

## Обзоры, проблемы, итоги

УДК 634.22:632.3:578.864(470+571)

doi: 10.15389/agrobiolgy.2015.5.529rus

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ  
ВИРУСА ОСПЫ (ШАРКИ) СЛИВЫ В РОССИИ\*

(обзор)

С.Н. ЧИРКОВ<sup>1</sup>, Ю.Н. ПРИХОДЬКО<sup>2</sup>

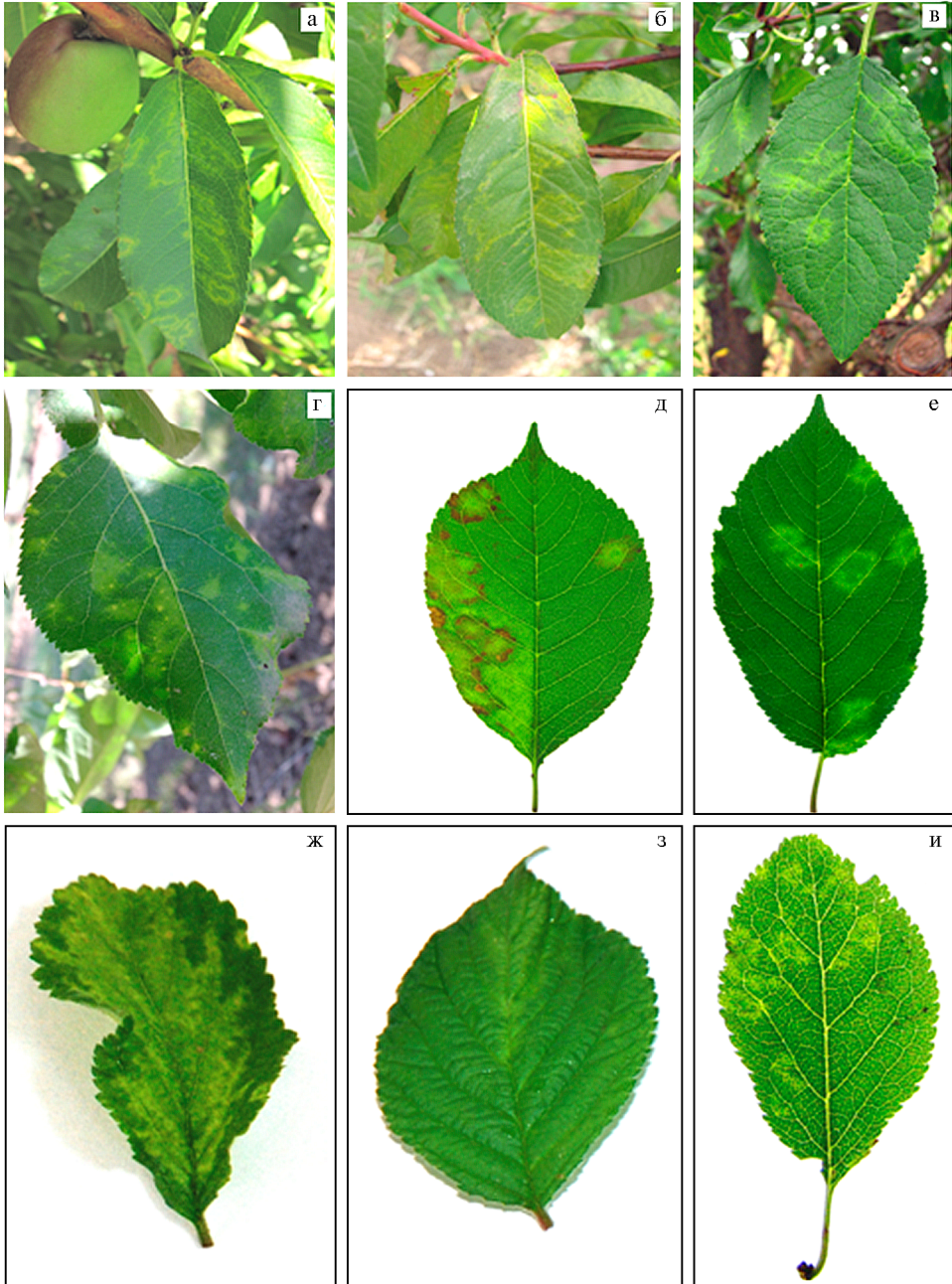
Вирус оспы сливы (*Plum pox virus*, PPV) вызывает у косточковых культур заболевание, называемое шаркой, которое приводит к значительным потерям урожая персика, абрикоса, сливы и других экономически значимых культур из-за преждевременного опадания плодов, ухудшения их качества и непригодности к переработке. На восприимчивых сортах инфекция может заметно угнетать годовой прирост. Многие зараженные сорта исчезают из обращения, несмотря на высокие агрономические и потребительские качества (V. Usenik с соавт., 2015; T.M. Milosevic с соавт., 2010). От растения к растению вирус может передаваться механически, при вегетативном размножении и различными видами тли. Передача вируса семенами не установлена. На дальние расстояния PPV распространяется главным образом с зараженными растениями. Заболевание известно во всем мире, за исключением Австралии, Новой Зеландии, Южной Африки и Калифорнии (J.A. Garcia с соавт., 2014). В России PPV включен в список ограниченно распространенных карантинных объектов. Применение иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией для диагностики и идентификации PPV при систематическом мониторинге насаждений косточковых культур позволило выявить многочисленные очаги инфекции в Европейской России. Вирус находили в коллекциях, сортоиспытательных участках, промышленных питомниках, плодоносящих и заброшенных садах, декоративных насаждениях, на дикорастущих деревьях в городской и сельской местности, на дачных и приусадебных участках на различных видах естественно зараженных культур: сливе (*Prunus domestica*), персике (*P. persica*), нектарине (*P. persica* var. *nectarina*), алыче (*P. cerasifera*), терне (*P. spinosa*), вишне (*P. cerasus*), черешне (*P. avium*), абрикосе (*P. armeniaca*), войлочной вишне (*P. tomentosa*) и сливе канадской (*P. nigra*). Вирус обнаружен в Ленинградской, Новгородской, Тверской, Московской, Тульской, Воронежской, Тамбовской, Липецкой, Белгородской, Ростовской, Самарской, Саратовской, Волгоградской, Астраханской областях, Краснодарском и Ставропольском краях, в Карачаево-Черкесской Республике, Республике Дагестан, Республике Крым. Из девяти известных штаммов PPV шесть (D, M, Res, W, C, CR) выявлены в Европейской России. Большая часть изолятов принадлежит к штаммам D (38 %), W (25 %) и CR (23 %), а также к M (7 %) и C (7 %). Два изолята штамма Res обнаружены на алыче в Крыму и на сливе в Ставропольском крае. Характерная особенность популяции PPV в России и, возможно, в европейской части бывшего СССР вообще — самое высокое в мире генетическое разнообразие, обусловленное широким распространением штаммов W, C и CR, очень редких или вовсе не обнаруженных в других регионах мира. Значение штамма CR состоит также в том, что ранее единственным штаммом, который может системно заражать вишню (*P. cerasus*), считали штамм C. Сравнительный анализ двух изолятов PPV, адаптированных к вишне (C и CR), возможно, позволит выявить детерминанты, определяющие круг хозяев. Филогенетический анализ геномов показывает, что штаммы W, C и CR имели общего предка, группируются в отдельный суперкластер, и, по-видимому, эта эволюционная ветвь получила развитие в основном на территории современной России. Широкое распространение PPV может представлять потенциальную угрозу для перспективного сортимента косточковых культур и дальнейшей селекционной и биотехнологической работы в этом направлении.

Ключевые слова: вирусы растений, вирус оспы (шарки) сливы, генетическое разнообразие, штаммы.

Вирус оспы сливы (*Plum pox virus*, PPV, род *Potyvirus*, сем. *Potyviridae*) вызывает у косточковых культур заболевание, называемое шаркой. Реакция растения на вирусную инфекцию сопровождается накоплением активных форм кислорода, что приводит к поражению хлоропластов, фотосинтетического аппарата и развитию видимых симптомов инфекции на листьях (рис. 1), плодах, цветках и семенах (1). В природе и в эксперименте PPV способен заражать многие, если не все, растения косточко-

\* Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 14-24-00007.

вых культур рода *Prunus* (сем. *Rosaceae*), а также ряд растений из других таксономических групп (2-5). PPV считается самым вредоносным вирусным патогеном косточковых, вызывая значительные потери урожая персика,

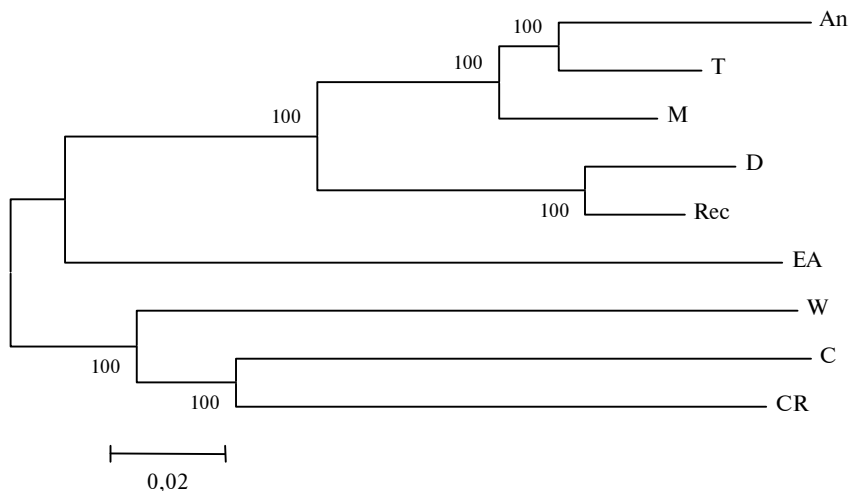


**Рис. 1.** Симптомы шарки на листьях нектарина (а), персика (б), сливы (в), абрикоса (г), вишни (д, е), войлочной вишни (ж, з), алычи (и). Штаммы вируса оспы сливы: D (а-г, ж), CR (д), С (е), W (з), Res (и). Фотографии симптомов шарки на листьях персика и нектарина (а, б) любезно предоставлены И.В. Митрофановой.

абрикоса, сливы и других экономически значимых культур из-за преждевременного массивного (до 100 %) опадания плодов, ухудшения их качества и непригодности к переработке. На восприимчивых сортах инфекция может заметно угнетать годовой прирост. По этим причинам многие зараженные сорта исчезают из обращения, несмотря на высокие агрономиче-

ские и потребительские качества (6, 7). Ежегодный ущерб оценивают в сотни миллионов евро, а количество уничтоженных за последние годы зараженных деревьев исчисляется миллионами (8). От растения к растению вирус может передаваться механически, при вегетативном размножении и различными видами тли. Передача вируса семенами не установлена. На дальние расстояния PPV распространяется главным образом с зараженными растениями. Заболевание известно во всем мире, за исключением Австралии, Новой Зеландии, Южной Африки и Калифорнии (9-11). В России PPV включен в список ограниченно распространенных карантинных объектов.

Молекулярно-биологическая характеристика вируса. Вирионы PPV представляют собой нитевидные частицы длиной 750 нм и диаметром 15 нм, которые состоят из молекулы РНК положительной полярности размером 9,8 тыс. нуклеотидов и примерно 2 тыс. копий белка оболочки с молекулярной массой 36,5 кДа. Организация генома типична для потивирусов. Геномная РНК содержит две открытые рамки считывания, 5'- и 3'-нетранслируемые области (Non-Coding Regions, NCR) длиной 146 и 217 нуклеотидов, вирусный белок (VPg), ковалентно связанный с 5'-концом молекулы РНК, и поли-А-последовательность на 3'-конце. В зараженных клетках РНК транслируется с образованием полипротеина, который нарезается вирусспецифическими протеазами на 10 функционально активных белков: P1, НсPro, P3, 6K1, С1, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb и белок оболочки (БО). Еще один белок, называемый PIPO (Pretty Interesting *Potiviridae* ORF), образуется как продукт слияния P3N и PIPO при сдвиге рамки считывания в гене P3 (9).



**Рис. 2.** Филогенетическое дерево штаммов вируса оспы сливы (*Plum pox virus*, PPV). Реконструировано методом присоединения соседей на основе полных последовательностей генома типичных представителей известных штаммов. В узлах указаны результаты бутстрэп-анализа (%) из 1000 случайных выборок. Масштабная черта отражает число замен на 1 нуклеотид. Использованы репрезентативные изоляты штаммов (название изолята и номер в базе данных GenBank): An (AL-11pl, HF674399), T (AbTk, EU734794), M (SK68, M92280), D (Ou1, AB545926), Rec (BOR-3, AY028309), EA (AM157175), W (LV-145bt, HQ670748), C (BY181, HQ840518), CR (RU-17sc, KC020124). Филогенетический анализ выполнен с помощью программы MEGA 5 (12).

На основании анализа полных последовательностей генома в настоящее время различают 9 штаммов вируса: Dideron (D), Marcus (M), Recombinant (Rec), Cherry (C), Cherry Russian (CR), El Amar (EA), Winona (W), Turkish (T) и Ancestral (An) (9, 13). Штаммы представляют собой монофилетические группы близкородственных изолятов. Наряду с точечными мута-

циями, важную роль в эволюции PPV играет рекомбинация. Штаммы М и Т возникли, вероятно, в результате независимых рекомбинационных событий между изолятами штаммов D и An (9). Штамм Rec считается рекомбинантом между изолятами штаммов D и M (14). В геноме одного из представителей штамма W (изолят W3174) обнаружены отчетливые следы рекомбинации со штаммами D и M (15). Наиболее вероятные родственные связи между штаммами представлены на филогенетическом дереве, реконструированном на основе полных геномных последовательностей изолятов — типичных представителей каждого штамма (рис. 2). Штаммы различаются по антигенным и эпидемиологическим свойствам, кругу хозяев, географическому распространению и патогенности для различных видов косточковых культур. В зарубежной Европе и Средиземноморском бассейне, где выявлена основная масса изолятов PPV, широко распространены штаммы D, M и Rec, остальные встречаются редко и(или) эндемичны для определенных регионов. Так, изоляты штамма EA найдены пока только в Египте, а штамма Т — только в Турции. Единственный известный изолят штамма An (AL-11pl) обнаружен в Албании (16). Изоляты вируса, которые находят в других регионах мира, принадлежат преимущественно к штамму D. Штаммы С, CR и W выявлены, за малыми исключениями, пока только на территории бывшего СССР.

Детекция и идентификация PPV. Ведущее место среди методов диагностики и идентификации PPV занимают иммуноферментный анализ (ИФА) и различные варианты полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) (17-19). В ИФА выявляют БО вируса. Большинство вирус- и штаммоспецифичных эпитопов локализованы в N-конце БО, который экспонирован на поверхности вирусной частицы и представляет собой самую вариабельную часть молекулы (9). Тест-системы для диагностики PPV, основанные на применении поликлональных антител к вирусу в сэндвич-варианте ИФА и щелочной фосфатазы в качестве ферментной метки, широко представлены на рынке. Наиболее надежным способом иммунохимической диагностики PPV считается непрямой сэндвич-вариант ИФА с использованием моноклональных антител 5В (20) к универсальному эпитопу <sup>94</sup>DRDVDAG<sup>100</sup>, который до недавнего времени находили в БО всех исследованных в этом отношении изолятов PPV (21). В ОТ-ПЦР любой изолят PPV обнаруживается с помощью пары универсальных праймеров, специфичных к гену БО или 3'-NCR (22, 23). При амплификации этих сегментов генома образуются продукты размером соответственно 243 и 220 п.н. Одним из самых чувствительных методов детекции PPV считается иммуноспецифическая ОТ-ПЦР (24). Вариабельность изолятов PPV изучают различными методами (25). Штамм вируса определяют с помощью прямого сэндвич-варианта ИФА с моноклональными антителами к штаммам D, M, С и EA (20, 26-28), в ОТ-ПЦР с праймерами, специфичными к штаммам D, M, С, CR, EA, Rec, W (29-34), а также секвенированием гена БО или гипервариабельного N-терминального фрагмента гена БО с последующим филогенетическим анализом. В ряде случаев определить штамм вируса удастся посредством секвенирования и филогенетического анализа продукта ПЦР размером 243 пар оснований в сочетании с анализом продуктов его рестрикции с помощью эндонуклеаз RsaI и AluI (22). Следует отметить, что штаммоспецифичные моноклональные антитела выявляют эпитопы, локализованные в N-конце БО, а штаммоспецифичные праймеры разработаны к различным участкам 3'-концевой части генома (преимущественно к гену БО). В то же время основные различия между штаммами An, Т, Rec и M, например, сосредоточены в 5'-концевой части генома. Кроме того, даже одиночные замены нуклеотидов или аминокислот могут искажать результаты определения штамма (13). По этой причине при идентифи-

кации штамма следует использовать несколько подходов, а самым надежным является филогенетический анализ полногеномных последовательностей. Оптимальные условия применения ИФА, ОТ-ПЦР и ряда других методов для диагностики и идентификации вируса рекомендованы в протоколах Европейской организации по защите и карантину растений (European and Mediterranean Plant Protection Organization, Франция) (35, 36).

Распространенность и генетическое разнообразие PPV в России. Симптомы шарки в насаждениях косточковых культур на территории России наблюдали по меньшей мере с 1970-х годов. Однако вплоть до конца 2000-х годов наличие инфекции не было подтверждено молекулярными методами анализа и ни один из выявленных изолятов вируса не охарактеризовали. Применение современных методов диагностики и идентификации PPV при систематическом мониторинге насаждений косточковых культур позволило выявить многочисленные очаги инфекции на территории Европейской России (37-39). Вирус находили в различных типах насаждений: в коллекциях, на сортоиспытательных участках, в промышленных питомниках, плодоносящих и заброшенных садах, декоративных насаждениях, на дикорастущих деревьях в городской и сельской местности, на дачных и приусадебных участках. По-видимому, основными источниками инфекции следует считать селекционные коллекции и сортоиспытательные участки, где заготавливают черенки для питомников (37). Большая часть изолятов обнаружена в старых посадках, заложенных часто в то время, когда массовой диагностике вирусных инфекций растений не придавалось должного значения и отсутствовали средства ее осуществления.

К настоящему времени вирус обнаружен в разных регионах Европейской России: Ленинградской, Новгородской, Тверской, Московской, Тульской, Воронежской, Тамбовской, Липецкой, Белгородской, Ростовской, Самарской, Саратовской, Волгоградской, Астраханской областях, Краснодарском и Ставропольском краях, в Карачаево-Черкесской Республике, Республике Дагестан, Республике Крым. При этом обращает на себя внимание отсутствие вируса почти в 130 образцах из Курской, Орловской, Рязанской и Пензенской областей.

Вирус выявлен на различных видах естественно зараженных косточковых культур: сливе (*P. domestica*), персике (*P. persica*), нектарине (*P. persica* var. *nectarina*), алыче (*P. cerasifera*), терне (*P. spinosa*), вишне (*P. cerasus*), черешне (*P. avium*), абрикосе (*P. armeniaca*), войлочной вишне (*P. tomentosa*) и сливе канадской (*P. nigra*). Из 370 изолятов PPV, обнаруженных специалистами Всероссийского НИИ карантина растений в 2007-2014 годах, 90 % было найдено на сливе и вишне. Следует, однако, отметить, что насаждения именно этих культур подвергались наиболее интенсивным обследованиям. На сегодняшний день не обнаружено вируса в образцах вишни песчаной (*P. pumila*), вишни степной (*P. fruticosa*), антипки (*P. mahaleb*), миндаля махрового (*P. triloba*), а также в церападусах (гибридах вишни степной и черемухи Маака).

Из девяти известных штаммов PPV, шесть (D, M, Rec, W, C, CR) присутствуют в Европейской России. Большая часть охарактеризованных изолятов принадлежит к штаммам D (38 %), W (25 %) и CR (23 %). Штамм D — самый распространенный в мире, и Россия, очевидно, не является исключением. Он обнаружен в основном на сливе, единичные изоляты — на абрикосе, алыче и войлочной вишне. В Крыму значительное число изолятов этого штамма выявили в коллекционных насаждениях персика и нектарина. Около 7 % найденных в России изолятов принадлежат к штамму M. Важно отметить, что из всех типов насаждений изоляты

этого штамма выявлены только в плодоносящих промышленных садах на сливе (84 % изолятов) и персике (16 %). Два изолята штамма Res обнаружены на алыче в Крыму и на сливе в Ставропольском крае.

По-видимому, самая важная особенность популяции PPV в России — широкое распространение штаммов W, C и CR, исключительно редких или вовсе не обнаруженных в других регионах мира. Изучение молекулярно-биологических свойств российских изолятов этих штаммов позволяет существенно дополнить картину генетического разнообразия PPV.

Первые изоляты вируса, принадлежащие к штамму W (W3174 и UKR44189), были открыты в Канаде и в США, но на растениях сливы, введенных с Украины (40, 41). Долгое время эти изоляты оставались единственными известными представителями нового штамма W. В результате наших исследований многочисленные генетически различные изоляты обнаружены в средней полосе, черноземной зоне, Поволжье и на юге России во всех типах насаждений на широком круге хозяев: сливе, абрикосе, алыче, войлочной вишне, терне и сливе канадской (38, 42-44). Кроме того, несколько изолятов штамма W обнаружены на терне и сливе в Латвии (15). Для изолятов этого штамма характерны слабовыраженные симптомы или бессимптомная инфекция. Анализ полных и частичных последовательностей геномов показал, что штамм W — самый изменчивый из девяти известных штаммов вируса. Степень идентичности изолятов на нуклеотидном и аминокислотном уровне составляет соответственно 92,0-99,7 % и 96,4-99,9 %. Могут различаться биологические свойства изолятов, принадлежащих к этому штамму. Так, изолят RD4 обнаружен нами на естественно зараженной войлочной вишне (43). В то же время, войлочная вишня не может считаться системным хозяином для изолята UKR44189 (41). Моноклональные антитела к штамму W (45) не распознают российские изоляты этого штамма из-за замены первого остатка аспаргиновой кислоты (D) в эпитопе  $^2$ DEEDD $^6$  на аспарагин (N) (43). Высокая степень генетического разнообразия в сочетании с широким распространением по всей Европейской России на самых разных хозяевах дают основания предположить, что штамм W — один из старейших в России.

Изоляты штамма C составляют около 7 % всех идентифицированных на сегодняшний день российских изолятов PPV. Они обнаружены во всех типах насаждений на вишне и черешне в Ленинградской, Московской, Белгородской, Самарской, Саратовской и Волгоградской областях и, как показывает молекулярный анализ, различаются генетически. Следует отметить, что первый изолят PPV, принадлежащий к штамму C, был открыт на вишне в Молдове (46). Несколько изолятов штамма C найдены на вишне в Республике Беларусь (47). Несмотря на относительно небольшое число выявленных изолятов, эти находки указывают на повсеместное распространение штамма C в России и ближнем зарубежье.

Первые изоляты штамма CR обнаружены в самые последние годы в культурных насаждениях вишни в Саратовской и Самарской областях и в городских зеленых насаждениях г. Москвы на дикорастущих деревьях (29, 48, 49). Геномы изолятов этого штамма характеризуются исключительно низкой изменчивостью (0,6-0,9 % для полногеномных последовательностей и 0,0-0,8 % для гена БО). Тем не менее, изоляты из Москвы и Поволжья достоверно отличаются друг от друга при филогенетическом анализе полногеномных последовательностей. Места их находок отстоят один от другого на сотни километров, что может свидетельствовать о широком распространении штамма CR в Европейской России. Открытие нового штамма существенно расширяет представления о генетическом разнообразии PPV. Значение этой находки состоит также в том, что до сих пор единственным

штаммом, который может системно заражать вишню (*P. cerasus*), считали штамм С. Сравнительный анализ двух изолятов РРV, адаптированных к вишне, возможно, позволит выявить детерминанты, определяющие круг хозяев (29). Важная особенность изолятов штамма CR заключается в том, что универсальный эпитоп <sup>96</sup>DRDVDA<sup>102</sup> модифицирован: аспаргиновая кислота (D) в позиции 96 заменена на глутаминовую кислоту (E). Такие изоляты не определяются методом ИФА с моноклональными антителами 5B, которые специфичны к универсальному эпитопу и распознают, как считалось ранее, любые изоляты РРV. Это обстоятельство, очевидно, порождает необходимость в создании других препаратов универсальных моноклональных антител, обеспечивающих надежную диагностику РРV методом ИФА.

Таким образом, в настоящее время в России обнаружены шесть штаммов РРV. Три из них (D, M, Rec) преобладают в Европе и Средиземноморье. Вполне возможно, что в России они появились в результате интродукции европейских сортов различных косточковых культур, зараженных этим вирусом. Впервые шарка была описана на сливе в Болгарии в 1917 году (50). Считается, что с Балкан РРV проник в Европу, Средиземноморье, Азию, Северную и Южную Америку (9). Например, широкое расселение штамма Rec по Европе связывают с распространением толерантных сортов сливы, зараженных этим штаммом, из бывшей Югославии (14). Изоляты штамма M на персике в Краснодарском крае и на сливе в Ставропольском крае обнаружены на деревьях, импортированных из бывшей Югославии (38). Видимо, этим и объясняется присутствие штамма M только в промышленных садах. Близкое родство российских и европейских изолятов указанных штаммов подтверждается филогенетическим анализом их геномов.

Штаммы С, CR и W практически не встречаются за пределами бывшего СССР, причем CR известен пока только в России. Два изолята штамма W из США и Канады имеют украинское происхождение (40, 41). Более того, изолят UKR44189, обнаруженный карантинной службой США в пробирочной культуре сливы, ввезенной в США с Украины, практически идентичен изоляту LV-145bt из Латвии (41). LV-145bt и другие латвийские изоляты штамма W, по всей видимости, ведут свое происхождение из России и Украины (15, 49). Изоляты штамма С описаны на черешне в Италии (51) и на вишне в Хорватии, причем хорватский изолят, возможно, идентичен выявленному в Молдавии (52). Нельзя не отметить, что спорадические находки штаммов С и W за пределами бывшего СССР отчетливо контрастируют с их широким распространением в России и странах ближнего зарубежья.

В то же время на филогенетических деревьях, реконструированных на основе частичных или полных последовательностей генома, эти штаммы группируются в отдельный суперкластер (см. рис. 2). Филогенетический анализ показывает, что штаммы W, С и CR имели общего предка, и, по-видимому, эта эволюционная ветвь получила развитие в основном или исключительно на территории современной России. Предположения о восточно-европейском происхождении штаммов W и С высказывались в литературе (13, 40, 53). Гипотетический предок мог возникнуть в России или проникнуть из Передней или Средней Азии с зараженными растениями плодовых косточковых культур. В этой связи представляет интерес находка двух близкородственных изолятов штамма D на диком абрикосе и культурных сортах сливы в Казахстане. У этих изолятов имеется уникальная делеция из шести нуклеотидов в N-конце гена БО, которая не обнаружена ни в одном из изолятов РРV с известной последовательностью соответствующего сегмента генома. Наиболее вероятным источником изолятов РРV с подобным генетическим маркером считаются насаждения дико-

го абрикоса по склонам Тянь-Шаньского хребта (54).

Следует отметить, что долгое время Россия и страны ближнего зарубежья представляли собой единое экономическое пространство, по которому различные изоляты вируса могли практически беспрепятственно перемещаться с зараженным посадочным материалом. Обнаружение изолятов штамма W в Латвии и на Украине (15, 40, 41), штамма C в Молдове и Беларуси (31, 46, 47), штамма D в Литве и на Украине (55, 56) позволяет предположить, что в европейской части бывшего СССР могла сложиться единая популяция вируса. Ее характерная особенность — самое высокое в мире генетическое разнообразие, обусловленное широким распространением штаммов W, C и CR, исключительно редких или вовсе не обнаруженных в других регионах мира. Причины, по которым штаммы W, C и CR практически отсутствуют в зарубежной Европе, неизвестны. Возможно, они не распространяются из-за не востребоваемости сортов косточковых культур российской селекции. Например, существование двух генетически различных субпопуляций штамма M в Европе (одна — во Франции, Италии, Греции и на Кипре, другая — в Болгарии, Чехии, Сербии и Словакии) объясняют длительным отсутствием обмена посадочным материалом между странами по обе стороны «железного занавеса» (57). Возможно, западная граница ареала этих штаммов определяется климатическими факторами.

Итак, результаты мониторинга вируса оспы сливы (*Plum pox virus*, PPV), полученные за последние годы, показывают, что вирус распространен по всей Европейской России. Популяция PPV в России и, по-видимому, в европейской части бывшего СССР вообще, характеризуется самым высоким в мире генетическим разнообразием в силу широкого распространения штаммов D, M, Res, W, CR и C. Исследования молекулярно-биологических свойств российских изолятов PPV существенно углубляют представления о генетическом и биологическом разнообразии вируса, его эволюционной истории. При этом следует подчеркнуть, что насаждения косточковых культур восточнее Волги, на Урале, Алтае, в Сибири и на Дальнем Востоке остаются не изученными в отношении распространения PPV. Дальнейшая работа в обозначенном направлении может принести немало неожиданных находок, поскольку, как показывают наши исследования, вероятность обнаружения изолятов PPV с новыми, неизвестными свойствами в России весьма высока. Следует также отметить, что широкое распространение PPV в России может представлять потенциальную угрозу для перспективного сортимента косточковых культур и дальнейшей селекционной и биотехнологической работы.

Авторы благодарят И.В. Митрофанову за предоставленные фотографии симптомов шарки на листьях персика и нектарина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Clemente-Moreno M.J., Hernandez J.A., Diaz-Vivancos P. Sharka: how do plants respond to *Plum pox virus* infection? J. Exp. Bot., 2015, 66: 25-35 (doi: 10.1093/jxb/eru428).
2. Llacer G., Cambra M. Host and symptoms of *Plum pox virus*: fruiting *Prunus* species. EPPO Bull., 2006, 36: 219-221 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00975.x).
3. James D., Thompson D. Host and symptoms of *Plum pox virus*: ornamental and wild *Prunus* species. EPPO Bull., 2006, 36: 222-224 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00976.x).
4. Polak J. Host and symptoms of *Plum pox virus*: woody species other than fruit and ornamental species of *Prunus*. EPPO Bull., 2006, 36: 225-226 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00977.x).
5. Llacer G. Host and symptoms of *Plum pox virus*: herbaceous hosts. EPPO Bull., 2006, 36: 227-228 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00978.x).
6. Usenik V., Kastelec D., Stampar F., Virscek Marn M. The effect of *Plum pox virus* on chemical composition and fruit quality of plum. J. Agricultural and Food Chem., 2015, 63: 51-60 (doi: 10.1021/jf505330t).
7. Milosevic T.M., Glisic I.P., Milosevic N.T., Glisic I.S. *Plum pox virus* as a stress factor in the vegetative growth, fruit growth and yield of plum (*Prunus domestica*) cv.



- «Cacanska Rodna». Eur. J. Plant Pathol., 2010, 126: 73-79 (doi: 10.1007/s10658-009-9526-z).
8. Cambra M., Boscia D., Myrta A., Llacer G. *Plum pox virus* and estimated cost associated with Sharka disease. EPPO Bull., 2006, 36: 202-204 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.01027.x).
  9. Garcia J.A., Glasa M., Cambra M., Candresse T. *Plum pox virus* and sharka: model potyvirus and a major disease. Mol. Plant Pathol., 2014, 15: 226-241 (doi: 10.1111/mpp.12083).
  10. Sochor J., Babula P., Adam V., Krska B., Kizek R. Sharka: the past, the present and the future. Viruses, 2012, 4: 2853-2901 (doi: 10.3390/v4112853).
  11. Subr Z., Glasa M. Unfolding the secrets of plum pox virus: from epidemiology to genomics. Acta Virologica, 2013, 57: 217-228 (doi: 10.4149/av\_2013\_02\_217).
  12. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol., 2011, 28: 2731-2739 (doi: 10.1093/molbev/msr121).
  13. James D., Varga A., Sanderson D. Genetic diversity of *Plum pox virus*: strains, diseases and related challenges for control. Canadian J. Plant Pathol., 2013, 35: 431-441 (doi: 10.1080/07060661.2013.828100).
  14. Glasa M., Palkovics L., Kominek P., Labonne G., Pittnerova S., Kudela O., Candresse T., Šubr Z. Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of *Plum pox virus* (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. J. Gen. Virol., 2004, 85: 2671-2681 (doi: 10.1099/vir.0.80206-0).
  15. Glasa M., Malinowski T., Predajna L., Pupola N., Dekena D., Michalczyk L., Candresse T. Sequence variability, recombination analysis and specific detection of the W strain of *Plum pox virus*. Phytopathology, 2011, 101: 980-985 (doi: 10.1094/PHYTO-12-10-0334).
  16. Palmisano F., Boscia D., Minafra A., Myrta A., Candresse T. An atypical Albanian isolate of *Plum pox virus* could be the progenitor of the Marcus strain. Proc. 22<sup>nd</sup> Int. Conf. on virus and other transmissible diseases of fruit crops. Rome, Italy, 2012: 33.
  17. Krishna H., Ahmed N., Attri B.L., Kumar A., Ranjan P., Ranjan J.K. Sharka in plums: diagnostics and management. Arch. Phytopath. Plant Protection, 2013, 45: 170-191 (doi: 10.1080/03235408.2010.516084).
  18. Cambra M., Boscia D., Myrta A., Palkovich L., Navratil M., Barba M., Gorris M.T., Capote N. Detection and characterization of *Plum pox virus*: serological methods. EPPO Bull., 2006, 36: 254-261 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00983.x).
  19. Olmos A., Capote N., Candresse T. Detection and characterization of *Plum pox virus*: molecular methods. EPPO Bull., 2006, 36: 262-266 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2006.00984.x).
  20. Cambra M., Asensio M., Gorris M.T., Perez E., Camarasa E., Garcia J.A., Moya J.J., Lopez-Abella D., Vela C., Sanz A. Detection of plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. EPPO Bull., 1994, 24: 569-577 (doi: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01070.x).
  21. Candresse T., Saenz P., Garcia J.A., Boscia D., Navratil M., Gorris M.T., Cambra M. Analysis of the epitope structure of *Plum pox virus* coat protein. Phytopathology, 2011, 101: 611-619 (doi: 10.1094/PHYTO-10-10-0274).
  22. Wetzel T., Candresse T., Ravelonandro M., Dunez J. A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. J. Virol. Methods, 1991, 33: 355-365 (doi: 10.1016/0166-0934(91)90035-X).
  23. Levy L., Hadidi A.A. Simple and rapid method for processing tissue infected with *Plum pox* potyvirus for use with specific 3' non-coding region RT-PCR assays. EPPO Bull., 1994, 24: 595-604 (doi: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01073.x).
  24. Wetzel T., Candresse T., Macquaire G., Ravelonandro M., Dunez J. A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for *Plum pox potyvirus* detection. J. Virol. Methods, 1992, 39: 27-37 (doi: 10.1016/0166-0934(92)90122-T).
  25. Subr Z., Glasa M. Plum pox virus variability detected by the advanced analytical methods. Acta Virologica, 2008, 52: 75-90.
  26. Boscia D., Zerardini H., Cambra M., Potere O., Gorris M.T., Myrta A., Di Terlizzi B., Savino V. Production and characterization of a monoclonal antibody specific to the M serotype of *Plum pox potyvirus*. Eur. J. Plant Pathol., 103: 477-480 (doi: 10.1023/A:1008674618635).
  27. Myrta A., Potere O., Boscia D., Candresse T., Cambra M., Savino V. Production of a monoclonal antibody specific to the El Amar strain of *Plum pox virus*. Acta Virologica, 1998, 42: 248-250.
  28. Myrta A., Potere O., Crescenzi A., Nuzzaci M., Boscia D. Properties of two monoclonal antibodies specific to the cherry strain of *Plum pox virus*. J. Plant Pathol., 2000, 82: 95-101 (doi: 10.4454/jpp.v82i2.1148).
  29. Glasa M., Prikhodko Y., Predajna L., Nagyova A., Shneyder Y., Zhi-vaeva 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, 103: 972-979 (doi: 10.1094/PHYTO-11-12-0285-R).
  30. James D., Varga A. Preliminary molecular characterization of *Plum pox potyvirus* isolate W3174: evidence of a new strain. Acta Hortic., 2004, 657: 177-182 (doi: 10.17660/ActaHortic.2004.657.24).

31. Nemchinov L., Hadidi A. Specific oligonucleotide primers for the direct detection of plum pox potyvirus-cherry subgroup. *J. Virol. Methods*, 1998, 70: 231-234 (doi: 10.1016/S0166-0934(97)00194-8).
32. Szemes M., Kalman M., Myrta A., Boscia D., Nemeth M., Kolber M., Dorgai L. Integrated RT-PCR/nested PCR diagnosis for differentiating between subgroup of plum pox virus. *J. Virol. Methods*, 2001, 92: 165-175 (doi: 10.1016/S0166-0934(00)00284-6).
33. Olmos A., Cambra M., Dasi M.A., Candresse T., Esteban O., Gorris M.T., Asensio M. Simultaneous detection and typing of *Plum pox potyvirus* (PPV) isolates by hemi-nested PCR and PCR-ELISA. *J. Virol. Methods*, 1997, 68: 127-137 (doi: 10.1016/S0166-0934(97)00120-1).
34. Subr Z., Pittnerova S., Glasa M. A simplified RT-PCR-based detection of recombinant *Plum pox virus* isolates. *Acta Virologica*, 2004, 48: 173-176.
35. Diagnostic protocols for regulated pests: *Plum pox potyvirus*. EPPO Bull., 2004, 34: 247-256 (doi: 10.1111/j.1365-2338.2004.00726.x).
36. IPPC-FAO (International Standards for Phytosanitary Measures: Diagnostic protocols: *Plum pox virus*. 2012, ISPM 27, Annex 2 (DP2) (<http://www.sharco.eu/News/ISPM-27-Diagnostic-Protocols>).
37. Приходько Ю.Н., Чирков С.Н., Метлицкая К.В., Цубера Л.В. Распространенность вирусных болезней косточковых культур в европейской части России. *Сельскохозяйственная биология*, 2008, 1: 26-32 ([http://www.agrobiology.ru/articles/c\\_prikhodko.html](http://www.agrobiology.ru/articles/c_prikhodko.html)).
38. 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: 29-32.
39. Чирков С.Н., Бызова Н.А., Шевелева А.А., Митрофанова И.В., Приходько Ю.Н., Дзантиев Б.Б., Атабеков И.Г. Испытания отечественных иммунохроматографических тест-полосок для экспресс-диагностики вируса шарки сливы. *Сельскохозяйственная биология*, 2012, 1: 110-116 (doi: 10.15389/agrobiology.2012.1.110rus, doi: 10.15389/agrobiology.2012.1.110eng).
40. James D., Varga F., Thompson D., Hayes S. Detection of a new and unusual isolate of *Plum pox virus* in plum (*Prunus domestica*). *Plant Dis.*, 2003, 87: 1119-1124 (doi: 10.1094/PDIS.2003.87.9.1119).
41. Mavrodieva V., James D., Williams K., Negi S., Varga A., Mock R., Levy L. Molecular analysis of a *Plum pox virus* W isolate in plum germplasm hand carried into the USA from the Ukraine shows a close relationship to a Latvian isolate. *Plant Dis.*, 2013, 97: 44-52 (doi: 10.1094/PDIS-01-12-0104-RE).
42. Sheveleva A., Nemova E., Chirkov S. Detection of a new Winona-like *Plum pox virus* isolate in naturally infected Canadian plum (*Prunus nigra*) in Russia. *Acta Hort.*, 2011, 899: 49-55 (doi: 10.17660/ActaHortic.2011.899.5).
43. Sheveleva A., Ivanov P., Prihodko Y., James D., Chirkov S. Occurrence and genetic diversity of Winona-like *Plum pox virus* isolates in Russia. *Plant Dis.*, 2012, 96: 1135-1142 (doi: 10.1094/PDIS-12-11-1045-RE).
44. Sheveleva A., Kudryavtseva A., Speranskaya A., Belenikin M., Melnikova N., Chirkov S. Complete genome sequence of a novel *Plum pox virus* strain W isolate determined by 454 pyrosequencing. *Virus Genes*, 2013, 47: 385-388 (doi: 10.1007/s11262-013-0946-7).
45. Croft H., Malinowski T., Krizbai L., Mikec I., Kajic V., Reed C., Varga A., James D. Use of Luminex xMAP-derived Bio-Plex bead-based suspension array for specific detection of PPV W and characterization of epitopes on the coat protein of the virus. *J. Virol. Methods*, 2008, 153: 203-213 (doi: 10.1016/j.jviromet.2008.07.016).
46. Kalashyan Y.A., Bilkey N.D., Verderevskaya T.D., Rubina E.V. *Plum pox potyvirus* on sour cherry in Moldova. EPPO Bull., 1994, 24: 645-649 (doi: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01078.x).
47. Malinowski T., Sowik I., Salavei A.V., Kukharchuk N.V. Partial characterization of biological properties of PPV-C isolates found in Belarus and establishment of in vitro cultures of infected L2 and OWP-6 rootstocks. Proc. 22<sup>nd</sup> Int. Conf. on virus and other graft transmissible diseases of fruit crops. Rome, Italy, 2012: 152.
48. Chirkov S., Ivanov P., Sheveleva A. Detection and partial molecular characterization of atypical plum pox virus isolates from naturally infected sour cherry. *Arch. Virol.*, 2013, 158: 1383-1387 (doi: 10.1007/s00705-013-1630-x).
49. Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Шнейдер Ю.А., Морозова О.Н., Мазурин Е.С. Выявление в Российской Федерации нового штамма вируса шарки слив — Cherry Russian (PPV-CR). *Карантин растений*, 2013, 2: 18-33.
50. Atanasov D. *Plum pox*. A new virus disease. *Annals of the University of Sofia, Faculty of Agriculture and Silviculture*, 1932, 11: 49-69.
51. Fanigliulo A., Comes S., Maiss E., Piazzolla P., Crescenzi 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. *Arch. Virol.*, 2003, 148: 2137-2153 (doi: 10.1007/s00705-003-0175-9).
52. Kajic V., Cerni S., Skoric D. *Plum pox virus* on sour cherry in Croatia. Proc. 22<sup>nd</sup> Int. Conf. on virus and other graft transmissible diseases of fruit crops. Rome, Italy, 2012: 157.

53. Nemchinov L., Crescenzi A., Hadidi A., Piazzolla P., Verderevskaya T. Present status of the new cherry subgroup of *Plum pox virus* (PPV-C). In: Plant virus disease control /A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Kogazenawa (eds.). APS Press, St. Paul, MN, 1998: 628-638.
54. Spiegel S., Kovalenko E.M., Varga A., James D. Detection and partial molecular characterization of two *Plum pox virus* isolates from plum and wild apricot in southeast Kazakhstan. *Plant Dis.*, 2004, 88: 973-979 (doi: 10.1094/PDIS.2004.88.9.973).
55. Staniulis J., Zitikaite I., Zizyte M., Jackeviciene E., Urbanaviciene L., Sneideris D. Detection and molecular identification of alien viruses of plums, sugar beets and tomatoes. *Zemdirbyste=Agriculture*, 2012, 99: 85-92.
56. Norkus T., Staniulis J., Zizyte M., Melnyk M., Yusko L., Snigur H., Budzanivska I., Polischuk V. Molecular identification of *Plum pox virus* isolates from Lithuania and Ukraine. *Zemdirbyste=Agriculture*, 2008, 95: 277-285.
57. Dallot S., Glasa M., Jevremovic D., Kamenova I., Paunovic S., Labonne G. Mediterranean and central-eastern European countries host viruses of two different clades of plum pox virus strain M. *Arch. Virol.*, 2011, 156: 539-542 (doi: 10.1007/s00705-011-0918-y).

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
119234 Россия, г. Москва, Ленинские горы, МГУ, 1, стр. 12,  
Биологический факультет МГУ, кафедра вирусологии,  
e-mail: s-chirkov1@yandex.ru;

Поступила в редакцию  
17 февраля 2015 года

<sup>2</sup>ФГБУ Всероссийский центр карантина растений,  
140150 Россия, Московская обл., Раменский р-н, пос. Быково,  
ул. Пограничная, 32,  
e-mail: prihodko\_yuri59@mail.ru

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, V. 50, № 5, pp. 529-539

## GENETIC DIVERSITY AND POPULATION STRUCTURE OF *Plum pox virus* IN RUSSIA (review)

S.N. Chirkov<sup>1</sup>, Yu.N. Prihodko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University, Department of Virology, Biological Faculty, 1/12, Leninskie gory, Moscow, 119234 Russia, e-mail s-chirkov1@yandex.ru;

<sup>2</sup>All-Russian Plant Quarantine Center, Federal Agency of Scientific Organizations, 32, ul. Pogramichnaya, pos. Bykovo, Ramenskii Region, Moscow Province, 140150 Russia, e-mail prihodko\_yuri59@mail.ru

Acknowledgements:

The authors thank I.V. Mitrofanova for the photos of PPV symptoms on peach and nectarine leaves.

Supported by Russian Science Foundation, grant № 14-24-00007

Received February 17, 2015

doi: 10.15389/agrobiology.2015.5.529eng

### Abstract

*Plum pox virus* (PPV) is the causal agent of Sharka that is considered the most detrimental viral disease of stone fruit crops. Regular monitoring of stone fruit plantings using enzyme-linked immunosorbent assay and reverse-transcription polymerase chain reaction for PPV detection and identification resulted in the findings of numerous focuses of the disease in European Russia. The virus was found in collections, variety test plots, nurseries, fructiferous and abandoned orchards, decorative plantings, private gardens, wild stone fruit trees growing in urban and rural areas. PPV was detected in naturally infected plum (*Prunus domestica*), peach (*P. persica*), nectarine (*P. persica* var. *nectarina*), myrobalan (*P. cerasifera*), blackthorn (*P. spinosa*), downy cherry (*P. tomentosa*), sour cherry (*P. cerasus*), sweet cherry (*P. avium*), apricot (*P. armeniaca*) and Canadian plum (*P. nigra*). PPV has been reported from Petersburg, Novgorod, Tver, Moscow, Tula, Voronezh, Tambov, Lipetsk, Belgorod, Rostov, Samara, Saratov, Volgograd, Astrakhan, Stavropol, Krasnodar, Karachay-Cherkessia, Dagestan, and Crimea regions. Six of the nine known PPV strains (D, M, Rec, W, C, CR) have been revealed in European Russia. Most isolates belong to the strains D (38 %), W (25 %), CR (23 %), M (7 %) and C (7 %). Two distinct PPV-Rec isolates have been found on myrobalan and plum in Crimea and Stavropol regions. Population of PPV in European Russia and, probably, all over the European part of the former USSR seems to be the most diverse in the world due to wide spread of PPV isolates belonging to the strains W, C, and CR that were never detected or only sporadically identified in other countries until now. Phylogenetic analysis of their genomes shows that these three strains constitute the supercluster divergent from other PPV strains. This evolutionary branch originated from a common ancestor and apparently developed mainly in Russia. The wide dissemination of PPV in Russia is a potential threat for newly bred stone fruit cultivars and further selection and biotechnological works.

Keywords: plant viruses, *Plum pox virus*, Sharka disease, genetic diversity, strains.