазматичного ретикулюма та мембранних міхурців – везикул, які містять дрібні фібрили. Ряди порожніх часточок іноді зустрічаються в нуклеоплазмі [36].

Природні переносники вірусу – нематоди *Xiphinema index* [12] і *X. italiae* [10, 35]. Вірус також передається механічною інокуляцією трав'янистих тест-рослин та з посадковим матеріалом [17]. Передача вірусу насінням винограду не встановлена, хоча вірус виявлений у оболонці ендосперму насіння і пилку [1]. Коротковузля завдає виноградарству великих економічних збитків, зниження урожайності в тяжких випадках досягає і перевищує 50 % і пов'язане з високою вірулентністю штамів вірусу. Уражений виноград вироджується [10, 30, 35]. Хвороба знижує укорінення чубуків і приживлення саджанців.

Симптоми захворювання дуже варіюють і залежать від сприйнятливості сорту та вірулентності патогена. На самому початку зараження на листях з'являються світло-зелені звивисті лінії, кільця і плями. Згодом хлоротичні листя починають всихати по краях, проявляються системні симптоми у вигляді асиметрії, редукції листя, аномального жилкування, широко відкритих черешкових виїмок, глибоких або відсутніх бокових вирізок, загострених і видовжених зубчиків (рис. 1) [8]. На пагонах спостерігаються подвійні вузли, короткі проміжки між ними, ненормальна галузистість, фасціація, зигзагоподібний ріст. Грона нечисленні, дрібні, спостерігається горошіння, а потім і осипання ягід. У хворих рослин корені менше розвинуті, ніж у здорових. Кущі поступово вироджуються і гинуть [1, 10, 31].

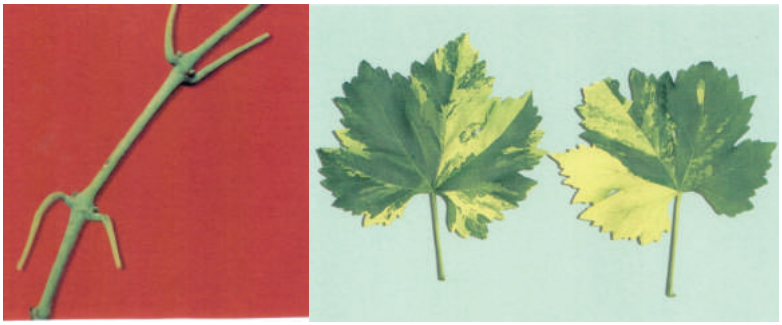


Рис. 1. Симптоми коротковузля винограду:
а – подвійні вузли, б – хлороз.

Fig. 1. Symptoms of the grapevine fanleaf disease:
a – double nodes, b – chlorosis.

Вірус мармуровості винограду (Grapevine fleck virus – GFkV). Геномна організація GFkV, біологія, епідеміологія, цитологія і молекулярні властивості свідчать про те, що він відноситься до роду *Maculavirus* родини *Tymoviridae* порядка *Tymovirales* [25, 32, 39].

GFkV – латентний флоемо-обмежений вірус, який не передається механічно, ізометричний, має розмір 28–30 нм [31, 39, 41]. Віріони округлої форми мають поверхневу структуру, що утворюється білком 28 кДа, згрупованим у пента- і гексамери. Геном віруса являє собою (+) $_{од}$РНК, що має довжину, не враховуючи полі(А) хвіст з 3'кінця, 7564 о. з чотирма рамками зчитування, транскрипція котрих відбувається в 5' → 3' напрямі [32, 39]. Вірус седиментує двома компонентами: верхнім (Т – top), що містить порожні часточки і нижнім (В – bottom), що містить 35% РНК [32] з константами седиментації 52S і 120S [39]. ВРЗ1 (з 291 по 6140 о.) кодує поліпептид з Mr 215,4 кДа, який зв'язаний з реплікацією вірусної РНК і несе консервативні мотиви метилтрансферази, гелікази і РНК-залежної РНК-полімерази. ВРЗ2 (з 6366 по 7058 о.) кодує покривний білок з Mr 24,3 кДа, ВРЗ3 і ВРЗ4 розташовуються на 3'-кінці вірусної РНК і кодують пролінові білки з Mr 31,4 кДа та 15,9 кДа, відповідно, функція котрих поки що не з'ясована. Також у геномі вірусу є ділянки, які не транслюються, розміром 291 о. та 35 о. на 5' і 3' кінцях, відповідно. Характерною рисою РНК вірусу мармуровості винограду є високий вміст цитозину, близько 49,4% від загальної кількості основ, тоді як урацилу міститься 19,6%, гуаніну – 16,6%, аденіну – 14,4% [32, 39].

Інфіковані клітини винограду містять цитопатичні структури, які називають мультивезикулярними тільцями, що походять від мітохондрій у процесі периферійного утворення везикул. Можливо, що саме у них і відбувається реплікація вірусу [32, 39].

Це захворювання поширене в усіх виноградарських районах світу [39, 41]. Вірус розповсюджується з посадковим матеріалом винограду. Природний переносник мармуровості або відсутній, або не установлений. Збудник з насінням винограду не передається. На трав'янисті індикатори соком не переноситься [1, 31]. Вірус уражує європейські сорти, гібриди – прямі плідники і більшість підщепних сортів. Хвороба відома тільки на винограді, найчастіше протікає у латентній формі [5, 39].

Симптоми хвороби особливо чітко виявляються на підщепі Рупестріс дю Ло, яку використовують в усіх вірусологічних лабораторіях світу як індикатор мармуровості. Основною ознакою захворювання є просвітлення жилок третього порядку і прилеглих до них тканин. Залежно від вірулентності патогена кількість просвітлених жилок варіює [8]. Розвиток рослини-індикатора пригнічується у разі сильного розвитку симптомів. Ознаки хлорозу проявляються сильніше, листя стає дрібним, звивистим з піднятими догори краями. Спостерігається рясне утворення пасинків. Симптоми розвиваються в основному на листках верхнього яруса, на нижніх листках вони замасковані. Мозаїчність листя краще виявляти у прохолодну погоду, а з настанням постійно високої температури інтенсивність симптомів слабшає [1, 31].

На ультратонких зрізах тканин хворих рослин в клітинах-супутницях ситоподібних трубок виявлені сферичні частинки, які мають розмір близько 28 нм, упорядковано упаковані в агрегати, а також поодиноко розкидані в матриксі клітини. Агрегати частинок оточені двошаровою оболонкою, вони можуть мати різний розмір і форму [1].

Вірус скручування листя винограду. Grapevine leafroll-associated virus (GLRaV). За останніми даними ICTV диференціюють дев'ять різних серотипів вірусу скручування листя винограду – GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4, GLRaV-5, GLRaV-6, GLRaV-7, GLRaV-8, GLRaV-9 [8, 25].

Їхня класифікація ґрунтується на відмінностях у розмірі вірусних часточок, молекулярної маси капсидного білка та епідеміології [13, 20]. Переважно усі види GLRaV, що переносяться псевдококцидами, були виокремлені у рід *Ampelovirus* [11, 20, 25, 33] інші відносяться до роду *Closterovirus* родини *Closteroviridae* [4]. Однак, останнім часом планують виділити до окремого запропонованого роду *Velarivirus* вірус GLRaV-7 [9, 24]. Також GLRaV-8 не може розглядатися як вид у родині *Closteroviridae,* що пов'язано з особливостями його генома [33].

Дуже гнучкі нитки віруса довжиною 1200-2200 нм і діаметром 12 нм мають спіральну симетрію з кроком 3,4-3,8 нм [31]. На оберт спіралі припадає близько 10 білкових субодиниць [11]. Віріони містять одну молекулу геномної лінійної $(+)_{ол}$РНК, котра складає 5–6% маси віріона. Геноми різних вірусів відрізняються за довжиною від 15000 о. до 19300 о. у представників роду *Closterovirus*, від 16900 о. до 19500 о. у представників роду *Ampelovirus* і 16496 о. у ізолятів представника роду *Velarivirus* [9, 24]. РНК має кеп на 5'-кінці, на 3'-кінці полі(А) відсутній [33]. Віріони седиментують однією або двома зонами в градієнтах щільності цукрози. Є один основний капсидний білок (CP) з молекулярною масою 23–28 кДа (решта серотипів вірусів, представників роду *Ampelovirus* мають капсидний білок – 35–43 кДа), а також мінорний дивергентний капсидний білок (CPd), цистрон котрого у клостеровірусів розміщується в геномі вище цистрона основного капсидного білка, тоді як у ампеловірусів – нижче [11, 13, 28, 33]. З генома транслюється також 8–10 неструктурних білків, з яких найбільший – 300–350 кДа містить послідовності цистинової протеази, метилтрансферази, аспартилової протеази і гелікази [28]. Інші білки, можливо, мають функції РНК-залежної РНК-полімерази та транспортну. Мінорний білок – дублікат білка оболонки, імовірно, не входить до структури віріона. Також є білки теплового шоку 70 та 90 [29].

Геном містить 8–13 ВРЗ, які частково перекриваються, вони експресуються у складному процесі протеолітичного процесингу, зсуву рамки зчитування та синтезу субгеномних матричних РНК ($_{м}$РНК) та кодують відповідну кількість функціональних білків. Так, у GLRaV-3 геном розміром 17919 о. має 13 відкритих рамок зчитування, транскрипція яких відбувається у 5'→ 3'напрямі [11, 14, 28]. ВРЗ1а кодує поліпептид Mr 254 кДа, з котрого у процесі злиття з продуктом, який кодує ВРЗ1b, утворюється великий поліпептид з Mr 306 кДа. ВРЗ1а відповідає за утворення протеази, метилтрансферази та гелікази (77 кДа),

ВРЗ1b – РНК-залежної РНК-полімерази (61 кДа). ВРЗ2 кодує маленький гідрофобний білок з Mr 6 кДа, ВРЗ3 – маленький трансмембранний білок з Mr 6 кДа, ВРЗ4 – білок теплового шоку 70 (HSP70) з Mr 59 кДа, ВРЗ5 – білок з Mr 55 кДа, ВРЗ6 відповідає за синтез покривного білка (CP) з Mr 35 кДа [28], а ВРЗ7 – за синтез дивергентного покривного білка (CPd) з Mr 53 кДа. ВРЗ8 кодує білок з Mr 21 кДа, ВРЗ9 – білок з Mr 20 кДа, ВРЗ10 – білок з Mr 20 кДа, ВРЗ11 білок з Mr 4 кДа, ВРЗ12 – білок з Mr 7 кДа. Також в геномі GLRaV-3 є регіон, який не транслюється, розміром 277 о. Філогенетичний аналіз протеїназного, геліказного, РНК-залежного РНК-полімеразного, метилтрансферазного та інших доменів вказує на чітко виражені відмінності між клостеровірусами, які переносяться псевдококцидами, та іншими представниками родини *Closteroviridae*, що також свідчить про доцільність створення родів *Ampelovirus* та *Velarivirus* [9, 24, 28, 29]. На відміну від генома GLRaV-3, геном GLRaV-1 розміром 19500 о. містить 10 відкритих рамок зчитування, геном GLRaV-7 також містить 10 ВРЗ. [9, 24, 25, 33]. ВРЗ3 кодує білок теплового шоку 70 (HSP70), ВРЗ4 – білок теплового шоку 90 (HSP90), ВРЗ5 відповідає за синтез покривного білка, ВРЗ6 та ВРЗ7 кодують дві дивергентні копії покривного білка CPd1 та CPd2 з Mr 56 та 50 кДа, відповідно, а ВРЗ8 та ВРЗ9 – два білка з Mr 22 та 24 кДа та невідомими функціями. Але, не зважаючи на невеликі відмінності в будові, GLRaV-3 та GLRaV-1 мають близьку філогенетичну спорідненість [14, 20, 29].

Реплікація вірусів відбувається в цитоплазмі і пов'язана з мембранними везикулами цитоплазми і мітохондрій. HSP70 і CPd локалізуються на периферії клітини і беруть участь у міжклітинному транспорті, маленький гідрофобний білок індукує утворення везикул ендоплазматичним ретикулюмом, котрі зв'язані з мультивезикулярними тільцями [28]. Білок, який кодується ВРЗ9, має здатність проникати до ядра, взаємодіяти з факторами клітини-хазяїна, що призводить до порушення регуляції клітинного циклу та механізмів захисту хазяїна. Інфіковані клітини винограду містять довгі, гнучкі нитки 12 нм в діаметрі та цитопатичні структури, похідні мітохондрій в процесі периферійного утворення везикул. У рослин, які інфіковані вірусом скручування листя винограду 1 серотипу, везикули розміром 50–100 нм розта-шовані між внутрішньою і зовнішньою мембраною мітохондрій і формують характерну "корону" навколо органели, що є диференціальною ознакою для даного серотипу віруса. Крісти також долучаються до процесу периферійного утворення везикул, тоді як строма мітохондрій деградує. Вірусні частинки збираються у пучки, котрі є в цитоплазмі клітин паренхіми флоеми [13, 20].

Захворювання поширене в усіх виноградарських країнах світу і вважається одним із найбільш шкодочинних вірусних захворювань винограду [30]. З відомих дев'яти серотипів віруса у світі дуже поширені 1 і 3 серотипи. Скручування листя передається щепленням і поширюється з посадковим матеріалом [4]. Переносниками GLRaV-1, GLRaV-3, GLRaV-4, GLRaV-5, GLRaV-6, GLRaV-9 є борошнисті червеці, переважно псевдококциди – *Planococcus ficus, Pl. citri, Pseudococcus affinis, Ps. calceolariae, Ps. longispinus* [20, 25, 31, 43], *Heliococcus bohemicus* [87], *Phenacoccus aceris* [27, 29] та інші лускуваті комахи, такі як

кокциди *Parthenolecanium corni* [29], *Pulvinaria vitis* [43]. Природні переносники GLRaV-2, GLRaV-7, GLRaV-8 не встановлені [9, 25]. Вірус уражує європейські сорти винограду, підщепи і гібриди – прямі плідники [1, 31].

Симптоми хвороби варіюють залежно від сорту винограду, кліматичних умов, серотипів віруса і, імовірно, вірулентності штамів збудника. Наприклад, симптоматика скручування на рослинах винограду, інфікованих вірусом GLRaV-3, більш виражена і тяжка, ніж у рослин, уражених GLRaV-4. А у кущів, інфікованих вірусом GLRaV-7, перебіг захворювання взагалі спостерігається у латентній формі [37]. Зазвичай, ознаки захворювання стають наявними в середині літа і підсилюються наприкінці вегетаційного періоду. Особливо яскраво симптоми проявляються на червоних сортах винограду, які реагують на інфекцію почервонінням листових пластинок і скручуванням їх країв донизу (рис. 2а) [37]. Почервоніння починається на листі біля основи пагонів і поступово охоплює нове листя у напрямі до верхівки. Спочатку між жилками третього порядку з'являються червонуваті розмиті плями, які постійно розростаються, охоплюючи весь листок, за виключенням вузьких смуг вздовж головних жилок, що зберігають зелене забарвлення [8]. Це відрізняє дану хворобу від інших типів почервоніння (нестача калію, асфіксія коренів, механічні пошкодження кущів, хвороби опробковіння кори, червонолистість тощо). Ягоди на час збору урожаю не набувають нормального забарвлення, вони кисліші і містять менше цукру, ніж здорові [1, 31, 37].

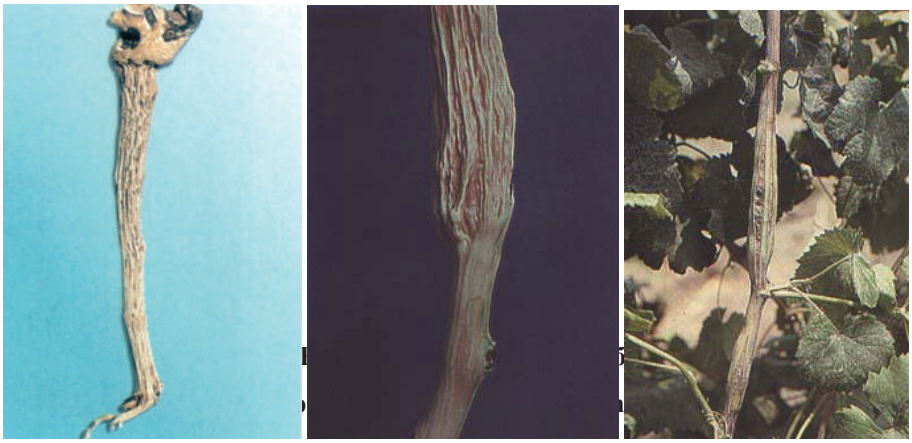
Рис. 2. Скручування листя винограду:
а – симптоми на червоному сорті, б – симптоми на білому сорті

Fig. 2. Grapevine leafroll disease:
a – symptoms in red-fruited cultivar, b – symptoms in white- fruited cultivar

На білих сортах листя жовтіє (рис. 2б). На заражених підщепах скручування листя не виявляє ніяких симптомів, і це сприяє поширенню інфекції. Хвороба послаблює силу росту кущів, погіршує утворення коренів і є одним із факторів порідшання виноградників. Є свідчення про зниження урожайності хворих кущів від 20 % до 50 % [1, 37] і більше, з одночасним зменшенням вмісту цукру та збільшенням кислотності у виноматеріалі, що пов'язано з порушенням фотосинтезу [10, 30]. Вино, виготовлене із ягід хворих кущів, містить менше

спирту, танінів та менше забарвлене, ніж із ягід здорових кущів, такі вина завжди отримують нижчі дегустаційні оцінки [1]

Комплекс борознистості деревини. Rugose wood complex (RWC) складається з чотирьох окремих захворювань, котрі дуже поширені у всьому світі, для них є характерним утворення ямок та борозен на здерев'янілому штамбі (рис. 3) [18, 34, 42].



До складу RWC входять представники двох самостійних родів *Foveavirus* (RSPaV) та *Vitivirus* (GVA, GVB) родини *Betaflexiviridae* порядка *Tymovirales* [25, 31, 34]: Rupestris stem pitting associated virus (RSPaV) – вірус борознистості деревини Рупестріс (індикатор *V. rupestris* дю Ло); Grapevine virus B (GVB) – Corky bark – вірус В винограду – опробковіння кори (індикатор LN 33) [19]; Grapevine virus A (GVA) – Kober stem grooving – вірус А винограду – наявність виямок у деревині Кобера (індикатор Кобер 5ББ). LN 33 stem grooving – наявність ямок у деревині ЛН (індикатор LN 33) [8].

Вірусні частинки GVA, GVB являють собою гнучкі нитки, які мають розмір 800 х 12 нм, зі спіральним розташуванням 10 субодиниць білка на оберт спіралі кроком 3,3 нм [19, 31, 33]. Ниткоподібні гнучкі часточки вірусу RSPaV із спіральною симетрією мають довжину 800 нм та 13 нм в діаметрі [33, 34]. Локалізуються в цитоплазмі. Вітівіруси мають одну молекулу лінійної (+) $_{ол}$РНК довжиною – 7349 о. котра 3'-поліаденільована та має кеп на 5'-кінці [16, 33]. Вірусна РНК складає близько 5 % від усієї маси вірусної частинки. Одна молекула лінійної поліаденілованої (+) $_{ол}$РНК RSPaV має довжину 8725 о. [34].

У вітівірусів є один структурний білок 22–26 кДа. Неструктурні білки являють собою довгий поліпептид 194–195 кДа з консервативними мотивами метилтрансферази, гелікази та РНК-залежної РНК-полімерази у послідовності від N- до С-кінця, білок 19–20 кДа та два білки – 11–13 кДа з нез'ясованими функціями [19, 33]. У вірусу борознистості деревини Рупестріс виявлено один структурний білок оболонки 28 кДа [5].

Геном вітівірусів включає п'ять ВРЗ, що перекриваються, з котрих ВРЗ1, розташована між 87 та 5210 нуклеотидами, кодує поліфункціональний білок

194–195 кДа з реплікативними властивостями, ВРЗ2 (з 5179 по 5712 о.) – білок 19–20 кДа з нез'ясованою функцією та ВРЗ3 (з 5654 по 6490 о.) – транспортний білок 31–36 кДа [22], ВРЗ4 (з 6414 по 7010 о.) – структурний білок 22–26 кДа та ВРЗ5 – білок (з 7015 по 7281 о.) 10 кДа, який, можливо, має вплив на безсимптомне протікання вірусної інфекції [19, 33]. Усі продукти ВРЗ2 – 5 транслюються за допомогою субгеномних $_{м}$РНК. Реплікація віруса відбувається в цитоплазмі за участю продуктів ВРЗ1, транспортний білок накопичується в цитозолі та в клітинних стінках, які контактують з плазмодесмами, що призводить до передачі вірусних часточок в сусідні клітини [16, 22]. Будова клітин паренхіми при цьому зберігається, органели мають нормальний вигляд, а нечисленні вірусні часточки формують розрізнені агрегати невеликого розміру. Однак, клітини судинної тканини зазнають деструкції, клітинні стінки розтягуються, ендоплазматична мембрана активно проліферує, утворюючи везикулярні вирости тонопласта з фібрилярним матеріалом, і у формі пучків, завитків, скупчених шарів вірусні часточки випинаються у вакуолю або заповнюють усю порожнину клітини [1].

Геномна РНК віруса RSPaV має п'ять ВРЗ, ВРЗ1 (з 61 по 6546 о.) кодує поліпептид 244 кДа з метилтрансферазним, протеїназним, геліказним та РНК-залежним РНК-полімеразним доменами (реплікативно активні білки), ВРЗ2 (з 6577 по 7242 о.), ВРЗ3 (з 7244 по 7597 о.) та ВРЗ4 (з 7518 по 7760 о.) кодують продукти трійчастого блоку генів, що беруть участь у русі віруса з клітини до клітини (24 кДа, 13 кДа, 8 кДа), та ВРЗ5 (з 7770 по 8549 о.) відповідає за синтез структурного (покривного) білка 28 кДа. ВРЗ1 траслюється безпосередньо з геномною РНК, решта ВРЗ – шляхом синтезу та наступної трансляції субгеномних $_{м}$РНК [33, 34]. За даними деяких авторів у геномній РНК присутня також ВРЗ6 (з 8227 по 8586 о.). Вона локалізується біля 3'-кінця та можливо кодує поліпептид 14 кДа, функція котрого до нинішнього часу не відома [34].

Борознистість деревини Рупестріс є найпоширенішим у світі захворюванням серед захворювань комплексу RWC [34]. Захворювання можна чітко визначити на зараженому винограді, однак, часто його перебіг спостерігається у латентній формі, не викликає характерних симптомів і не впливає на ріст та урожайність кущів [18, 42]. На більшості європейських сортів хвороба не викликає ніяких симптомів, окрім пригнічення росту [1].

Вітівіруси передаються щепленням, посадковим матеріалом, борошнистими червецями: псевдококцидами *Pseudococcus affinis, Ps. longispinus, Planococcus citri, Pl. ficus, Phenacoccus aceris* [27, 42], *Heliococcus bohemicus* [45], кокцидами *Neopulvinaria innumerabilis*, личинкою *Parthenolecanium corni* [23] і механічно. Насінням винограду хвороба не передається. Вірус борознистості деревини Рупестріс передається щепленням і посадковим матеріалом, переносники невідомі [42]. У природі інфікується тільки виноград, європейські сорти, підщепи, гібриди – прямі плідники.

Загальний стан уражених кущів залежить від ступеня розвитку хвороби. Слабко уражені кущі, без чітко виражених зовнішніх симптомів, порівняно добре розвинуті і плодоносять нормально. З розвитком хвороби відзначається

затримка росту кущів і слабкий хлороз листя, спостерігається підвищення кислотності, зменшення урожайності, нечисленні грона [18]. Дуже уражені кущі значно пригнічені, з витонченими, здебільшого безплідними пагонами і хлоротичним листям. Специфічним симптомом захворювання є утворення на штамбі, іноді рукавах і коренях ямок та видовжених борозен, що ідуть паралельно до їх вісі. Довжина борозен може досягати 50 мм, ширина має 1–4 мм і глибина 0,5–5 мм. При сильному розвитку хвороби декілька борозен можуть зливатися в одну, утворюючи довгі, широкі і глибокі канавки, котрі у більшості випадків сприяють розтріскуванню штамбу та рукавів. Часто на місці спайки щеплення прищепа утворює потовщення, а підщепа залишається набагато тоншою за прищепу. Кора під ділянками з симптомами борознистості потовщена, дірчаста (рис. 3). На кореневласних кущах розвиток симптомів починається від п'ятки і поширюється як догори по штамбу, так і донизу по коренях. Симптоми захворювання на прищеплених кущах починаються з місця з'єднання прищепи з підщепою, потім поширюються на компоненти щеплення і можуть охопити рукава і корені. У більшості випадків симптоми захворювання спостерігаються або на прищепі, або на підщепі, але в окремих випадках на обох одночасно [1, 42].

Гістологічними дослідженнями встановлено, що лінія камбію має хвилясті обриси, тому у циліндра зазубрений контур. На рівні борозен елементи твердого луба і судини деревини не формуються; у місцях пошкодження луб'яно-деревний камбій погано діє і утворює луб'яну або деревну паренхіму, майже без судин. У корі відбуваються гіпертрофія, порушення її нормальної структури і некроз флоеми. Борознистість деревини – хвороба вторинних тканин, з причини ненормального функціонування камбію спостерігається гіпертрофія, гіпер- і гіпоплазія та паренхіматози у вторинній ксилемі та флоемі [1].

У свою чергу, на тлі опробковіння кори у деяких сортів спостерігається затримка початку росту та загибель окремих пагонів. Деревина уражених пагонів м'яка і каучукоподібна, внаслідок чого пагони поникають. Кора біля основи лози часто розтріскується, пагони визрівають нерівномірно: зелені ділянки не здерев'янілих пагонів часто чергуються з нормально здерев'янілою тканиною (рис. 3). Листя на хворих кущах дрібне, бліде; пізніше у червоних сортів воно червоніє повністю, включаючи жилки, і скручується краями донизу. Восени таке листя опадає на три – чотири тижні пізніше, ніж звичайне. Часто у хворих кущів відзначають пригнічений ріст та зниження урожайності від 5 до 22 % [1, 6].

Заходи боротьби та профілактики вірусних захворювань винограду ґрунтуються на отриманні та розмноженні безвірусного посадкового матеріалу, який використовують для закладання нових насаджень [26, 38, 44]. Потрібно використовувати тільки здоровий посадковий матеріал та знищувати хворі рослини, вести боротьбу з нематодами-переносниками, можна застосовувати біостимулятори для підвищення імунітету рослин [4]. Також, сучасні дані свідчать про те, що можна використовувати хіміотерапевтичні методи позбавлення від вірусів [21].

Рання сучасна **діагностика вірусних захворювань** дозволяє швидко визначити якість посадкового матеріалу винограду [26, 44]. Одними із найнадійніших, найчутливіших і найспецифічніших методів діагностики є серологічні [20, 31, 44] і молекулярно-біологічні [2, 7, 17, 31]. Використання імуноферментного аналізу (ІФА) та полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР) уможливлює за короткий термін проведення скринінгу великої кількості зразків та вивчення поширення збудників вірусних захворювань на виноградниках [2, 20, 44]. Крім того, існують такі методи діагностики: візуальний, індексація щепленням на індикаторні сорти винограду (симптоми захворювання виявляються впродовж року щеплення, іноді на 2–3-й рік, залежно від виду вірусу), механічні перенесення на трав'янисті індикатори [17, 31, 35, 44]. Хоча, на жаль, вони і не завжди дають достовірні результати, згідно з міжнародними правилами при виробництві сертифікованого посадкового матеріалу винограду їх обов'язково використовують. Це пов'язано з тим, що на винограді можуть з'явитися нові невідомі віруси, які неможливо ідентифікувати за допомогою ІФА та ПЛР.

Таким чином, літературні дані свідчать про те, що питання вірусних захворювань винограду є досить актуальним і потребує подальшого вивчення. Не викликає сумнівів, що сучасні методи дослідження вірусних захворювань набувають ключового значення у діагностиці вищезазначених інфекцій.

И. Д. Жунько[1], Н. В. Лиманская[1], Б. Н. Милкус[2], В.А. Иваныця[1]

[1]Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина
e-mail: zynkin@te.net.ua
[2]Одесский государственный аграрный университет,
ул. Пантелеймоновская, 13, Одесса, Украина

ВИРУСЫ И ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ ВИНОГРАДА (*VITIS SP.*)

Реферат

В обзоре рассмотрены литературные данные о вредоносных вирусах – возбудителях заболеваний винограда, приведены таксономическое положение вирусов, их морфологические свойства, особенности генома, репликации. Описана симптоматика заболеваний, которые они вызывают. Рассмотрены эпидемиологические вопросы, меры борьбы и современные методы диагностики.

Ключевые слова: вирус короткоузлия винограда, вирус мраморности винограда, вирус скручивания листьев винограда, комплекс бороздчатости древесины.

I. D. Zhunko[1], N. V. Limanska[1], B. N. Milkus[2], V. O. Ivanytsia[1]

[1]Odesa National I. I. Mechnykov University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: zynkin@te.net.ua
[2]Odesa State Agrarian University, 13, Panteleimonivska st., Odesa, Ukraine

VIRUSES AND VIRAL DISEASES OF GRAPEVINE (*VITIS SP.*)

Summary

The literature data on devastating viruses – the causative agent of grapevine has been reviewed. The taxonomy of viruses, their morphological properties, features of the genome and replication were elucidated. The symptoms of the viral diseases were described. Epidemiological questions, methods of plant protection and modern diagnostic assays were reviewed.

Key words: grapevine fanleaf virus, grapevine fleck virus, grapevine leafroll associated virus, rugose wood complex.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Вердеревская Т. Д., Маринеску В. Г.* Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда. – Кишинёв: Штиинца, 1985. – 312 с.

2. *Жунько И. Д.* Применение ИФА для выявления вирусов винограда // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. ИВиВ «Магарач». – Ялта: ИВиВ «Магарач», 2003. – С. 16–18.

3. *Жунько І.Д.* Виявлення вірусу коротковузля винограду за допомогою імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції // Вісник ОНУ. – 2004. – Т. 9, № 5. – С. 171–176.

4. *Жунько І.Д.* Виявлення вірусів скручування листя винограду // Вісник аграрної науки. – 2004. – № 12. – С. 75–76.

5. *Жунько І.Д., Ліманська Н. В., Мілкус Б. Н., Конуп Л. О.* Діагностика вірусу мармуровості винограду за допомогою полімеразної ланцюгової реакції // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка . – 2005. – Т. 44. – С. 49–50.

6. *Жунько І.Д., Ліманська Н. В., Мілкус Б. Н., Конуп Л.О.* ЗТ-ПЛР ідентифікація представників родів *Vitivirus* та *Foveavirus*, що паразитують на винограді // Вісник ОНУ. – 2005. – Т. 10, № 3. – С. 136–142.

7. *Мілкус Б. Н., Конуп Л. О., Жунько І.Д., Ліманська Н. В.* Тестування деяких сортів винограду на наявність збудника бактеріального раку і вірусів коротковузля та скручування листя // Мікробіол. журн. – 2005. – Т. 67, № 1. – С. 41–48.

8. *Мілкус Б. Н., Ліманська Н. В., Жунько І.Д., Конуп Л.А., Агєєва О.В.* Вірусні та бактеріальні хвороби винограду. – Одеса: Одеса, 2012. – 157 с.

9. *Al Rwahnih. M., Dolja, V.V., Daubert S.* Genomic and biological analysis of Grapevine leafroll-associated virus 7 reveals a possible new genus within the family Closteroviridae // Virus Research. – 2012. – V. 163. – P. 302–309.

10. *Andret-Link P., Laporte C., Valat L. et al.* Grapevine fanleaf virus: still a major threat to the grapevine industry // J. Plant Pathol. – 2004. – V. 86, № 3. – P. 183–195.

11. *Boulila M.* Selective pressure, putative recombination event and evolutionary relationships among members of the family Closteroviridae. A proposal for a new classification // Biochemical Systematics and Ecology. – 2010. – V. 38. – P. 1185–1192.

12. *Demangeat G., Komar V., Van-Ghelder C. et al.* Transmission competency of single-female *Xiphinema index* lines for Grapevine fanleaf virus // Phytopathology. – 2010. – V. 100. – P. 384–389.

13. *Faoro F., Tornaghi R., Gugerli P.* Cytopathology of grapevine leafroll associated virus 1 (GLRaV-1) // Proc. XIth ICVG Meeting (Montreux, Switzerland, 6–9 September 1993). – Montreux, 1993. – P. 19–20.

14. *Fazeli C. F., Rezaian M. A.* Nucleotide sequence and organization of ten open reading frames in the genome of grapevine leafroll-associated virus 1 and identification of three subgenomic RNAs // J. Gen. Virol. – 2000. – V. 81. – P. 605–615.

15. *Fuchs M., Pinck M., Serghini M. A. et al.* The nucleotide sequence of satellite RNA in grapevine fanleaf virus, strain F13 // J. Gen. Virol. – 1989. – V. 70. – P. 955–962.

16. *Galiakparov N., Tanne E., Sela I., Gafny R.* Functional analysis of the grapevine virus A genome // Virology. – 2003. – V. 306, № 1. – P. 42–50.

17. *Gambino G., Angelini E., Gribaudo I.* Field assessment and diagnostic methods for detection of grapevine viruses // Methology and results in grapevine research. – Vienna: Springer, 2011. – P. 211–228.

18. *Gambino G., Cuozzo D., Fasoli M. et al.* Effects of grapevine rupestris stem pitting-associated virus on *Vitis vinifera L.* // Proc. 17th ICVG Congress (Davis, California, USA, 7-17th October 2012). – Davis, 2012. – P. 90–91.

19. *Goszczynski D. E.* Divergent molecular variants of grapevine virus B (GVB) from corky bark (CB)-affected and CB-negative LN33 hybrid grapevines // Virus Genes. – 2010. – V. 41. – P. 273–281.

20. *Gugerli P.* 25 years of serological identification of grapevine leafroll-associated viruses: antiserum and monoclonal antibodies to GLRaV-1 to GLRaV-9 // Proc. 16th ICVG Meeting (Dijon, France, 31thAugust-4thSeptember 2009). – Dijon 2009. – P. 24–28.

21. *Guta I. C., Buciumeanu F. C.* Grapevinen chemotherapy for elimination of multiple virus infections // Romanian Biotechnolgical Letters. – 2011. – V. 16. – P. 6535–6539.

22. *Haviv S., Moskovitz Y., Mawassi M.* The OFR3-encoded proteins of vitiviruses GVA and GVB induce tubule-like and punctate structures during virus infection and localize to the plasmodesma // Virus Research. – 2012. – V. 163. – P. 291–301.

23. *Hommay G., Komar V., Lemaire O.et al.* Grapevine virus A transmission by larvae of *Parthenolecanium corni* // Eur. J. Plant Pathol. – 2008. – V. 121. – P. 185–188.

24. *Jelkmann W., Mikona C., Turturo C. et al.* Molecular characterization and taxonomy of grapevine leafroll-associated virus 7 // Arch. Virol. – 2012. – V. 157. – P. 359–362.

25. *King A., Adams M. J., Carstens E. B., Lefkowitz E. J.* Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – London: Elsevier – Academic Press, 2011. – 1327 p.

26. *Konup L., Limanskaja N., Zhunko I., Milkus B.* The production of grapevine certified planting material in the Ukraine // Proc. 14th ICVG Meeting (Locorotondo, Italy, 12–17th September 2003). – Locorotondo, 2003. –P. 164.

27. *Le Maguet J. L., Beuve M., Herrbach E. et al.* Transmission of six ampeloviruses and two vitiviruses to grapevine by *Phenacoccus aceris* // Phytopathology. – 2012. – V. 102. – P. 717–723.

28. *Ling K. S., Zhu H. Y., Gonsalves D.* Complete nucleotide sequence and genome organization of grapevine leafroll-associated virus 3, type member of the genus *Ampelovirus* // J. Gen. Virol. – 2004. – V. 85. – P. 2099–2102.

29. *Little A., Rezaian M. A.* Gene function analysis and improved detection of Grapevine leafroll associated virus 1 // Proc. 14th ICVG Meeting (Locorotondo, Italy, 12–17th September 2003). – Locorotondo, 2003. – P. 35.

30. *Mannini F.* Virus elimination in grapevine and crop performance // Proc. 14th ICVG Meeting (Locorotondo, Italy, 12–17th September 2003). – Locorotondo, 2003. – P. 234–239.

31. *Martelli G. P.(Ed.).* Graft-transmissible diseases of grapevines: Handbook for detection and diagnosis. – Rome: FAO Publication Division, 1993. – 263 p.

32. *Martelli G. P., Sabanadzovic S., Abou Ghanem-Sabanadzovic N., Saldarelli P. Maculavirus*, a new genus of plant viruses // Arch. Virol. – 2002. – V. 147, № 9. – P. 1847–1853.

33. *Martelli G. P.* Grapevine virology highlights: 2010–2012 // Proc. 17th ICVG Congress (Davis, California, USA, 7-17th October 2012). – Davis, 2012. – P. 13–31.

34. *Meng B., Li C., Wang W. et al.* Complete genome sequences of two new variants of grapevine rupestris stem pitting-associated virus and comparative analyses // J. Gen. Virol. – 2005. – V. 86, № 5. – P. 1555–1560.

35. *Pinck L.* The grapevine fanleaf *Nepovirus* challenge: where do we stand? // Proc. XIIIth ICVG Meeting (Adelaide, Australia, 12–17 March 2000). – Adelaide, 2000. – P. 60–62.

36. *Ritzenthaler C., Laporte C., Gaire F. et al.* Grapevine fanleaf virus replication occurs on endoplasmic reticulum-derived membranes // J. Virol. – 2002. – V. 76, № 17 – P. 8808–8819.

37. *Rowhani A., Golino D. A., Sim S. T. et al.* Grapevine leafroll associated viruses effects on yield, vine performance and grape quality // Proc. 17th ICVG Congress (Davis, California, USA, 7-17th October 2012). – Davis, 2012. – P. 52–53.

38. *Roy A. S.* EPPO certification scheme for grapevine // Proc. 14th ICVG Meeting (Locorotondo, Italy, 12–17th September 2003). – Locorotondo, 2003. – P. 149.

39. *Sabanadzovic S., Abou Ghanem-Sabanadzovic N., Saldarelli P., Martelli G. P.* Complete sequence and genome organization of grapevine fleck virus // J. Gen. Virol. – 2001. – № 82. – P. 2009–2015.

40. *Serghini M. A., Fuchs M., Pinck M. et al.* RNA 2 of grapevine fanleaf virus: sequence analysis and coat protein cistron location // J. Gen. Virol. – 1990. – V. 71, № 7 – P. 1433–1441.

41. *Shi B. J., Habili N., Symons R. H.* Nucleotide sequence variation in a small region of the grapevine fleck virus replicase provides evidence for two sequence variants of the virus // Annals of Applied Biol. – 2003. – V. 142. – P. 349–355.

42. *Stewart S., Nassuth A.* RT-PCR based detection of Rupestris stem pitting associated virus within field grown grapevine throughout the year // Plant Disease. – 2001. – V. 85, № 6. – P. 617–620.

43. *Tsay C. W., Rowhani A., Golino D. A. et al.* Mealybug transmission of grapevine leafroll viruses: an analysis of virus-vector specificity // Phytopathology. – 2010. – V. 100. – P. 830–834.

44. *Walter B.(Ed.).* Sanitary selection of the grapevine: Protocols for detection of viruses and virus-like diseases. – Paris: INRA Editions, 1997. – 225 p.

45. *Zorloni A, Prati S, Bianco P.A, Belli G.* Transmission of Grapevine virus A and Grapevine leafroll-associated virus 3 by *Heliococcus bohemicus* // J. Plant Pathol. – 2006. – V. 88, № 3. – P. 325–328.

46. *Zhun'ko I. D., Limanska N. V., Milkus B. N.* The spread of grapevine viruses on the South Ukraine // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка . – 2008. – Т. 51. – С. 56–57.

Стаття надійшла до редакції 01.09.2015 р.

View publication stats