

УДК 632.38:634.2

**РЕГІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕННЯ
НЕПОВІРУСУ СКРУЧУВАННЯ ЛИСТЯ ЧЕРЕШНІ
В НАСАДЖЕННЯХ ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ****Тряпичина Н.В., Васюта С.О.***Інститут садівництва НААН України,*
вул. Садова, 23, Новосілки, Київ-27, 03027
e-mail: tryapic@gmail.com

Досліджено нерівномірність розповсюдження вірусу скручування листя черешні в насадженнях вишні та черешні п'яти областей України. Оцінено регіональні фітовірусологічні ризики для кожної культури. Проаналізовано можливі шляхи трансмісії вірусу.

Ключові слова: вишня, черешня, вірус скручування листя черешні, відношення шансів, розповсюдження.

Вірус скручування листя черешні (ВСЛЧ) (*Cherry leaf roll virus*, CLRV) є патогеном, який має широке коло як природних, так і експериментальних господарів. У природних умовах зустрічається переважно на листяних та плодових, рідше – на декоративних та овочевих рослинах. Вперше його було описано у 1954 р. на деревах черешні [18] в Англії. Вірус викликає деформацію і скручування листя черешні та вишні, прижилкову мозаїчність, а також затримку росту і відмирання окремих гілок, або всього дерева. Зустрічається майже на всіх континентах.

За морфологією часток ВСЛЧ відносять до роду *Nepovirus* родини *Comoviridae* [10]. Спочатку йому, як представнику неповірусів, приписували векторну передачу нематодами [13, 14], але цей факт було досить швидко піддано сумніву [15], а згодом показано, що ВСЛЧ нематодами не переноситься [16, 21]. Натомість, як основні методи поширення цього вірусу тривалий час розглядалися вертикальний – з насінням та горизонтальний – з пилком [6]. З часом уявлення про трансмісивні властивості ВСЛЧ були дещо доповнені, коли з'ясувалося, що він може передаватися новим рослинам водним середовищем, завдяки кореневому живленню [7], та інокуляцією, завдяки контактам між кореневою системою сусідніх дерев. Останнє явище досить розповсюджене як у лісних масивах,

де дистанція між деревами невелика, а коренева система займає великі об'єми, так і у насадженнях плодкових культур. Вірогідність такої передачі збільшується з віком насадження [8, 12]. З трансмісивними особливостями вірусу певним чином пов'язана варіабельність його численних ізолятів, яка залежить, як правило, саме від рослини-господаря, а не від географічної зони поширення [19].

Вірус має суттєвий рівень розповсюдження у вітчизняних насадженнях вишні та черешні, співставний з рівнем розповсюдження іншого шкодочинного вірусу – іларвірусу некротичної кільцевої плямистості. Але до цих пір невідомо, наскільки його розподіл на території України є однорідним і які базові ризики його розповсюдження мають різні зони садівництва України. Тому метою дослідження було з'ясування закономірностей розповсюдження цього вірусу у вітчизняних насадженнях вишні та черешні.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на основі моніторингових обстежень відділом вірусології, оздоровлення та розмноження плодкових і ягідних культур Інституту садівництва НААНУ, маточних та колекційних насаджень вишні та черешні в господарствах п'яти областей України (Вінницької, Донецької, Запорізької, Київської та Черкаської) [1, 2, 5, 20].

Ідентифікацію неповірусу скручування листя черешні проводили методом класичного варіанта імуноферментного аналізу (DAS-Double Antibody Sandwich) [11] з використанням сертифікованих специфічних поліклональних антитіл.

Оцінку відхилення регіонального поширення вірусу від нульової гіпотези про однорідність такого розподілу проведено за використання запропонованої раніше статистичної моделі для оцінки регіональної нерівномірності розповсюдження вірусів [3]. Розраховували індекси регіонального поширення ($I_{rvp_{ik}}$) та показники відношення шансів (θ_{ik}). Значення індексу $I_{rvp_{ik}}$, наближені до нуля, вказують на однорідність розподілу вірусу, позитивні значення, у відповідності до загальноприйнятої математичної класифікації, свідчать про відхилення різної сили від рівновірогідного розподілу у бік концентрації вірусної інфекції в регіоні, негативні значення, навпаки, – про відхилення у бік зниження концентрації.

Відношення шансів у нашому випадку є мірою можливості інфікування вірусом (ВСЛЧ) насаджень вишні або черешні в регіоні А порівняно із середнім шансом інфікування в цілому по Україні. Чим вище значення цього показника (θ_{ik}), тим вірогідніший

прогноз того, що рівень інфікування i -тим вірусом насаджень вишні чи черешні саме в цьому регіоні перевищить середній рівень інфікування цим вірусом таких насаджень уцілому по Україні. Якщо значення цього показника близьке до одиниці, це свідчить про те, що такі можливості майже рівні, і, нарешті, у випадку, коли значення відношення шансів менше за одиницю, загроза інфікування насаджень у цьому регіоні нижча за середньостатистичну по Україні.

Результати та їх обговорення. Дані моніторингових обстежень насаджень вишні та черешні свідчать про широке розповсюдження в них вірусу скручування листя черешні. Доля інфікованих рослин у перевірених насадженнях черешні складає 21,63 %, в насадженнях вишні – 16,19 %. Досить високою виявилася доля інфікованих кущів у маточниках клонових підщеп вишнево-черешневої групи – 5,74 %. За рівнем розповсюдження ВСЛЧ майже не поступається іларвірусу некротичної кільцевої плямистості (ВНКП), який передається вертикально з насінням та горизонтально з пилом і, за нашими даними, у вітчизняних насадженнях кісточкових культур має найвищу трансмісивну ефективність та градієнтне розповсюдження із збільшенням коефіцієнту $I_{\text{вр}}_{\text{к}}$ в напрямку з півночі на південь [3].

Аналіз даних з розповсюдження ВСЛЧ в регіональних насадженнях свідчить про його нерівномірний розподіл. З найвищою частотою вірус зустрічається у насадженнях Вінницької області (0,483), з найнижчою – Запорізької (0,105), в насадженнях вишні та черешні Черкаської області цей вірус поки що не виявлено (табл. 1).

Як свідчать наші дані, поширення ВСЛЧ скоріше можна вважати спорадичним, прив'язаним до певних локальностей – агроценозів. Адже серед 35-ти перевірених насаджень його виявлено лише у 15-ти, в той час як, наприклад, присутність вірусу НКП спостерігали у всіх перевірених насадженнях як вишні, так і черешні. Такий тип розповсюдження ВСЛЧ можна оцінювати, як “розповсюдження клаптями” (patchy distribution), коли деякі регіони вільні, або майже вільні від нього, а інші мають популяції тих самих господарів, інфікованих на високому рівні. Відсутність ВСЛЧ у певних локальностях навряд чи свідчить про високий рівень резистентності регіональних насаджень, оскільки такий тип розповсюдження є властивим для вірусів, поширення яких

пов'язано із ґрунтом, або комахами.

Таблиця 1. Характеристики регіонального поширення вірусу скручування листя черешні в насадженнях вишні та черешні різних областей України

Область	Емпірична частота трапляння ($F_{\text{тег}}$)	хі-квадрат	Рівень достовірності (p)	Коефіцієнт ϕ ($Irvp_{ik}$)	95 %-ний довірчий інтервал
Київська	0,297	14,874	0,000	0,131	0,061×0,204
Черкаська	0,000	9,450	0,000	-0,115	-0,115×-0,062
Донецька	0,229	2,127	0,145	0,052	-0,016×0,132
Запорізька	0,105	5,977	0,014	-0,082	-0,479×-0,057
Вінницька	0,483	26,284	0,000	0,190	0,107×0,274

Відомо, що інфікування рослин вишні та черешні вірусом скручування черешні за рахунок перенесення пилком відбувається досить повільно. Зокрема, дослідження американських вчених [12] свідчать про те, що при запиленні здорових рослин пилком від інфікованих дерев, у проаналізованих квітках в приймочках ідентифіковано ВСЛЧ, але через один-два сезони у таких дерев його не виявляли в інших тканинах, що свідчить про досить низьку ефективність цього способу трансмісії вірусу. Отже, найвірогідніше, широке поширення вірусу, що спостерігається у вітчизняних насадженнях, може відбуватися за рахунок переважання у нього інших шляхів передачі.

Застосування таблиці спряженості ознак (2×2) дозволило оцінити характер розподілу ВСЛЧ у перевірених регіонах. Цей аналіз засвідчив факт достовірного відхилення показників поширення вірусу від рівновірогідного в 5-ти областях. Щодо Донецької області, то розрахований коефіцієнт нерівномірності регіонального розподілу не є для цього регіону достовірним, але характер його варіювання (-0,016×0,132) свідчить про наявність відхилення у бік збільшення концентрації вірусу. Загалом, відхилення від рівномірного розподілу свідчить про наявність регіональних чинників, що на нього впливають. Як відомо, факт існування паразитарної інфекції є результатом двосторонньої взаємодії компонентів трикутника: патоген, господар, середовище. Успішність поширення захворювання залежить від низки факторів,

які характеризують кожен з компонентів цього трикутника. Очевидно, що в насадженнях Вінницької ($\varphi=0,190$) та Київської областей ($\varphi=0,131$) такі фактори створюють певні локальні переваги для розповсюдження ВСЛЧ.

Зокрема, важливими характеристиками вірусу є його патогенність (вірулентність та агресивність), а також адаптивність та ефективність перенесення. Оскільки у більшості перевірених клонів перебіг захворювання мав переважно безсимптомний характер, штами вірусу, що вражають вишню та черешню у вітчизняних насадженнях, скоріше можна оцінювати, як помірно-агресивні. Від моменту інфікування до появи перших симптомів може проходити кілька років. Як правило, дерево чутливого сорту гине за 8-10 років. Вірус, без сумніву, за своєю природою є високоадаптивним, адже має велику кількість ізолятів, вивчення філогенетичних зв'язків між якими свідчить про те, що на структуру популяцій цього вірусу виражений вплив має коєволюція з геномом господаря у той час, як на структуру популяцій інших вірусів суттєвий вплив мають зовсім інші фактори [19]. У випадку ВСЛЧ мова йде про існування ефективних екологічних бар'єрів, що перешкоджають передачі вірусу від одного господаря до іншого. Так наприклад, відомо, що штам вірусу СЛЧ, який вражає горіх грецький не переноситься на вишню, черешню та березу [17]. Але виявлення вірусних ізолятів, які одночасно належать різним філогенетичним кластерам ВСЛЧ, може свідчити на користь того факту, що такі обмеження міжвидової передачі вірусу не завжди є абсолютними механізмами і спрацьовують скоріше лише для деяких випадків міжвидового перенесення вірусу. Оскільки генетична спорідненість між ізолятами ВСЛЧ черешні, берези та чорної бузини є за даними кластерного аналізу найвищою [9], можна очікувати, що саме останні два види можуть бути причиною первинного природного інфікування насаджень черешні. Тому не виключено, що на стан насаджень вишні та черешні може впливати наявність у локальності саме цих видів. На можливість такого сценарію вказує зокрема той факт, що найуразливіші насадження виявлено в зоні Полісся (Вінницькій та Київській областях), де вірогідність існування екоценозів берези та бузини є вищими, ніж у степовій зоні. В літературі є чимало підтверджень природного інфікування насаджень вишні та черешні цим вірусом, але, завдяки його широким трансмісивним можливостям, кожен окремий випадок патосистем за його участі

слід аналізувати, прив'язуючись до конкретного агроценозу.

Серед перевірених рослин дві третини були просторово відокремленими та віддаленими, а одну третину складали сусідні рослини. Відсоток вражених рослин другої категорії значно перевищив відповідний показник рослин першої категорії. Таким чином, більша частина інфікованих клонів серед перевірених виявилися просторово агрегованими. Відомо, що трансмісія вірусу від інфікованого дерева до здорового в одному рядку відбувається досить швидко, залежить від архітектури насадження, і прискорюється в старих насадженнях та в таких, які мають систему іригації [12]. Отже, основним шляхом передачі ВСЛЧ в досліджених агроценозах, на нашу думку, є передача через кореневу систему внаслідок контактів між сусідніми деревами та за рахунок природного чи штучного зволоження ґрунту. При цьому первинним джерелом інфекції ВСЛЧ могли слугувати як дикі види природних господарів, так і механічне перенесення при тиражуванні інфікованого матеріалу.

Отже, оцінка базових ризиків інфікування насаджень вишні та черешні цим вірусом по відношенню до середнього рівня його розповсюдження в насадженнях вишні та черешні, за використання показника відношення шансів, показала, що для вишні регіонами з найбільш несприятливими прогнозами є Вінницька та Київська області, для черешні – Вінницька, Київська та Донецька (табл. 2). Отже, саме в цих областях особливої уваги слід приділяти підбору сортів і підщеп вишні та черешні, резистентних до ВСЛЧ.

Таблиця 2. Базові ризики інфікування насаджень вишні та черешні вірусом скручування листя черешні в різних регіонах

Область	Вишня			Черешня		
	рівень достовірності (р)	відношення шансів (θ_{ik})	95%-ний довірчий інтервал	рівень достовірності (р)	відношення шансів (θ_{ik})	95%-ний довірчий інтервал
Київська	0,051	2,187	0,990×4,809	0,028	1,556	1,051×2,335
Черкаська	0,018	0,000	0,000×0,723	0,037	0,000	0,000×0,881
Донецька	0,104	0,000	0,000×1,458	0,303	1,294	0,795×2,109
Запорізька	0,206	0,573	0,246×1,341	0,004	0,452	0,262×0,780
Вінницька	0,000	5,169	2,242×11,937	0,000	3,429	1,693×6,949

З огляду на можливість перенесення ВСЛЧ від дерева до дерева за рахунок інокуляції кореневої системи, одним із перспективних напрямів, які дозволять контролювати таке розповсюдження, є генетична диверсифікація підщепного складу у насадженнях та архітектура саду – зокрема щільність садіння рослин у рядку та ширина міжрядь. За нашими оцінками, серед підщеп, фітовірусологічний стан насаджень яких на даний час оцінено, в умовах інтродукції в Україні найчутливішою до вірусу є підщепа Колт (*P. avium* × *P. pseudocerasus*), хоча за даними інших дослідників, саме ця підщепа є найбільш резистентною до перенесення вірусу через кореневу систему [12]. Певний інтерес у цьому контексті можуть представляти такі підщепи, як ЛЦ-52 та Студениківська, в насадженнях яких ВСЛЧ поки що виявлено не було [4].

Таким чином, оцінено базові регіональні ризики поширення вірусу скручування листя черешні в насадженнях вишні та черешні п'яти областей. Розповсюдження ВСЛЧ у вітчизняних насадженнях вишні та черешні має характер «розповсюдження клаптями» (patchy distribution), коли деякі насадження вільні, або майже вільні від нього, а інші мають високий рівень інфікованості.

Існує вірогідність природного інфікування насаджень вишні та черешні вірусними ізолятами дикорослих рослин, зокрема, берези та чорної бузини.

За сумою проаналізованих показників найпроблемніший фітовірусологічний стан з огляду на поширення ВСЛЧ нині спостерігається в насадженнях Вінницької та Київської областей.

Важливою умовою запобігання широкому розповсюдженню ВСЛЧ є генетична диверсифікація підщепного матеріалу та відбір стійких до вірусу сорто-підщепних комбінацій.

1. Васюта С.О. Діагностика вірусів кісточкових культур методом імуноферментного аналізу /С.О. Васюта, Н.В. Тряпідина //Садівництво: міжвід. темат. наук. зб. – 2007. – Вип. 60. – С. 264-275.

2. Новые сведения о распространении вирусом косточковых культур в Украине /[С.О. Васюта, В.М. Удовиченко, Н.В. Тряпидина и др.] //Тези Міжнар. конф. «Біоресурси та віруси» (Київ, 10-13 вересня 2007 р.): тез. доп. – К.: Київський Університет, 2007. – С. 167.

3. Тряпідина Н.В. Особливості поширення іларвірусів в насадженнях кісточкових культур України /Н.В. Тряпідина //С.-г. мікробіологія:

- міжвид. темат. наук. зб. – Чернігів : ЦНТЕІ, 2010. – Вип. 11. – С. 132-145.
4. Тряпичина Н.В. Оцінка клонів підщеп вишнево-черешневої групи за інфікованістю вірусами плодових /Н.В. Тряпичина, С.О. Васюта //Вісник аграрної науки. – 2010. – № 10. – С. 22-24.
 5. Фітовірусологічний моніторинг стану насаджень кісточкових культур України /[П.В. Кондратенко, Н.В. Тряпичина, С.О. Васюта та ін.] //Вісник аграрної науки. – 2009. – № 6. – С. 22-26.
 6. Bandte M. Occurrence, transmission and diagnosis of cherry leaf roll nepovirus – a literature review /M. Bandte, C. Büttner //Pflanzenschutzberichte. – 2001. – № 59. – P. 1-19.
 7. Bandte M. Transmission of plant pathogenic viruses by water /[M. Bandte, H.J. Echevarria-Laza, U. Paschek et al.] //Segundo Congreso Colombiano de Horticultura. Sociedad Colombiana de Ciencias Horticolas /eds G Fischer. – Bogota, 2007. – P. 31-43.
 8. Barga S., von. *Cherry leaf roll virus* – an emerging virus in Finland /[S. von Barga, E. Grubits, R. Jalkanen et al.] //Silva Fennica. – 2009. – № 43. – P. 727-738.
 9. Buchhop J. Differentiation of *Cherry leaf roll virus* isolates from various host plants by immunocapture-reverse transcription-polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism according to phylogenetic relations /J. Buchhop, S. von Barga, C. Büttner //J. of Virol. Meth. – 2009. – № 157. – P. 147-154.
 10. Cherry leaf roll virus ICTVdB. – The Universal Virus Database, version 4. 00.018.0.03.009. – Режим доступу: <http://ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm/>
 11. Clark M.F. Characteristics of the microplate method of the enzyme – linked immunosorbent assay for the detection of plant virus /M.F. Clark, A.N. Adams //J. Gen. Virol. – 1977. – Vol. 34, № 3. – P. 475-483.
 12. Eastwell K. Managing virus diseases detrimental to cherry production /Research Reports //Washington Tree Fruit Research Commission. – 2010. – режим доступу: <http://jenny.tfrec.wsu.edu/wtfrc/PDFfinalReports/2010FinalReports/EastwellCerryVirusesFinal.pdf>.
 13. Flegg J.J.M. Tests with potential nematode vectors of cherry leaf roll virus /Flegg J.J.M. //Report of East Malling Research Station for 1968. – 1969. – P. 115.
 14. Fritzsche R. Transmission of cherry leaf-roll virus by nematodes /R. Fritzsche, H. Kegler //Naturwissenschaften. – 1964. – № 51. – P. 299.
 15. Jones A.T. Tests for transmission of cherry leafroll virus using *Longidorus*, *Paralongidorus* and *Xiphinema* nematodes /A.T. Jones, F.D. McElroy, D.J.F. Brown //Annals of Applied Biology. – 1981. – № 99. – P. 143-150.
 16. Jones A.T. Tests for transmission of cherry leaf roll virus using

Longidorus, *Paralongidorus* and *Xiphinema* nematodes /A.T. Jones, F.D. McElroy, D.J.F. Brown //Annals of Applied Biology. – 2008. – № 99. – P. 143-150.

17. Langer J. Epidemiological investigations on *Cherry leaf roll virus* /J. Langer, S. von Bargaen, C. Büttner //Proceedings of the 3rd International Symposium on Plant Protection and Plant Health in Europe held at the Julius Kühn-Institut (Berlin-Dahlem, Germany, 14-16 May 2009) //Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors: Current Potential and Future Demands. – 2009. – P. 568.

18. Posnette A.F. Leafroll: a virus disease of cherry /A.F. Posnette, R. Copley //East Malling Res. Sta. Rep. –1954. – P. 126-127.

19. Rebenstorf K.T. Host Species-Dependent Population Structure of a Pollen-Borne Plant Virus, Cherry Leaf Roll Virus /K. Rebenstorf, T. Candresse, M.J. Dulucq, C. Büttner, C. Obermeier //J. Virol. – 2006. – № 80. – P. 2453-2462.

20. Virus diseases of fruit crops in Ukraine /[Udovychenko V.M., Tryapitsyna N.V., Vasyuta S.O. et al.] //10th International Plant Virus Epidemiology Symposium “Controlling epidemics of emerging and established plant virus diseases – the way forward” (15-19 October 2007, ICRISAT Patancheru 502324, AP, India). – 2007. – P. 111.

21. Wang S. Localization of transmissible and nontransmissible viruses in the vector nematode *Xiphinema americanum* /S. Wang, R.C. Gergerich, S.L. Wickizer and K.S. Kim //Phytopathology. – 2002. – № 92. – P. 646-653.

РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ НЕПОВИРУСА СКРУЧИВАНИЯ ЛИСТЬЕВ ЧЕРЕШНИ В НАСАЖДЕНИЯХ ВИШНИ И ЧЕРЕШНИ

Тряпицына Н.В., Васюта С.А.

Институт садоводства НААН Украины, г. Киев

Исследована неравномерность распространения вируса скручивания листьев черешни в насаждениях вишни и черешни пяти областей Украины. Оценены региональные фитовирусологические риски. Проанализированы возможные пути трансмиссии вируса.

Ключевые слова: вишня, черешня, вирус скручивания листьев черешни, отношение шансов, распространение вирусов.

**REGIONAL PECULIARITIES OF CHERRY LEAF ROLL
NEPOVIRUS PREVALENCE IN SOUR AND SWEET
CHERRY ORCHARDS**

Tryapitsyna N.V., Vasyuta S.O.

Institute of Horticulture, NAAS of Ukraine, Kyiv

The irregularity of regional distribution of Cherry leaf roll virus in sour and sweet cherry fruit orchards in five regions of Ukraine was investigated. Certain regional phytovirological risks were estimated. The possible ways of virus transmission were analyzed.

Key words: sour cherry, sweet cherry, cherry leaf roll virus, odds ratio, virus prevalence.