



Вірус шарки сливи- характеристика, розповсюдження та стратегії контролю

***Будзанівська Ірина
Геннадіївна***

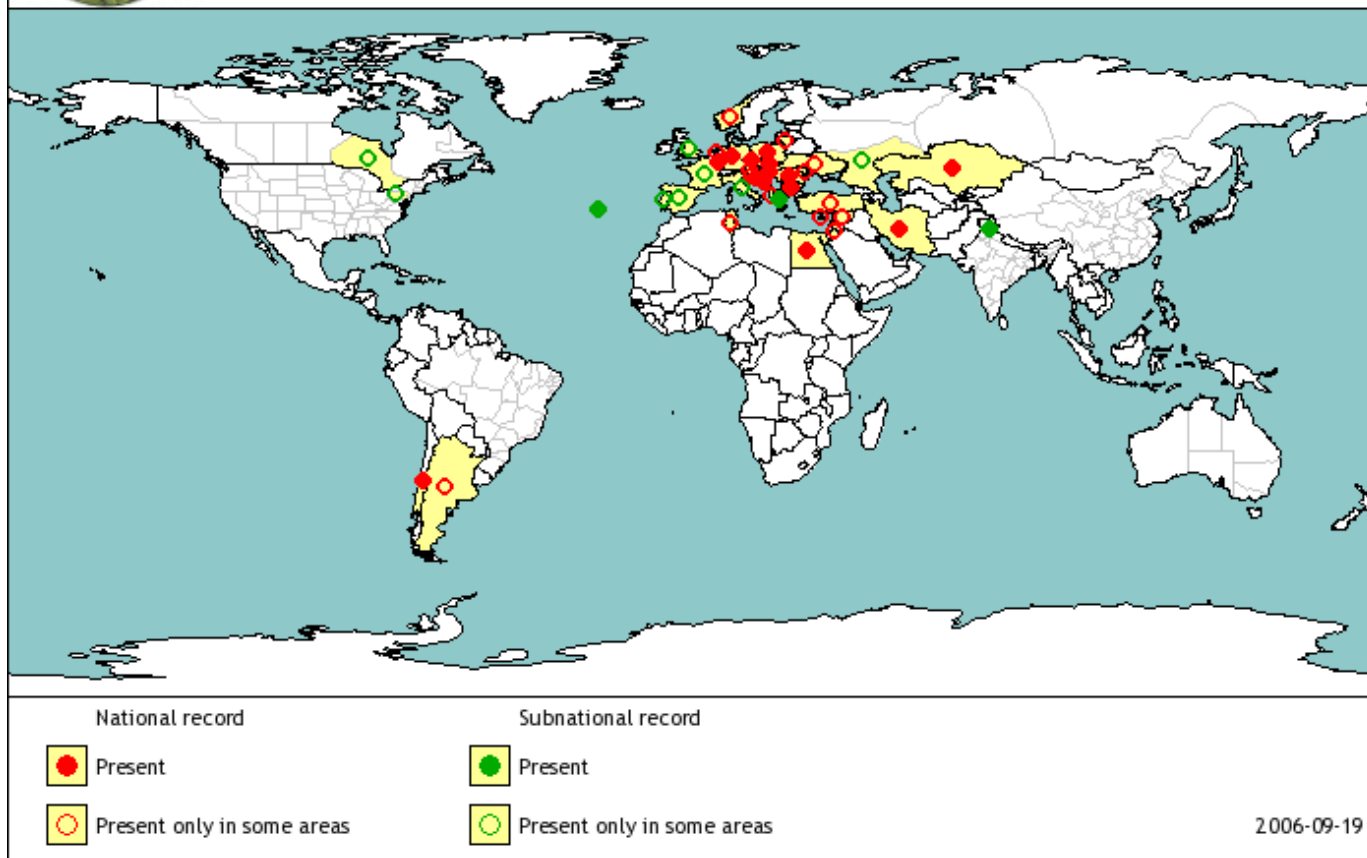
Проф. кафедри вірусології
ННЦ «Інститут біології»
Київського національного
університету імені Тараса
Шевченка

- Вірус шарки сливи (*Plum pox virus* (PPV)) вперше спостерігався приблизно в 1917-1918 роках на сливі в Болгарії. Захворювання слив спочатку описав Атанасов (1932), в 1933 р була описана хвороба на абрикосі (Atanasoff, 1935), на персику в 1961 (Németh, 1963) і на вишні в 1980 (Kalashyan і інші., 1994).





Plum pox potyvirus



Поширення РРV в світі

- PRV розповсюджений в Європі, Середземноморському регіоні, Малайзії, Китаї, Південній (Чілі, Аргентина) і Північній (США, Канада) Америці.
- Не ідентифікувався в Австралії та Новій Зеландії. Не підтверджене повідомлення з Індії.
- На території України шарка сливи вперше була виявлена в 1966 році в Чернівецькій області.

Ареал вірусу шарки сливи
в світі

Континент	Країна	Рік виявлення	Штам ВШС
Європа	Болгарія	1917	PPV-D, PPV-M
	Сербія	1935	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec
	Чорногорія	1935	
	Угорщина	1938	PPV-D, PPV-M, PPV-C
	Румунія	1941	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec, PPV-C
	Албанія	1947	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec
	Словаччина	1950	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec
	Чеська Республіка	1952	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec
	Німеччина	1956	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec (? можливо)
	Австрія	1961	
	Польща	1961	PPV-D, PPV-M
	Молдова	1962	PPV-C
	Росія	1962	
	Нідерланди	1965	PPV-D
	Великобританія	1965	PPV-D
	Греція	1967	PPV-D, PPV-M
	Швейцарія	1967	
	Україна	1967	

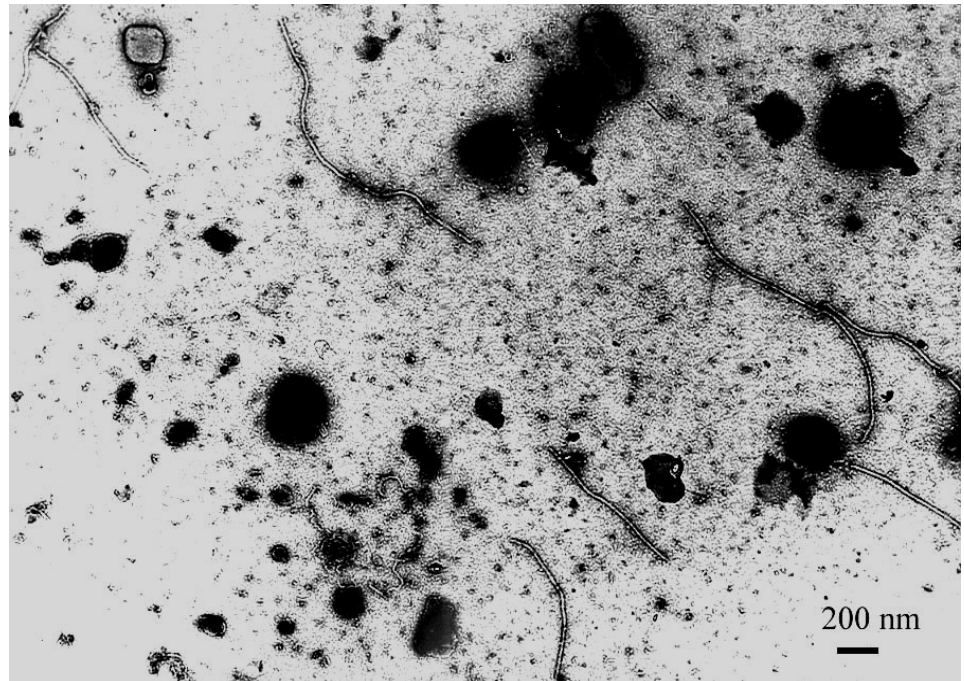
Європа	Франція	1970	PPV-D, PPV-M
	Швеція	1970	
	Італія	1973	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec, PPV-C (?)
	Бельгія	1974	
	Іспанія	1984	PPV-D, PPV-M (знищений)
	Португалія	1984	
	Кіпр	1987	PPV-D, PPV-M
	Словенія	1987	PPV-D, PPV-M
	Хорватія	1988	PPV-D, PPV-M
	Естонія	1994	
	Грузія	1994	
	Литва	1995	
	Боснія та Герцеговина	2004	PPV-D, PPV-M, PPV-Rec
Азія	Гуреччина	1968	PPV-D, PPV-M
	Сирія	1986	PPV-D, PPV-M
	Китай	2000	
	Іран	2004	
	Казахстан	2004	PPV-D
	Пакистан	2006	PPV-D, PPV-Rec
	Японія	2009	PPV-D
Африка	Єгипет	1987	PPV-EA
	Туніс	2002	PPV-D
Північна Америка	США	1999	PPV-D
	Канада	2000	PPV-D, PPV-W
Південна Америка	Чилі	1992	PPV-D
	Аргентина	2004	PPV-D

- PPV не знищує дерева, але призводить до зниження врожаїв.
- У Європі втрати 80-100% в сприйнятливих сортах рослин
-



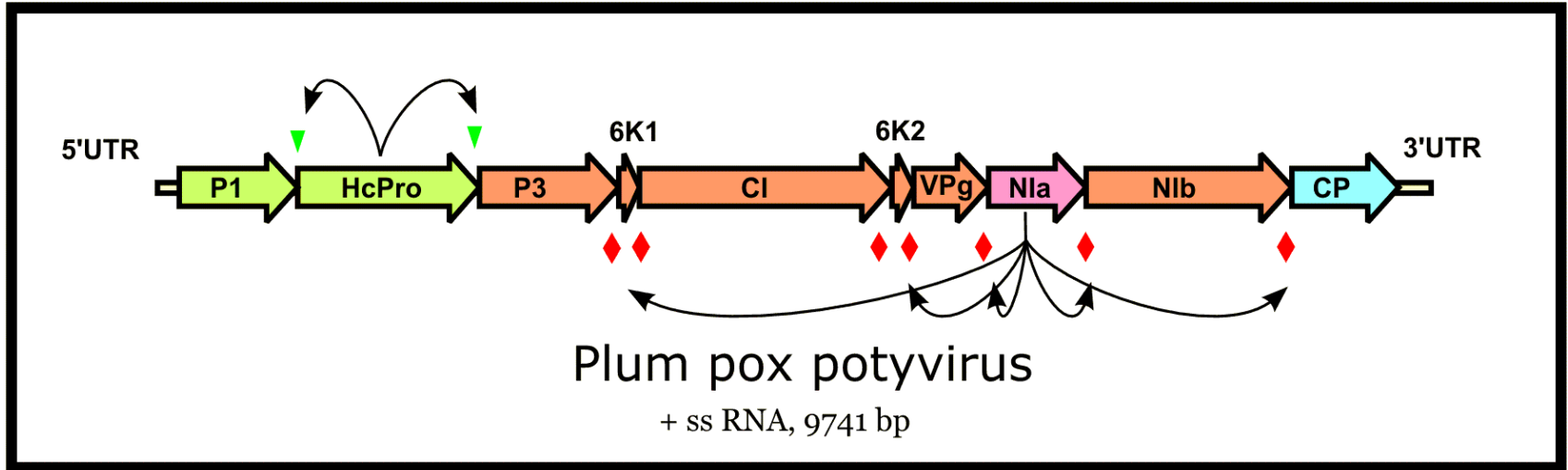
PPV належить до роду *Potyvirus* родини *Potyviridae*

- Гнучні палички без оболонки, за даними різних авторів близько 760 нм довжиною і 20 нм в діаметрі
- Вірус складається з однієї молекули лінійної плюс одноланцюгової РНК, оточеної одним типом субодиниць капсидного білку.



Ниткуваті часточки ВШС з
соку рослин сливи (ІСЕМ)
Бар 200 нм

Геном ВШС



Геномна РНК, яка у більшості ізолятів складається із 9741 нт, має маркерний білок (**VPg**), що ковалентно зв'язаний із 5'-кінцем, та довгу гетерогенну поліаденільовану послідовність на 3'-кінці (**poly-A**). Білки, які кодуються 9 генами геномної РНК *PPV*, багатофункціональні. Геном *PPV* містить одну довгу відкриту рамку зчитування (ORF), яка кодує поліпротеїн з високою молекулярною вагою (приблизно 355 кДа). Трансляція ініціюється другим кодоном AUG (нт 147-149), можливо подібно до кеп-незалежного скануючого механізму.

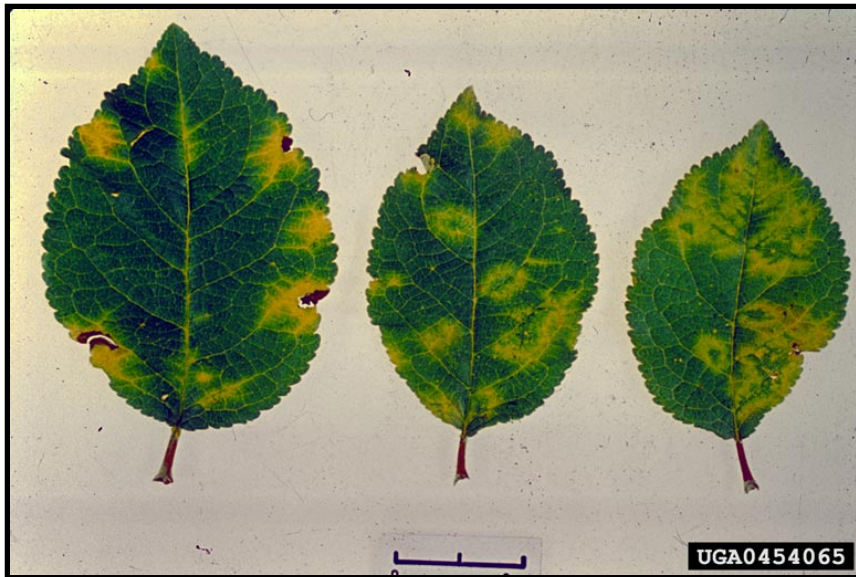
Штами вірусу

- Різні штами спочатку були описані на підставі симптомів на різних експериментальних господарях. По симптомам на *Chenopodium foetidum*, Sutic і інші. (1971) розділили ізоляти PPV на жовті, проміжні і некротичні штами. Проте, не було встановлено спорідненості між біологічними, серологічними та молекулярними властивостями ізолятів.

Штами PPV	Вперше ідентифікований	Характеристика	Поширення
PPV-M (Marcus)	Персик в північній Греції	Основний штам в південній, східній та центральній Європі. Швидко поширюється за допомогою попелиць. Належить до епідемічних штамів PPV. Абрикос, персик, слива.	Австрія, Боснія і Герцеговина, Болгарія, Хорватія, Чеська Республіка, Франція, Німеччина, Угорщина, Іран, Італія, Йорданія, Косово, Сербія, Словаччина, Словенія, Іспанія, Румунія, Туреччина
PPV-D (Diferon)	Абрикос у Франції	Найбільш поширений у Західній Європі. Епідемічний штам PPV. Абрикос, персик (тільки погано), слива.	Боснія і Герцеговина, Болгарія, Канада, Чилі, Хорватії, Чехії, Франції, Угорщини, Японії, Косово, Литви, Румунії, Словаччині, Іспанії, Туреччині, Україні
PPV-Rec (рекомбінантний)	Рекомбінантний між PPV-M та PPV-D	Широко поширений серед країн Центральної та Східної Європи. Ефективно передається попелицями.	Боснія і Герцеговина, Болгарія, Хорватія, Чеська Республіка, Німеччина, Угорщина, Італія, Косово, Сербія, Словаччина, Словенія
PPV-EA (ElAmar)	Абрикос в Єгипті	Тільки в Єгипті. Обмежені дані про розповсюдження. Абрикоси, персики, сливи.	Єгипет
PPV-C (Cherry)	Вишня в Молдові	Поширений серед країн Східної та Центральної Європи, в Італію (ймовірно, ліквідована). Ефективно передається за допомогою попелиць. Вишня.	Італія, Молдова. Румунія
PPV-W (Winona)	Слива в Канаді	Канада, виявили в Латвії	Канада, Латвія
PPV-T (Turkey)	Слива в Турції	Туреччина, дані про штам обмежені	Турція
PPV-CR (CherryRussian)	Вишня в Росії	Характеризується дуже швидким поширенням. Існує велика кількість ізолятів	Росія
PPV-An (Ancestor)	Слива в Албанії	Вважається викопним, тобто має давнє минуле, еволюційно споріднений з іншими штамми	Албанія
PPV-Penn* (Pennsylvania)	Персик, нектарин, слива в Пенсільванії	США, в першу чергу в окрузі Адамс, Пенсільванії в 1999 році.	США

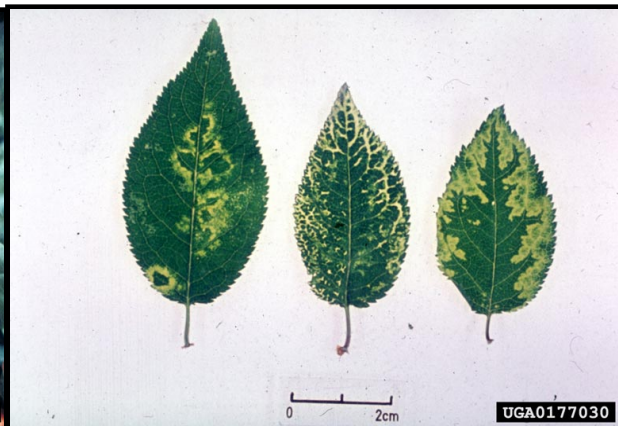
СИМПТОМИ

- Симптоми на **сливі** бувають у вигляді хлоротичних плям або кілець, деформації листків та просвітління жилок, дрібних кілець або виразок на плодах, іноді з коричневою або червонуватою некротизацією. Плоди, як правило, опадють передчасно. Толерантні сорти слив (такі як Sasak Best, Стенлі) не демонструють ніяких симптомів на плодах.



СИМПТОМИ

- На уражених **абрикосах** розвиваються хлоротичні або блідо-зелені плями і полоски на листках, слабо забарвлені плями на плодах, які, бувають серйозно деформовані та передчасно опадають у чутливих сортів. Типові безбарвні плями спостерігаються на кісточках.
- Симптоми на **персику** часто менш помітні. Просвітління жилок, маленькі хлоротичні плямами і деформації листків розвиваються в сприйнятливих генотипах. Опадання квіток спостерігається в декількох сортах. Бліді кружечки або розкидані групи спостерігаються на шкірці плодів які можуть передчасно опадають.
- На рослинах **мигдалю** інфекція часто безсимптомна.
- На **вишні** спостерігаються блідо-зелені ділянки і кільця на листках, плоди злегка деформовані, з хлоротичними і некротичними плямами, плоди передчасного опадають.



Хазяї

- Природне коло хазяїв - види роду *Prunus*, який включає кісточкові культури - **слива** (*P. domestica*), **японська слива** (*P. salicina*), абрикос (*P. armeniaca*), **персик і нектарин** (*P. persica*), черешня (*P. avium*) і **кисла вишня** (*P. cerasus*). Дикі і декоративні дерева, як наприклад американська слива (*P. americana*), **карликовий квітучий мигдаль** (*P. glandulosa*) і **терен** (*P. spinosa*), можуть виступати як місцеві резервуари вірусу.
- Експериментальне коло рослин-хазяїв велике, складається з понад 60 видів з восьми родин



Рослини - індикатори

- Трав'яні індикатори:
- *Chenopodium foetidum* - хлоротичні, хлоро-некротичні або некротичні плями залежно від вірусного ізоляту (Fig.11). Інфекція не системна.
- *Nicotiana benthamiana* - зупинка росту, хлоротична мозаїка з темними зеленими плямами, скручуванням листя.
- *N. clevelandii* або *N. clevelandii* × *N. glutinosa* гібрид - хлоротичні або некротичні місцеві пошкодження, системний хлороз у вигляді цяток. Деякі ізоляти індукують дуже м'які симптоми або їх відсутність.
- *Pisum sativum* (cv. *Colmo*, *Express Genereux*, *Serpette d'Auvergne*) - легка зелена мозаїка, хлоротична плямистість.
- Також описані деякі нечутливі господарі, такі як *Crataegus monogyna*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *Datura stramonium*, *Malus domestica*, *M. sylvestris*, *Prunus serrulata*, *Pyrus communis*, *Solanum nodiflorum* and *S. rostratum*.
- Для накопичення вірусу використовують: *Pisum sativum*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. clevelandii* × *N. glutinosa* або *N. occidentalis*. Як правило виділяють та очищують вірус через 14-21 день після інокуляції.
- Як індикатор найчастіше використовують рослини *Chenopodium foetidum* на яких спостерігаються чіткі місцеві ураження.



Рослини - індикатори

- Деревні індикатори:
- *Персик Prunus persica* cv. GF305 – просвітління жилок і деформація .
- *Китайська вишня P. tomentosa* - хлоротична крапчастість, хлороз жилок, листова деформація, некротичні плями.
- *Prunus marianna* cv. GF8.1 – дифузні хлоротичні плями на листі.
- *Тернослива Prunus insititia* cv. St. Julien no.2 – хлоротичні плям та круги.
- Надмірно чутливий гібрид сливи *Prunus domestica* K4 (*Kirke* × *Persikova*), - блідо-зелена крапчастість листків, некротичні плями, некроз верхівки та/або можлива затримка росту, залежно від ізоляту.

Передача

- Вірус передається попелицями неперсистентно, але з широкими варіаціями ефективності. Передача більш ніж двадцятьма різними видами попелиць, зокрема *Aphis craccivora*, *A. gossypii*, *A. hederae*, *A. spiraecola*, *Brachycaudus cardui*, *B. helichrysi*, *B. persicae*, *Myzus persicae*, *M. varians*, *Phorodon humuli* and *Rhopalosiphum padi*



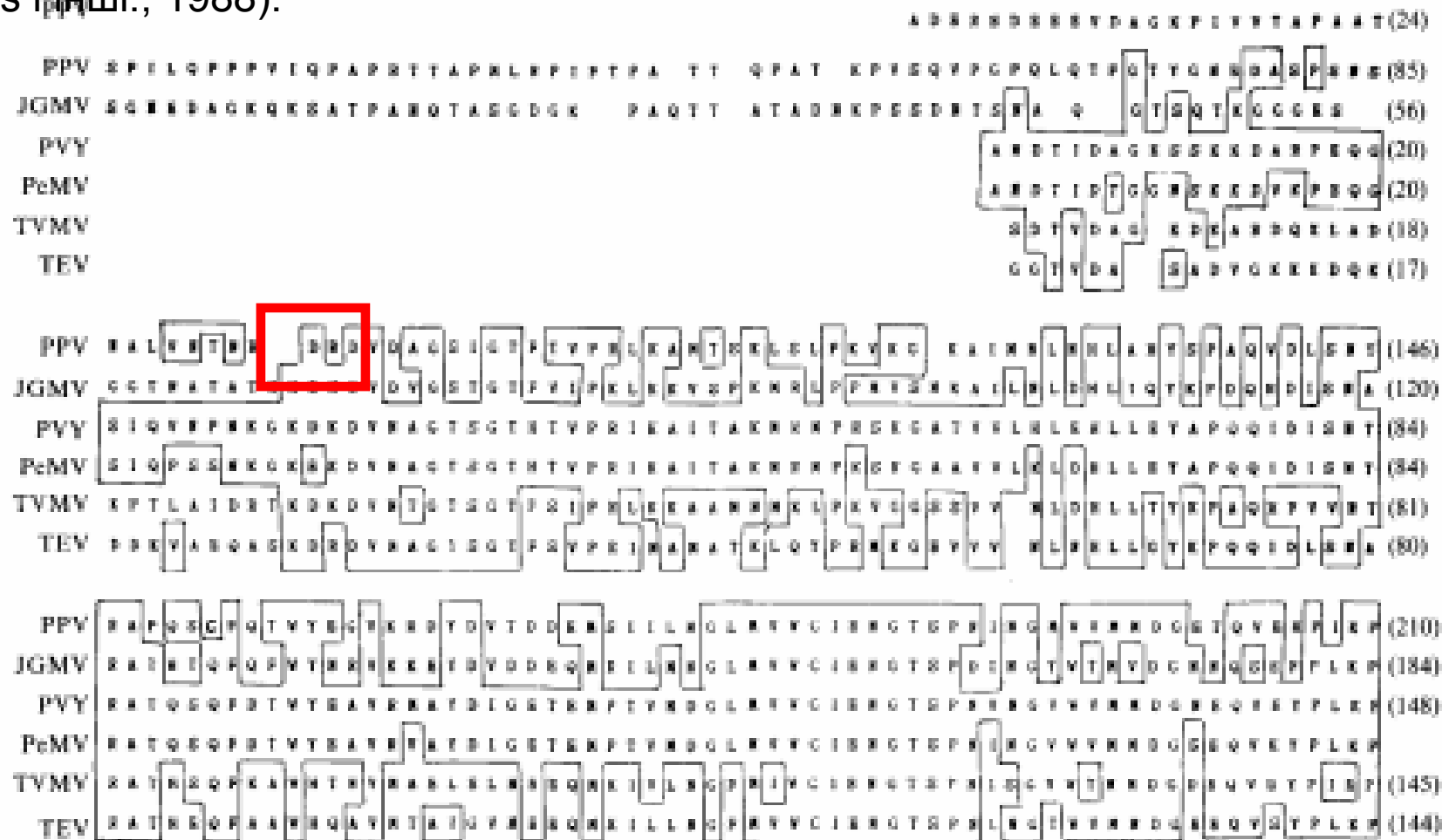
Передача

- РРV може знаходитись в попелиці протягом короткого часу – 30 сек., але зазвичай передається протягом 1 години.
- Більшість попелиць не можуть переносити вірус на відстань більш ніж на 120 метрів від дерева, де попелиця первинно інфікувалась.



Передача

DAG амінокислотний мотив, розміщений біля N кінцевої ділянки капсидного білка, надзвичайно консервативний в ізолятах PPV, що передаються за допомогою попелиць, втрата можливості передачі корелює з втратою (делецією) цього мотиву (Maiss і інші., 1988).



Передача

- Продукти генів **CP** і **HC-Pro** задіяні під час векторної передачі *PPV* попелицями. Передача не відбувається, якщо білок **HC-Pro** не надходить перед або одночасно із віріонами. Тому, було запропоновано, що білок **HC-Pro**, можливо, утворює міст між віріоном (тобто **CP**) та можливим рецептором в травному каналі стилету попелиці.
- Як альтернатива, **HC-Pro** може змінити можливий рецептор попелиці, щоб зробити його чутливим до вірусного **CP**.



Передача

- Суперечливі результати були повідомлені в минулому з приводу передачі за допомогою насіння в декількох видах *Prunus*. Недавні вивчення не змогли продемонструвати передачу насінням PRV в будь-якому з його деревних господарів.



Екологія і Контроль

- Природне розповсюдження відбувається за допомогою попелиць від границь заражених резервуарів (культурні, дикі або декоративні дерева).
- Немає повідомлень про істотний епідеміологічний внесок диких або однорічних трав'янистих рослин в розповсюдження вірусу віспи сливи. Розповсюдження вірусу на великі відстані пов'язується з **міжнародним обміном зараженого матеріалу**.
- Головні стратегії, щоб обмежувати хворобу-
 - (а) карантинні заходи для уражених областей;
 - (б) поєднання профілактичних підходів в регіонах, де хвороба присутня але під контролем.
- Останнє включає використання вільного від вірусу матеріалу (прищепи, саджанці), *викорінювання заражених рослин* і, якщо потрібно, контроль популяції попелиць. Також для запобігання поширення вірусу необхідно використовувати інсектициди. Така змішана стратегія показала значне уповільнення поширення вірусу, однак повна ерадикація неможлива.



Мінливість ВШС



- Принципова схема поширення різноманітності вірусів в одній рослини-господарі. Гілки різних кольорів і листя ілюструють різноманітності гаплотипів ВШС, виділених з різних місць одного хронічно-інфікованого дерева. Результати показали, що кілька різних субпопуляцій вірусу шарки сливи диференціюються і розвиваються самостійно в різних місцях одного дерева. Напівтони кольорів представляють тісно пов'язані гаплотипи (J. of Virology, 2009)

СТІЙКІСТЬ

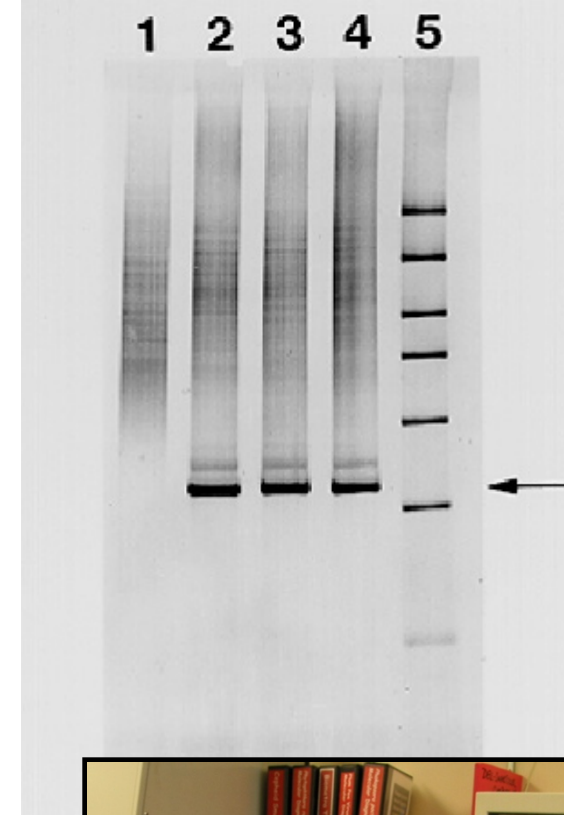
- Ідентифіковані стійкі генотипи сливи і абрикос. Для персика не відомі стійкі сорти, але стійкість була ідентифікована в дикій рослині персика *Prunus davidiana*. Зусилля, направлені на відбір, продовжуються для різних видів, щоб ввести резистентність від ідентифікованих джерел в комерційно спроможні сорти. Прогрес є, проте, дослідження уповільнено довгим часом для вирощування поколінь, тривалістю випробувань резистентності і полігеномною природою резистентності.
- Генетично модифіковані клони слив, що несуть ген капсидного білка PPV, показали високий опір інфекції PPV. Не дивлячись на те, що опір може бути подоланий щепленням, це забезпечує ефективний захист проти природного розповсюдження PPV в польових випробуваннях.
- Велика різниця існує в сприйнятливості до PPV індивідуальних видів і сортів. У регіонах, де хвороба розповсюджена, культивування менш сприйнятливих або толерантних сортів, можливо, дозволить продовжувати виробництво (ця практика, проте, сприяє подальшому розповсюдженню вірусу).



- Велика різниця існує в сприйнятливості до PRV індивідуальних видів і сортів. У регіонах, де хвороба розповсюджена, (центральна і південно-східна Європа), культивування менш сприйнятливих або толерантних сортів, можливо, дозволить продовжувати виробництво (ця практика, проте, сприяє подальшому розповсюдженню вірусу).

Детекція

- Метод рослин – індикаторів
- Імуноферментний аналіз (ELISA)
- Найбільш точна детекція PPV можлива за допомогою RT-PCR



Українські реалії...

Станом на 2008 рік вогнища вірусу виявлено в 6 регіонах (Закарпатська, Львівська, Тернопільська, Чернівецька, Одеська області та АР Крим) на загальній площі 4652, 98 га.

Симптоми ВШС у Закарпатській області



Симптоми у вигляді прижилкових плям та кілець по всій поверхні листкових пластинок сливи у Хустському районі



Симптоми пожовтіння жилок на
листяних пластинках сливи
(*Prunus domestica*) сорту “Угорка
звичайна”



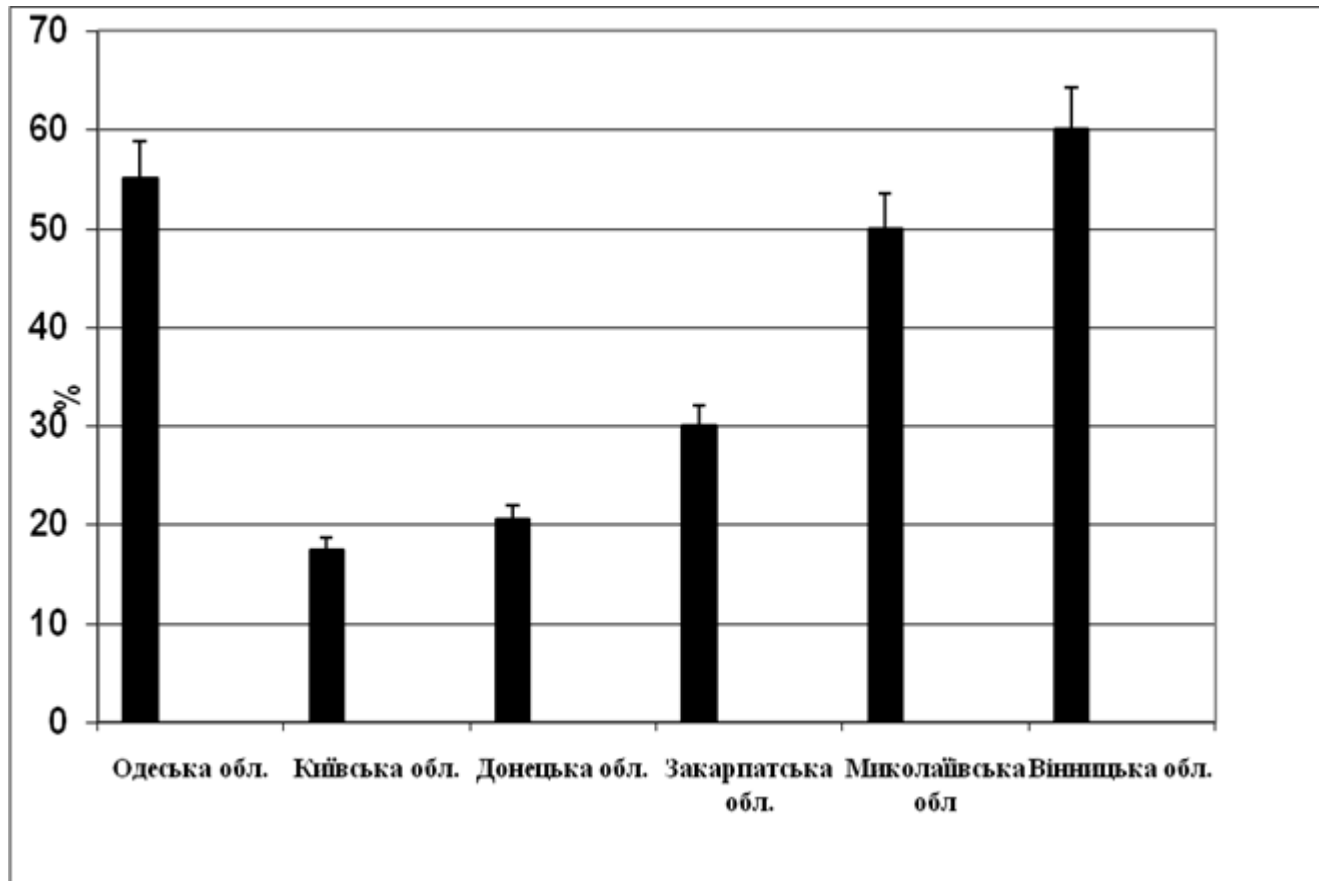
Симптоми прижилкових плям та
кілець на листяних пластинках
сливи (*Prunus domestica*) сорту
“Угорка звичайна” з



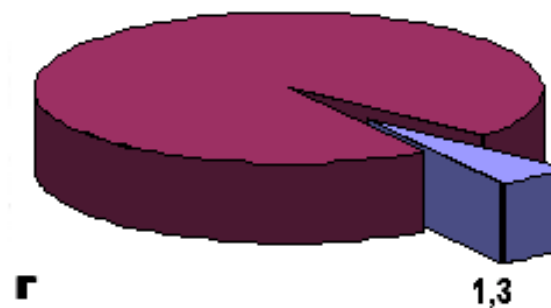
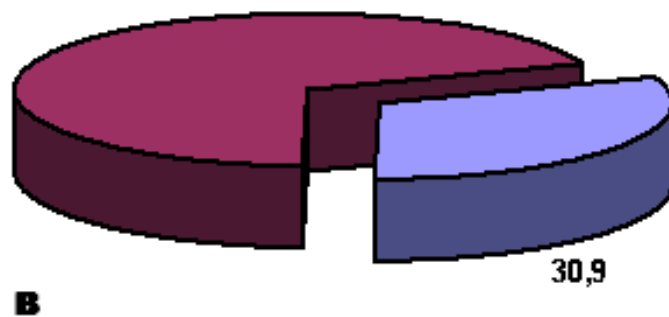
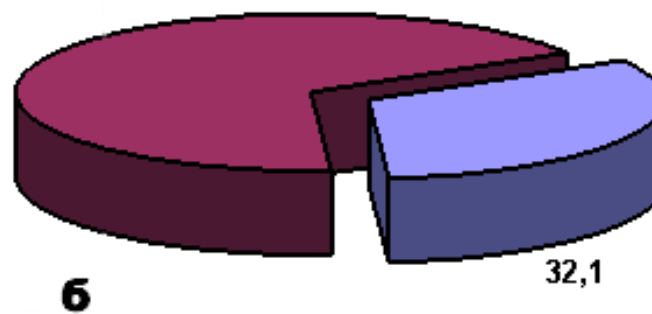
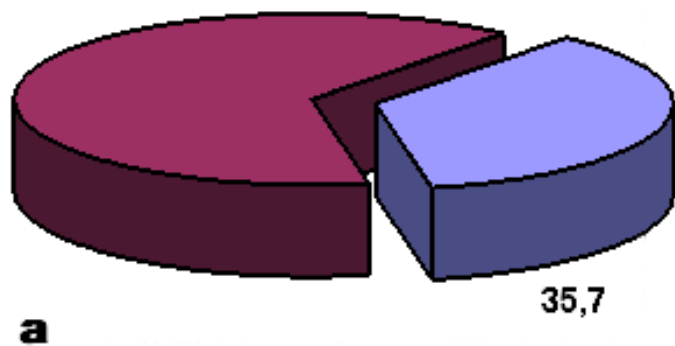
Симптоми шарки слив на плодах
сливи



Симптоми шарки на плодах персика *Prunus
persicae*

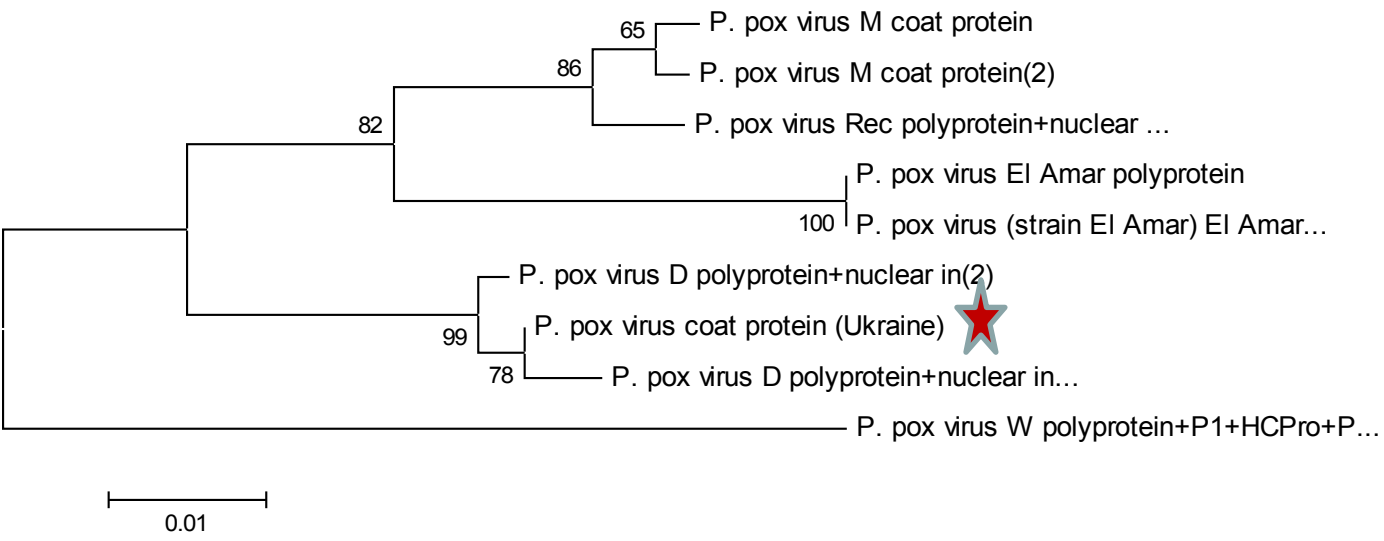


- Ідентифікація вірусу шарки сливи з різних областей методом ІФА (на осі ординат відсоток (%) уражених зразків).



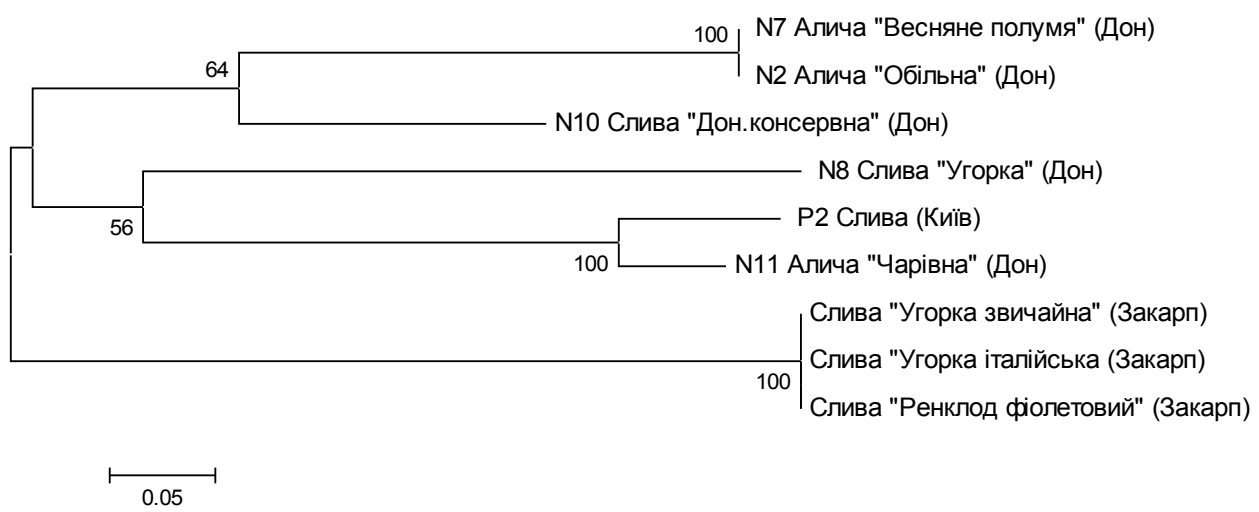
Ураженість сортів сливи (*P. domestica*) ВШС (у відсотках, %):

- а – Угорка звичайна; б – Угорка молдавська;
- в – Угорка італійська; г – Ренклюд фіолетовий



Порівняння нуклеотидних послідовностей капсидного білка українського ізоляту та відомих ізолятів ВШС,

Порівняння нуклеотидних послідовностей капсидного білка українських ізолятів ВШС



Підсумки

- ВШС є особливо небезпечним з екологічної точки зору, поширеним у всьому світі карантинним вірусом.
- На сьогоднішній день існує 9 штамів/ізолятів вірусу .
- В Україні ВШС поширений в 10 областях (Закарпатська, Львівська, Тернопільська, Чернівецька, Одеська, Київська, Донецька, Вінницька, Миколаївська області та АР Крим).
- Здебільшого циркулює ВШС штам D, іноді зустрічається M (Київська обл.)
- ВШС в Україні уражує сливу, абрикос, персик



Дякую за увагу!

