



УДК 632.3.01/.08

# ІДЕНТИФІКАЦІЯ ВІРУСІВ, ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ВИНОГРАДНИХ РОСЛИН

**А. І. КОНУП**, науковий співробітник<http://orcid.org/0000-0002-8717-3136>**Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова» НААН України**

E-mail: lkmicrobiol@ukr.net

<https://doi.org/10.31548/bio2019.01.001>

Останнім часом збільшилась кількість саджанців винограду, заражених вірусами, збудниками вірусних хвороб. Своечасна діагностика вірусних хвороб і ідентифікація вірусів – це запорука отримання здорового садивного матеріалу винограду за виробництва вітчизняного сертифікованого садивного матеріалу винограду. Метою дослідження було виявлення і ідентифікація вірусів винограду на виноградниках півдня України. Для досягнення мети було поставлено наступні завдання: дослідити ураженість виноградників вірусними хворобами на півдні України; провести молекулярно-біологічну діагностику для ідентифікації вірусів винограду. Для виконання цієї роботи використовували методи: ІФА (імуноферментний аналіз) і ЗТ-ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією) у режимі реального часу. Встановлено, що на виноградниках півдня України прогресує вірус скручування листя винограду 1-го і 3-го серотипів і вірус коротковузля. Встановлено, що не завжди симптоми вірусних хвороб співпадають з ідентифікацією вірусів. Динаміка поширення різних вірусів винограду залежить від кліматичних умов, агротехнічних прийомів та інших умов і може не співпадати з даними поширення вірусів винограду в інших країнах Європи і Америки.

**Ключові слова:** віруси винограду, ІФА, ЗТ-ПЛР, виноградники, вірусні хвороби винограду

**Актуальність.** Останнім часом, у зв'язку з тим, що вітчизняних розплідників із виробництва садивного матеріалу винограду залишилося дуже мало, на території України завозиться велика кількість саджанців із Центральної Європи: Австрії, Сербії, Франції, Італії, в тому числі і хворих на вірусні і бактеріальні хвороби.

Вірусні хвороби наносять великої шкоди виноградникам в усьому світі. Кількість їх дуже велика і з кожним роком з'являються все нові форми вірусів – збудників цих хвороб. Віруси винограду різко впливають на якість виноградних рослин, продукції вино-

градарства, знижується цукристість, вихід саджанців у шкільці, а також довговічність виноградних кущів. Виробництво садивного матеріалу із заражених вірусами прищеп і підщеп призводить до поширення хворих рослин на виноградних насадженнях, що веде до зниження ефективності експлуатації виноградників та збільшенню економічних затрат.

Актуальність роботи була зумовлена, насамперед, необхідністю проведення діагностики вірусних хвороб винограду, що викликаються шкодочинними вірусами, під час створення маточних насаджень, як осно-



ви для виробництва сертифікованого садивного матеріалу винограду в Україні. До шкодочинних вірусів винограду, що входять до системи сертифікації садивного матеріалу, відносяться: вірус скручування листа 1-9 серотипів (*Grapevine Leaf Roll-Associated Virus* (1-9) (*GLRaV1-9*)), вірус коротковузля винограду (*Grapevine Fanleaf Virus* (*GFLV*)), вірус мармуровості листа винограду (*Grapevine Fleck Virus* (*GFKV*)), вірус А (*Grapevine Virus A* (*GVA*)) і вірус В (*Grapevine Virus B* (*GVB*)) комплексу борознистості деревини винограду.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** За літературними даними вірусні хвороби можуть пригнічувати ріст пагонів, листя, ягід і коренів, перешкоджати запиленню, викликати пігментацію різних органів і порушувати різні аспекти метаболізму (перенесення асимілятів, дихання, фотосинтез та інше) [1, с. 1-167; 2, с. 212-242; 3, с. 933-942]. Вважають, що виноградарство світу щорічно втрачає від вірусних хвороб близько 10 % врожаю [4, 1-157 с.]. Останнє десятиріччя характеризується значними змінами епідеміологічної ситуації, що є наслідком антропогенного впливу на екосистеми і живі організми, що їх населяють [5, с. 1-136]. Водночас рівень ураження рослин збудниками вірусних хвороб, їх шкодочинність і розповсюдження зростає [6, с. 41-48]. З'являються нові форми зі зміненими властивостями, що можуть уражати більш широкий набір рослин [6, с. 41-48]. За період із 1962 – 2012 рр. було виявлено близько 62 різних вірусів виноградних рослин (*Vitis* та *Muscadinia*), з яких близько 17 вірусів були асоційовані з комплексом хвороб, таких як коротковузля винограду (інфекційне виродження) (11 European/Mediterranean nepoviruses) і усихання (5 American nepoviruses), скручування листя винограду (5 viruses), борознистість деревини (6 viruses) [20].

**Мета дослідження** – вивчити поширення вірусних хвороб винограду і ідентифікувати віруси, збудники цих хвороб.

### Матеріали та методи дослідження.

Для проведення досліджень використовували методи фітосанітарного обстеження для виявлення симптомів ураженості вірусами виноградних рослин. Для ідентифікації вірусів, збудників вірусних хвороб виноградних рослин використовували серологічний метод ІФА (імуноферментний аналіз – ELISA) і ЗТ-ПІР (полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією) у режимі реального часу.

Фітосанітарне обстеження виноградників та відбір зразків за зовнішніми симптомами вірусних хвороб проводили в Одеській, Миколаївській і Херсонській областях. Обстеження виноградних насаджень проводили із травня до жовтня. Відібрані для дослідження зразки маркували, поміщали у пластикову тару, захищену від сонячного світла і транспортували в лабораторію, де проводили випробування в той же день або зберігали за температури 20 °C упродовж декількох місяців. Для виявлення вірусів винограду використовували «сендвіч»-метод ІФА. Діагностику вірусів проводили згідно інструкцій до наборів ІФА (AgriTest, Італія). У роботі використовували мікропланшети фірми “Falcon” і “Dynatech Microelisa” (США), для виявлення вірусу А – особливі полістирольні, м'які мікропланшети. Підготовку розчинів імуноглобулінів, кон'югату і субстрату проводили відповідно до інструкції наборів. У якості субстрату використовували н-нітрофенілфосфат. Інкубацію реакційної суміші в мікропланшетах проводили в термостаті-шейкері “Dynatec” (США) по дві години за  $t = +37^{\circ}\text{C}$ . Склад буферів готували згідно інструкції виробника до тест-наборів AgriTest, Італія.

Наважку рослинного зразка 0,5-1,0 г переносили у ступку або гомогенізатор із розчином екстракційного буферу у співвідношенні 1 : 15 (рН = 7,4) і ретельно перетирали. Після чого суспензію відсто-



ювали за кімнатної температури протягом 30 хв. Надосадову рідину, в кількості 200 мкл, наносили в лунки мікропланшет і проводили дослідження згідно інструкції до тест-наборів. Показником ІФА було жовте забарвлення розчину у лунках мікропланшети. На останньому етапі реакцію призупиняли за допомогою 20 % розчину NaOH. Результати ІФА фіксували за допомогою імуноферментного аналізатора "Dynatec MR-600" (США) за оптичної щільності 406 нм.

Зразки для проведення ПЛР готували згідно методики авторів [6, с. 41- 48]. Для цього зразки листя або здерев'янілих пагонів вагою 100 мг поміщали у стерильну ступку і заливали 2 мл екстракційного карбонатного (GGB) буферу pH = 9,6: Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 1,59 г/л, NaHCO<sub>3</sub> – 2,93 г/л, 20 г/л PVP-40, 2 г/л BSA, 0,5 г/л Tween 20, 10 г/л Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Стерильним товчачиком ретельно гомогенізували рослинну тканину. До 25 мкл екстракційного гліцинового (GES) буферу Рн = 9,0 : 0,05 М NaCl, 0,1 М гліцин, 1 мМ ЕДТА, 0,5 % Тритон X-100 додавали 2 мкл утвореної суспензії і протягом 10 хв суміш прогрівали термостаті «Драй-блок» TDB-120 (Bioan, Латвія) за температури 95 °С. Після цього зразки витримували на льоду 3 год. Рослинний матеріал винограду містить велику кількість полісахаридів, фенольних речовин, що ускладнює екстракцію РНК із листя, чубуків. Для цього використовували адаптований метод СТАВ для виділення РНК вірусів [6, с. 41-48]. Сумарну РНК екстрагували з 0,2 г суспензії СТАВ (ТАВ, 2,5 % PVP-40, 100 mM Tris-HCL pH = 8, 2M NaCl, 25 mM EDTA pH=8 and 3 % β-mercaptoethanol) [6, с. 41- 48]. ПЛР у режимі реального часу проводили з використанням пар праймерів і мічених зондів. Склад протоколу проведення TaqMan® RT-PCR: 20 мкл кожного із пари праймерів (100 пмоль/мкл) і 4 мкл мічених зондів (20 пмоль/мкл), 6,1 мкл реак-

ційної суміші, і 24 мкл деіонізованої води, суміш дезоксинуклеотидів і Taq-полімерази використовували в концентраціях 200 мкмоль и 2,5 од. відповідно, MgCl<sub>2</sub> в концентрації 6 ммоль [7, с. 82; 8, с. 1223-1229]. Для контролю виділеної РНК використовували внутрішній контроль, синтезований для ампліфікації мРНК із мітохондрій винограду [8, с. 1223-1229], а також негативний контроль із тест-системи для проведення ІФА (AgriTest). Для достовірності результатів дослідження використовували позитивний і негативний контроль. Негативним контролем була деіонізована вода, позитивним контролем був біоматеріал із тест-системи для проведення ІФА (AgriTest). Синтез праймерів і зондів до них був здійснений за нашим замовленням компанією «Синтол, Росія» згідно з літературними даними [9, с. 292-299].

Для ідентифікації вірусів ЗТ-ПЛР у режимі реального часу з використанням зонду TaqMan® використовували праймери і мічені зонди, згідно [9, с. 292-299]:

- до вірусу скручування листя 1-го серотипу (GLRaV1) праймери, зонди:

LR1 HSP70-149 f –  
AAGTGCTCTAGTTAAGGTCAGGAGTGA –  
прямий

LR1 HSP70-293 r –  
GTATTGGACTACCTTTTCGGGAAAAT –  
зворотний

LR1 HSP70-225 p –  
CAGGTAATAGCGGACTGAGACTGGTGGACA –  
зонд

- до вірусу скручування листя 3-го серотипу (GLRaV3):

GLRaV-3 56 f –  
AAGTGCTCTAGTTAAGGTCAGGAGTGA –  
прямий

GLRaV-3 285 r –  
GTATTGGACTACCTTTTCGGGAAAAT – зворотний

GLRaV-3 181p –  
CAGGTAATAGCGGACTGAGACTGGTGGACA –  
зонд



- до вірусу коротковузля винограду (GFLV):

GFLV CP2-671f1 –

GTTGTGTGTAGGTATGGGAGGTACTATTA –

прямий

GFLV CP2-671f2 –

TGTGTTTTGGGTATGGGAGGTACTATTA – прями

мий

GFLV CP2-822 r –

TTCCACATACACCCCGGGATA – зворотний

GFLV CP2-761p – AGTGGAACGGGACCAC –

зонд

- до вірусу Б комплексу борознистості деревини винограду (GVB):

GVB-92 f1 – CTAGGAGTGC CGGCTAAACGAA –

прямий

GVB-95 f2 – GGAGTGC GGCCAAACGA – прями

мий

GVB-202 r1 –

CCTTAACCTCGTCCTGTGATATGGT – зво-

ротний

GVB-202 r2 –

CCTTCACCTCATCYTGGGATCGTGT – зво-

ротний

GVB-119 p1 –

CTCGTTATGGTCGCTGTACTGTTGTGGTAG –

зонд

GVB-119p2 –

ACCGTTACGGCCGTTGTACTGTTGTGGTAG –

зонд

Зворотна транскрипція і ампліфікація включала наступні цикли: за 45 °C протягом 35 хв, 95 °C протягом 10 хв і 40 циклів 95 °C протягом 15 сек і 60 °C протягом 1 хв. Ампліфікацію проводили у програмованому термоциклері *Rotor-Gene 6000* (Corbett Research, Австралія). Накопичення флуоресцентного сигналу вимірювали по каналам: FAM для специфічного сигналу; HEX – для сигналу внутрішнього контролю; CY5 – для сигналу екзогенного внутрішнього контролю. Облік результатів аналізу, розрахунок порогових циклів проводили за допомогою програмного забезпечення на ампліфікаторі *Rotor-Gene 6000* (Corbett Research, Австралія).

Позитивним вважався зразок, за аналізу якого спостерігається зростання флуоресцентного сигналу на одному з кольорних каналів ампліфікатора. Якщо криві накопичення флуоресцентного сигналу доходили до 36 циклу, тоді результат реакції вважали позитивним, а якщо криві не перетинали лінію межі, або перетинали її після 36 циклу, то результат реакції негативний (St було < 40 – позитивний, за > 40 – негативний).

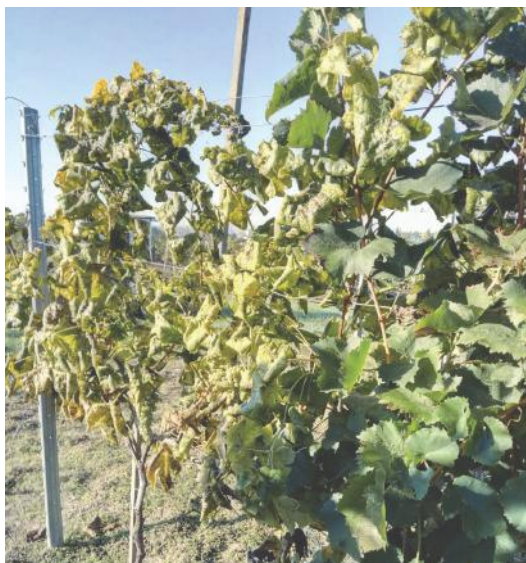
**Результати дослідження та їх обговорення.** У результаті фітосанітарного обстеження промислових виноградних насаджень на початку літа в Одеській області були виявлені кущі винограду сортів Шардоне, Сухолиманський білий і Піно нуар, Каберне Совіньйон із симптомами вірусної хвороби скручування листя винограду. Водночас листя уражених кущів скручувались до низу, розвивався міжжилковий хлороз, кущі відставали у рості, грона були значно менші ніж у здорових кущів, цукор зменшувався (рис. 1).

Під час обстеження виноградників в Одеській і Миколаївській областях були виявлені кущі винограду із симптомами вірусної хвороби коротковузля, спостерігали характерну деформацію листя, укорочення міжвузля, відставання кущів в рості, зниження врожаю, горошіння ягід на гроні (рис. 2А). На виноградниках в Одеській області було виявлено кущі із симптомами комплексу борознистості деревини винограду, що викликає вірус Б. Між тим кущі відставали в рості, визрівання деревини було нерівномірне і деревина розтріскувалась, врожай був значно знижений, ягоди на гроні були малі і цукор знижений (рис. 2Б).

У результаті фітосанітарного обстеження в Херсонській, Миколаївській і Одеській областях виявлено виноградні рослини із симптомами вірусних хвороб (табл. 1)

Як видно з таблиці 1, симптоми вірусних хвороб у більшій ступені були виявле-





А



Б

**Рис. 1. Симптоми вірусної хвороби скручування листя винограду на білоягідному сорті винограду Сухолиманський білий (А) і на червоягідному Каберне Совіньйон (Б) (Одеська обл., 2016 р.)**



А



Б

**Рис. 2. Симптоми вірусної хвороби винограду коротковузля на сорті Каберне Совіньйон (А) (Миколаївська обл., 2012 р.) і вірусу Б комплексу борознистості деревини на сорті Шардоне (Б) (Одеська обл., 2016 р.)**

ні на виноградниках в Одеській області. Під час проведення фітосанітарного обстеження виноградних насаджень за період з 2010 до 2017 року встановлено,

що кількість кущів виноградних рослин із симптомами скручування листя було збільшено і максимальним виявилось у 2017 році (рис. 3).

**Таблиця 1. Результати фітосанітарного обстеження виноградників в господарствах півдня України (2010 – 2017 рр.)**

Область півдня України	Віруси винограду			
	<i>GLRaV</i>	<i>GFLV</i>	<i>GVB</i>	<i>GVA</i>
Кількість рослин з симптомами хвороб, шт./га/%				
Одеська область	426/19,17	98/4,4	3/0,14	-
Миколаївська область	45/2,03	14/0,63	-	-
Херсонська область	35/1,58	5/0,22	-	-

Примітка: «-» – не виявлено

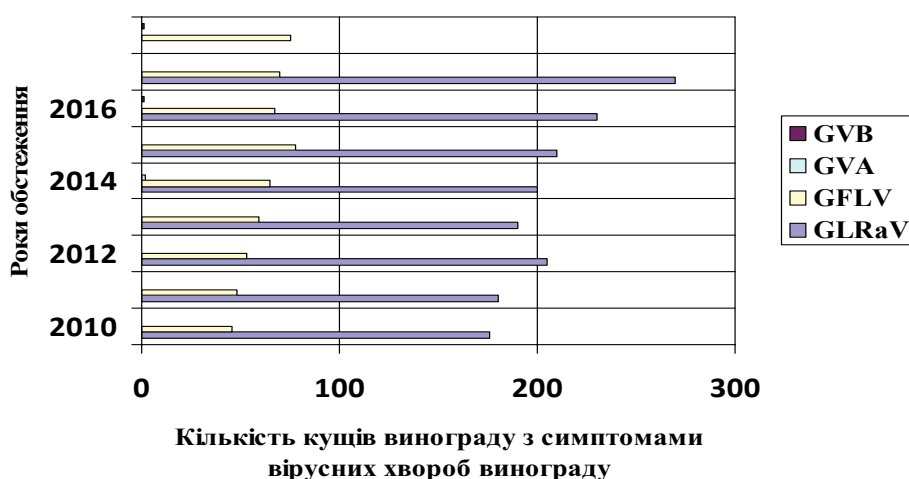
Кущі виноградних рослин із симптомами вірусних хвороб підлягали ідентифікації вірусів, збудників вірусних хвороб винограду, а саме: вірусу скручування 1-го і 3-го серотипів, вірусу коротковузля і вірусу Б комплексу борознистості деревини.

У результаті ідентифікації на вміст вірусів у симптоматичних кущах виноградних рослин сортів: Іршаї Олівер, Каберне Совінйон, Шардоне, Одеський чорний, Сухолиманський білий, Мерло рожеве методами ІФА і ЗТ-ПЛР у режимі реального часу встановлено, що не завжди кущі містили віруси, збудники вірусних хвороб виноградних рослин (табл.

2). А також встановлено, що методом ІФА не завжди було ідентифіковано віруси, метод ПЛР виявився більш точним.

Як видно з таблиці 2, в кущах виноградних рослин із симптомами вірусної хвороби скручування листя сорту Іршаї Олівер вірус скручування було ідентифіковано методом ЗТ-ПЛР у режимі реального часу, але не було ідентифіковано методом ІФА (рис. 4).

Таким чином встановлено, що виноградні рослини, які мали симптоми вірусних хвороб, не завжди були уражені вірусами, збудниками вірусних хвороб рослин винограду і не завжди віруси можна було ідентифікувати методом ІФА.



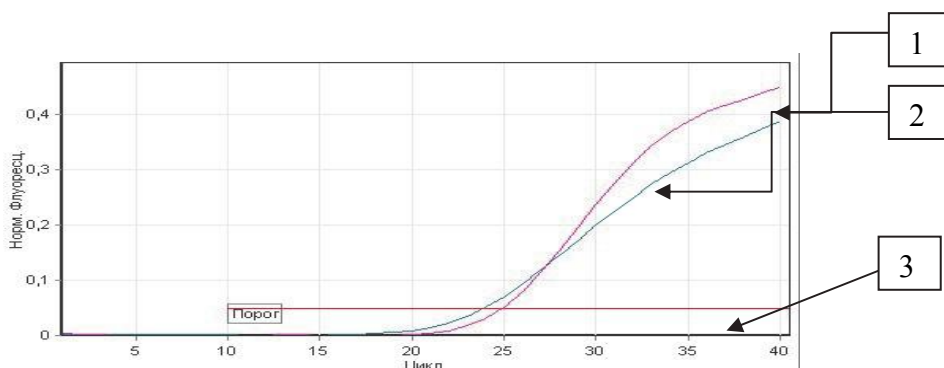
**Рис. 3. Динаміка збільшення виноградних кущів з симптомами вірусних хвороб винограду за період 2010 – 2017 рр.**



**Таблиця 2. Результати ідентифікації вірусів методами ІФА і ПЛР в рослинах, що мали симптоми вірусних хвороб (2017 р.)**

Сорт винограду з симптомами вірусних хвороб	Віруси виноградних рослин, ідентифіковані методами ІФА і ПЛР					
	GLRaV		GFLV		GVV	
	ІФА	ПЛР	ІФА	ПЛР	ІФА	ПЛР
Іршаї Олівер	-	+	-	-	-	-
Каберне Совінйон	+	+	+	+	-	-
Мерло рожеве	+	+	-	-	-	-
Одеський чорний	+	+	+	+	-	-
Сухолиманський білий	-	+	-	+	-	+
Шардоне	+	+	-	+	+	+

*Примітка:* «+» - ідентифіковано; «-» – не ідентифіковано



**Рис. 4. Детекція вірусу скручування листя винограду методом ЗТ-ПЛР у режимі реального часу.** 1 – позитивний контроль, зразок заражений вірусом скручування листя винограду; 2 - вірус скручування листя в рослині сорту Іршаї Олівер, 3 – негативний контроль.

### Висновки і перспективи.

1. Фітосанітарне обстеження виноградних насаджень у Херсонській, Миколаївській і Одеській областях показало, що найбільш поширеними є вірусні хвороби: скручування листя винограду і коротковузля. Встановлено, що вірус скручування листя найбільш поширений в Одеській області і має тенденцію до збільшення, найвищий відсоток виноградних кущів з симптомами цієї хвороби виявився в 2017 році.

2. Встановлено, що симптоми вірусних хвороб не завжди відповідають наявності вірусу в цих рослинах. Так, вірус

коротковузля було виявлено у виноградних рослинах сортів: Каберне Совінйон, Одеський чорний, Сухолиманський білий, Шардоне, вірус скручування листя було виявлено у виноградних рослинах сортів: Іршаї Олівер, Каберне Совінйон, Мерло рожеве, Одеський чорний, Сухолиманський білий, Шардоне; вірус Б комплексу борознистості деревини було виявлено в рослинах винограду сорту Сухолиманський білий.

3. Показано, що методом ІФА не завжди можна ідентифікувати віруси, збудників вірусних хвороб винограду. Так, у рослинах винограду сортів Іршаї Олівер і



Сухолиманський білий методом ІФА не було ідентифіковано вірус скручування листя винограду, який було виявлено методом ПЛР. Також методом ІФА не було ідентифіковано вірус коротковузля винограду в рослинах сортів Сухолиманський білий і Шардоне, а ідентифіковано мето-

дом ПЛР. Для більш точної діагностики необхідно проводити комплексне дослідження виноградного матеріалу під час виробництва сертифікованого садивного матеріалу, починаючи із фітосанітарного обстеження і з обов'язковою ідентифікацією методами ІФА і ПЛР.

## Література

1. Бойко, А. Л. Экология вирусов растений. К. : Вища школа, 1990. 165
2. Вердеревская, Т. Д. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда. Кишинев : Штинца, 1985. С. 212–242.
3. Martelli, G. P. Nature and physiological effects of grape vine diseases. *Experientia*. 1986. № 42. P. 933–942.
4. Келдыш, М. А. Вирусы, виоиды и микоплазмы растений. Москва: РУДН, 2003. 157
5. Martelli, G. P. Directory of virus and virus-like diseases in grapevine and their agents. *Journal of Plant Pathology*. 2014. Vol. 96. P. 1–136.
6. Мілкус, Б.Н., Конуп, Л.О., Жулько, І.Д., Ліманська, Н.В. Тестування деяких сортів винограду на наявність збудника бактеріального раку і вірусів коротковузля та скручування листя. *Мікробіологічний журнал*. 2005. Т. 67. № 1. С. 41–48
7. Rowhani, A. Simplified sample preparation method and one-tube RT-PCR for grapevine viruses : proc. XIIIth inter. conf. The Study of Viruses and Virus-Like Diseases of the Grapevine. Adelaide, 2000. P. 82. doi:10.1016/j.jviromet.2005.01.002
8. Gambino, Giorgio and Gribaudo, Ivana. Simultaneous Detection of Nine Grapevine Viruses by Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction with Coamplification of a Plant RNA as Internal Control. *The American Phytopathological Soc.* 2006. Vol. 96. No. 11. P. 1223–1229. doi: 10.1094/PHYTO-96-1223
9. Osmana, Fatima, Leutenegger, Christian, Golino, Deborah, Rowhani, Adib. Comparison of low-density arrays, RT-PCR and real-time TaqMan® RT-PCR in detection of grapevine viruses. *Journal of Virological Methods*. 2008. Vol. 149. P. 292–299. doi: 10.1016/j.jviromet.2008.01.012

## References

1. Boyko, A. L. (1990). *Ekologia virusov rastenij [Ecology of plant viruses]*. High school, 165.
2. Verderevskaia, T. D. (1985) *Virusnie i mikoplazmennie zabolevania plodovix kylvur I vinograda [Viral and mycoplasma diseases of fruit crops and grapes]*. Shtintsa, 212–242.
3. Martelli, G. P. (1986). Nature and physiological effects of grape vine. *Experientia*. (42), 33–942.
4. Keldysh, M. A. (2003). *Virusi, viroidi i mikoplazmi rastenij [Viruses, viroids and plant mycoplasmas]*. PFUR, 157.
5. Martelli, G. P. (2014). Directory of virus and virus-like diseases in grapevine and their agents. *Journal of Plant Pathology*. (96), 1–136.
6. Milkus, B.N., Konup, L.O., Zhunko, I.D., Lymansky, N.V. (2005). Testuvannia deiakix sortiv vino-grady na naiavnist zbudnika bakterialnogo raky i virusiv korotkoyzlia ta skruchivania listia [Testing of some grape varieties for the presence of a bacterial pathogen and Grapevine Fanleaf Virus and Grapevine Leaf Roll -Associated Virus]. *Microb. Journal*. 67(1), 41–48
7. Rowhani, A. (2000) Simplified sample preparation method and one-tube RT-PCR for grapevine viruses. *Proceeding of XIIIth international Conference. The Study of Viruses and Virus-Like Diseases of the Grapevine (Adelaide)*, 82. doi:10.1016/j.jviromet.2005.01.002
8. Gambino, Giorgio and Gribaudo, Ivana. (2006). Simultaneous Detection of Nine Grapevine Viruses by Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction with Coamplification of a Plant RNA as Internal Control. *The American Phytopathological Soc.* 96(11), 1223–1229. doi: 10.1094/PHYTO-96-1223
9. Osmana, Fatima, Leutenegger, Christian, Golino, Deborah, Rowhani, Adib. (2008). Comparison of low-density arrays, RT-PCR and real-time TaqMan® RT-PCR in detection of grapevine viruses. *Journal of Virological Methods*. 149, 292–299. doi: 10.1016/j.jviromet.2008.01.012





## SUMMARY

**Конуп А. І.** Identification of viruses, pathogens of viral diseases of grapes // *Biological Resources and Nature Managment.* – 2019. – **II**, №1–2. – P.235–240. <https://doi.org/10.31548/bio2019.01.001>

Recently, the number of grapes saplings, infected with viruses, pathogens of viral diseases of grapes has increased. Timely diagnosis of viral diseases and identification of viruses - success in obtaining healthy planting material of grapes in the production of domestic certified planting material of grapes. The purpose of the study was to identify and identify grape viruses in the vineyards of southern Ukraine. To achieve the goal, the following tasks were set: to investigate the infection of vineyards with viral diseases in southern Ukraine; conduct molecular biological diagnostics to identify grape viruses. To perform this work, the following methods were used: ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) and RT-PCR (reverse

transcriptase polymerase chain reaction) in real time. It has been established that in the vineyards of the south of Ukraine the virus of Grapevine Leaf Roll-Associated Virus of the 1st and 3rd serotypes and the Grapevine Fanleaf Virus is progressing. It has been established that the symptoms of viral diseases do not always coincide with the identification of viruses. The dynamics of the spread of various grape viruses depends on climatic conditions, agricultural practices and other conditions and may not coincide with the data on the presence and spread of grape viruses in other countries of Europe and America.

**Keywords:** grape viruses, ELISA, RT-PCR, vineyards, grape viral diseases

## АННОТАЦІЯ

**Конуп А. І.** Идентификация вирусов, возбудителей вирусных болезней виноградных растений // *Биоресурсы и природопользование.* 2019. **II**, №1–2. P.235–240. <https://doi.org/10.31548/bio2019.01.001>

В последнее время увеличилось количество саженцев винограда, зараженных вирусами, возбудителями вирусных болезней винограда. Своевременная диагностика вирусных болезней и идентификация вирусов – успех в получении здорового посадочного материала винограда при производстве отечественного сертифицированного посадочного материала винограда. Целью исследования было выявление и идентификация вирусов винограда на виноградниках юга Украины. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: исследовать заражение виноградников вирусными болезнями на юге Украины; провести молекулярно-биологическую диагностику для идентификации вирусов винограда. Для выполнения этой работы использовали методы: ИФА (иммуноферментный анализ) и

ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) в режиме реального времени. Установлено, что на виноградниках юга Украины прогрессирует вирус скручивания листьев винограда 1-го и 3-го серотипов и вирус короткоузлие. Установлено, что не всегда симптомы вирусных болезней совпадают с идентификацией вирусов. Динамика распространения разных вирусов винограда зависит от климатических условий, агротехнических приемов и других условий и может не совпадать с данными наличия и распространения вирусов винограда в других странах Европы и Америки.

**Ключевые слова:** вирусы винограда, ИФА, ОТ-ПЦР, виноградники, вирусные болезни винограда

Отримано 18.01.2019р.