
БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА БІОБЕЗПЕКА ЕКОСИСТЕМ

УДК 632.38:633.63(477)

DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.3.2019.183478>

РИЗОМАНІЯ — НЕБЕЗПЕЧНИЙ ВІРУСНИЙ ОБ'ЄКТ ДЛЯ ОЦІНКИ ФІТОСАНІТАРНОГО СТАНУ ПОСІВІВ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ УКРАЇНИ

К.В. Гринчук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Проаналізовано результати багаторічних досліджень вірусу некротичного пожовтіння жилок буряку, який спричиняє хворобу ризоманію, що є карантинним об'єктом. Описано молекулярно-біологічні властивості, особливості його геному та залежність патогенезу від генетичних варіацій вірусу. Висвітлено різноманіття патотипів вірусу і циркуляцію хвороби у світі та в Україні зокрема, а також способи її поширення. Проведено аналіз природних генів стійкості рослин цукрового буряку до ризоманії.

Ключові слова: вірус некротичного пожовтіння жилок буряку, ризоманія, ген, патотип.

Хворобу ризоманію спричиняє вірус некротичного пожовтіння жилок буряку (ВНПЖБ), який уражує цукрові, кормові та столові буряки. Вперше хвороба була зафіксована у 1952 р. у долині р. По на півночі Італії. Нині захворюваність на ризоманію спостерігається в усьому світі, де вирощують цукрові буряки. Відомо, що ВНПЖБ відноситься до роду *Venuvirus*, який включає в себе віруси, що передаються плазмодіафоровим грибом *Polymyxa betae*. Нині ВНПЖБ зафіксовано у Європі (Австрія, Бельгія, Болгарія, Франція, Німеччина, Іран, Угорщина, Греція, Чехія, Казахстан, Киргизія, Нідерланди, Польща, Румунія, Росія, Словаччина, Туреччина, Україна, Іспанія, Хорватія, Швеція, Швейцарія, Велика Британія) [1], Азії (Китай, Японія, Сирія) і Північній Америці. У 2015 р. було повідомлено про ідентифікацію ВНПЖБ на червоному столовому буряку в Бразилії [2].

Про появу ВНПЖБ на території України повідомлялось у 1997 р. Українськими дослідниками розроблено молекулярно-біологічні системи діагностики на основі

полімеразної ланцюгової реакції для ідентифікації ВНПЖБ на території України та досліджено українські ізоляти вказаного вірусу [3, 4].

Віріони вірусу — паличкоподібні, мають спіральний тип симетрії з осьовим каналом. Переважно довжина віріонів становить 85, 100, 265 та 390 нм, діаметр — 20 нм. Правостороння спіраль з кроком 2,6 нм має осьовий повтор чотирьох поворотів, що налічують 49 субодиниць білка оболонки (coat protein, CP). Кожна субодиниця CP має чотири нуклеотиди РНК. Протеїни становлять 95% від маси віріона, а молекулярна маса геному — 5%. Вірусний геном кодують структурні і не структурні протеїни. Віріон складається з одного структурного протеїну. Ліпідів не зафіксовано. Чотири компоненти седиментації ідентифіковано в очищеному препараті або п'ять в деяких ізолятах [5].

У соку рослини віруси є нестабільними. За кімнатної температури інфекційність втрачається впродовж одного або кількох днів. Вірус не руйнується в умовах *in vitro*: за температури 4°C впродовж 8 днів, 20°C — 3–7 днів. Інфекційність соку мало змінюється при рН 7–9, однак різко знижу-

ється при рН 3 та рН 10. Також інфекційність соку знижується внаслідок заморожування за температури -20°C . Температурна точка інактивації ВНПЖБ становить $65-70^{\circ}\text{C}$ залежно від ізоляту. Інфекційність ВНПЖБ зберігається за депротейнізації за дії фенолу або детергенту. Сік із листка рослини може містити декілька типів віріонів. Граничне розведення, за якого інфекційність вірусу зберігається, становить $10^{-3}-10^{-4}$ [5].

Отже, ВНПЖБ — паличкоподібний вірус, геном — мультипартидний, представлений (+) РНК, має у своєму складі РНК-1, РНК-2, РНК-3, РНК-4, РНК-5 залежно від ізоляту [6].

Завдяки гомохроматографії та секвенуванню встановлено, що у всіх компонентах геному ВНПЖБ існують 5'-термінальні

кеп-структури, а 3'-кінці геному є поліаденильованими (рисунок) [7, 8].

Так, РНК-1 довжиною 6746 нуклеотидів, за винятком полі(А)-хвоста, містить одну відкриту рамку зчитування (ВРЗ), яка кодує поліпротеїн масою 237 кДа, Р237 (вірусні продукти позначаються молекулярною масою з літерою Р); Р237 містить інформацію для реплікації вірусного геному. Трансляція РНК починається зі стартового кодона у положенні AUG_{154} та AUG_{496} (протеїн Р237 транлюється зі стартового кодона AUG_{154} , протеїн Р220 з AUG_{496}) [4]. Унаслідок розщеплення утворюються протеїни 237 кДа (Р237) та 220 кДа (Р220). Білки реплікації, які розщеплюються після трансляції, демонструють відмінність роду *Benyvirus* від інших паличкоподібних вірусів [8]. На РНК-1 містяться метил-

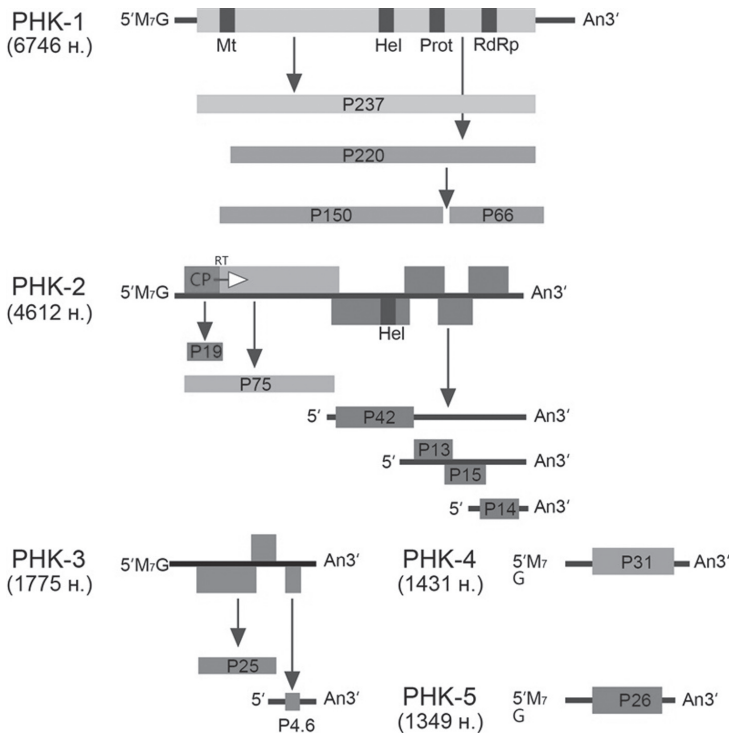


Схема організації геному ВНПЖБ і процесу трансляції: An3' — полі(А)-хвіст; затінено консервативні мотиви: Hel — хеліказа, Mt — метилтрансфераза, Prot — протеаза, RdRp — РНК-залежна РНК-полімераза, RT — «readthrough». Полі (А)-послідовності мають довжину 65–140 нуклеотидів. На 5'-кінці розміщується О-подібний кап: $m^7\text{GpppNp}$ [8]

трансферазний мотив у N-кінцевій частині поліпротеїну, хеліказний (Hel), протеазний (Prot) мотиви в центральній частині та мотив РНК-залежної РНК-полімерази (RdRp) у С-термінальній області. Продукт первинної трансляції внаслідок аутокаталітичного розщеплення *in vitro* утворює білки масою 150 і 66 кДа. Білок масою 66 кДа виявляти в інфікованих рослинах *Chenopodium quinoa* у спосіб імунологічного аналізу, використовуючи імунову сироватку, специфічну до С-термінальної області головного продукту трансляції РНК-1. Це підтверджує, що процесинг також відбувається в умовах *in vivo*; РНК-1 відповідає за реплікацію ВВПЖБ [9]. Протеїн Р150 містить метилтрансферазний домен, протеазний та хеліказний домени і два домени, функції яких не встановлено, тоді як протеїн Р66 налічує РНК-залежну РНК-полімеразу.

Унаслідок проведення експериментального інфікування протопластів транскриптами з різними комбінаціями РНК-1, РНК-2, РНК-3 та РНК-4 встановлено, що РНК-1, на відміну від інших, може самостійно реплікуватися [10]; РНК-2 довжиною 4612 нуклеотидів, за винятком полі(А)-хвоста, містить ВРЗ, які кодують білки, що відповідають за функції: реплікації, руху вірусу між клітинами, інкапсації та супресії посттранскрипційного замовчування генів. Рамка зчитування Р75 — «readthrough» протеїн (RT), до складу якого входять протеїни Р21 і Р54, відповідає за збирання віріона та за передачу ВВПЖБ вектором; ВРЗ 1 кодує білок оболонки вірусу і термінується супресивним UAG стоп-кодом. Молекулярна маса білка оболонки становить 22 кДа; РНК-2 також містить потрійний блок генів (triple gene block, TGB): TGB1, TGB2, TGB3 (42 кДа, 13 кДа, 15 кДа відповідно), що відповідає за рух вірусу у рослині [8].

Протеїн Р42 може зв'язувати РНК та ДНК, тобто він може зв'язувати вірусну геному РНК; протеїни Р13 та Р15 можуть приєднуватися до плазмодесмів, що надає змогу Р42 проникати у клітини та змінювати їх, завдяки чому віріони ВВПЖБ

можуть рухатися від клітини до клітини. Остання ВРЗ на РНК-2, яка кодує протеїн Р14 (цистеїн-збагачений протеїн), що здатний до супресії природних захисних механізмів рослини — РНК замовчування у разі природної інфекції [11].

Також РНК-3 ВВПЖБ довжиною 1175 нуклеотидів, за винятком полі(А)-хвоста, кодує протеїн 25 кДа (Р25, положення 445–1102 н.), який спричиняє симптоми ураження рослин. Результати дослідження патогенезу різних ізолятів ВВПЖБ свідчать, що за наявності в геномі вірусу РНК-3 на експериментальних рослинах *C. quinoa*, на інокульованих чутливих рослинах та на частково стійких сортах буряку спостерігається формування локальних некрозів. Ізоляти ВВПЖБ, які містять у своєму складі РНК-3, формують чітко виражені локальні ураження на рослинах, тоді як за відсутності РНК-3 на рослинах спостерігаються м'якші симптоми. Так, РНК-3 виконує функцію мультиплікації та руху вірусу в корінцях коренеплоду. Встановлено, що РНК-3 є необхідною для руху у васкулярній системі рослин *Beta macrocarpa*. Транскрипти РНК-3, які мали певні точкові мутації і делеції, були коінокульовані разом РНК-1 та РНК-2 на молоді листочки *B. macrocarpa*, до того ж продемонстровано здатність ВВПЖБ до мультиплікації в інокульованих листках і до системного поширення. Ефективний рух ВВПЖБ у кореневій системі рослин чутливих генотипів буряку є можливим тільки за наявності непошкодженого гена Р25. Протеїн Р25 (25 кДа протеїн, розташування на 445–1102 н.) є найважливішим функціональним протеїном, який відповідає за формування симптомів ураження ВВПЖБ на коренеплоді. Протеїни Р25 і Р31 не можуть пригнічувати РНК замовчування в листках рослини буряку, проте Р31 посилює здатність ВВПЖБ пригнічувати замовчування у корінцях коренеплоду [12]. Стійкі фенотипи рослин реагують на ураження ВВПЖБ по-різному, від майже невидимих некрозів до сірих некротичних пошкоджень у точці інокуляції, а накопичення ВВПЖБ відбувається

у низькій концентрації. Рослини чутливих фенотипів накопичують ВНПЖБ у високій концентрації, з'являються великі світло-жовті некрози. Аналіз сиквенсу природних ізолятів і сайт-специфічного мутагенезу протеїну P25 засвідчив, що 3 *aa* залишок у позиції 68, 70 та 179 є важливим для визначення стійкого фенотипу рослини, а специфічність генотипу рослини-хазяїна контролюється одиночною амінокислотою заміною у позиції 68. Використовуючи ELISA-метод, у частково стійких до ВНПЖБ сортах розсади, було продемонстровано, що розповсюдження ВНПЖБ за умов відсутності гена P25 ускладнюється від бічних корінців до головного кореня. Встановлено, що за інокулювання різних чутливих та частково стійких сортів рослин цукрового буряку тільки за наявності РНК-3 у геномі ВНПЖБ з'являлися некрози. Було встановлено чіткий взаємозв'язок між реакцією листків на ураження вірусом і стійкістю корінців рослин цукрового буряку до ВНПЖБ. Ці дослідження підтвердили гіпотезу, що протеїн P25 у стійких генотипах рослин діє як продукт авірулентного гена (*avr*-ген), а в чутливих генотипах виконує роль патогенного чинника. Вчені дійшли висновку, що за наявності в геномі ВНПЖБ білка P25 вірус є здатним до системного ураження чутливих генотипів рослин цукрового буряку. Так, P25 — високоваріабельний протеїн, який здебільшого змінюється під дією специфічної амінокислоти в позиції 67–70 та 198. За певними дослідженнями існує зв'язок між патогенністю ВНПЖБ і специфічною тетрадною послідовністю. Додаткова висока варіабельність може спостерігатися також у 135-й позиції [13, 14]. Висвітлено, що наявність P25 у цитоплазмі і в ядерних компартментах спричиняє посилення симптомів ВНПЖБ на рослинах *S. quinoa*. Вплив на суворість симптомів додаткової ВРЗ — Р4.6 не визначено. Існує припущення, що послідовність нуклеотидів 3'-термінального кінця, які кодують останню ВРЗ РНК-3, а саме Р4.6, може впливати на суворість симптомів ВНПЖБ на листках. Встановлено, що за природного

інфікування протеїн Р4.6 може впливати на формування симптомів на листках та на корінцях коренеплоду [3].

Так, РНК-4 довжиною 1431 нуклеотидів містить ген Р31, що кодує передачу ВНПЖБ вектором і є супресором функції замовчування генів. Хоча РНК-4 не є основною для реплікації ВНПЖБ на рослинах *Nicotiana benthamiana*, але відіграє важливу роль у формуванні їх симптомів. За наявності РНК-4 у геномі ВНПЖБ на листках рослин *Tetragonia expansa* формуються чітко виражені хлоротичні ураження, тоді як за відсутності РНК-4 формуються слабкі некрози. Функції ВРЗ, що кодує Р6.5, не визначено. Так, Р31 є необхідним для передачі вектором *Polymyxa betae*. За наявності повномірної РНК-4 здатність ВНПЖБ переноситися вектором *P. betae* є у 100 разів більшою, ніж у разі наявності мутантної РНК або, взагалі, за її відсутності. Функції ВРЗ 6.5 — не визначено. За інокулювання рослин у тепличних умовах за допомогою вірулентного гриба *P. betae* встановлено, що рослини цукрового буряку, які містили РНК-4 ВНПЖБ, формували коренеплід меншого розміру, ніж ті, у яких РНК-4 була відсутня [15, 16].

Так, РНК-5 кодує протеїн Р26, який впливає на суворість симптомів ураження ВНПЖБ. За наявності в геномі РНК-5 ВНПЖБ викликає найсуворіші симптоми ураження і може інфікувати частково стійкі до вірусу гібриди рослин цукрового буряку. Частково стійкі гібриди рослин культури, які мають домінантні моногенетичні гени стійкості, не можуть повністю запобігти проникненню та реплікації ВНПЖБ. Певні ізоляти ВНПЖБ можуть долати дію гена стійкості *Rz1*, який взаємодіє з точковою мутацією протеїну P25. За механічної інокуляції вірусом з високою концентрацією в корінці рослин цукрового буряку спостерігається здатність ВНПЖБ уражувати рослину, що залежить від заміни аланіну на валін в положенні 67 [17].

Зауважимо, що РНК-5 у геномі ВНПЖБ трапляється лише у Західній Європі (Франція, Велика Британія) і Азії, такі ізоляти є найсуворішими. Гомологія сиквенсу між

протеїном Р25 (РНК-3) та Р26 (РНК-5), як і висококонсервативний *aa* мотив, підтверджує гіпотезу, що додатковий патогенний чинник РНК-5 у Р-ізолятах ВВПЖБ може руйнувати стійкість рослин до ВВПЖБ. Підтверджено високу амінокислотну варіабельність у положенні [14, 17]. Повідомлено про синергетичний ефект РНК-3 та РНК-5, який зумовлює більші симптоми порівняно з ізолятами, в геномі яких існують лише РНК-1 та РНК-4. Результати дослідження гена Р26 продемонстрували субклітинну локалізацію і патогенні функції в рослинах *S. quinoa*. Встановлено локалізацію протеїну Р26 у цитоплазмі і ядерних компартментах інфікованих клітин подібно до протеїну Р25. Крім того, продемонстровано транскрипційну активацію і участь протеїну Р26 у формуванні локальних некрозів на рослинах *S. quinoa* [18].

За порівняння нуклеотидних послідовностей РНК-5 (327–1171 н.) 25-ти ізолятів була продемонстрована різниця між нуклеотидними послідовностями, яка становила 8%; і за варіантами РНК-5 ВВПЖБ розділено на 3 групи. Домен протеїну Р26, який активує транскрипцію, був досліджений аланін-скануванням. Як результат, мутанти Р26 були протестовані на здатність викликати некротичні симптоми і локалізуватися в ядерних компартментах. Так, Р26 відповідає за появу симптомів на рослинах *S. quinoa* і має здатність активувати транскрипцію у дріжджах. Використовуючи РНК-5, розробили нову систему експресії генів, яка надає змогу виконати конструкцію рекомбінатних протеїнів у інфікованих клітинах [18].

За амінокислотним сиквенсом БО між ВВПЖБ та вірусом ґрунтової мозаїки рослин буряку гомологія становить менше ніж 60%. Частка ідентичності між різними неструктурними протеїнами двох вірусів варіює від 38% цистеїн-збагаченого протеїну до 84% реплікаційно-асоційованого. За даними різниця між сиквенсом всього геному ВВПЖБ та ВГМБ становить 35–70%. На РНК-2 розташовується значна кількість областей, гомологічних до послідовностей

РНК інших вірусів. Послідовності 145–707 н. і 2133–3640 н. є гомологічними з послідовностями нуклеотидів смугастої мозаїки ячменю, 712–2218 н. — з вірусом жовтої карликовості ячменю, 4022–4423 н. — з вірусом тютюнової мозаїки, тому під час ідентифікації ВВПЖБ існують ризики отримання недостовірного результату. Области РНК-1 2805–3543 н. та 5358–5817 н. необхідно виключати з розробки систем діагностики, оскільки вони є гомологічними до вірусу тютюнової мозаїки. Класифікація ВВПЖБ на штами базується на поліморфізмі довжин рестрикційних фрагментів (restriction fragment length polymorphism, RFLP) або на аналізі поліморфізму конформації одноланцюгової РНК ВВПЖБ (single-strand conformation polymorphism, SSCP) [17]. Є дані про існування різних генотипів ВВПЖБ, які розповсюджені у різних географічних регіонах і мають різну патогенність. За літературними даними відомо кілька патотипів — А, В та Р. Встановлено, що SSCP-аналіз є інструментом для швидкого аналізу ізолятів ВВПЖБ для класифікації їх на групи як для змішаних інфекцій, так і для визначення нових груп штамів. Патотип А є розповсюдженим у Європі, США, Японії, Китаї, Ірані, Польщі, Швеції, Нідерландах. Патотип В поширюється переважно на території Німеччини, Франції, Швейцарії, Угорщини, Великої Британії. Патотип Р ідентифіковано на території Японії, Китаю, Франції, Казахстану, а в 2009 р. було повідомлення про ідентифікацію ВВПЖБ на території Ірану. Різниця в нуклеотидній послідовності між патотипами варіює у межах 3–6%. Секвенування послідовностей генома різних ізолятів засвідчило, що розбіжність між японськими та французькими ізолятами становить: 1,7% — для РНК-1; 4,1 — для РНК-2; 2,3 — для РНК-3; 3,6 — для РНК-4 [14].

Сиквенси А- і В- патотипів є висококонсервативними і стабільними, ідентичність сиквенсів становить $\geq 99\%$. Розбіжність нуклеотидних послідовностей не може бути визначена серологічно, оскільки зміни у послідовності амінокислот БО ВВПЖБ

між А і В патотипами розташовуються у області, яка не розпізнається антитілами до ВНПЖБ. Так, SSCP-аналіз використовують для аналізу або детекції РНК-5 (Р26) для розпізнавання патотипів А, В, Р. Проведено аналіз нуклеотидних послідовностей РНК-2, що кодує БО ВНПЖБ, РНК-3 (Р25) та РНК-5 (Р26). Філогенетичний аналіз дає змогу чітко класифікувати різні ізоляти ВНПЖБ у середині різних груп, які чітко корелюються в групі і за географічними регіонами. Ген БО має найбільшу консервативність у різних ізолятах, ген Р26 демонструє меншу консервативність. Протеїн Р25 (РНК-3) ізолятів патотипу А ВНПЖБ виявляє найбільшу варіабільність у тетраді амінокислотної послідовності у положенні 67–70. Дослідження патотипів засвідчили, що наявність у геномі ВНПЖБ РНК-5 обумовлює підвищену вірулентність ізолятів [14, 19].

Також РНК-вмісні віруси є відомими як об'єкти, що характеризуються високим рівнем мутації і РНК-РНК рекомбінацій упродовж їх еволюції. Відмінність між варіантами ВНПЖБ з різних джерел одного типу є доволі низькою, але ідентичність також відрізняється відповідно до області геному. Повідомлено про появу нового типу ізоляту, спорідненого із суворим патотипом Р, але в геномі якого РНК-5 не встановлено. У 2009 р. в Ірані був ідентифікований ізолят ВНПЖБ, віднесений до патотипу Р, але він не містив у своєму геномі РНК-5 [20].

Генетична варіабельність РНК є головним чинником патогенності. Непрямі мутації, генетична адаптація тощо, відбуваються під впливом змін умов навколишнього природного середовища. За результатами порівняння нуклеотидних послідовностей БО ВНПЖБ РНК-2 виявлено, що більшість японських та китайських ізолятів відноситься до патотипу А, а ізоляти Франції та Німеччини до патотипу В. Ізоляти патотипу Р містять у своєму складі РНК-5 і трапляються на території Європи та Азії. Відомо, що ізоляти, які містять у своєму геномі РНК-5, відносяться до патотипу Р і є найбільш патогенними. Відомо, що 12

сортів цукрових буряків з різною стійкістю до ризоманії по-різному реагують на ураження різними патотипами ВНПЖБ. Інфікований ВНПЖБ коренеплід цукрового буряку через 9 тижнів за сприятливих умов був значно дрібніший за ураження А- та Р-патотипами для всіх сортів культури, навіть на ранніх стадіях ураження. Цей факт був також відзначений і на частково стійких сортах. Патотип В спричиняє менш інтенсивне зменшення розмірів коренеплоду, а в частково стійких сортах його маса перевищувала масу коренеплодів контрольних рослин. Отже, низький патогенний ефект проявляє патотип В порівняно з патотипами А та Р [2].

Як правило, хвороба в полі проявляється у вигляді вогнищ, інфіковані корінці не можуть поглинати воду і поживні речовини, тому на листках часто з'являються жовті плями, черешки листка подовжуються і ростуть догори. Рідко ВНПЖБ спричиняє такий симптом, як пожовтіння жилок листка. Прояв симптомів захворювання на коренеплоді може значно варіювати — зовсім не проявлятися або проявлятися у вигляді зменшення його у розмірах, розростання бічних корінців у вигляді ризоїдів, гниття васкулярних тканин інфікованого коренеплоду. Найбільш характерною ознакою захворювання є «бородатість» коренеплодів, що зумовлено надмірним утворенням бічних корінців. Листки рослин буряку можуть змінювати забарвлення від блідо-зеленого або від блідо-салатового до лимонно-жовтого, спостерігається пожовтіння жилок листка рослини; центральні листки мають подовжені черешки і звужені листкові пластинки; однак ці ознаки не бувають постійними. Рослини є пониклими, відстають у рості, але може і не бути жодних ознак ураження на їх листках. На коренеплоді помітно розростаються бічні корінці, він зменшується у розмірах, на поперечному розрізі можуть спостерігатися зміни кольору провідних судин (від блідо-жовтого до темно-коричневого). За дослідженням А. Нурмухаммедова [21], у разі пізнього інфікування цукрового буряку ВНПЖБ візуальні ознаки хвороби

у рослин можуть не спостерігатися. На одній ураженій рослині весь комплекс симптомів, як правило, не виявляється. На рослинах стійких сортів цукрових буряків типові ознаки захворювання проявляються тільки за сильного ураження ВВПЖБ.

Так, ВВПЖБ передається грибом *P. betae*, що відноситься до родини *Plasmodiophoraceae*, класу *Plasmodiophoromycetes*. Він є облигатним паразитом коренів рослин представників родини *Chenopodiaceae*. Гриб виявлено у ґрунтах усіх країн, де зареєстровано ризоманію. Отримано дані про реплікацію і білки руху ВВПЖБ, пов'язані зі спорами *P. betae*: за допомогою мічення імунофлуоресцентним барвником визначали білки за допомогою імуноної сироватки. Зв'язок білків реплікації та руху ВВПЖБ зі стадіями формування спорангіїв та спор *P. betae* підтверджує той факт, що ВВПЖБ перебуває у переноснику більше одного життєвого циклу. Плазмодій гриба розвивається тільки у клітинах корінців, де перетворюється в зооспорангії із зооспорами. Характерною особливістю зооспорангії *P. betae* є наявність вивідних трубок, якими зооспори виходять у ґрунт. За задовільної кількості вологи в ґрунті дводжгутикові зооспори підпливають до кореневих волосків буряків, прикріплюються до них і проникають у цитоплазму. Плазмодій, який утворюється в клітині, за менш сприятливих умов може перетворюватися у цистоспорку, що містить від 5 до 300 цистоспор 3–7 мкм у діаметрі. Цистоспори зберігаються у ґрунті до 10 років і легко переносяться з частинками ґрунту, рослинних решток, пилу, бруду, що прилипають до машин, інвентарю та навколопліддя насіння. У сприятливих умовах цистоспори проростають однією або кількома зооспорами овальної форми від 3–5 мкм у діаметрі, які уражують буряки. Ураження рослин часто відбувається на ранній стадії вегетації, тобто навесні, коли температура ґрунту не перевищує 10–12°C. Для масового розвитку гриба необхідними є відповідні умови, поєднання таких чинників, як: відносна вологість (затоплення, надмірне зрошен-

ня, високий рівень підґрунтових вод), нейтральна або слаболужна реакція ґрунту. Встановлено, що вірофорні зооспори становлять незначну частину від загальної кількості всіх зооспор *P. betae*. Інфекційний потенціал однієї рослини становить близько 10 млн цистоспор. Було розроблено метод діагностики для встановлення концентрації інфікованих одиниць *P. betae* у ґрунті, що базується на техніці вірогідної кількості та імуноферментного аналізу [21, 22]. Гриб трапляється у тих зонах, де вирощуються цукрові буряки. В Україні його виявлено в багатьох районах бурякосіяння [21]. З ураженого гриба ВВПЖБ мігрує у клітини тканин коренеплоду культури. Так, ВВПЖБ насправді не може існувати в природі без гриба-переносника, і поширення вірусу цілком залежить від виживання гриба. До того ж ВВПЖБ поширюється з насінням цукрових буряків за контамінації оболонки насіння цистоспорами *P. betae*. Взаємовідносини *P. betae* та ВВПЖБ є персистентними. Цистоспори в ризоїдах цукрового буряку можуть бути ідентифіковані за допомогою світлового мікроскопа. Відомо, що ВВПЖБ передається механічною інокуляцією; не передається контактно між рослинами, насінням та пилком. Розповсюджується ВВПЖБ насінням картоплі, цибулі, сільськогосподарською технікою, рослинними рештками, інфікованою зрошувальною водою, вітром над інфікованим ризоманією ґрунтом або з грудочками ґрунту під час перевезення садивного матеріалу різних сільськогосподарських культур [23].

Рослини, які інфікуються в природі, містять чотири, а деякі ізоляти — п'ять молекул лінійної (+) одноланцюгової РНК. Після механічної інокуляції лабораторних рослин РНК-3, РНК-4, РНК-5 можуть частково або повністю руйнуватися. Залежно від наявності чи відсутності певних РНК, симптоми вірусного ураження відрізняються: за наявності РНК 1+2+3+4 формуються симптоми у вигляді жовтих плям, РНК 1+2+4 — хлоротичні плями та хлоротичні кільця, РНК 1+2 — некротичні плями. Показано в лабораторних умовах,

що у разі механічної інокуляції рослин *C. quinoa* сегменти РНК-3 і РНК-4 можуть руйнуватися або навіть зникати, що підтверджує їх обов'язкову наявність у процесі природного інфікування. У разі перенесення ВНПЖБ природним шляхом переносником *P. betae* геном вірусу має у своєму складі всі чотири сегменти РНК, і у всіх ізолятах сегменти мають однаковий розмір. Було проведено такий експеримент: ізоляти ВНПЖБ рослин *C. quinoa*, які мали у своєму складі РНК-3 і РНК-4 і не були визначені як повномірні, перенесли на корінці буряка вектором *P. betae*. Було встановлено, що два ізоляти не містили повномірних РНК-3, і інфікування спостерігалось лише за наявності повномірних РНК-3 і РНК-4 [24, 25].

За інфікування цукрових буряків ВНПЖБ у рослинах порушується обмін речовин, уповільнюється ріст коренеплодів, блокуються процеси утворення цукру та його нагромадження, вміст натрію, калію, кальцію зростає порівняно зі здоровими рослинами. За сильного ураження буряків ризоманією рослини часто гинуть. Потенційні втрати врожаю внаслідок ураження суворим штамом ВНПЖБ можуть сягати від 50 до 80–90%, уміст цукру зменшується з 16–18 до 10%, значно погіршуються технологічні показники коренеплодів. Також проведено дослідження і встановлено, що температура повітря під час зберігання коренеплодів не повинна опускатися нижче $-2,2^{\circ}\text{C}$ для максимального утримання сахарози [26].

Одним з основних шляхів розповсюдження ризоманії є транспортування із заражених територій бульб картоплі, штеклінгів цукрових буряків, саджанців, цибулин, ґрунту тощо. Процес транспортування та переробки цукрових буряків також істотно впливає на поширення хвороби. Значна частка ґрунту (у середньому 3–5% від маси) залишається на поверхні коренеплодів. Під час транспортування коренеплодів до цукрових заводів (у середньому 5–50 км) ґрунт разом з коренеплодами також поширюється із заражених полів на великі відстані. Всередині господарства та полів

перенесення інфекції відбувається сільськогосподарськими машинами та знаряддям праці. Важливим чинником перенесення є вода. Розповсюдження ВНПЖБ також можливо через гній домашніх тварин, яких відгодовують зараженими кормовими та залишками цукрових буряків. Для запобігання розповсюдженню ВНПЖБ забороняється ввезення інфікованого посадкового матеріалу і ґрунту із заражених зон. Необхідно вирощувати стійкі і толерантні сорти, дотримуватися сівозміни та ротації, знищувати рослинні рештки та бур'яни. Рекомендованими профілактичними та карантинними заходами є діагностика вірусу, контроль проникнення і переміщення всередині країни та між господарствами потенційних джерел інфекції, вирощування стійких сортів та гібридів цукрового буряку на заражених територіях [21]. Для своєчасної ідентифікації ВНПЖБ діагностику захворювання необхідно проводити влітку та восени. Важливо запроваджувати карантинний режим, якщо виявляється вогнище захворювання.

Перші спроби селекції цукрового буряку до стійкості проти ВНПЖБ почалися в 1970 р. Критеріями для селекції були зменшення або зникнення симптомів ураження вірусом, збільшення розмірів коренеплоду і врожайності цукрових буряків. Генотипи рослин, відібрані для подальшої селекції, виявилися чутливими до ВНПЖБ. Бічні корінці рослин інфікувалися вірусом, симптоми ураження проявлялися слабо. Рослини цукрового буряку, які проявляли толерантність до ВНПЖБ в бічних корінцях і мали кращу врожайність, охарактеризовано як частково стійкі рослини. У 80-х роках минулого століття сорти Дора і Лена реалізували як частково стійкі до ризоманії. Різор — перший толерантний до ВНПЖБ сорт цукрового буряку, який був створений у 1985 р. і проявив високу стійкість до хвороби. На той час довготривала інтенсивна лабораторна селекція частково стійких сортів рослин цукрових буряків могла значно скоротитися, якби була можливість ідентифікації ВНПЖБ у

бічних корінцях рослин буряків уже після чотирьох тижнів їх вирощування, наприклад молекулярно-біологічними методами. На сьогодні для створення стійких гібридів використовують ген частково доміантної стійкості до ризоманії *Rz1*, або Холі-ген, який був виявлений у лінії рослин виробництва Холлі (цукрова компанія «Холлі», Каліфорнія США) у 1983 р. Механізм стійкості гена *Rz1* базується на зниженні реплікації ВНПЖБ у бічних коренях і уповільненні руху ВНПЖБ у рослині. Наразі ген *Rz1* є найважливішим геном стійкості до ризоманії, але не в усіх сортах ген *Rz1* виконує свою функцію. Гібриди рослин з Холі-геном стійкості тільки в Європі займають площу понад 1 млн га. Висвітлено, що стійкість рослини залежить від концентрації вірусу в ґрунті. Висока концентрація ВНПЖБ може обходити ген стійкості *Rz1*, особливо за умов високої концентрації вірофорних зооспор *P. betae*. Поодинокий доміантний ген стійкості *Rz1* втратив здатність протистояти ризоманії, тому важливим став пошук нових природних генів стійкості. Пошук був розширений з використанням додаткових зародкових плазм рослин *Beta vulgaris susp. maritima*. Стійкість було отримано внаслідок використання диких сортів буряку (WB) WB 42, і завдяки інбридингу отримано ген стійкості — С48. Дослідники продемонстрували, що гени стійкості розміщуються на різних локусах хромосоми 3, йому дали назву *Rz2*. Ідентифіковано додатковий головний ген стійкості — *Rz3* в *WB41*. Також *Rz3* зафіксовано на хромосомі 3 у геномі цукрового буряку окремо від гена *Rz2*. Дослідження засвідчили низьку концентрацію ВНПЖБ у частково стійких рослинах цукрових буряків, які мали комбінацію генів *Rz1* та *Rz3* в умовах гетерозису, на відміну від рослин, які містили лише ген *Rz1*. Встановлено здатність французького, іспанського та американського ізолятів ВНПЖБ уражувати рослини, які мають ген *Rz1* та поєднання генів *Rz1+Rz2*. Продемонстровано, що це явище залежить від концентрації ВНПЖБ в інокулюму і у вірофорних спорах *P. betae* у ґрунті [27].

Вітчизняні гібриди є сприйнятливими до ризоманії. В ІЦБ НААН з 1998 р. діє селекційна програма з отримання толерантних до ризоманії селекційних матеріалів. Як донорів стійкості використовували тропічні форми З 48 (*Rz2 + Rz3*) і С 50 (*Rz1*). Унаслідок проведених досліджень створено перший вітчизняний гібрид цукрового буряку, що є стійким до ВНПЖБ; у 2007 р. його внесено до Державного реєстру під назвою Різольт. Різольт — однонасінний диплоїдний гібрид на стерильній основі урожайно-цукрового напрямку [21]. Певні ізоляти ВНПЖБ можуть обходити ген *Rz1*, що взаємодіє з точковою мутацією протеїну Р25. За механічного інокулювання вірусом з високою концентрацією у бічні корінці рослин цукрового буряку було виявлено, що здатність вірусу уражувати рослину залежить від наявності амінокислоти аланіну або валіну у положенні 67. Вченими створюються також трансгенні рослини, стійкі до ризоманії. Для створення толерантних сортів використовують не трансляційні фрагменти або цілі гени. За експресії подвійного ланцюга РНК або введення специфічної концентрації РНК активується внутрішній механізм стійкості рослин — «РНК-замовчування». Так, РНК-замовчування ініціюється дволанцюговою РНК, викликає специфічну деградацію вірусної РНК і діє як адаптивний механізм стійкості. Але цей механізм не завжди інгібує розповсюдження вірусу. Зауважимо, що ВНПЖБ може пригнічувати РНК-замовчування за виділення протеїнів, що перешкоджає механізму стійкості. За умов трансгенетичної експресії або індукції вірусної дволанцюгової РНК генетично трансформовані рослини можуть ініціювати механізм стійкості до ВНПЖБ на початковій стадії впливу вірусу на рослину. Для досягнення подібної стійкості експресуються лише фрагменти вірусного геному, що є доволі перспективним, але існують дискусії щодо біологічного ризику трансгенних рослин [15].

Висвітлено взаємозв'язок прояву генів стійкості до ризоманії з генами стійкості до церкоспорозу. Це дає змогу залучати

вітчизняний селекційний матеріал, що має гени стійкості до церкоспорозу, у процес гібридизації з інтродукованими донорами стійкості до ризоманії. На основі насичувальних схрещувань розроблено схему інтрогресії гена *Rz* від інтродукованих донорів С-48 і С-50 у генотипи вітчизняних гетерозисних гібридів (багатонасінних запилювачів, ЧС-ліній, запилювачів О-типу) цукрових буряків. Встановлено можливість поєднання генів стійкості з генами утилітарних ознак у спільних генотипах [23]. Отримано модельні трансгенні рослини *Nicotiana benthamiana*, які експресують ген стійкості до гербіциду BASTA та інвертовані повтори 3'-НТО геному ВНПЖБ і є потенційним джерелом стійкості до ВНПЖБ. Створено генетичну конструкцію pBI_BAR_BNYVVsil, що може бути застосована для отримання трансгенних рослин цукрового буряку, які поєднують толерантність до ризоманії та стійкість до гербіциду. Наявність в селекційній лінії двох генів дає змогу прискорити селекційний процес, виключаючи проведення додаткових схрещувань або трансформацій для поєднання двох ознак в одному генотипі [28].

Унаслідок інтрогресії основних генів резистентності (*Holly*, *Rz2*) у комерційно доступні сорти цукрових буряків вірус пережив сильний селекційний тиск починаючи з 90-х років. Розуміння реакції вірусу та різноманіття стійкості до цукрових буряків є ключовим чинником маніпуляції лише кількома генами стійкості. Проведено дослідження вірусу у регіоні накопичення ризоманії, а саме у районі Пітів'є (Франція) упродовж 4-річного періоду, які було зосереджено на оцінці різноманіття ВНПЖБ внутрішньо- та міжпольових у відповідь на різні джерела стійкості, та протягом вегетаційного періоду. Еволюцію різноманіття ВНПЖБ оцінювали на внутрішньо- та міжпольових рівнях, до того ж спостерігали за сортами цукрових буряків, що містили різні гени стійкості (*Rz1*, *Rz1 + Heterodera schachtii* ген стійкості та *Rz1Rz2*). Внутрішньопольове різноманіття

кожного поля було проаналізовано на початку та наприкінці вегетаційного періоду. З більш ніж 1 тис. польових зразків було підтверджено одночасну наявність різних типів А-, В- і Р-патотипів, із 21 варіантом, визначеним у позиціях 67–70 тетрадів гена *R25*. Також було зафіксовано численні змішані інфекції (9,93% зразків), переважно В-типу з Р-типом. Були також виявлені різні тетради, асоційовані з А- або В-типом, з п'ятою складовою генома РНК, яка, як відомо, забезпечує більшу агресивність вірусу на коренях цукрових буряків. Сорти з резистентними *Rz1 + Rz2* генами виявляли мало симптомів на коренях, навіть якщо титр ВНПЖБ був доволі високим порівняно з наявним типом вірусу. Інфекційний потенціал вірусів у ґрунті наприкінці вегетаційного періоду з такими сортами також був нижчим, незважаючи на більше різноманіття на рівні нуклеотидної послідовності РНК-3. Сорти з генами стійкості *Rz1* та зі стійкістю до нематод (N), культивовані за польових умов із зараженням нематодами, засвідчили менший титр ВНПЖБ, ніж у сортів, які мали гени *Rz1* або *Rz1 + Rz2*. Отже, на сьогодні залишаються невивченими сторони ВНПЖБ, що можуть виступати небезпечними чинниками для створення стійких сортів та гібридів цукрового буряку [24].

Селекціонери постійно працюють над створенням стійких сортів та гібридів основних сільськогосподарських культур. Оскільки віруси мають таку властивість, як мінливість, що обумовлено коротким життєвим циклом, то основна небезпека для агроценозів у разі поширення вірусних хвороб — це здатність вказаних патогенів з часом долати толерантність за ураження вірусними захворюваннями. Тому врожайність начебто толерантних рослин до того чи іншого вірусного захворювання може бути під загрозою. Отже, селекціонерам та вірусологам важливо спрямувати спільні зусилля на отримання якісного продукту з метою задоволення потреб сучасного агропромислового комплексу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Detection and molecular characterization of *Polymyxa betae*, transmitting agent of sugar beet rhizomania disease in Iran / F.H. Davarani, S. Rezaee, S.B. Mahmoudi et al. // Spanish Journal of Agricultural Research. — 2014. — Vol. 12, No. 3. — P. 787–794.
2. First Report of Beet necrotic yellow vein virus on Red Table Beet in Brazil / J.M. Rezende, V.M. Camelo, D. Flores et al. // Plant Disease. — 2015. — Vol. 99, No. 3. — P. 423.
3. Діагностика вірусу некротичного пожовтіння жилок буряка, що циркулює в Україні / К.В. Гринчук, І.О. Антіпов, А.М. Кириченко [та ін.] // Мікробіологічний журнал. — 2018. — Т. 80, № 1. — С. 77–88.
4. Гринчук К.В. Молекулярна діагностика та ідентифікація вірусу некротичного пожовтіння жилок буряку: дис. ... канд. біол. наук: 06.01.11 фітопатологія / К.В. Гринчук. — К., 2016. — 186 с.
5. Plant Viruses Online Beet necrotic yellow vein furovirus [Електронний ресурс] / A. Brunt, K. Grabtree, K. Dalwitz [et al.]. — 1996. — Режим доступу: <http://pvo.bio-mirror.cn/descr086.htm>
6. Koenig R. Beet necrotic yellow vein virus / R. Koenig, T. Tamada // CMI/AAAB Descriptions of Plant viruses. — 2000. — No. 144.
7. Identification of the 3'- and 5'-ends of beet necrotic yellow vein virus RNAs / C. Putz, L. Pinck, M. Pinck et al. // FEBS Letters. — 1983. — Vol. 156, No. 1. — P. 41–56.
8. Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / M.C. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff et al. — USA: Elsevier, 2005. — 1562 p.
9. Richards K.E. Mapping functions on the multipartite genome of beet necrotic yellow vein virus / K.E. Richards, T. Tamada // Annual Review of Phytopathology. — 1992. — Vol. 30. — P. 291–313.
10. Independent expression of the first two triple gene block proteins of beet necrotic yellow vein virus complements virus defective in the corresponding gene but expression of the third protein inhibits viral cell-to-cell movement / C. Bleykasten-Grosshans, H. Guilley, S. Bouzoubaa et al. // The American Phytopathological Society. — 1997. — Vol. 10, No. 2. — P. 240–246.
11. Beet necrotic yellow vein virus 42kDa triple gene block protein binds nucleic acid *in vitro* / C. Bleykasten, D. Gilmer, H. Guilley [et al.] // Journal of General Virology. — 1996. — No. 77. — P. 879–889.
12. Production and pathogenicity of isolates of beet necrotic yellow vein virus with different numbers of RNA components / T. Tamada, Y. Shirako, H. Abe et al. // Journal of General Virology. — 1989. — Vol. 70. — P. 3399–3409.
13. Identification of amino acids of the beet necrotic yellow vein virus p25 protein required for induction of the resistance response in leaves of *Beta vulgaris* plants / S. Chiba, M. Miyaniishi, I.B. Andika et al. // Journal of General Virology. — 2008. — No. 89. — P. 1314–1323.
14. Phylogenetic analysis of isolates of beet necrotic yellow vein virus collected worldwide / A. Schirmer, D. Link, V. Cognat et al. // Journal of General Virology. — 2005. — No. 86. — P. 2897–2911.
15. Beet soil-borne mosaic virus RNA-4 encodes a 32 kDa protein involved in symptom expression and in virus transmission through *Polymyxa betae* / A. Delbianco, C. Lanzoni et al. // Virology. — 2012. — Vol. 423, No. 2. — P. 187–194.
16. RNA-4-encoded p31 of beet necrotic yellow vein virus is involved in efficient vector transmission, symptom severity and silencing suppression in roots / M.D. Rahim, I.B. Andika, Ch. Han et al. // Journal of General Virology. — 2007. — No. 88. — P. 1611–1619.
17. *Pferdmenges F.* Occurrence, spread and pathogenicity of different Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) isolates: dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Fakultät für Agrarwissenschaften / Pferdmenges Friederike. — Göttingen, 2007. — 111 p.
18. Covelli L. The first 17 amino acids of the beet necrotic yellow vein virus RNA5-encoded p26 protein are sufficient to activate transcription in a yeast one-hybrid system / L. Covelli, E. Klein, D. Gilmer // Archives of Virology. — 2009. — Vol. 154, No. 2. — P. 347–351.
19. Lennefors B.L. Molecular breeding for resistance to rhizomania in sugar beets: doctor's dissertation / Britt-Louise Lennefors. — Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2006. — 41 p.
20. Iranian Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV): Pronounced diversity of the p25 coding region in A-type BNYVV and identification of P-type BNYVV lacking a fifth RNA species / M. Mehvar, J. Valizadah, R. Koenig et al. // Archives of Virology. — 2009. — Vol. 154, No. 3. — P. 501–506.
21. Нурмухаммедов А.К. Підвищення стійкості цукрових буряків до збудників ризоманії, гнилей коренеплідів та коренеїда сходів: дис. ... д-ра с.-г. наук: 06.01.11 / А.К. Нурмухаммедов. — К., 2005. — 384 с.
22. Barr K.J. Studies on the life-cycle of *Polymyxa betae* in sugar beet roots / K.J. Barr, M.C. Asher // Mycological Research. — 1996. — Vol. 100, No. 2. — P. 203–208.
23. Манько О.А. Ризоманія цукрових буряків — селекція на стійкість: дис. ... канд. с.-г. наук: 06.01.05 / О.А. Манько. — К., 2003. — 182 с.
24. Galein Y. Long Term Management of Rhizomania Disease-Insight Into the Changes of the *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-3 Observed Under Resistant and Non-resistant Sugar Beet Field / Y. Galein, A. Legreve, C. Bragard // Front. Plant Sci. — 2018. — Vol. 9, No. 795. — P. 1–15.
25. Posttranscriptional gene silencing by siRNAs and miRNAs / W. Filipowicz, L. Jaskiewicz, F.A. Kolb et al. // Current Opinion in Structural Biology. — 2005. — No. 15. — P. 331–341.
26. Strausbaugh C.A. Influence of Beet necrotic yellow vein virus and Freezing Temperatures on Sugar Beet

- Roots in Storage / C.A. Strausbaugh, I.A. Eujayl // *Plant Dis.* — 2018. — 102(5). — P. 932–937.
27. Liu H. Distribution and molecular characterisation of resistance-breaking isolates of Beet necrotic yellow vein virus in the Unites States / H. Liu, R.T. Lewellen // *Plant Disease.* — 2007. — Vol. 91, No. 7. — P. 847–851.
28. Виноградова С.В. Использование 3'-нетранслируемой области вируса некротического пожелтения жилок свеклы в качестве индуктора устойчивости к ризомании: автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.01.03 «Молекулярная биология» / С.В. Виноградова. — М., 2012. — 22 с.
29. Beet necrotic yellow vein virus (benyvirus) // European and Mediterranean Plant protection organization (OEPP/EPPO). — 2006. — Vol. 36, No. 3. — P. 429–440.

REFERENCES

1. Davarani, F.H., Rezaee, S., Mahmoudi, B. et al. (2014). Detection and molecular characterization of *Polymyxa betae*, transmitting agent of sugar beet rhizomania disease in Iran. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12, 3, 787–794 [in English].
2. Rezende, M., Camelo, V. M., Flores, D. et al. (2015). First Report of Beet necrotic yellow vein virus on Red Table Beet in Brazil. *Plant Disease*, 99, 3, 423 [in English].
3. Hrynychuk, K.V., Antipov, I.O., Kyrychenko A.M. et al. (2018). Diahnostyka virusu nekrotychnoho pozhovtinnyya zhylok buryaka, shcho tsyrkulyuye v Ukrayini [Diagnosis of beet necrotic yellow vein virus circulating in Ukraine]. *Mikrobiolohichnyy zhurnal — Microbiological journal*, 80, 1, 77–88 [in Ukrainian].
4. Hrynychuk, K.V. (2016). Molekulyarna diahnozyka ta identyfikatsiya virusu nekrotychnoho pozhovtinnyya zhylok buryaku [Molecular diagnosis and identification of beet necrotic yellow vein virus]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Kyiv [in Ukrainian].
5. Brunt, A., Grabtree, K., & Dalwitz, K. et al. (1996). Plant Viruses Online Beet necrotic yellow vein furovirus. *pvo.bio-mirror.cn*. Retrieved from: <http://pvo.bio-mirror.cn/descr086.htm> [in English].
6. Koenig, R. & Tamada, T. (2000). Beet necrotic yellow vein virus. *CMI / AAB Descriptions of Plant viruses*, 144 [in English].
7. Putz, C., Pinck, L., & Pinck, M. et al. (1983). Identification of the 3'- and 5'-ends of beet necrotic yellow vein virus RNAs. *FEBS Letters*, 156, 1, 41–56 [in English].
8. Fauquet, M.C., Mayo, M.A., & Maniloff, J. et al. (2005). *Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. USA: Elsevier [in English].
9. Richards, K.E., & Tamada, T. (1992). Mapping functions on the multipartite genome of beet necrotic yellow vein virus. *Annual Review of Phytopathology*, 30, 291–313 [in English].
10. Bleykasten-Grosshans, C., Guilley, H., & Bouzoubaa, S. et al. (1997). Independent expression of the first two triple gene block proteins of beet necrotic yellow vein virus complements virus defective in the corresponding gene but expression of the third protein inhibits viral cell-to-cell movement. *The American Phytopathological Society*, 10, 2, 240–246 [in English].
11. Bleykasten, C., Gilmer D., Guilley, H. et al. (1996). Beet necrotic yellow vein virus 42kDa triple gene block protein binds nucleic acid *in vitro*. *Journal of General Virology*, 77, 879–889 [in English].
12. Tamada, T., Shirako, Y., Abe, H. et al. (1989). Production and pathogenicity of isolates of beet necrotic yellow vein virus with different numbers of RNA components. *Journal of General Virology*, 70, 3399–3409 [in English].
13. Chiba, S.M., Miyanishi, M., & Andika, I.B. et al. (2008). Identification of amino acids of the beet necrotic yellow vein virus p25 protein required for induction of the resistance response in leaves of *Beta vulgaris* plants. *Journal of General Virology*, 89, 1314–1323 [in English].
14. Schirmer, A., Link, D., & Cognat, V. et al. (2005). Phylogenetic analysis of isolates of beet necrotic yellow vein virus collected worldwide. *Journal of General Virology*, 86, 2897–2911 [in English].
15. D'Alonzo, M., Delbianco, A., Lanzoni, C. et al. (2012). Beet soil-borne mosaic virus RNA-4 encodes a 32 kDa protein involved in symptom expression and in virus transmission through *Polymyxa betae*. *Virology*, 423, 2, 87–194 [in English].
16. Rahim, D., Andika, I.B., & Han, Ch. et al (2007). RNA-4-encoded p31 of beet necrotic yellow vein virus is involved in efficient vector transmission, symptom severity and silencing suppression in roots. *Journal of General Virology*, 88, 1611–1619 [in English].
17. Pferdmenges, F. (2007). Occurrence, spread and pathogenicity of different Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) isolates. *Doctor's thesis*. Göttingen [in English].
18. Covelli, L., Klein, E., & Gilmer, D. (2009). The first 17 amino acids of the beet necrotic yellow vein virus RNA5-encoded p26 protein are sufficient to activate transcription in a yeast one-hybrid system. *Archives of Virology*, 154, 2, 347–351 [in English].
19. Lennefors, B.L. (2006). Molecular breeding for resistance to rhizomania in sugar beets. *Doctor's thesis*. Uppsala [in English].
20. Mehvar, M., Valizadah, J., & Koenig, R. et al. (2009). Iranian Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV): Pronounced diversity of the p25 coding region in A-type BNYVV and identification of P-type BNYVV lacking a fifth RNA species. *Archives of Virology*, 154, 3, 501–506 [in English].
21. Nurmukhammadov, A.K. (2005). Pidvyshchennya stiykosti tsukrovkyh buryakiv do zbudnykiv ry-

- zomaniyi, hnyley koreneplodiv ta koreneyida skhodiv [Increasing the resistance of sugar beet to pathogens of rhizomania, rot of root crops and rooting of seedlings]. *Doctor's thesis*. Moscow [in Russian].
22. Barr, K.J., & Asher, M.C. (1996). Studies on the life-cycle of *Polymyxa betae* in sugar beet roots. *Mycological Research*, 100, 2, 203–208 [in Russian].
 23. Manko, O.A. (2003). Ryzomaniya tsukrovyykh buryakiv – selektsiya na stiykist [Rhizomania of sugar beet – breeding for stability]. *Candidate's thesis*. Kiev [in Ukrainian].
 24. Galein, Y., Legreve, A., & Bragard, C. (2018). Long Term Management of Rhizomania Disease-Insight Into the Changes of the *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-3 Observed Under Resistant and Non-resistant Sugar Beet Field. *Front. Plant Sci*, 9, 795, 1–15 [in English].
 25. Filipowicz, W., Jaskiewicz, L., & Kolb, F.A. et al. (2005). Posttranscriptional gene silencing by siRNAs and miRNAs. *Current Opinion in Structural Biology*, 15, 331–341 [in English].
 26. Strausbaugh, C.A., & Eujayl, I.A. (2018). Influence of Beet necrotic yellow vein virus and Freezing Temperatures on Sugar Beet Roots in Storage, 102, 5, 932–937 [in English].
 27. Liu, H., & Lewellen, R.T. (2007). Distribution and molecular characterisation of resistance-breaking isolates of Beet necrotic yellow vein virus in the Unites States. *Plant Disease*, 91, 7, 847–851 [in English].
 28. Vinogradova, S.V. (2012). Ispol'zovaniye 3'-nestransliruyemoy oblasti virusa nekroticheskogo pozhelteniya zhilok svekly v kachestve induktora ustoychivosti k rizomanii [Using of a 3'-untranslated region of the beet necrotic yellow vein virus as an inducer of resistance to rhizomania]. *Extended abstract of Candidate's thesis*. Moskva [in Russian].
 29. Beet necrotic yellow vein virus (benyvirus) (2006). *European and Mediterranean Plant protection organization (OEPP/EPPO)*, 36, 3, 429–440 [in English].

Стаття надійшла до редакції журналу 30.07.2019

УДК 631.46:632.954

DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.3.2019.183479>

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЧОРНОЗЕМУ ТИПОВОГО ЗА ВНЕСЕННЯ ГЕРБІЦИДІВ У ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ КУКУРУДЗИ

О.С. Дем'янюк, Д.О. Шацман

Інститут агроекології і природокористування НААН

Досліджено вплив ґрунтових і страхових гербіцидів у технології беззмінного вирощування кукурудзи на активність біологічних процесів у чорноземі типовому. Висвітлено, що застосування гербіцидів упродовж трьох років поспіль в системі захисту кукурудзи призвело до зниження вмісту загальної біомаси мікроорганізмів у ґрунті на 8–57% порівняно з перелогом та зростання інтенсивності виділення CO₂ з ґрунту на 2–13% порівняно з контролем, залежно від виду хімічного препарату. Внесення препарату Естерон 60 к.е. (норма витрат 0,8 л/га) спричинило зниження вмісту загальної біомаси мікроорганізмів на 42,1% і активність оксидоредуктаз на 19–20% порівняно з контролем, зростання фітотоксичності ґрунту до 56,5%. Обприскування посівів страховими гербіцидами Мілагро 040 SC к.с. і Каллісто 480 SC, КС у рекомендованих нормах витрат (1,0 і 0,2 л/га відповідно) не зумовило істотного пригнічення ґрунтової мікробіоти та активності ферментів поліфенолоксидази і пероксидази. Фітотоксичність ґрунту в цих варіантах була на рівні 31,9 і 36,3%, що на 9,6 і 24,7% вище, ніж на контролі, відповідно. За показником фітотоксичності ґрунту в технології беззмінного вирощування кукурудзи досліджені гербіциди розміщено у ряд: Мілагро 040 SC к.с. < Каллісто 480 SC, КС < Стомп 330, к.е. < Харнес, к.е. < Діанат, ВРК < Естерон 60 к.е.

Ключові слова: біологічна активність ґрунту, фітотоксичність ґрунту, чорнозем типовий, агроценоз кукурудзи, гербіциди.

Сучасні інтенсивні агротехнології з вирощування сільськогосподарських культур

передбачають широке застосування хімічних засобів захисту рослин. Проте залишається актуальним питання необхідності дотримання екологічної безпеки та запобі-