

Выявление вирусных инфекций винограда в Республике Крым

Бондаренко Г.Н.^{1,2}, Ермолов В.Ю.², Алейникова Н.В.^{3,1}, Корнилаева О.Н.¹

¹ФГБУ «ВНИИКР», р.п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия

³ФГБУН «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», г. Ялта, Республика Крым, Россия

Аннотация. Ежегодно виноградовинодельческая отрасль несет значительные убытки из-за уменьшения сбора и снижения качества урожая винограда в результате поражения растений инфекциями разной этиологии, в том числе вирусной. Сильно поражённые вирусными болезнями кусты винограда отстают в развитии, снижается их продуктивность, что может в последствии привести к гибели растений и потребует дополнительных затрат на восстановление виноградников. В настоящее время недостаточно сведений о распространении вирусных заболеваний на виноградных насаждениях Крыма. К наиболее вредоносным вирусам винограда относятся: вирус короткоузлие винограда Grapevine fanleaf virus (GFLV), вирус мраморности винограда Grapevine fleck virus (GFkV), вирус скручивания листьев винограда, серотип 3 Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV – 3), вирус Пиногри винограда Grapevine Pinot gris virus (GPGV), вирус опробковения коры винограда Grapevine virus B (GVB). В общей сложности было собрано 153 образца побегов с листьями, ассоциируемых с вирусной инфекцией в трех виноградарских зонах Крыма. Диагностику вирусов проводили методом ОТ-ПЦР с последующим секвенированием. Четыре из пяти экономически опасных вирусов (кроме GVB) были обнаружены в исследуемых образцах, преобладающими являлись GLRaV-3, GFkV. Встречались виноградные кусты, поражённые сразу несколькими вирусами (mix-infection). Результаты также показали, что использование зараженного посадочного материала, возможно, было одним из главных факторов развития вирусных заболеваний в Крыму. Определено, что вирозам подвержены основные сорта винограда – Каберне-Совиньон и группа Мускатов, о чем в отечественной и зарубежной литературе ранее не сообщалось.

Ключевые слова: ампелоценоз; вирозы; вирусы; диагностика; ПЦР; секвенирование.

Для цитирования: Бондаренко Г.Н., Ермолов В.Ю., Алейникова Н.В., Корнилаева О.Н. Выявление вирусных инфекций винограда в Республике Крым // «Магарач». Виноградарство и виноделие, 2022; 24(1):48-54. DOI 10.35547/IM.2022.13.77.008

Detection of grape viral infections in the Republic of Crimea

Bondarenko G.N.^{1,2}, Yermolov V.Yu.², Aleinikova N.V.^{3,1}, Kornilaeva O.N.¹

¹FSBI All-Russian Center for Plant Quarantine (FSBI VNIKR), vil. Bykovo, Ramenskoye, Moscow region, Russia

²FSAEI HE Peoples' Friendship University of Russia (FSAEI HE RUDN), Moscow, Russia

³FSBSI All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, 31 Kirova Str., 298600 Yalta, Republic of Crimea, Russia

Abstract. Every year, viticultural and winemaking industry experiences significant losses due to a decrease in the crop yield and its quality as a result of plant damage by infections of various etiology, including viral. Grape bushes severely affected by viral diseases delay in development, their productivity decreases, which can subsequently lead to the loss of plants and require additional costs for recovering of vineyards. Currently, there is not enough information about the distribution of viral diseases in the vineyards of Crimea. The most harmful grape viruses are: *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), *Grapevine fleck virus* (GFkV), *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV – 3), *Grapevine Pinot gris virus* (GPGV), *Grapevine virus B* (GVB). A total of 153 samples of shoots with leaves, associated with viral infection, were collected in three viticultural zones of Crimea. Viruses were diagnosed by RT-PCR followed by sequencing. Four out of five economically dangerous viruses (except GVB) were found in the studied samples, GLRaV-3 and GFkV were predominant. There were grape bushes infected with several viruses at once (mix-infection). The results also showed that the use of infected planting material could be one of the main factors in the development of viral diseases in Crimea. It is determined that essential grape varieties, 'Cabernet-Sauvignon' and the 'Muscat'- group, are susceptible to viroses, which has not been previously reported in national and international literature.

Key words: ampelocenosis; viroses; viruses; diagnostics; PCR; sequencing.

For citation: Bondarenko G.N., Yermolov V.Yu., Aleinikova N.V., Kornilaeva O.N. Detection of grape viral infections in the Republic of Crimea. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2022; 24(1):48-54 (in Russian). DOI 10.35547/IM.2022.13.77.008

Введение

Виноградовинодельческая отрасль играет важную роль в экономике южных регионов Российской Федерации и является неотъемлемой частью отечественного агропромышленного комплекса, при этом

существуют значительные проблемы, приводящие к снижению валового сбора винограда. К основным проблемам можно отнести отсутствие питомников с высокопродуктивным и сертифицированным посадочным материалом, свободным от фитофагов и фитопатогенов, способных обеспечить качественным материалом и высокопродуктивной селекцией вино-

градных сортов; отток квалифицированных кадров; рост цен на горюче-смазочные материалы, сельскохозяйственную технику, удобрения и пестициды; низкий уровень агротехники, повреждение виноградников морозами, засуха или переувлажнение, наблюдаемые в последние годы, наличие старых неэксплуатируемых виноградников; недостаточная поддержка государства.

Правительство РФ поставило приоритетные задачи импортозамещения для виноградовинодельческой отрасли, с целью вывода российской виноградной продукции на конкурентный уровень как на внутреннем, так и внешнем рынках, увеличив при этом производство российской винодельческой продукции с мировыми стандартами качества. С этой целью Министерством сельского хозяйства РФ совместно с Союзом виноградарей и виноделов в 2016 г. был разработан проект Концепции развития виноградарства и виноделия в Российской Федерации на период 2016-2020 гг. и плановый период до 2025 г., отражающий основные проблемы, основные принципы, цели, задачи и главные направления развития виноградарства и виноделия в Российской Федерации [1]. Правительство неоднократно предпринимало попытки стимулировать садоводство и виноградарство в Российской Федерации, включая расширение винодельческих районов. Однако две серьезные проблемы существуют на пути развития отрасли – нехватка средств и высококачественного посадочного материала.

Ежегодно виноградовинодельческая отрасль несет значительные убытки из-за уменьшения сбора и снижения качества урожая винограда в результате поражения растений инфекциями разной этиологии, в том числе вирусной. Мировая торговля посадочным материалом винограда – одна из причин распространения вирусов на новые территории. Вирусные заболевания виноградной лозы приводят к значительным потерям урожая, сокращению производства и снижению долговечности виноградных растений. Сильно поражённые вирусной инфекцией кусты винограда отстают в развитии, снижается их продуктивность, что может в последствии привести к их гибели и потребуются дополнительные затраты на восстановление виноградников. Кроме того, вирусы также влияют на технологические характеристики, из-за задержки созревания снижается качество ягод – с недостаточным содержанием сахара, пигментов и высокой кислотности [2-4]. В настоящее время недостаточно сведений о распространении вирусных заболеваний на виноградных насаждениях Крыма.

Изучение уровня распространения вирусов необходимо для установления фитосанитарного состояния ампелоценозов конкретных территорий. Поэтому, помимо определения вирусной инфекции по визуальным симптомам, важно наличие более точных методов диагностики. Недавние достижения в области молекулярной биологии для изучения вирусного разнообразия, которое существует на виноградниках, позволили эффективно идентифицировать известные или новые разновидности вирусных инфекций. Усовершенствование методов диагностики изменило

подходы к выявлению вирусов, и все чаще визуальная оценка симптомов заменяется современными биоаналитическими тестами, которые позволяют достоверно диагностировать фитопатогены. Снижение стоимости и продолжительности тестирования имеет решающее значение для обеспечения крупномасштабной диагностики, которая может быть включена в комплексные планы защиты растений, делая их более доступными.

Целью данного исследования является выявление вирусов, диагностика их возбудителей – вирусов – молекулярно-генетическими методами, уточнение визуальных симптомов проявления данных заболеваний на виноградных насаждениях Крыма.

Вирусы, вызывающие заболевания виноградной лозы, в основном имеют одноцепочечные РНК-геномы. В последние годы также были обнаружены патогенные вирусы виноградной лозы с ДНК-геномами. Согласно стандарту ЕРРО в перечне патогенов, обязательных для тестирования в саженцах винограда, наиболее опасные вирусы сгруппированы по типу поражения и уровню вредоносности: А – вирусы, вызывающие дегенерацию винограда; В – вирусы, вызывающие скручивание листьев; С – вирусы, вызывающие деформацию древесины; D – вирусы, вызывающие пятнистости винограда [5-7]. Недавно в США и Канаде обнаружен новый патоген – вирус красного виноградного пятна Grapevine redblotch virus (GRBV). Другой относительно новый патоген – вирус Пино гри Grapevine Pinot gris virus (GPGV), был идентифицирован на винограде с симптомами хлороза и деформации листьев, после чего зарегистрирован во всем мире, особенно в странах Европы, Азии, Южной и Северной Америки (Канада, Онтарио и Британская Колумбия) [8].

Согласно Xiao et al. (2018) понимание типа вирусов, их распространения и тяжести вирусных заболеваний является первым шагом к правильному подходу в контроле исследуемых инфекций. Экономическое влияние вирусов виноградной лозы на производство винограда в России мало изучено. Такие исследования проводились в небольшой части коммерческих виноградников [9-11]. При этом фитосанитарному обследованию должны подлежать максимально возможные площади ампелоценозов. Актуальность настоящего исследования заключается в проведении следований молекулярно-генетическими методами с целью выявления вирусных инфекций и их видового разнообразия на промышленных виноградниках Крыма. Настоящая работа включает в себя диагностику на вирусы, ранее не анализируемые в Российской Федерации.

Выбранные для изучения в настоящем исследовании виды инфекций могут представлять угрозу стабильному развитию виноградарства Крыма в связи с их агрессивностью и распространенностью в странах Европы, которые являются основными поставщиками посадочного материала в Россию.

Материалы и методы

Исследования проводились в 2020-2021 гг. В качестве материала отбирали листья и побеги виноградного куста. Образцы собирали по визуальному про-

Таблица 1. Праймеры, используемые в работе согласно Xiao et al., 2018
Table 1. Primers used in the work according to Xiao et al., 2018

Вирус	Праймер	Последовательность	Длина продукта (пар оснований)
GLRaV-3	LR3-CP107F	TCTTAAARTAYGTTAAGGACGG	301
	LR3-CP407R	GGCTCGTTAATAACTTTCGG	
GVB	GVB6448F	ATGGAAAATATATCCCCKGATGG	603
	GVB7050R	GTTAACCACCTATATYTCRACAG	
GFkV	GFkV5209F	GTCCTCGGCCAGTGAAAAAG	348
	GFkV5556R	CAGGTTGTAGTCGGTGTGTC	
GFLV	GFLV3135F	TTGAGATTGGWTCYCGTTTC	558
	GFLV3692R	CTGTCGCCACTAAAAGCATG	
GPGV	GPGV6586F	GAYATGTCGATTCGTCAGGAG	436
	GPGV7021R	CGACTTCTGGTGCCTTATCAC	

явлению симптомов. Отбор происходил в период вегетации 2020 г. на виноградниках Республики Крым, в трёх его зонах (Южнобережная зона, Юго-западная, Центральная степная). Лабораторные исследования по диагностике вирусов проводились в Испытательном лабораторном центре ФГБУ «ВНИИКР».

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовался для обнаружения ДНК-вирусов виноградной лозы [12]. Чтобы обнаружить РНК-вирусы в растении, ПЦР проводился на комплементарной матрице ДНК (кДНК), которая является результатом реакции обратной транскрипции на экстрагированной растительной РНК [13, 14]. ПЦР и ОТ-ПЦР часто используются в исследованиях вирусного генетического разнообразия [15, 16].

Чтобы получить исчерпывающую картину распространения наиболее значимых вирусов на промышленных виноградниках Крыма, сначала отбирали образцы в разных зонах возделывания винограда Крыма, а затем проводили ОТ-ПЦР с последующим гель-электрофорезом. Результаты подтверждали методом секвенирования.

В связи с тем, что вирусы зачастую имеют нескольких штаммов, важно использовать праймеры (табл. 1), которые могут обнаружить все штаммы каждого из целевых вирусов, таких как: GLRaV-3, GPGV, GFLV, GVB, GFkV [8].

Изолирование вирусов из тканей растений осуществляли с помощью разрушающего Grinding буфера, а экстрагирование РНК с помощью СТАВ-буфера по методике «Doyle & Doyle» в модификации Матяшовой и др. [17, 18]. После положительных результатов, полученных на электрофореграммах, проводили очистку продуктов ПЦР набором «Cleanup Standard» (ЗАО «Евроген», Россия) согласно инструкции производителя. Секвенирование проводили по методологии Сэнгера на генетическом анализаторе АВ-3500 («Applied biosystems», США, Япония) согласно модификации Белкина [19].

Обсуждение результатов

Настоящее исследование было нацелено на молекулярную диагностику вирусов винограда. Исходя из проанализированных данных разных источников известно, что из-за вирусных инфекций виноградники могут терять от 20 до 80 % урожая, что может вызвать серьёзный дефицит сырья на рынке и колоссальные убытки в виноградарстве [20, 21]. Исследуемые образцы виноградной лозы проверялись на 5 самых опасных и экономически значимых вирусов, которые могут привести к снижению продуктивности виноградных насаждений: GFLV – *Grapevine fanleaf virus*, GFkV – *Grapevine fleck virus*, GLRaV-3 – *Grapevine leafroll-associated virus 3*, GPGV – *Grapevine Pinot gris virus*, GVB – *Grapevine virus B* (табл. 2).

В табл. 2 представлено уточненное описание визуальных симптомов проявления виروزов на виноградниках, подтвержденное результатами молекулярно-генетических исследований.

В процессе осмотра виноградников выявляли симптомный материал (хлорозы, некрозы, скручивание, мелколистность и др., рис. 1). В случае отсутствия симптомов также производили частичный отбор, так как вирусные инфекции могут присутствовать в латентном состоянии. В общей сложности собрано 153 образца побегов с листьями, в 4 виноградарских районах Крыма. В 30 из них вирозы подтвердились, причем в некоторых образцах было диагностировано по 2 вируса. Исследование проводили методом ОТ-ПЦР с последующим секвенированием.

Результаты гель-электрофореза продуктов ПЦР показали, что на виноградниках Южнобережного (ЮБК), Юго-западного (ЮЗК) и Центрального степного (ЦСК) Крыма присутствуют четыре вирусных инфекции из пяти исследуемых: GLRaV-3, GPGV, GFLV, GFkV. Вирус опробковения коры винограда *Grapevine virus B* (GVB) не был обнаружен ни в одном из 153 образцов.

Вирус скручивания листьев (GLRaV-3) был зафик-

Таблица 2. Основные характеристики вирусов винограда
Table 2. Main characteristics of grape viruses

Вирус	Сокращение	Систематическая позиция	Симптомы
Вирус короткоузлия винограда <i>Grapevine fanleaf virus</i>	GFLV	<i>Secoviridae, Nepovirus</i>	Уменьшенная сила роста, усиленное образование побегов (ветвление), двойные узлы, короткие междоузлия, зигзагообразный рост побегов; листья веерообразные и асимметричные, с сросшимися жилками; также могут присутствовать хлороз и желтая пятнистость листьев; мелкие грозди и ягоды
Вирус опробковения коры винограда <i>Grapevine virus B</i>	GVB	<i>Betaflexiviridae, Vitivirus</i>	Вздутая и пробковая лоза над местом прививки; разный диаметр привоя и подвоя; наросты или бороздчатая кора; листья могут скручиваться; преждевременное покраснение или пожелтение листа
Вирус скручивания листьев винограда, серотип 3 <i>Grapevine leafroll-associated virus 3</i>	GLRaV-3	<i>Closteroviridae, Ampelovirus</i>	У темнокожих сортов листья краснеют, у белых-желтеют или хлоротичные, жилки остаются зелеными, листовые пластинки скручиваются.
Вирус мраморности винограда <i>Grapevine fleck virus</i>	GFkV	<i>Tymoviridae, Maculavirus</i>	Прозрачные жилки, переходящие к пятнистости листьев к концу вегетационного периода; блестящие листья; листья также могут скручиваться вверх
Вирус Пино гри винограда <i>Grapevine Pinot gris virus</i>	GPGV	<i>Betaflexiviridae, Trichovirus</i>	Заболевание листьев пятнистостью и деформация листовой пластинки



Рис. 1. Симптомы вироза с виноградника в Юго-западном Крыму (фото Алейниковой Н.В.)
Fig. 1. Symptoms of virosis in a vineyard of the South-Western Crimea (photo by Aleinikova N.V.)

сирован на виноградниках ЮБК и ЦСК на следующих сортах винограда: Каберне-Совиньон, Мускат белый, Мускат Оттонель. Как видно из результатов электрофореза (рис. 2), в 7 образцах выявили фрагмент искомой длины (301 п.н.о.) согласно авторам праймерной системы [6] вируса скручивания листьев винограда, серотип 3 *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3).

Полученные в результате нуклеотидные последо-

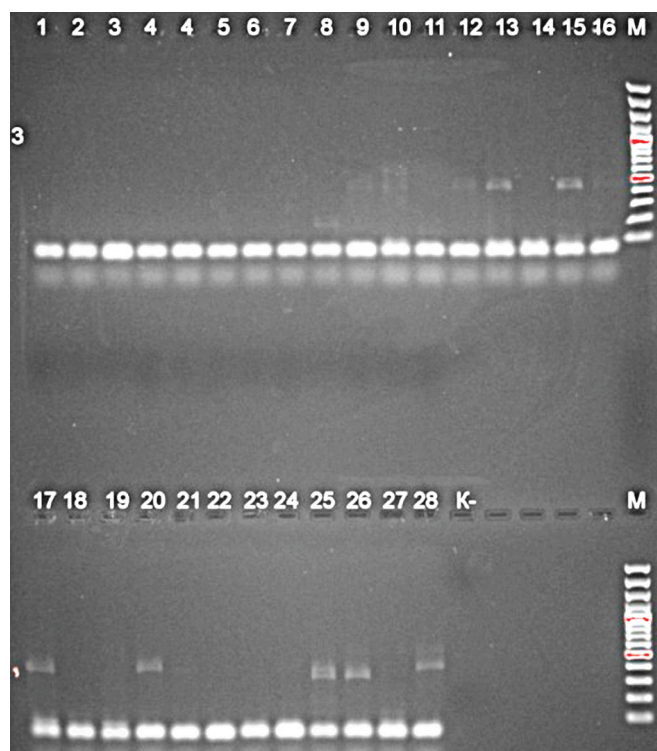


Рис. 2. Электрофореграмма результатов амплификации вируса GLRaV-3: М – маркер молекулярного веса 100-3000 п.о. (фото Ермолова В.Ю.)

Fig. 2. Electrophoregram of the results of GLRaV-3 virus amplification: M - molecular weight marker 100-3000 bp (photo by Yermolov V.Yu.)

вательности имели идентичность с данными NCBI от 96 до 99% [22]. В дальнейшем после тщательной подготовки планируется депонирование расшифрованных последовательностей в международные базы данных. На фотографии отчетливо видны симптомы вирусной инфекции GLRaV-3 – хлорозы межжилковой части листовой пластинки, угнетение лозы и некрозы (рис. 3).



Рис. 3. Куст винограда с симптомами поражения вирусом скручивания листьев винограда, серотип 3, leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3), Южнобережный Крым (фото Ермолова В.Ю.)
Fig. 3. Grape bush with leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3), South Coast of Crimea (photo by Yermolov V.Yu.)



Рис. 4. Симптомы вируса Пино гри Grapevine Pinot gris virus (GPGV), виноградник сорта Пино нуар, Юго-западный Крым (фото Ермолова В.Ю.)
Fig. 4. Symptoms of Grapevine Pinot gris virus (GPGV), 'Pinot noir' vineyard, South-Western Crimea (photo by Yermolov V.Yu.)

Вирус Пино гри *Grapevine Pinot gris virus* (GPGV) был выявлен на виноградниках сорта Каберне-Совиньон в Южнобережной и Центральной степной зонах Крыма. Проявление инфекций отчетливо видно на рис. 4. Основные симптомы – мелколистность и хлоротичность листьев наблюдали во многих точках отбора материала.

При этом такие нарушения развития могут быть связаны с минеральным голоданием и сильной обработкой пестицидами (гербицидами), что подчеркивает необходимость подтверждения симптоматики лабораторными методами диагностики.

Результаты проверки на вирус короткоузлия винограда *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) выявили следующие места заражения и сортовую принадлежность: Каберне-Совиньон в условиях Южнобережной зоны; Бастардо магарачский – Центральной степной. Результаты электрофореза в образцах выявили фрагмент искомой длины (558 п.н.о.) согласно авторам праймерной системы.

Проверка на вирус мраморности винограда *Grapevine fleck virus* (GFkV) показала самое массовое поражение вирусной инфекцией в трех виноградарских зонах сбора образцов (Южнобережной, Центральной степной и Юго-западной) и большее разнообразие в сортовой принадлежности: Каберне-Совиньон, Мускат белый, Мускат Оттонель, Бастардо магарачский, Ркацители.

Следует отметить, что основные очаги заражения вирусами – это старые виноградники, возраст которых составляет 30-40 лет, что говорит о возможном ввозе инфекций вместе с посадочным материалом, не проанализированным в достаточной мере из-за отсутствия методологии и диагностических тестов в России в 80-90-е гг.

Выводы

По результатам анализов методом ПЦР и секвенирования доказано, что на виноградниках Крыма присутствуют четыре вида экономически опасных вирусных инфекций из пяти исследуемых: вирус скручивания листьев винограда, серотип 3 *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3), вирус Пино гри винограда *Grapevine Pinot gris virus* (GPGV), вирус коротко-

узлия винограда *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), вирус мраморности винограда *Grapevine fleck virus* (GFkV).

Определено, что подвержены вирусам основные сорта винограда – Каберне-Совиньон и Мускаты.

Показано, что основные очаги заражения вирусами – это старые виноградники, возраст которых составляет 30-40 лет, что говорит о возможном ввозе инфекций вместе с посадочным материалом, не проанализированным в достаточной мере из-за отсутствия методологии и диагностических тестов в России в 80-90-е гг.

Исследования по выявлению вирусозов на виноградных насаждениях Крыма и диагностика их возбудителей – вирусов – позволят достоверно определить их фитосанитарное состояние. Для принятия решений о фитосанитарном статусе вирусных болезней винограда для территории России и стран Евразийского экономического союза необходимы результаты полевых исследований и диагностика фитопатогенов молекулярно-генетическими методами, представленными в настоящей работе.

Источник финансирования

Не указан.

Financing source

Not specified.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы

1. Национальный доклад «О ходе и результатах реализации в 2017 г. Государственной программы развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2013-2020 годы». М.: ФГБНУ Росинформагротех. 2018:1-191.
2. Лиховской В.В. Методология совершенствования генетического разнообразия и сортамента винограда: моногр. Симферополь: Форма, 2019:1-367.
3. Porotikova E., Terekhova U., Volodin V., Yurchenko E., Vinogradova S. Distribution and Genetic Diversity of Grapevine Viruses in Russia. *Plants*. 2021;10:1080. <https://doi.org/10.3390/plants10061080>.
4. Risovannaya V., Volodin V., Volkov Y., Stranishevskaya E.,

- Goryslavets S. Mixed Infecting of Grapevine with Viruses in the Commercial Vineyards of the Crimean Peninsula. BIO Web Conf. 2020;25:06005. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202506005>.
5. Haidar M., Diglaro M., Khoury W., Savino V. Viruses and virus diseases of grapevine in Lebanon. EPPO Bulletin. 1996;26(1):147-153.
6. Карташѐва И. Сельскохозяйственная фитовирусология: учебное пособие / М.: Колос; Ставрополь: Агрус, 2007:1-168.
7. OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO. Bulletin 2008;38:422-429.
8. Xiao H., Shabanian M., Moore C. Survey for major viruses in commercial *Vitis vinifera* wine grapes in Ontario. Virology Journal. 2018;15:1-127.
9. Жуныко И. Вирусы-возбудители болезней винограда на Юге Украины (диагностика и распространение). Автореферат диссертации кандидата биологических наук: 06.01.11. Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова. Одесса. 2006:1-161.
10. Иванова-Ханина Л.В. Оздоровление посадочного материала винограда от вируса мраморности винограда в культуре *in vitro*. Вопросы современной науки и практики. 2019;1(71):23-30.
11. Поротикова Е., Рисованная В.И., Волков Я.А., Дмитренко Ю., Володин В., Гориславец С.М., Странишевская Е.П., Аграновский А., Камиионская А., Виноградова С. Распространение вирусов скручивания листьев винограда 1 и 3 (grapevine leafroll-associated viruses-1 и -3) на территории Крыма. – Вестник Московского Университета, серия Биология. 2016;16(2):13-16.
12. El Beaino T., Sabanadzovic S., Digiaro M., Ghanem-Sabanadzovic N.A., Rowhani A., Kyriakopoulou P., Martelli G. Molecular detection of Grapevine fleck virus-like viruses. Vitis. 2001;40:65-68.
13. Ruiz-Garcia A., Olmos A. First Report of Grapevine Pinot gris virus in grapevine in Spain. Plant Disease. 2017;101(6):1070-1073.
14. Czotter N., Molnar J., Szabo E., Demian E., Kontra L., Baksa I., Szittyá G., Kocsis L., Deak T., Bisztray G. NGS of virus-derived small RNAs as a diagnostic method used to determine viromes of Hungarian vineyards. Front. Microbiology. 2018;9:122.
15. Gualandri V., Asquini E., Bianchedi P., Covelli L., Brilli M., Malossini U. Identification of herbaceous hosts of the Grapevine Pinot gris virus (GPGV). European Journal of Plant Pathology. 2017;147(1):21-25.
16. Harper S., Ward L., Clover G. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. Phytopathology. 2010;100:1282-1288.
17. Матяшова Г.Н. Сравнение эффективности способов выделения ДНК фитоплазм из растительного материала / Карантин растений: наука и практика. 2016;2(17):25-34.
18. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 1990;12:13-15.
19. Белкин Д., Бондаренко Г., Яремко А., Уварова Д. Метод секвенирования в видовой идентификации карантинных вредных организмов. Карантин: Наука и практика. 2019;3:31-37.
20. Meng B., Martelli G., Golino D., Fuchs M. Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management; Springer: Heidelberg, Germany. 2017:319-340.
21. Al Rwahnih M., Osman F., Sudarshana M., Uyemoto J., Minafra A., Saldarelli P., Martelli G., Rowhani A. Detection of Grapevine leafroll-associated virus 7 using real time qRT-PCR and conventional RT-PCR. J. Virology Methods. 2012;179:383-389.
22. Международная база генетических данных National Center for Biotechnology Information (NCBI). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 21.04.2021).

References

1. National report "On the progress and results of implementation in 2017 of state program for the development of agriculture and regulation of agricultural products, raw materials and food markets for 2013-2020". М.: FGBNU Rosinformagrotech. 2018:1-191 (in Russian).
2. Likhovskoi V.V. Methodology for improving the genetic diversity and assortment of grapes: monograph. Simferopol: Forma. 2019:1-367 (in Russian).
3. Porotikova E., Terekhova U., Volodin V., Yurchenko E., Vinogradova S. Distribution and Genetic Diversity of Grapevine Viruses in Russia. Plants. 2021;10:1080. <https://doi.org/10.3390/plants10061080>.
4. Risovannaya V., Volodin V., Volkov Y., Stranishevskaya E., Goryslavets S. Mixed Infecting of Grapevine with Viruses in the Commercial Vineyards of the Crimean Peninsula. BIO Web Conf. 2020;25:06005. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202506005>.
5. Haidar M., Diglaro M., Khoury W., Savino V. Viruses and virus diseases of grapevine in Lebanon. EPPO Bulletin. 1996;26(1):147-153.
6. Kartasheva I. Agricultural phytovirology: textbook. М.: Kolos; Stavropol: Agrus. 2007:1-168 (in Russian).
7. OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO. Bulletin 2008;38:422-429.
8. Xiao H., Shabanian M., Moore C. Survey for major viruses in commercial *Vitis vinifera* wine grapes in Ontario. Virology Journal. 2018;15:1-127.
9. Zhunko I. Viruses-causative agents of grape diseases in the South of Ukraine (diagnostics and distribution). Autoabstract of the dissertation of the candidate of biological sciences: 06.01.11. Odessa National University named after I.I. Mechnikov. Odessa. 2006:1-161 (in Russian).
10. Ivanova-Khanina L.V. Healing of grape planting material from grape marbling virus in culture *in vitro*. Questions of modern science and practice. 2019;1(71):23-30 (in Russian).
11. Porotikova E., Risovannaya V.I., Volkov Ya.A., Dmitrenko Yu., Volodin V., Goryslavets S.M., Stranishevskaya E.P., Agranovsky A., Kamionskaya A., Vinogradova S. Distribution of grapevine leafroll-associated viruses-1 and -3 in Crimea. Bulletin of Moscow University, Biology series. 2016;16(2):13-16 (in Russian).
12. El Beaino T., Sabanadzovic S., Digiaro M., Ghanem-Sabanadzovic N.A., Rowhani A., Kyriakopoulou P., Martelli G. Molecular detection of Grapevine fleck virus-like viruses. Vitis. 2001;40:65-68.
13. Ruiz-Garcia A., Olmos A. First Report of Grapevine Pinot gris virus in grapevine in Spain. Plant Disease. 2017;101(6):1070-1073.
14. Czotter N., Molnar J., Szabo E., Demian E., Kontra L., Baksa I., Szittyá G., Kocsis L., Deak T., Bisztray G. NGS of virus-derived small RNAs as a diagnostic method used to determine viromes of Hungarian vineyards. Front. Microbiology. 2018;9:122.
15. Gualandri V., Asquini E., Bianchedi P., Covelli L., Brilli M., Malossini U. Identification of herbaceous hosts of the Grapevine Pinot gris virus (GPGV). European Journal of Plant Pathology. 2017;147(1):21-25.
16. Harper S., Ward L., Clover G. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. Phytopathology. 2010;100:1282-1288.

17. Matyashova G.N. Comparison of the effectiveness of methods for isolating phytoplasma DNA from plant material. *Plant Quarantine: Science and Practice*. 2016;2(17):25-34 (*in Russian*).
18. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 1990;12:13-15.
19. Belkin D., Bondarenko G., Yaremko A., Uvarova D. Sequencing method in species identification of quarantine pests. *Quarantine: Science and practice*. 2019;3:31-37 (*in Russian*).
20. Meng B., Martelli G., Golino D., Fuchs M. *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*; Springer: Heidelberg, Germany. 2017:319-340.
21. Al Rwahnih M., Osman F., Sudarshana M., Uyemoto J., Minafra A., Saldarelli P., Martelli G., Rowhani A. Detection of Grapevine leafroll-associated virus 7 using real time qRT-PCR and conventional RT-PCR. *J. Virology Methods*. 2012;179:383-389.
22. International database of genetic data. National Center for Biotechnology Information (NCBI). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed on 21.04.2021).

Информация об авторах

Галина Николаевна Бондаренко, канд. биол. наук, начальник испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР»; старший преподаватель АТИ ФГАОУ ВО «РУДН»; e-мэйл: reseachergm@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3826-1009>;

Владислав Юрьевич Ермолов, выпускник АТИ ФГАОУ ВО «РУДН» по направлению «Интегрированная защита растений»; e-мэйл: hunter25-05@yandex.ru;

Наталья Васильевна Алейникова, д-р с.-х. наук, заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории защиты растений ФГБУН «ВНИИ-ВиВ «Магарач» РАН»; научный сотрудник научно-методического отдела Южного филиала ФГБУ «ВНИИКР»; e-мэйл: aleynikova@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1167-6076>;

Ольга Николаевна Корнилаева, зав. лабораторией вирусологии ФГБУ «ВНИИКР»; e-mail: morozova-510@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1276-6997>.

Information about authors

Galina N. Bondarenko, Cand. Biol. Sci., Head of the Testing Laboratory Center of FSBI VNIKCR; Assistant Professor of ATI FSAEI HE RUDN; e-mail: reseachergm@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3826-1009>;

Vladislav Yu. Yermolov, "Integrated Plant Protection" Graduate at ATI FSAEI HE RUDN; e-mail: hunter25-05@yandex.ru;

Natalia V. Aleinikova, Dr. Agric. Sci., Deputy Director for Science, Chief Staff Scientist, Laboratory of Plant Protection of the FSBSI Institute Magarach of the RAS; Staff Scientist of the Scientific and Methodological Department of the Southern Branch of FSBI VNIKCR; e-mail: aleynikova@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1167-6076>;

Olga N. Kornilaeva, Head of the Laboratory of Virology, FSBI VNIKCR; e-mail: morozova-510@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1276-6997>.

Статья поступила в редакцию 21.02.2022, одобрена после рецензии 09.03.2022, принята к публикации 10.03.2022