

ОДЕРЖАННЯ ВІЛЬНОГО ВІД ВІРУСІВ підщепного і прищепного матеріалу груші

Проведено тестування клонових підщеп та сортозразків груші на наявність ВХПЛЯ (вірус хлоротичної плямистості листків яблуні) та ВЯДЯ (вірус ямкуватості деревини яблуні) методом ІФА. Підтверджено відсутність ураження латентними вірусами клонових підщеп груші ВА-29, ІС 2-10, ІС 4-6, ІС 4-12 в маточнику. Окремі куці клонових підщеп ВА-29 та ІС 4-12 уражені ВХПЛЯ.

груша, вірусні хвороби, діагностичне тестування, імуноферментний аналіз

Груша є однією з важливих плодівих культур в Україні. За площею насаджень вона посідає четверте місце після яблуні, сливи, вишні. Плоди груші відрізняються високими смаковими та дієтичними якостями. Вітчизняні селекціонери створили відмінні сорти груші, які можуть успішно конкурувати з кращими зразками світової селекції. Ряд нових сортів здатні навіть в умовах досить помірного тепла Західного Лісостепу та Полісся формувати високотоварні плоди. Деякі сорти української селекції надзвичайно скороплідні та добре пристосовані до сучасних інтенсивних технологій, особливо за використання в якості підщеп нових відбірних форм айви черняхівської селекції Інституту садівництва УААН — ІС 2-10, ІС 4-6, ІС 4-12, що відрізняються досить високою морозостійкістю.

Одним з факторів, що стримує виробництво плодів груші, є її схильність до ураження багатьма, як добре вивченими та ідентифікованими, так і деякими ще недостатньо дослідженими патогенами вірусної та мікоплазмової природи [1]. Проведені нами у попередні роки дослідження свідчать про те, що значна частина промислових сортів та підщеп груші, зареєстрованих в Україні, уражені латентними вірусами хлоротичної плямистості листків яблуні (apple chlorotic leafspot virus — ACLSV) та ямкуватості деревини яблуні (apple stem pitting virus — ASPV). Ці віруси ви-

Н.В. СКРИПНИК,
кандидат біологічних наук
Інститут захисту рослин НААН

П.Є. БОНДАРЕНКО,
кандидат біологічних наук

Н.П. ЧЕРНЕГА,
науковий співробітник
ПНДП “Центр безвірусної
сільськогосподарської продукції”

кликають на груші кільцеподібну мозаїку [2], пожовтіння жилки [3], червону плямистість та кам'янисту ямкуватість плодів [4, 5].

Значне поширення вірусних хвороб не дає змоги повністю використовувати потенційні можливості продуктивності сортів та підщеп груші. Хронічний характер вірусних хвороб та спричинювані ними недобір і погіршення якості плодів зумовлюють необхідність розробки ефективних профілактичних заходів.

Мета досліджень — розробка і впровадження системи заходів щодо відбору високопродуктивних маточних рослин, діагностична перевірка виділених рослин із застосуванням сучасних методів діагностики вірусної інфекції.

Матеріали та методи досліджень. Для досліджень щодо відбору безвірусних клонів використано основні, а також інтродуковані сорти груші та підщепи, які включені в реєстр сортів України. За візуального огляду зразки з явними симптомами ураження вірусною інфекцією відбирали для аналізу. Діагностичне тестування виділених куців та дерев провадили методом імуноферментного аналізу (ІФА) та з використанням біопроб на чутливих деревних рослинах-індикаторах.

Результати досліджень. Навесні в маточних та колекційних насадженнях клонових підщеп ПНДП “Центр безвірусної сільськогосподарської продукції” та фермерського господарства “Супереліта” були відібрані високопродуктивні маточні куці 4-х клонових підщеп груші по

5 куців кожного типу. Маточник заклали тестованим на віруси садивним матеріалом по підщепах: ІС 4-6, ІС 2-10, ІС 4-12 і нетестованим матеріалом ВА-29.

Зрізані верхні частини пагонів вищезгаданих зразків використали для діагностичної перевірки методом ІФА, так званим “камбiальним тестом”. Одержані результати показали відсутність ураження латентними вірусами всіх чотирьох підщеп (табл. 1). Окремі куці підщеп ВА-29 та ІС 4-12 були уражені вірусом хлоротичної плямистості листків яблуні (ВХПЛЯ).

Остаточний висновок про відсутність ураження латентними вірусами можна зробити тільки за результатами основної діагностичної перевірки на міжнародних деревних рослинах-індикаторах. З метою діагностування латентної вірусної ін-

1. Результати тестування клонових підщеп груші методом ІФА

Підщеп	Зразок (куц)	Результати тестування	
		ВХПЛЯ	ВЯДЯ
ВА-29	1	++	--
	2	++	--
	3	--	--
	4	--	--
	5	--	--
ІС 2-10	1	--	--
	2	--	--
	3	--	--
	4	--	--
	5	--	--
ІС 4-6	1	--	--
	2	--	--
	3	--	--
	4	--	--
	5	--	--
ІС 4-12	1	--	--
	2	--	--
	3	++	--
	4	++	--
	5	--	--

Примітка: -- відсутність ураження зразка вірусом;
++ ураження зразка вірусом

фекції методом біопроб на відділені з досліджуваних кущів відсадки було проведено щеплення індикаторних видів: *Virginia crab*, *Pyronia veitchii*, Бере Гарді та Бере Боск.

Дослідні рослини висадили у відкритий ґрунт, за ними спостерігали та провадили обліки появи симптомів згідно з міжнародними методиками.

Симптоми ураження ВХПЛЯ були на індикаторі Бере Гарді — 2 зразки підщепи ВА-29 та 2 зразки підщепи ІС 4-12.

Облік симптомів вірусу ямкуватості деревини яблуні (ВЯДЯ) на деревині індикатора *Virginia crab* та *Pyronia veitchii* здійснювали восени шляхом зняття кори у місці щеплення і зростання індикаторів з підщепами-зразками.

Ураження ВХПЛЯ підтверджено тестуванням щеплених на відсадки з досліджуваних кущів деревних індикаторних видів.

Візуальними обстеженнями виробничих насаджень виявили симптоми кільцеподібної мозаїки листків груші на окремих деревах сорту Бере Гарді. Симптоми на листках у вигляді світло-зелених кілець та смуг варіюють залежно від сортів та погодних умов. В окремі роки зеленуваті кільця можуть з'являтися також на плодах. Збудником кільцеподібної мозаїки є ВХПЛЯ.

Найпоширенішою вірусною хворобою груші вважається пожовтіння жилок (утворюються слабо помітні жовті зони біля мілких листкових жилок). Зазвичай уражуються тільки невеликі ділянки жилок. На багатьох сортах вірус знаходиться в латентному стані і не проявляється, що є однією з причин значного поширення хвороби через використання живцевого матеріалу з уражених дерев. Якщо вірус присутній у комплексі з іншим вірусом або мікоплазмою, то зниження росту дерев може перевищувати 50%. Червона плямистість є проявом того ж вірусу. Інтенсивність забарвлення варіює залежно від погодних умов, сорту та штаму вірусу.

Ознаки надзвичайно небезпечної хвороби — кам'янистої ямкуватості плодів — виявлені на сорті Бере Боск. За попередніми оцінками, кількість уражених дерев становить до 25%. Перші симптоми ураження з'являються на зав'язі через 10—20 днів після опадання пелюсток квітів у вигляді темно-зелених зон. Ріст клітин в цих зонах припиняється і

плоди стають ямкуватими та деформованими. Тканина у основі ямок некротизується і стає твердою. Інтенсивність прояву симптомів варіює від сезону до сезону і навіть між плодами на одному дереві. Деякі плоди можуть бути дуже дрібними і повністю деформованими, інші можуть мати одиничні ямки. Частина плодів може бути нормальними. На деяких деревах симптоми проявляються тільки на одній гілці або з одного боку дерева. На деяких сортах, толерантних до хвороби, або за ураження слабкими штамами симптоми захворювання відсутні.

Проведеними в останні роки дослідженнями доведено, що пожовтіння жилок, червона плямистість листків та кам'яниста ямкуватість плодів груші викликаються одним і тим же вірусом ямкуватості деревини яблуні [6—9].

Метод візуального обстеження дає змогу достовірно виявити лише незначну частину вірусних та мікоплазмових захворювань плодів культур. Для більшості з них властивий латентний стан або маскування симптомів, що примушує проводити діагностичну перевірку на можливе латентне вірусносіяство.

Успішність впровадження системи одержання вільного від вірусів садивного матеріалу в значній мірі визначається можливостями методів діагностування вірусів під час перевірки вихідного маточно-живцевого дерева чи маточного куща.

Метод ІФА дає змогу діагностувати лише віруси, що передаються через сік. За використання імуноферментного аналізу можуть виникати труднощі, пов'язані з штамовими відмінностями [10]. Тому в системі одержання безвірусного садивного матеріалу залишається також індикаторний метод, який характеризується високим ступенем достовірності, простотою проведення, не потребує дорогого обладнання та прийнятний для масового практичного застосування.

У дослідженнях по діагностуванню латентної вірусної інфекції методом подвійного зимового щеплення (сіянець — зразок — індикатор) симптоми ураження ВХПЛЯ спостерігали у сортозразках Бере Боск, Кюре, Улюблена Клаппа, Лимонка та по одному в сортів Стрийська і Вижниця.

Результати тестування сортозразків груші методом ІФА (табл. 2) дають можливість зробити попередні

висновки про відсутність вірусної інфекції в досліджуваних зразках сортів: Бере Жиффар, Бере Київська, Вижниця, Етюд, Золотоворітська, Конференція, Лимонка, Ноябрьська, Стрийська.

ВХПЛЯ заражені всі досліджувані зразки сортів Бере Боск, Кюре, Улюблена Клаппа та по одному зразку сортів Вижниця та Стрийська, 2 зразки сорту Лимонка. ВЯДЯ заражені 3 зразки сорту Бере Боск.

2. Результати тестування сортозразків груші методом ІФА

№	Назва сорту	Сорто-зразок	Результати тестування	
			ВХПЛЯ	ВЯДЯ
1.	Бере Боск	1	++	++
		2	++	++
		3	++	++
2.	Бере Жиффар	1	--	--
		2	--	--
		3	--	--
3.	Бере Київська	1	--	--
		2	--	--
		3	--	--
4.	Вижниця	1	++	--
		2	--	--
		3	--	--
5.	Етюд	1	--	--
		2	--	--
		3	--	--
6.	Золотоворітська	1	--	--
		2	--	--
		3	--	--
7.	Конференція	1	--	--
		2	--	--
		3	--	--
8.	Кюре	1	++	--
		2	++	--
		3	++	--
9.	Лимонка	1	++	--
		2	++	--
		3	--	--
10.	Ноябрьська	1	--	--
		2	--	--
		3	--	--
11.	Стрийська	1	--	--
		2	--	--
		3	++	--
12.	Улюблена Клаппа	1	++	--
		2	++	--
		3	++	--

Примітка: -- відсутність ураження зразка вірусом; ++ ураження зразка вірусом

ВИСНОВКИ

1. Проведено тестування клонових підщеп та сортозразків груші на наявність ВХПЛЯ та ВЯДЯ методом ІФА. Підтверджено відсутність ураження латентними вірусами клонових підщеп груші ВА-29, ІС 2-10, ІС 4-6, ІС 4-12 у маточнику. Окремі куші клонових підщеп ВА-29 та ІС 4-12 уражені ВХПЛЯ.

2. Методом біопроб на деревних рослинах-індикаторах у перший вегетаційний сезон підтверджено ураження окремих зразків клонових підщеп ВА-29 та ІС 4-12 ВХПЛЯ.

3. Візуальними обстеженнями виробничих насаджень виявлено ураження окремих дерев сорту Бере Гарді кільцеподібною мозаїкою та сорту Бере Боск — кам'янистою ямкуватістю плодів.

4. Тестуванням сортозразків груші методом ІФА діагностовано ураження ВХПЛЯ зразків сортів Бере Боск, Кюре, Улюблена Клаппа, по одному зразку сортів Вишня та Стрийська, 2 зразки сорту Лимонка. ВЯДЯ заражено 3 зразки сорту Бере Боск. Ураження сортозразків ВХПЛЯ підтверджено тестуванням на деревних індикаторах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Nemeth M. Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees. / M. Nemeth. —

Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 1986 — P. 841.

2. Van Katwyk W. Pear ring pattern mosaic / W. Van Katwyk // Virus and Viruslike Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders. — 1989. — P. 164—174.

3. Cameron H.R. Pear vein yellows. / H.R. Cameron // Virus and Viruslike Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders. — 1989. — P. 175—181.

4. Kristehsen H.R. Stony pit of pear / H.R. Kristehsen // Virus Diseases of Apples and Pears. Common. Bur. Hort. Plant. Crops. Tech. Commun. — 1963. — 30. — P. 98—101.

5. Thompsen A. Stony pit. / A. Thompsen // Virus and Viruslike Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders. — 1989. — P. 182—187.

6. Jelkmann W. Nucleotide sequence of apple stem pitting virus and of the coat protein gene of a similar virus from pear associated with vein yellows disease and their relationship with potex — and carlaviruses. / Jelkmann W. // J. Gen. Virol. — 1994, 75:1535—1542.

7. Leone G. Back-transmission of a virus associated with apple stem pitting and pear vein yellows, from Nicotiana occidentalis to apple and pear indicators / G. Leone., J.L. Lindner, G. Jongedijk and vander Meer F. // Acta Hort. 1995. — 386 : 71—77.

8. Vander Meer F.A. Observations on etiology of some virus diseases of apple and pear // Acta Hort. — 1986. — 193. — P. 73—74.

9. Yanase H., Koganezawa H., Fridlund P.R. Correlation of pear necrotic spot with pear vein yellows and apple stem pitting, and flexuous filamentous virus associated with them / H. Yanase, H. Koganezawa, P.R. Fridlund // Acta Hort. 1989- 235 : 157.

10. Barba M. Virus certification of fruit tree propagative material in Western Europe. — APS Press. St. Paul, MN., 1998. — P. 288—293.

Скряпник Н.В., Бондаренко П.Е., Чернега Н.П.

Получение свободного от вирусов подвойного и привойного материала груши

Проведено тестирование клоновых подвоев и сортообразцов груши на наличие ВХПЛЯ (вирус хлоротической пятнистости листьев яблони) и ВЯДЯ (вирус ямчатости древесины яблони) методом ИФА. Подтверждено отсутствие заражения латентными вирусами клоновых подвоев груши ВА-29, ИС 2-10, ИС 4-6, ИС 4-12 в маточнике. Отдельные куши клоновых подвоев груши ВА-29 и ИС 4-12 заражены ВХПЛЯ.

груша, вирусные болезни, диагностическое тестирование, иммуноферментный анализ

Skrypnyk N.V., Bondarenko P.E., Chernega N.P.

Getting of virus-free rootstock and grafting pears plant material

Clonal rootstocks and variety samples were tested by immune-ferment analysis for presence of ACLSV (apple chlorotic leafspot virus) and ASPV (apple stem pitting virus). The absence of infection by latent viruses of such clonal pear rootstocks, as BA-29, IC 2-10, IC 4-6 and IC 4-12 in mother liquor was confirmed. Some bushes of clonal pear rootstocks BA-29 and IC 4-12 were infected by ACLSV.

pear, viral diseases, diagnostic testing, immune-ferment analysis

Рецензент:

Михайленко С.В., кандидат сільськогосподарських наук, Інститут захисту рослин НААН



IOBC Global

МІЖНАРОДНА КОНФЕРЕНЦІЯ СПРС МОББ

9—12 вересня 2013 р. у м. Оdesа відбулася Міжнародна наукова конференція «Сучасний стан і перспективи інновацій біометоду в сільському господарстві». Організатори конференції — Інженерно-технологічний інститут «Біотехніка» НААН, Дослідна станція карантину винограду і плодівих культур ІЗР НААН, Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова. Конференція проходила в рамках діяльності Східно-палеарктичної регіональної секції Міжнародної організації з біологічної боротьби з шкідливими тваринами і рослинами під головуванням Президента СПРС МОББ Долженка В.І., академіка РАСГН.

А.М. ЧЕРНИЙ,

доктор сільськогосподарських наук,
Інститут захисту рослин НААН

У відкритті конференції взяли участь: А.С. Заришняк, академік-секретар відділення землеробства, механізації і меліорації НААН; А.Г. Новаковський, директор департаменту агропромислового розвитку державної адміністрації Одеської області; О.І. Борзих, директор Інституту захисту рослин НААН; Е.О. Садонов, генеральний секретар СПРС МОББ. Виступаючі відзначили роль

біологічного методу в захисті рослин, коли паразити, хижакі і патогени стримують розвиток популяцій шкідливих організмів.

У роботі конференції взяли участь провідні вчені в галузі біологічного захисту рослин Росії, України, Білорусії, Молдови та Казахстану. На пленарних і секційних засіданнях заслухано і обговорено близько 30-ти наукових доповідей. Матеріали конференції (67 доповідей) опубліковано в Інформаційному бюлетені СПРС МОББ. У представлених на конференції доповідях визначено пріоритетні галузі застосування біологічного захисту рослин: виробництво сировини для ди-