

## ПОШИРЕНІСТЬ ВІРУСНИХ ХВОРОБ МАЛИНИ (*RUBUS IDAEUS L.*) У ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

**М.П. ТАРАНУХО**, кандидат біологічних наук

Інститут садівництва (ІС) НААН України, 03027, Київ-27, вул. Садова 23

**Ю.М. ТАРАНУХО**, кандидат біологічних наук

Національний університет біоресурсів і природокористування (НУБіП), Київ, вул. Героїв оборони, 13, e-mail: taranuho.yuliya@mal.ru

*Визначено ступінь поширеності вірусних хвороб, які впливають на економічні показники при вирощуванні різних за стійкістю сортів малини. Показано фітовірусологічний стан її насаджень у лісостеповій зоні України.*

*Дані, одержані за допомогою ІФА, виявили значний ступінь латентного інфікування сортів досліджуваної культури Raspberry ring spot virus, Arabis mosaic virus, Strawberry latent ringspot virus і Raspberry bushy dwarf virus.*

*Встановлено, що найбільшого поширення в латентній формі набув Raspberry ring spot virus.*

*Рекомендовано під час відбору здорових маточних рослин обов'язково проводити тестування їх на наявність вірусної інфекції з використанням ІФА, рослин - індикаторів та електронної мікроскопії.*

**Ключові слова:** вірусні хвороби, малина, поширеність, діагностика, ІФА, тестування, електронна мікроскопія.

Наявність в насадженнях малини вогнищ вірусної та мікоплазмової інфекції сприяє поширенню її разом із садивним матеріалом при вегетативному способі його розмножування [1, 2, 3, 4]. Існує також небезпека розповсюдження вірусних хвороб при завозі саджанців з інших регіонів. Уміння визначати деякі віруси за допомогою передачі їх соком з пробуджених бруньок на трав'янисті рослини-індикатори, а також за характером зовнішніх і внутріклітинних аномалій дає можливість одержувати базовий вихідний матеріал і не допускати при його використанні для створення колекційних насаджень поширення нових вірусів або їх штамів.

**Методика досліджень.** У 2012-2014 рр. проводили обстеження плантацій малини в ІС НААН України, його дослідному господарстві (ДГ) “ Дмитрівка “, а також на декількох присадибних ділянках Київської області двічі протягом вегетаційного періоду (весною та в кінці літа). Біологічне тестування виконували за методиками [5], імуноферментний аналіз (ІФА) у варіанті “сендвіч“ – за M.F. Clark, I.R. Adams [8]. Морфологію вірусних часток вивчали із застосуванням електронної мікроскопії ультратонких зрізів [6]. Негативне контрастування нативних вірусів проводили з використанням 2%-го розчину фосфорно-вольфрамислової кислоти рН 7,0-7,2 [7].

**Результати досліджень.** Візуальний огляд насаджень показав досить широке варіювання симптомів ураження. Зустрічалось темно-зелене зморшкувате листя із закрученими донизу краями або рідкі дрібні жовтувато-зелені плями на ньому, що є характерним зовнішнім проявом кільцевої плямистості малини. Спостерігався також хлороз жилок на кущах. Траплялися розкидані великі неправильної форми яскраво-жовті плями, які часто зливалися, що є ознакою жовтої плямистості. Можна було помітити сітчастоподібний хлороз уздовж жилок листка, характерний для жовтої сітчастості малини. Крім того, були виявлені поодинокі рослини з діагностичними симптомами кущової карликовості у вигляді хлорозу тканин, розміщених між жилками листків, з подальшим пожовтінням усієї листової пластинки, а в період плодоношення на них були помітні дрібні та крихкі плоди.

Обстеження свідчать, що гіршим був стан колекційних плантацій малини в ІС НААН і присадибних ділянок у с. Новосілки. Найбільша кількість рослин у цих насадженнях була уражена збудниками жовтої плямистості (відповідно 25-100 і 15,0-100%) і хлорозу жилок (14,3-100 і 7,1-60,0%) (табл. 1).

#### 1. Ураженість рослин малини вірусними хворобами (2012-2014 рр.)

Місце обстеження	Поширення вірусних хвороб, %			
	жовта плямистість	кільцева плямистість	жовта сітчастість	хлороз жилок
ДГ «Дмитрівка»	3,0-6,5	2,5-5,0	0	1,2-2,0
ІС НААН України	25,0-100	1,5-3,0	1,0-2,5	14,3-100
с. Новосілки (присадибні ділянки)	15,0-100	4,5-37,5	5,0-46,2	7,1-60,0

Із даних, наведених у таблиці 1, видно, що найпоширенішими вірусними хворобами в районі проведення обстежень є жовта плямистість і хлороз жилок малини, тому в подальшій роботі їм приділялася особлива увага. Результати вивчення поширеності і розвитку цих хвороб на різних сортах наведено в таблиці 2.

Найбільшу кількість уражених рослин з характерними жовтими плямами на листі було виявлено в сортів Струнка, Універсальна, Основ'янка та Сенатор. Сорт Універсальна характеризувався ще й найвищим ступенем ураження – 37,0%. Збудник хлорозу жилок малини масово проявився на сортах Брянская, Метеор і Геракл. Ступінь їх ураження відповідно становив 19,2; 13,5 і 17,7%. Серед 26-ти досліджуваних сортів зовнішні симптоми вірусної інфекції не спостерігалися на 9-ти: Глорія, Осіннє сяйво, Сонце Києва, Козачка, Благородна, Промінь, Мар'янушка, Одарка та Марія.

При ураженні рослин окремими вірусами симптоми часто бувають відсутні, що, як правило, має місце при перебуванні патогенів у латентному стані. Тому під час візуального огляду насаджень

додатково відбирали зразки з кущів без зовнішніх ознак ураження для виявлення латентної вірусної інфекції з використанням рослин-індикаторів та імунно-ферментного аналізу. За допомогою останнього відібрані зразки перевіряли на наявність Raspberry ring spot virus (RRSV), Arabis mosaic virus (ArMV), Tomato black ring virus (TBRV), Strawberry latent ringspot virus (SLRV) і Raspberry bushy dwarf virus (RBDV). Аналіз одержаних результатів показав досить високий рівень латентного інфікування сортів вищезгаданими фітопатогенами.

2. Ураженість сортів малини вірусами жовтої плямистості і хлорозу жилок (ІС НААН України, 2012-2014 рр.)

Сорт	Поширеність, %		Ступінь ураження, %	
	жовта плямистість	хлороз жилок	жовта плямистість	хлороз жилок
Жовта десертна	25	50	24,3	11,4
Одарка	36,4	0	29,0	0
Новокитаївська	44,4	0	22,4	0
Красний дощ	44,5	0	23,1	0
Рось	57,4	0	22,3	0
Струнка	100	0	30,4	0
Універсальна	100	0	37,0	0
Основ'янка	100	0	31,8	0
Сенатор	100	0	33,1	0
Солоха	0	14,3	0	8,7
Барнаульська	0	20,0	0	6,9
Золоті купола	0	25,0	0	15,3
Равелі	0	28,6	0	11,7
Спутниця	0	57,2	0	11,5
Брянська	0	75	0	19,2
Метеор	0	100	0	13,5
Геракл	0	100	0	17,7
Глорія	0	0	0	0
Осіньне саяво	0	0	0	0
Сонце Києва	0	0	0	0
Козачка	0	0	0	0
Благородна	0	0	0	0
Промінь	0	0	0	0
Мар'янушка	0	0	0	0
Одарка	0	0	0	0
Марія	0	0	0	0

Найбільшого поширення набув Raspberry ringspot virus ( $48\pm 5,9\%$ ), а RBDV, ArMV і SLRV інфікували  $33\pm 5,9$ ,  $14\pm 3,6$  і  $11\pm 3,6\%$  рослин відповідно. Вірус чорної кільчастості томату (TBRV) не був виявлений у жодному сортозразку (табл. 3).

Встановлено, що кількість рослин, вільних від вищевказаних вірусів, становить  $30\pm 3,6\%$  від їх загальної кількості,  $26\pm 3,6\%$  були уражені одним патогеном,  $33\pm 3,6\%$  – двома,  $9\pm 3,6\%$  – трьома, по чотири віруси одночасно виявлено у  $3\pm 3,6\%$  (сортів Бальзам, Солнишко та гібрид 3-2-2) (див. табл. 3).

### 3. Результати тестування сортів малини на наявність вірусної інфекції (ІС НААН України, 2013-2014 рр.)

Сорт	Кількість рослин, інфікованих вірусами, %				
	RRSV	RBDV	ArMV	SLRV	TBRV
Іскра	64,3	35,7	0	28,6	0
Промінь	62,5	0	0	0	0
Пересвіт	44,4	55,6	0	0	0
Марія	18,8	0	0	0	0
Одарка	0	50,0	12,5	37,6	0
Бальзам	41,7	33,3	33,3	16,7	0
Новокитаївська	75,0	37,5	50,0	0	0
Сонце Києва	50,0	50,0	0	0	0
Гусар	87,5	50,0	12,5	0	0
Надбожная	42,9	28,6	28,6	0	0
Гібрид 3-2-2	50,0	50,0	33,3	16,7	0
Солнишко	54,5	36,4	18,2	18,2	0
Достовірний інтервал частки ураження	$48\pm 5,9$	$33\pm 5,9$	$14\pm 3,6$	$11\pm 3,6$	–

Для підтвердження вірусної етіології хвороб досліджуваної культури застосовували біологічне тестування та проводили електронно-мікроскопічний аналіз, щоб виявити відповідні вірусні частки.

Реакція механічно інокульованих трав'янистих рослин-індикаторів у вигляді зовнішніх симптомів ураження свідчить про інфекційну патологію візуально виявлених хвороб. Так, внаслідок штучного інфікування соком рослин з вираженими симптомами кільцевої плямистості проявилися некротичні плями на сім'ядолях рослини-індикатора *Cucumis sativus* і дрібна хлоротична плямистість на листках та некроз верхівки *Chenopodium quinoa*.

У процесі вивчення ультратонких зрізів тканин листя з характерними симптомами хлорозу жилок були ідентифіковані бацилоподібні частки вірусу хлорозу жилок малини – Raspberry vein chlorosis virus. Типовим місцем їх локалізації є цитоплазма. Віріони зустрічалися пооди-

ноко або утворювали невеликі скупчення, оточені клітинними мембранами. Їх розмір становив  $473 \pm 4,80 \times 79 \pm 0,95$  нм.

В результаті електронно-мікроскопічних досліджень ультратонких зрізів тканин листків з типовими ознаками жовтої плямистості виявлено сферичні вірусні частки діаметром  $112 \pm 2,82$  нм. Вони локалізуються в основному в цитоплазмі та перинуклеарному просторі ядра.

**Висновки.** Маршрутні обстеження насаджень малини, проведені в Лісостепу України, показали, що в найгіршому фітовірусологічному стані стосовно ураження вірусними хворобами знаходяться колекційні плантації ІС НААН України та присадибні ділянки в с. Новосілки, зокрема, найчастіше візуально спостерігали там жовту плямистість і хлороз жилок  $-3,0-100$  і  $1,2-100\%$  відповідно. Аналіз даних, одержаних методом ІФА, виявив досить високий рівень латентного інфікування сортів досліджуваної культури Raspberry ringspot virus ( $48\% \pm 5,9$ ), Arabis mosaic virus ( $14 \pm 3,6\%$ ), Raspberry bushy dwarf virus ( $33 \pm 5,9\%$ ) і Strawberry latent ringspot virus ( $11 \pm 3,6\%$ ). Значна кількість сортозразків була інфікована одночасно двома ( $33 \pm 3,6\%$ ) і більше вірусами ( $11 \pm 3,6\%$ ). Із усього тестованого рослинного матеріалу тільки у  $30 \pm 3,6\%$  не виявлено жодного з перелічених вище фітопатогенів.

Під час відбору здорових маточних рослин для подальшого закладання базових плантацій та вирощування сертифікованого садивного матеріалу необхідно обов'язково проводити тестування їх на наявність вірусної інфекції з використанням ІФА, рослин-індикаторів та електронної мікроскопії.

### **Список використаної літератури**

1. Глушак Л.Ю., Щибря Г.Р., Світайло О.М. Відбір здорових вихідних рослин кущових ягідників // Садівництво. – 1983. – Вип. 31. – С. 36-38.
2. Глушак Л.Ю. Розповсюдження вірусних і мікоплазмоподібних захворювань кущових ягідників на Україні і боротьба з ними // Вісн. с.-г. науки. – 1987. - № 11.- С. 62 - 67.
3. Зірка Т.І., Безручко О.І. Вірусні хвороби кущових ягідників в УРСР // Садівництво. – 1974. – Вип. 20. – С.74 - 77.
4. Тарануха М.П. Діагностика вірусних захворювань малини // Садівництво. – 1999. – Вип. 49. – С. 174-178.
5. Технологический процесс получения безвирусного посадочного материала плодовых и ягодных культур: метод. указания / Кашин В.И., Борисова А.А., Приходько Ю.Н. и др. – М.: ВСТИСП, 2001. – 109 с.
6. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М.: Мир, 1975. – 325 с.
7. Brenner S. A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses // Biochim Biophys Acta. – 1959. – Nr. 34. – P. 103-110.
8. Clark M.F., Adams A.T. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses // Journal of General Virology. – 1977. – Vol. 34. – P. 475-478.

## SPREAD OF THE RASPBERRY (*RUBUS IDAEUS L.*) VIRAL DISEASES IN THE UKRAINE'S LISOSTEPPE

**M.P. TARANUKHO**, PhD

Institute of Horticulture, NAAS of Ukraine, 03027, Kyiv - 27, 23, Sadova St.

**J.M. TARANUKHO**, PhD

National University of Life and Natural Sciences, Kyiv, 13, Heroi Oborony str., e-mail: taranuko.yuliya@mal.ru

*The authors have determined the degree of the raspberry viral diseases spread which influence the economic indexes of raspberry cultivars with different resistance and shown the phyto-virological state of this plantations in the Ukraine's Lisosteppe. The data obtained with the use of the immune-fermentative analysis ( IFA ) have detected the high level of the latent infection with Raspberry ring spot virus, Arabis mosaic virus, Strawberry latent ringspot virus, Raspberry bushy cvs dwarf virus. It is raspberry ring spot virus that is mostly spread in the latent form. While selecting sound mother plants testing them on the presence of the latent infection is recommended with using IFA, plants-indicators and electron microscopy.*

**Key words:** viral diseases, raspberry, spread, diagnosis, IFA, testing, electron microscopy.

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ МАЛИНЫ (*RUBUS IDAEUS L.*) В ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ

**Н.П. ТАРАНУХО**, кандидат биологических наук

Институт садоводства НААН Украины, 03027, Киев-27, ул. Садовая 23

**Ю.Н. ТАРАНУХО**, кандидат биологических наук

Национальный университет биоресурсов и природопользования, Киев, ул. Героев обороны, 13, e-mail: taranuko.yuliya@mal.ru

*Определена степень распространения вирусных болезней, влияющих на экономические показатели при выращивании сортов малины с разной устойчивостью. Показано фитовирусологическое состояние ее насаждений в лесостепной зоне Украины. Данные, полученные с помощью ИФА, выявили значительную степень латентного заражения сортов исследуемой культуры Raspberry ring spot virus, Arabis mosaic virus, Strawberry latent ringspot virus, Raspberry bushy dwarf virus. Установлено, что наиболее распространен в латентной форме Raspberry ring spot virus. Рекомендовано при отборе здоровых маточных растений обязательно проводить тестирование их на присутствие вирусной инфекции с использованием ИФА, растений-индикаторов и электронной микроскопии.*

**Ключевые слова:** вирусные болезни, малина, распространенность, диагностика, ИФА, тестирование, электронная микроскопия.

Одержано редколлегією 17. 01. 15