

ВИРОИДЫ, ИХ ПРИЗНАКИ И ВРЕДНОСТЬ

А.А. Колонцов, Московский областной педагогический институт,
В.Г. Заец, Российский университет дружбы народов

Вироиды — инфекционные агенты, представляющие собой низкомолекулярную одноцепочечную кольцевую РНК, не кодирующую собственные белки. Вызывают болезни растений. Механизм репликации виридов окончательно не выяснен. Предполагается, что вириды в клетках растений индуцируют синтез виридных РНК, используя ферменты растений-хозяев.

Первый вириод — веретеновидности клубней картофеля — был открыт в 1967 г. [7]*. Результаты первых исследований виридов обобщены в обзоре К.А. Можяевой и Т.Я. Васильевой [5]. Сведения о структуре, молекулярной биологии виридов и вызываемых ими инфекциях рассмотрены в обзоре В.В. Макарова и соавторов [4].

Вироиды от хозяина к хозяину обычно передаются при вегетативном размножении, а также механически. Некоторые виды распространяются через семена и пыльцу. Только для вирида «планто мачо» томата обнаружена передача с помощью насекомых-переносчиков, а именно тлей.

Любопытный пример роли социальных факторов в механическом способе передачи описан для вирида болезни каданг-каданг, поражающего кокосовые пальмы на Филиппинах. На острове Лусон [15] эта болезнь инфицировала растения только у владельцев, говорящих на бикольском языке, тогда как урожай у владельцев, говорящих на языке тагалог (тагалском), не страдал от нее. Оказалось, что инфекция распространяется рабочими, срезающими плоды с пальм. Владельцы предпочитали нанимать рабочих, говорящих на одном с ними языке, а рабочие, говорящие на бикольском языке, приезжали из тех областей, где как раз и распространена данная болезнь пальм.

Вироиды иногда рассматривают в качестве представителей гипотетического добиотического «мира РНК», неких эволюционных реликтов [13]. Более вероятно, что вириды происходят от вырезанных и подвергшихся замыканию в кольцо интронов или подвижных генетических элементов — транспозонов, утративших внутренние кодирующие области [2]. Очевидно, новые вириды могут образовываться при рекомбинации РНК. Так, австралийский вириод винограда содержит мозаику нуклеотидных последовательностей других виридов, в частности экзокортиса цитрусовых, веретеновидности клубней картофеля, зеленой морщинистости плодов яблони [11]. Вироид колеуса Блюме-2 образован слиянием правой части вирида колеуса Блюме-1 и левой части вирида колеуса Блюме-3 [10].

В отличие от вирусов, вириды лишены капсида. Вироидные РНК — кольцевые одноцепочечные структуры с большим количеством спаренных оснований. Они самостоятельно реплицируются в клетках хозяев, присутствие вируса-помощника не требуется. Репликация полностью осуществляется клеточными ферментами. Каким образом вириды используют для своего воспроизведения клеточные РНК-полимеразы, которым в обычных условиях в качестве матрицы необходима ДНК, остается непонятным. Вироиды не кодируют каких-либо белков, в т.ч. и специфических ферментов репликации, и не функционируют в качестве информационных РНК.

Возникает вопрос, каким образом инфекция приводит к развитию признаков болезней без участия специфических белков. Один из механизмов патогенеза может заключаться в репрессии физиологически важных генов хозяина за счет сайленсинга РНК, управляемого так называемыми малыми интерферирующими РНК (siРНК) [14]. В роли siРНК выступают двуцепочечные и шпилечные фраг-

менты виридов. Они связываются с комплементарными участками РНК хозяина и рибонуклеазой. Образовавшийся комплекс вызывает деградацию РНК хозяина. Другая модель исходит из того, что вириды вызывают *de novo* интенсивное метилирование цитозина гомологичных участков ядерной ДНК [12]. Это приводит к транскрипционному сайленсингу (репрессии транскрипции генов хозяина). Механизм патогенеза также связывают с активацией виридными РНК клеточных протеинкиназ, активируемых РНК (ПКР), что приводит к ингибированию синтеза белка и развитию патогенетических эффектов. В частности, для вирида веретеновидности клубней картофеля наблюдается корреляция между патогенностью штамма и его способностью активировать ПКР *in vitro* [16].

У представителей *Pospiviroidae* кольцевая РНК имеет форму палочки длиной около 50 нм. Вторичная структура *in vitro* образована короткими двуцепочечными участками, разделенными небольшими одноцепочечными петлями. Такая организация РНК позволяет условно различать верхнюю и нижнюю цепи. Вторичная структура денатурирует в одноцепочечное кольцо длиной около 100 нм, причем температура плавления в 10 мМ растворе Na⁺ составляет приблизительно 50°. В молекуле РНК выделяют 5 структурных доменов — центральный, патогенный, переменный, терминальный левый и терминальный правый. В центральном домене присутствует центральная консервативная область. Она образована двумя консервативными последовательностями нуклеотидов, располагающихся соответственно на верхней и нижней цепях. Консервативная последовательность на верхней цепи фланкирована инвертированными повторами. Две другие консервативные последовательности составляют терминальную консервативную область и терминальную консервативную шпильку. Первая из них обнаружена у всех представителей родов *Pospiviroid* и *Apscaviroid*, а также у двух самых крупных представителей рода *Coleviroid*. Терминальная консервативная шпилька присутствует у всех видов родов *Hostuviroid* и *Cocadviroid*.

Репликация осуществляется в ядрах и ядрышках. Синтез РНК происходит по асимметричному механизму катящегося кольца. Кольцевая РНК служит матрицей для длинной линейной мультимерной (–) цепи. Синтез ведется РНК-полимеразой II. Затем на этой длинной молекуле синтезируется (+) цепь, которая расщепляется на фрагменты, соответствующие размерам вирида. Эти фрагменты сшиваются лигазой, что приводит к образованию кольцевых виридных молекул.

У представителей семейства *Avsunviroidae* репликация происходит по симметричному механизму катящегося кольца. Синтезированная РНК-полимеразой хлоропластов длинная (–) цепь РНК саморасщепляется благодаря наличию рибозимной активности. Расщепленные фрагменты замыкаются в (–) кольца. Второй цикл катящегося кольца приводит к образованию длинных линейных (+) цепей. Они в свою очередь саморасщепляются. Короткие фрагменты лигируются, давая кольцевые молекулы.

Ниже приведены характеристики наиболее хорошо изученных виридов [10, 17].

Вироид карликовости хризантем. Болезнь впервые зарегистрирована в 1945 г. в США, а соответствующий вириод идентифицирован в 1973 г. Сначала он получил название *Chrysanthemum stunt virus* (вирус карликовости хризантем) и *American stunt virus* (американский вирус карликовости). Передается механически и при вегетативном размножении. Обнаружен у хризантем (*Dendranthema x*

grandiflorum Kitam) по всему миру. Симптомы болезни очень изменчивы, зависят как от сорта растения, так и от условий среды, особенно от температуры и освещенности. Основным признаком — задержка роста, причем уменьшение длины стебля у зрелого растения составляет 30—50% от средних значений. У инфицированных растений наблюдают уменьшение размеров цветков и более раннее цветение. У сортов с красной, розовой и красновато-коричневой окраской цветков понижается интенсивность цвета («обесцвечивание»). При смешанной инфекции с вирусом хризантем развивается морщинистость листьев, сопровождающаяся появлением белых штрихов или крапинок. У многих сортов хризантем до 30% инфицированных растений остаются бессимптомными. В естественных условиях вириод способен заражать *Argyranthemum (Chrysanthemum) frutescens* и *Petunia hybrida Surfinia*. Экспериментально можно инфицировать большое число видов семейства *Compositae*. Все проанализированные изоляты вириода сходны по нуклеотидным последовательностям более чем на 94%. Вириод сохраняет инфекционную активность в соке хризантем при нагревании до 95—98°C в течение 10 мин., 2—3 мес. при 18°C и по крайней мере 5 лет при 2°C. Обнаружен как в листьях, так и в стеблях зараженных растений. Единственная эффективная мера борьбы с болезнью — использование здорового посадочного материала. Техника меристемной культуры с последующей термообработкой не позволяет избавиться от вириода в зараженных образцах.

Вириод экзокортиса цитрусовых. Болезнь описана в 1948 г. Вириод легко передается механически. Инфицирует многие виды семейства *Rutaceae*, а также некоторые виды семейств *Solanaceae* (*Solanum tuberosum*, *Lycopersicon esculentum*, *Petunia hybrida*) и *Compositae* (*Gynura aurantiaca*, *G. sarmentosa*). Болезнь присутствует в большинстве регионов, где выращивают цитрусовые, распространена в Южной Америке (особенно в Бразилии и Аргентине), Австралии и Средиземноморье (особенно в Испании). В США и Южной Африке имеет ограниченное распространение. Коммерческие плантации Японии свободны от инфекции. У цитрусовых вириод вызывает расщепление, шелушение и отслаивание коры чувствительного подвоя, отсюда и название «экзокортис» (*exo* — вне, снаружи, *cortis* — применительно к коре). Деревья на чувствительном подвое отстают в росте и плохо плодоносят. Полевые изоляты различаются по тяжести вызываемых ими симптомов. Слабые штаммы локализируются в листьях и вызывают задержку роста растений, сильные — повреждают кору. Точка термической инактивации (ТТИ, 10 мин.) в соке *G. aurantiaca* составляет 90—100°C. Вириод выделен из всех частей растения, включая корни и плоды. Участки меристемной активности, в частности верхушки побегов, содержат высокие концентрации вириодной РНК.

Вириод веретеновидности клубней картофеля. Болезнь описана в 1922 г., ее возбудитель — первый из обнаруженных вириодов — в 1967 г. Был известен под названием «готический» вирус картофеля (*Potato «Gothic» virus*), в России — «готик» картофеля. Естественный диапазон хозяев ограничен в основном семейством *Solanaceae*. Распространен на севере и северо-востоке США и Канады, в Китае, Южной Америке, встречается на территории бывшего СССР и в Южной Африке. Передается при контакте листьев с сельскохозяйственным оборудованием, возможна передача через семена и пыльцу. С вирионами вируса скручивания листьев картофеля может распространяться тлями. У пораженных растений листья вытянутые, жесткие, желтоватые, часто морщинистые. Клубни образуются позже, они более мелкого размера, вытянутые, с увеличенным количеством глазков и более резкими «бровями» глазков. В зависимости от условий возделывания и сорта урожайность картофеля, зараженно-

го вириодом, снижается на 30—90%. Основываясь на симптомах инфицированного томата, различают типичный штамм, штамм некрапчатой курчавой карликовости и слабые штаммы. ТТИ (10 мин.) в соке листьев картофеля в присутствии 0,2 М NaCl составляет 75—80°C. Вириод обнаружен во всех частях инфицированных растений, но его максимальные концентрации присутствуют в молодых, активно растущих тканях.

Вириод карликовости хмеля. Болезнь впервые описана в 1970 г., соответствующий возбудитель — в 1977 г. Вириод инфицирует очень широкий круг хозяев и распространен по всему миру. Близкородственные формы вириода, выделенные из хмеля, винограда («вириод винограда») и огурца («вириод побледнения плодов огурца») рассматриваются в качестве отдельных штаммов. Болезнь у хмеля (*Humulus lupulus*) характеризуется развитием карликовости, укорачиванием междоузлий главного и боковых побегов, пожелтением и курчавостью верхних листьев. Шишки хмеля у больных растений меньше по размеру, чем у здоровых, а их число снижено. Это приводит к потерям урожая, достигающим 50%. Содержание а-кислот в горьких веществах шишек снижено на 50—66%. Штамм из огурца вызывает побледнение плодов, морщинистость цветков, морщинистость и хлороз листьев огурца, возделываемого в теплицах. Болезнь в этом случае распространяется медленно, и число инфицированных растений обычно не превышает 0,1%. Штамм из хмеля передается механически. Вириод не инактивируется в соке огурца при прогревании в течение 10 мин. при 84°C или при хранении в течение 3 дн. при 4°C. Бритвенные лезвия, контаминированные растворимой в LiCl фракцией сока хмеля, полностью не дезинфицируются после нагревания при 140°C в течение 10 мин.

Вириод болезни каданг-каданг кокосовых пальм. Болезнь впервые описана в 1937 г., вириод — в 1975 г. Каданг-каданг встречается на Филиппинах. Растения-хозяева вириода ограничены семейством *Palmae*. Способ естественной передачи неизвестен, хотя возможна передача с семенами (в среднем 1 инфицированное семя из 320). Болезнь летальна для кокосовых пальм (*Cocos nucifera*). Сначала листья у пальмы становятся водянистыми (просвечивающимися), орехи — более мелкими и округлой формы с характерной экваториальной насечкой. Затем вайи нижних двух третей кроны приобретают желтовато-бронзовую окраску, на некоторых листьях развивается хлоротическая пятнистость, плодоношение постепенно прекращается, крона сбрасывается и наступает гибель через 8—16 лет после появления первых симптомов. Сходная болезнь — тинагайга — вызывает уменьшение и удлинение орехов, при этом они лишаются ядра («мумифицируются»). У естественно инфицированной масличной пальмы (*Elaeis guineensis*) наблюдается прогрессивное нарастание симптомов от общего хлороза молодых побегов с листьями до появления прозрачных оранжевых пятен на листьях и прекращения цветения. Вириод болезни каданг-каданг необычен в том смысле, что его РНК представлена образцами разных размеров, причем более крупные из них содержат повторяющиеся последовательности более мелких. По мере развития болезни мелкие формы замещаются более крупными. Вириод обнаружен в цветках, меристеме, вайях различного возраста и корнях.

Вириод зеленой морщинистости плодов яблони. Болезнь описана в 1938 г. как «*Manshu ringo sabi-ka byo*» (болезнь плодов маньчжурской яблони). Соответствующий вириод охарактеризован в 1983 г., был известен под названиями *Dapple apple virus* (вирус пестричности яблони) и *Apple «sabi-ka» virus* (вирус «саби-ка» яблони). Распространен по всему миру, причиняет большой экономический ущерб в Китае и Японии. Поражает представитель семейства *Rosaceae*. Вызывает тяжелое рубцевание или растрескивание поверхности яблок (*Malus sylvestris*).

Урожай теряет коммерческую ценность. У груш (*Pyrus brefschneideri*, *P. serotina*, *P. ussuriensis* и *P. communis*) наблюдается бессимптомная инфекция. Передается через прививку и окулировку. Вирус обнаружен в коре инфицированных яблонь и кожице плодов, концентрация в листьях низкая. Сходные симптомы болезни вызывает вирус морщинистости плодов яблони.

Вирус пузырчатого рака груши. Болезни, приводящие к дефектам коры чувствительных сортов груши, описаны в Европе и США в 1960-е гг. Вирусная природа их возбудителя подтверждена в 1995 г. Вирус передается через прививку и механически. У большинства сортов груши (*Pyrus communis*) инфекция протекает бессимптомно. Индикатором вируса служит клон A20 *P. communis*. Симптомы проявляются только на коре, обычно на второй год после заражения, в форме пустул («подушечек») или неглубоких трещин эпидермиса. Со временем развиваются рассеянные вздутия, отслоение коры или возникают глубокие трещины в коре. Растения погибают в течение 5—8 лет. Патологические изменения не затрагивают листья и плоды. Помимо груши естественным хозяином вируса является айва (*Cydonia oblonga*). Единственный метод борьбы с болезнью состоит в использовании здорового посадочного материала.

Вирус солнечного ожога авокадо. Болезнь впервые описана в 1931 г., вирус обнаружен в 1979 г. Естественным хозяином является только авокадо (*Persea americana*). Механически передается от растения к растению с трудом. У бессимптомных растений передается с семенами в 80—100% случаев, при этом потомство также остается бессимптомным. У растений с признаками инфекции частота передачи с семенами составляет около 5%, у потомства развиваются симптомы болезни. Экспериментальной инфекции подвержены другие представители семейства Lauraceae. Выявлен в США, Австралии, Израиле, Испании, Южной Африке, Южной Америке. Вирус вызывает образование желтых или красных штрихов на плоде авокадо, что приводит к потере ими товарного вида. На стеблях и черешках листьев появляются желтые, оранжевые или белые штрихи или пятна. Листья приобретают пеструю окраску и деформируются. Вирус можно выделить из листьев, черешков и стеблей. Он по сравнению с другими вирусами, в которых преобладают

дают гуанин и цитозин (53—60%), отличается большим содержанием аденина и урацила (62%).

Вирус латентной мозаики персика. Болезнь впервые описана в 1976 г., соответствующий возбудитель установлен в 1988 г. Передается с посадочным материалом и механически. Область распространения включает США, Японию, Китай, Средиземноморье (Франция, Испания, Италия, Греция, Алжир, Марокко). Поражает персик (*Prunus persica*) и его гибриды (миндаль × персик, слива × персик и т.д.). Обычно очевидные симптомы на листьях не проявляются, хотя очень редко наблюдается кремово-желтая, белая или хлоротичная мозаика. Первые признаки болезни появляются через 2 года после посадки. Они заключаются в задержке на 4—6 дн. разворачивания листьев, цветения и созревания плодов. Плоды неправильной формы, уплотненные, бледноокрашенные с морщинистой структурой и разросшейся косточкой. На розово-белых лепестках могут появляться розовые прерывистые линии. Почка некротизируется. Дерево быстро стареет. Вирус можно выделить из листьев, плодов, стеблей и корней как бессимптомно инфицированных растений, так и деревьев с признаками болезни. В отличие от других вирусов, вирус латентной мозаики персика (как и другой вирус рода *Pelamovirus* — вирус хлоротической крапчатости хризантем) нерастворим в растворе 2M LiCl. Основным методом борьбы с болезнью — использование здорового посадочного материала.

Рассмотренные вирусы обладают неодинаковой экономической значимостью и опасностью для сельского хозяйства. Так, вирус болезни каданг-каданг вызвал в течение последних 50 лет гибель миллионов кокосовых пальм на Филиппинах. Вирус задержки роста хризантем нанес существенный урон промышленному разведению хризантем в США в начале 1950-х гг. Вирус веретеновидности клубней картофеля входит в перечень вредителей, возбудителей болезней растений и сорняков, имеющих карантинное значение во многих странах, например, Аргентине, Бразилии, Иране. Его статус в стандарте Европейской экономической комиссии ООН имеет нулевой допуск. Что касается перечня карантинных организмов, незарегистрированных на территории Российской Федерации, то он включает единственный вирус — вирус латентной мозаики персика. XV

Литература

1. Вредные организмы, имеющие карантинное значение для Европы: Информ. данные по карантин. вред. организмам для Европ. Союза и Европ. и Средиземномор. орг. по защите растений (ЕОЗР). — М.: Колос. 1996. — 912 с.
2. Жданов В.М. — Эволюция вирусов. — М.: Медицина.1990. — 376 с.
3. Келдыш М.А., Помазков Ю.И. — Вирусы, вириды и микоплазмы растений. — М.: Изд-во РУДН. 2003. — 156 с.
4. Макаров В.В., Помазков Ю.И., Панин А.Н., Бучацкий Л.П. — Неканонические патогены: вириды и трансмиссивные генетические детерминанты патогенности. // Вестн. рос. акад. с.-х. наук. — 1999. №6. — С.24—28.
5. Можяева К.А., Васильева Т.Я. — Виридные болезни растений. — М. 1985. — 60 с.
6. Bussiere F., Lehoux J., Thompson D. A., Skrzeczkowski L. J., Perreault J.-P. — Subcellular localization and rolling circle replication of peach latent mosaic viroid: hallmarks of group a viroids. // J. of Virol., 1999, v. 73, №8, p. 6353—6360.
7. Diener, T. O. — Potato spindle tuber “virus” TV. A replicating low molecular weight RNA. // Virology, 1971, v. 45, №2, p.411—428.
8. Fadda Z., Daròs J. A., Fagoaga C., Flores R., Duran-Vila N. — Eggplant Latent Viroid, the Candidate Type Species for a New Genus within the Family *Avsunviroidae* (Hammerhead Viroids). // J. of Virol., 2003, v. 77, №11, p. 6528—6532.
9. Murphy F.A., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Ghabrial S.A., Jarvis A.W., Martelli G.P., Mayo M.A., Summers M.D. — Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. // Arch. Virol., 1995, Suppl. 10, 586 p.
10. Regenmortel M.H.V. van, Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D.J., Pringle C.R., Wickner R.B. — Virus taxonomy. Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses, Academic press, 2000, 1162 p.
11. Rezaian M.A. — Australian grapevine viroid—evidence for extensive recombination between viroids. // Nucl. Acids Res., 1990, v.18, № 7, p. 1813—1818.
12. Sanger, H. L., Schiebel, L., Riedel, T., Pelissier, T., Wassenegger, M. // In *Biology of Plant-Microbe Interactions*, eds. Stacey, G. Mullin, B. & Gresshoff, P. M. (Int. Soc. for Molecular Plant-Microbe Interactions, St. Paul), 1996, p. 533—540.
13. Tabler M, Tsagris M. — Viroids: petite RNA pathogens with distinguished talents.// Trends Plant Sci., 2004, 9: 339—348.
14. Wang M.-B., Bian X.-Y. , Wu L.-M., Liu L.-X, Smith N. A., Isenegger D., Wu R.-M., Masuta C., Vance V. B. , Watson J. M., Rezaian A. , Dennis E. S., Waterhouse P. M. — On the role of RNA silencing in the pathogenicity and evolution of viroids and viral satellites.// Proc. Natl Acad. Sci. USA , 2004, v.101, №9, p.3275-3280.
15. Baez J. Subcellular lifeforms. // <http://math.ucr.edu/home/baez/subcellular.html#Viroids>
16. Wickner R. Viroids and Virusoids. — Just as nucleic acids can carry out enzymatic reactions, proteins can be genes. // <http://www-micro.msb.le.ac.uk/3035/Viroids.html>
17. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTDbB>