

УДК: 632.3:634.1:634.2:632.935

Распространенность вирусных болезней плодовых и ягодных культур и современные методы борьбы с ними

Упадышев М. Т., Метлицкая К. В., Тихонова К. О., Донецких В. И.,
Упадышева Г. Ю., Бьядовский И. А., Петрова А. Д.

Изучена распространенность вирусов на сортах и подвоях семечковых и косточковых культур, на ягодных культурах. Установлено, что эффективность оздоровления зависела от культуры, вида вируса и метода терапии. Лучшие результаты по оздоровлению от вирусов достигнуты при комплексном применении хемотерапии и магнитотерапии *in vitro*.

Ключевые слова: семечковые культуры, косточковые культуры, ягодные культуры, вирусы, ИФА, оздоровление.

Spreading of virus diseases of fruit-trees and small fruit cultures and modern techniques for their sanitation

Upadyshev M.T., Metlitskaya K.V., Tichonova K.O., Donetskich V.I.,
Upadysheva G.Ju., Bjadovsky I.A., Petrova A.D.

The spreading of different viruses on varieties and rootstocks of pome fruit trees, stone fruit plants, and small fruit cultures has been studied. It was established that efficiency of sanitation technique from viruses depended on culture, virus species and therapy method. The best results for obtaining virus free material were achieved by means of complex application of *in vitro* chemotherapy and magnetotherapy.

Keywords: pome fruit cultures, stone fruit cultures, small fruit cultures, viruses, diagnostics, ELISA, sanitation.

Введение

Вирусы являются опасными внутриклеточными патогенами садовых культур. Из-за латентного характера многих вирусов они широко распространяются с зараженным посадочным материалом, с инструментом при

выполнении агротехнических работ, с пылью и семенами, тлями и другими переносчиками.

Вредоносными вирусами семечковых культур являются вирусы бороздчатости древесины яблони, ямчатости древесины яблони, хлоротической пятнистости листьев яблони и мозаики яблони [2, 5]. К вредоносным вирусам косточковых культур относятся вирусы шарки сливы, некротической кольцевой пятнистости косточковых, карликовости сливы, хлоротической пятнистости листьев яблони, скручивания листьев черешни [2, 8]. На ягодных культурах значительный ущерб урожаю наносят неовирусы. На малине большую опасность представляет переносимый с пылью вирус кустистой карликовости малины [10].

Важной задачей является анализ распространенности вирусных болезней и совершенствование методов оздоровления от вирусов плодовых и ягодных культур. Основным направлением борьбы с вирусными болезнями является перевод питомниководства на безвирусную основу и введение системы обязательной сертификации посадочного материала.

Цель исследования

Целью исследований являлось изучение распространенности вирусных болезней и совершенствование методов оздоровления садовых культур от вредоносных вирусов путем повышения эффективности оздоровления и экологической безопасности технологий оздоровления.

Материал и методы исследования

Исследования проводили в 2011—2014 гг. Изучали распространенность 13 вирусов: хлоротической пятнистости листьев яблони (ACLSV), бороздчатости древесины яблони (ASGV), ямчатости древесины яблони (ASPV), мозаики яблони (ArMV), шарки сливы (PPV), карликовости сливы (PDV), некротической кольцевой пятнистости косточковых (PNRSV), скручивания листьев черешни (CLRv), кустистой карликовости малины (RBDV), кольцевой пятнистости малины (RpRSV), мозаики резухи (ArMV), латентной кольцевой пятнистости земляники (SLRSV), черной кольцевой пятнистости томата (TBRV). Изучение данных вирусов проводили в насаждениях Московской, Брянской и Рязанской областей. Всего проанализировано методом ИФА 2224 растения и выполнено 10278 тестов на различные вирусы.

В серологических тестах применяли сэндвич-вариант ИФА по методике M.F. Clark и A.N. Adams [9]. Для анализов использовали диагностические наборы фирмы «Neogen» (Великобритания). В качестве образцов отбирали листья. Регистрацию результатов анализов проводили на планшетном фотометре «Stat Fax 2100» при длинах волн 405 и 630 нм. О зараженности образцов судили по отношению оптической плотности продукта ферментативной реакции тестируемых образцов (A_o) к показателям отрицательного контроля (A_k). При $A_o/A_k > 2,0$ образец считали зараженным вирусом, при $A_o/A_k = 1,6$ — $1,9$ — вероятно зараженным, при $A_o/A_k < 1,6$ — свободным от вируса.

Объектами исследований по оздоровлению от вирусов служили микроподвои подвоев яблони 62-396, груши Березолистная, черешни ВСЛ-2, а также малины сортов Арбат, Малаховка и Геракл. Полученные на модифицированной питательной среде Мурасиге и Скуга микрочеренки, длиной 10 мм, подвоев семечковых и косточковых культур обрабатывали с помощью сконструированного в отделе механизации ФГБНУ ВСТИСП прибора АМИ-3; малины — с помощью прибора СМИ-5 импульсами магнитной индукции с частотой от 0,8 до 51,2 Гц на протяжении 3—10 мин. В качестве антивирусного препарата применяли салициловую кислоту в концентрации 3×10^{-4} М. Каждый вариант включал 24 экспланта.

Результаты исследования и их обсуждение

Сорта и подвои яблони в целом оказались менее зараженными латентными вирусами по сравнению с сортами и подвоями груши (таблица 1).

Таблица 1 — Зараженность латентными вирусами сортов и клоновых подвоев семечковых культур

Культура		Проверено растений		Общая зараженность, в %	Зараженных вирусами, в %			
		всего	из них зараженных		ASPV	ASGV	ACLSV	ApMV
Сорта	яблоня	205	87	42,4	33,2	23,0	26,3	5,9
	груша	150	93	62,0	54,7	42,0	50,0	48,7
Клоновые подвои	яблоня	120	47	39,1	17,5	5,8	24,2	4,2
	груша	45	32	71,1	48,9	60,0	15,6	64,4

На сортах яблони и груши преобладающим по распространенности оказался вирус ямчатости древесины яблони с частотой встречаемости соответственно около 33 и 55 %. Сорта груши, в отличие от сортов яблони, ха-

рактизовались довольно высокой частотой встречаемости остальных изученных латентных вирусов — от 42 до 50 %. На сортах яблони установлена низкая встречаемость вируса мозаики яблони, что соответствует данным других исследователей [1]. Клоновые подвои груши отличались в 1, 8 раза более высокой общей зараженностью вирусами по сравнению с клоновыми подвоями яблони. На клоновых подвоях яблони преобладал вирус хлоротической пятнистости листьев яблони, на подвоях груши — вирусы бороздчатости древесины яблони и мозаики яблони.

Комплекс из 4-х латентных вирусов выявлен у 9 % сортов груши, из 3-х вирусов (ASPV, ASGV и ArMV) — у 6 %. На яблоне, в отличие от груши, превалировала моноинфекция. Только у 8 % растений выявлен комплекс вирусов ASPV и ACLSV.

Полученные результаты в целом согласуются с данными других исследователей по зараженности вирусами семечковых культур [4, 6]. Вместе с тем на семечковых культурах, как правило, доминирующим вирусом ранее считался вирус хлоротической пятнистости листьев яблони. В последние годы нами установлено увеличение зараженности яблони и груши вирусами бороздчатости и ямчатости древесины яблони.

Свободные от основных вредоносных вирусов растения были выявлены у яблони следующих сортов: Антоновка, Мелба, Папировка, Лобо, Спартан, Марат Бусурин, Маяк Загорья, Свежесть, Подарок Графскому, Имрус, Останкино, Триумф, Валюта; груши сортов Велеса, Лада, Аврора, Дюймовочка, Дюшес летний, Детская, Гера, Чижовская; клоновых подвоев яблони 54-118, 57-490, 62-396; единичных растений клоновых подвоев груши Березка, Иволистная, Желтая.

Мониторинг зараженности вирусами косточковых культур позволил выявить, что наиболее распространенными вирусами на сортах и клоновых подвоях вишни, черешни и сливы оказались иларвирусы карликовости сливы и некротической кольцевой пятнистости (таблица 2).

Таблица 2 — Зараженность вирусами сортов и клоновых подвоев косточковых культур

Культура	Проверено растений		Общая зараженность,	Зараженных вирусами, в %				
	всего	из них заражен-		PPV	PDV	PNRSV	ACLSV	CLRV
		же-						

			нных	в %					
Сорта	вишня	223	97	43, 5	3, 1	37, 2	40, 1	26, 8	19, 3
	черешня	63	25	39, 7	3, 2	33, 3	39, 7	5, 4	28, 6
	слива	140	83	59, 3	7, 9	45, 7	51, 4	15, 0	12, 1
Кло- новые подвои	вишня	124	57	46, 0	7, 3	34, 7	43, 5	5, 6	8, 9
	черешня	36	20	55, 5	5, 6	47, 2	22, 2	11, 1	22, 2
	слива	75	42	56, 0	13, 3	42, 7	52, 0	4, 0	12, 0

На сортах вишни выявлен относительно высокий процент зараженности вирусом хлоротической пятнистости листьев яблони, в то время как на подвоях вишни частота встречаемости данного вируса была низкой. Зараженность сортов и подвоев черешни вирусом скручивания листьев черешни была более высокой, чем вишни. Комплекс вирусов PDV и PNRSV выявлен у 17 % растений вишни и 25 % растений черешни.

Вирус шарки превалировал на сливе и в целом оказался менее распространенным по сравнению с другими вирусами ввиду осуществления карантинных мероприятий и выбраковке зараженных деревьев.

На подвое вишни Измайловский выявлены комплексы из 2-х и 3-х вирусов. Комплекс вирусов PDV + PNRSV + CLRV обнаружен у 7 %, PDV + PNRSV — у 10 % растений.

На подвое сливы ОД-2-3 чаще других встречались вирусы PDV и PNRSV, причем комплекс этих 2-х вирусов отмечен у 10 % растений. Такой же процент зараженных тест-образцов этого подвоя был характерен и для комплекса вирусов PDV и CLRV. Наиболее распространенным вирусом на подвое сливы 13-113 оказался вирус PDV, а комплексом вирусов PDV + PNRSV было заражено 19 % растений. На растениях сливы преимущественно диагностировалось по одному из указанных вирусов, а комплекс из 4-х вирусов выявлен у 14 % растений. Полученные результаты в целом согласуются с данными предыдущих исследователей по зараженности вирусами косточковых культур [3].

Свободные от основных вредоносных вирусов растения были выявлены у вишни сортов Апухтинская, Молодежная, Волочаевка, Расторгуевская, Булатниковская, Любская, Русинка, Память Еникеева, Норд Стар; сливы сортов Опал, Утро, Смолинка, Крупноплодная Елисеева; черешни сортов Чермашная, Фатех, Ипать. Выявленные растения можно использовать для закладки маточных насаждений.

На ягодных культурах имела место видовая специфика (таблица 3).

Таблица 3 — Зараженность вирусами ягодных культур

Культура	Проверено растений		Общая зараженность, в %	Зараженных вирусами, в %				
	всего	из них зараженных		ArMV	TBRV	SLRSV	RpRSV	RBDV
Малина	759	453	59,7	36,0	22,0	28,1	46,9	50,6
Черная смородина	78	10	12,8	3,8	1,3	1,3	6,4	—
Крыжовник	54	13	24,0	3,7	7,4	11,1	14,8	—
Земляника	152	85	55,9	9,8	44,0	11,2	7,9	—

На малине и землянике вирусы встречались чаще, чем на черной смородине и крыжовнике. На малине преобладали вирусы кустистой карликовости малины и кольцевой пятнистости малины, на землянике — вирус черной кольцевой пятнистости томата.

На фоне высокого заражения сортов малины вирусами, нами были выявлено 63 свободных от вредоносных вирусов растений 22 сортов: Носорог, Атлант, Пингвин, Элегантная, Поклон Казакову, Оранжевое чудо, Гордость России, Желтый гигант, Евразия, Метеор, Скромница, Солнышко, Абрикосовая, Журавлик, Рубиновое ожерелье, Бальзам, Геракл, Пересвет, Снежень, Золотая осень, Подарок Кашину, Жар-птица.

На землянике выявлены безвирусные растения у сортов Троицкая, Богота, Мармолада, Хоней, Редгонтлет, Витязь; на крыжовнике — сортов Колобок, Садко, Финский, Салют, Черномор, Северный капитан; на смородине черной — сортов Селеченская-2, Чародей, Брянский агат, Кипиана, Бармалей, Оджибьен, Стрелец, Гамма и Загадка.

Оздоровление от вирусов традиционно осуществляют путем термотерапии, хемотерапии и культуры меристем. Однако термостабильные вирусы не удается уничтожить термообработкой. Хемотерапия — эффективный способ оздоровления растений от многих вирусов, но некоторые противовирусные препараты опасны для здоровья людей, другие — малоэффективны или фитотоксичны, поэтому как перспективный метод оздоровления растений от вирусной инфекции предложена магнитно-импульсная обработка

(МИО) *in vitro* с использованием стимулятора СМИ-5. Ранее установлено, что МИО, выполненная с помощью прибора более раннего поколения СИ-3 ингибировала вирусы ACLSV и ArMV на груше сорта Лада, вирус RBDV — на малино-ежевичном гибриде [7].

Проведенные исследования показали, что оздоровить растения от комплекса вирусов гораздо труднее, чем от какого-либо одного вируса. Так, удалось получить до 88 % свободных от каждого из 3 латентных вирусов растений подвоя яблони 62-396, тогда как свободных от комплекса вирусов в среднем по 2 клонам — лишь 38 %.

На подвое яблони 62-396 использование одной СК оказалось малоэффективным, в то время как МИО длительностью 8 мин. (без СК), а также сочетание СК и МИО (3 и 5 мин.) обеспечивали наибольший выход свободных от комплекса латентных вирусов растений (таблица 4).

Таблица 4 — Эффективность оздоровления семечковых культур от комплекса латентных вирусов с использованием салициловой кислоты (СК) и магнитно-импульсной обработки (МИО)

Вариант	Выход здоровых растений, %	
	Подвой яблони 62-396	Подвой груши безрезолитная
Контроль (без МИО и без СК)	0, 0	25, 0
СК (без МИО)	12, 5	50, 0
МИО 8 мин (без СК)	37, 5	37, 5
СК + МИО 3 мин.	37, 5	0, 0
СК + МИО 4 мин.	25, 0	12, 5
СК + МИО 5 мин.	37, 5	0, 0
СК + МИО 8 мин	25, 0	29, 2
СК + МИО 10 мин.	25, 0	25, 0

На подвое груши наилучший результат давало применение одной СК, обеспечившей оздоровление половины от числа тестируемых эксплантов. Несколько хуже результаты на груше были при МИО продолжительностью 8 мин (без СК). Комплексная обработка СК и МИО не приводила к увеличению выхода безвирусных растений подвоя груши по сравнению с контролем. Получение безвирусных растений груши в контроле, вероятно, связано с неравномерным распределением вирусов по тканям растений и действием факторов культивирования.

При оздоровлении подвоя черешни ВСЛ-2 от вирусов применение одной хемо- или магнитотерапии не обеспечивало положительных результатов, в то время как их комплексное использование позволило получить от 14 до 57 % свободных от вируса шарки сливы и 14—29 % — свободных от комплекса вирусов растений.

Наибольший выход свободных от вируса PPV растений достигнут при сочетании СК и МИО длительностью 5 мин — 57 %, свободных от комплекса вирусов — при сочетании СК и МИО длительностью 3, 5 или 8 мин (29 % для всех вариантов).

При оценке пролиферативной способности эксплантов показано, что СК в испытанной концентрации ингибировала ростовые процессы у эксплантов яблони и груши, приводя к снижению высоты растений у подвоя яблони в 2, 4 раза, у подвоя груши — в 1, 6 раза, числа почек — в 2, 1 раза и 1, 4 раза соответственно по сравнению с контролем. Экспланты подвоя черешни ВСЛ-2 оказались наименее чувствительными к введению в состав питательной среды СК: высота и число почек снизились на 25 и 21 % соответственно.

Проведенные испытания стимулятора СМИ-5 показали, что эффективность оздоровления малины в условиях культуры тканей от вируса кустистой карликовости малины зависела от режима магнитно-импульсной обработки (МИО) и сортовых особенностей.

На малине сорта Арбат применение МИО обеспечивало увеличение выхода здоровых растений на 17 %. На сорте Малаховка в оптимальном варианте отмечали увеличение выхода здоровых растений на 66, 7 % и снижение индекса зараженности на 38 % в сравнении с контролем.

При оздоровлении малины сорта Геракл от вируса кольцевой пятнистости МИО обеспечила увеличение выхода здоровых растений до 50 % и снижение индекса зараженности на 12 % по сравнению с вариантом без обработки.

МИО растений относится к числу нетрадиционных, но перспективных технологий.

Выводы

1. Зараженность вирусами семечковых культур варьировала в пределах 42—71 %, косточковых культур — 40—59 %, ягодных культур — 13—60 %.

2. На сортах яблони и груши преобладали вирусы ямчатости древесины яблони и хлоротической пятнистости листьев яблони, на клоновых подвоях яблони — вирус хлоротической пятнистости листьев яблони, на клоновых подвоях груши — вирусы бороздчатости древесины яблони и мозаики яблони.

3. На косточковых культурах наибольшее распространение имели иларвирусы некротической кольцевой пятнистости косточковых и карликовости сливы.

4. Более высокая частота встречаемости отмечена на малине для вирусов кустистой карликовости малины и кольцевой пятнистости малины, на смородине черной и крыжовнике — для вируса кольцевой пятнистости малины, на землянике — для вируса черной кольцевой пятнистости томата.

5. Эффект оздоровления зависел от культуры, вида вируса и метода терапии. Оздоровление от какого-либо одного вида вируса протекало успешнее, чем от комплекса вирусов.

6. На подвое яблони 62—396 магнитно-импульсная обработка, а также её сочетание с применением салициловой кислоты, обеспечивали наибольший выход свободных от комплекса латентных вирусов растений. На подвое груши лучший результат давало применение одной салициловой кислоты. При оздоровлении подвоя черешни ВСЛ-2 положительные результаты достигнуты при комплексном использовании хемо-и магнитотерапии.

Литература

1. Бриндаров, Д.Д. Диагностика вирусных болезней яблони: дис. ... канд. с.-х. наук.— М., 2005.— 223 с.
2. Вердеревская, Т.Д., Маринеску, В.Г. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда в Молдавии.— Кишинев: Штиинца, 1985.— 311 с.
3. Приходько, Ю.Н., Чирков, С.Н., Метлицкая, К.В. и др. Распространенность вирусных болезней косточковых культур в Европейской части России // Сельскохозяйственная биология.— 2008.— № 1.— С. 26—32.
4. Проданюк, Л.Н., Калашян, Ю.А., Чернец, А.М. и др. Оценка зараженности сортов и гибридов яблони латентными вирусами в коллекции НПСВиПГ // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. раб.— М.: ВСТИСП, 2013.— Т. XXXVI, ч. 2.— С. 110—113.

5. Саунина, И.И., Упадышев, М.Т., Гребнева, Е.В. Распространенность и вредоносность вирусов на груше в условиях Московской области // Садоводство и виноградарство.— 2008.— № 3.— С. 16—19.
6. Семина, Н.П. Проблема производства сертифицированного посадочного материала яблони в ЦЧР // Промышленное производство оздоровленного посадочного материала плодовых, ягодных и цветочно-декоративных культур: матер. межд. науч. конф., 20—22 ноября 2001 г. — М., 2001.— С. 88—97.
7. Упадышев, М.Т., Донецких, В.И. Новый способ оздоровления ягодных и плодовых культур от вирусов методом магнитотерапии // Доклады РАСХН.— 2008.— № 4.— С. 12—15.
8. Упадышева, Г.Ю., Упадышев, М.Т., Походенко, П.А. Зараженность клоновых подвоев косточковых культур вирусами и их влияние на эффективность размножения зеленым черенкованием // Плодоводство и ягодоводство России.— 2010.— Т. XXIV.— Ч. 2.— С. 127—131.
9. Clark, M.F., Adams, A.N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses // J. Gen Virol.— 1977.— Vol. 34, № 3. — P. 475—483.
10. Converse, R.N. Virus disease of small fruits // USDA ARS Agricultural Handbook. — 1987. — № 631. — 277 p.

Literature

1. Brindarov, D.D. Diagnostika virusnyx boleznej yablони: dis. ... kand. s.-x. nauk.— М., 2005.— 223 s.
2. Verderevskaya, T.D., Marinescu, V.G. Virusnye i mikoplazmennye zabolevaniya plodovyx kul'tur i vinograda v Moldavii.— Kishinev: Shtiinca, 1985.— 311 s.
3. Prixod'ko, Yu.N., Chirkov, S.N., Metlickaya, K.V. i dr. Rasprostranennost' virusnyx boleznej kostochkovyx kul'tur v Evropejskoj chasti Rossii // Sel'skoxozyajstvennaya biologiya.— 2008.— № 1.— S. 26—32.
4. Prodanyuk, L.N., Kalashyan, Yu.A., Chernec, A.M. i dr. Ocenka zara-zhennosti sortov i gibridov yablони latentnymi virusami v kollekcii NPIS-ViPG // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii: sb. nauch. rab.— М.: VSTISP, 2013.— Т. XXXVI, ch. 2.— S. 110—113.
5. Saunina, I.I., Upadyshev, M.T., Grebneva, E.V. Rasprostranennost' i vredonosnost' virusov na grushe v usloviyax Moskovskoj oblasti // Sadovodstvo i vinogradarstvo.— 2008.— № 3.— S. 16—19.
6. Semina, N.P. Problema proizvodstva sertifikirovannogo posadochnogo materiala yablони v CChR // Promyshlennoe proizvodstvo ozdorovlennogo posadochnogo materiala plodovyx, yagodnyx i cvechoodekora-

tivnyx kul'tur: mater. mezhd. nauch. konf., 20—22 noyabrya 2001 g. — M., 2001.— S. 88—97.

7. Upadyshev, M.T., Doneckix, V.I. Novyj sposob ozdorovleniya yagod-nyx i plodovyx kul'tur ot virusov metodom magnitoterapii // Doklady RASXN.— 2008.— № 4.— S. 12—15.

8. Upadysheva, G.Yu., Upadyshev, M.T., Poxodenko, P.A. Zarazhenost' klonovyx podvovov kostochkovyx kul'tur virusami i ix vliyanie na e'ffektivnost' razmnozheniya zelenym cherenkovaniem // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii.— 2010.— T. XXIV.— Ch. 2.— S. 127—131.

9. Clark, M.F., Adams, A.N. Characteristics of the microplate method of en-zyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses // J. Gen Virol.— 1977.— Vol. 34, № 3. — P. 475— 483.

10. Converse, R.N. Virus disease of small fruits // USDA ARS Agricultural Handbook. — 1987. — № 631. — 277 p.