

УДК 634.72:632.38

ВІДБІР ЗДОРОВИХ РОСЛИН СМОРОДИНИ ЧОРНОЇ (*RIBES NIGRUM L.*) ДЛЯ СТВОРЕННЯ ФОНДУ БЕЗВІРУСНИХ КЛОНІВ

М.П. ТАРАНУХО, кандидат біологічних наук

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

Ю.М. КОВАЛИШИНА, кандидат біологічних наук

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

*Подано результати відбору рослин смородини чорної для створення базових маточних насаджень. Визначено поширеність вірусних хвороб огіркової мозаїки (*Cucumis virus 1. Smith*) та мозаїки гусимця (*Arabis mosaic virus*). За результатами візуальної діагностики і тестування на рослинах-індикаторах відібрано безвірусні клони сортів досліджуваної культури (Казкова, Радужна, Оріана, Ювілейна Копаня, Вербна, Німфа, Санюта, Софіївська, Вернісаж, Володимирська, Черешнева) з метою закладання базових і сертифікованих садів. Зовнішні ознаки на природно інфікованих кущах і тест - рослинах при штучному зараженні дозволили ідентифікувати збудник – вірус огіркової мозаїки.*

Ключові слова: смородина, сорти, базовий, біологічне тестування, вірусні хвороби, вірусні частки, рослини-індикатори, електронна мікроскопія.

Наявність в насадженнях чорної смородини вогнищ вірусної та мікоплазмової інфекції сприяє поширенню її разом із садивним матеріалом при вегетативному способі його розмноження (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.

Основу відбору становить система виробництва садивного матеріалу. Вона включає такі послідовні та взаємопов'язані етапи: візуальний відбір зовні здорових чистосортних і високоврожайних кущів; попередня перевірка їх у теплиці на трав'янистих індикаторах для виявлення сокопереносних вірусів; основна перевірка за допомогою щеплень на сіянцях, чутливих до вірусів; електронна мікроскопія ультратонких зрізів і розбавлених суспензій; добір безвірусних клонів.

Методика досліджень. Щорічно, в період між розпусканням листя і цвітінням, у дослідних насадженнях Інституту садівництва НААН проводиться виділення вихідних маточних кущів смородини чорної та визначення їх фітосанітарного стану. Для отримання здорового вихідного матеріалу в чистосортних ягідниках було відібрано 97 найпродуктивніших маточних рослин 14 районованих і перспективних сортів: Санюта, Сюїта київська, Сіянець Голубки, Черешнева, Вернісаж, Володимирська, Ювілейна Копаня, Радужна, Казкова, Оріана, Софіївська, Краса Львова, Вербна, Німфа, у яких відсутні зовнішні симптоми ураження вірусами та мікоплазмами. Насадження обстежували протягом вегетаційного періоду двічі (весною та в кінці літа). Перевіряли вихідні рослини на наявність латентного ураження вірусами, для чого проводили механічне зараження та щеплення рослин-індикаторів. При біологічному тестуванні в лютому-квітні з виділених кущів нарізали по чотири живці та пробуджували в теплиці бруньки, один грам яких, звільнених від покривних лусок, розтирали в 6 мл стабілізуючої суміші. Одержаним інокулюмом натирали посипані скляною пудрою трав'янисті рослини-індикатори: *Chenopodium guinoa*, *Cucumis sativus*, *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica* (по 10 рослин). Через 10-15 хв. його залишки змивали водою. Симптоми захворювання визначали протягом 5-14 днів.

Основну перевірку вихідних кущів виконували за допомогою щеплення “щитком” кори на сіянцях індикаторних сортів (*Амос Блек*, *Кент*, *Веллінгтон*, *Голландські червоні*, *Йонкер ван Темс*). Облік симптомів вели на протязі двох років.

Для підтвердження вірусної етіології виявлених захворювань та ідентифікації їх збудників застосовували електронну мікроскопію ультратонких зрізів і розбавленої суспензії (5, 6).

Щоб виявити сокопереносні патогенні віруси, проводили діагностику за зовнішніми симптомами та застосовуючи біотестування.

В результаті досліджень встановлено, що на деяких кущах поширені віруси огіркової мозаїки (кількість уражених рослин – від 4 до 30,5%) і мозаїки гусимця (від 2 до 5%).

Перший із цих вірусів - патоген із надзвичайно широким колом рослин-господарів: 775 видів із 86 родин. На листі уражених кущів (особливо в період їх розпускання) спостерігаються ледь помітна крапчастість, блідо-зелена мозаїчність (літом вони маскуються), на старіючих листках – блідо-зелені смуги уздовж основних жилок (водяний знак), які добре помітні у прохідному світлі. На порічках вірус викликає сильне пожовтіння листків, особливо в центральній їх частині, поблизу черешка. Уражене листя деформується, пагони іноді відмирають.

Названий вірус було виявлено внаслідок штучного зараження рослини-індикатора лободи рисової (*Chenopodium quinoa*) гомогенатом пробуджених у теплиці бруньок смородини

чорної. На індикаторі через 4 дні розвинулись охристі некрози діаметром 2-3 мм. Крім того, у штучно інфікованих тканинах лободи рисової, в окремих зонах цитоплазми, було виявлено високу концентрацію віріонів (рис. 1). Ці зони, оточені мембраною, різняться між собою розміром і ступенем насиченості вірусними частками. Розподіл віріонів у них носить хаотичний характер.

Отже, за допомогою вказаного індикатора вірус огіркової мозаїки на досліджуваній культурі можна виявити і до розпускання листків.

На інших трав'янистих індикаторах відмічено такі симптоми: на лободі стінній (*Chenopodium murale*) – світло-коричневі некрози у вигляді концентричних кілець, на листі огірків (*Cucumis sativus*) – жовту плямистість із слабкою деформацією, на листках тютюну (*Nicotiana tabacum*) – мозаїку.

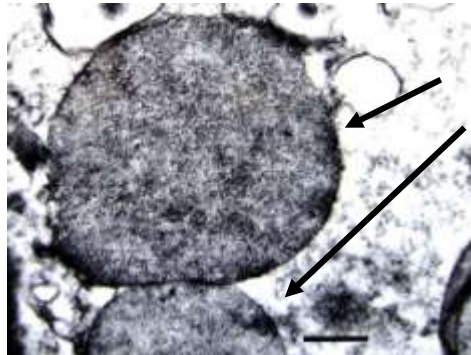


Рис.1. Віроплазми вірусу огіркової мозаїки у цитоплазмі клітин лободи рисової (ВЧ – вірусні частки). Розмір маркера – 1000 нм

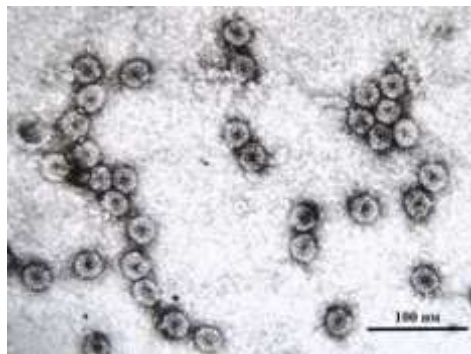


Рис. 2. Ізометричні частки ВОМ з листків лободи рисової

Під час вивчення морфології збудника у нативних препаратах, після освітлення інфекційного соку хлороформом і двох циклів центрифугування в електронному мікроскопі ЕВМ-100А, ізометричні вірусні частки середнім розміром $29,6 \pm 0,59$ нм (рис. 2) набули кулеподібної форми з невеликими, дуже забарвленими центральними ділянками. Вони добре зберігалися при фарбуванні препаратів 3%-ним розчином уранілацетату рН 5 протягом 2-3 сек., після чого залишки контрастуючої речовини ретельно видаляли фільтрувальним папером.

При перевірці вихідних кущів за допомогою щеплення щитком кори на сіянці індикаторних сортів Амос Блек і Веллінгтон, як уже сказано, виявлено латентне ураження окремих сортів вірусом мозаїки гусимця – збудником жовтої крапчастості смородини, на молодих листках якої до середини літа розвивалися симптоми у вигляді слабких жовтих плям, ледве помітних на листі. Гомогенатом молодих листків індикатора із симптомами названої хвороби було інокульовано рослини тютюну та махорки. На натертих листках розвинулися некротичні плями, системна реакція була відсутня, що характерно для вірусу мозаїки гусимця.

Проводили також перевірку кущів культури, яку вивчали, із штучним зараженням рослин-індикаторів *Cucumis sativus* і *Chenopodium quinoa*. Як видно з таблиці, реакція трьох зразків сортів Сюїта київська та Вербна, двох Краси Львова та всіх зразків Сіяння Голубки була позитивна: хлоротичні плями на сім'ядолях, мозаїка справжнього листка на *Cucumis sativus* і некрози на інокульованому листі *Chenopodium quinoa*. Інші сорти були вільні від сокопереносних вірусів.

Результати тестування кущів смородини чорної на наявність вірусної інфекції (ІС НААН, 2013-2015 рр.)

Сорт	Зразок	<i>Cucumis sativus</i>		<i>Chenopodium quinoa</i>	
		Кількість рослин, шт.			
		інокульованих	уражених	інокульованих	уражених
1	2	3	4	5	6
Ювілейна Копаня	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Санюта	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Сюїта київська	1	18	15	8	7
	2	18	0	8	0
	3	18	14	8	7
	4	18	13	8	6
	5	18	0	8	0
Вербна	1	18	12	8	5
	2	18	0	8	0
	3	18	14	8	6
	4	18	0	8	0
	5	18	14	8	6

1	2	3	4	5	6
Сіянець Голубки	1	18	16	8	7
	2	18	15	8	5
	3	18	16	8	5
	4	18	14	8	6
	5	18	15	8	6
Краса Львова	1	18	15	8	7
	2	18	0	8	0
	3	18	16	8	6
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Оріана	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Софіївська	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Німфа	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Радужна	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Казкова	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Черешнева	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Вернісаж	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0
Володимир- ська	1	18	0	8	0
	2	18	0	8	0
	3	18	0	8	0
	4	18	0	8	0
	5	18	0	8	0

Тестування на вірусоносність і особливо оздоровлення від вірусних захворювань є трудомістким і технічно складним прийомом. У зв'язку з цим масове виробництво безвірусного садивного матеріалу може базуватися, головним чином, на прискореному розмноженні рослин, вільних від інфекції.

Підвищення коефіцієнта розмноження, що вимагається для чорної смородини, досягається за допомогою вирощування саджанців із застосуванням методу зеленого живцювання. З цією метою в ІС НААН створено туманоутворювальну установку. З її використанням роботи по прискореному розмноженню рослин вищезгаданої культури можна проводити протягом 2-3 місяців. Основне живцювання в умовах Лісостепу України виконується у другій половині травня, коли прикореневі пагони формують прирости з 9-11 вузлів. Щоб забезпечити успішне вкорінення, краще заготовляти живці з двома листовими пластинками та зі зрізом на 3-5 см нижче вузла. Вихід стандартних саджанців у цьому разі становить більше 80%. Перед висаджуванням живці обробляють стимулятором росту. Зелені живці висаджують у субстрат на глибину 3-4 см. Оптимальна схема садіння 7x7 або 5x10 см.

Зелене живцювання є одним з агротехнічних прийомів, мета яких – оздоровлення рослин. Кущі, розмножені таким способом, набагато менше заселені шкідниками, ніж при використанні здерев'янілих живців. Крім того, при його застосуванні створюються несприятливі умови для розвитку кліща – переносника махровості, оскільки прискорюються регенерація і диференціація тканин закладених бруньок. Кліщ же розвивається лише в листових бруньках, що перебувають на стадії спокою.

Висновки. Садивний матеріал, вирощений від рослин, які не проявили при перевірці на індикаторах симптомів вірусних захворювань, а також вільних від інших хвороб і шкідників, складає базовий маточний фонд. Він включає такі сорти, як Санюта, Сюїта київська, Черешнева, Вернісаж, Володимирська, Ювілейна Копаня, Радужна, Казкова, Оріана, Софіївська, Краса Львова, Вербна, Німфа.

Закладання промислових насаджень здоровими саджанцями забезпечить збільшення врожаю на 20-25%.

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 мікоплазموодібних 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. Таранухо М.П. Діагностика вірусних захворювань смородини чорної // Садівництво. – 1999. – Вип. 48. – С. 180-183.
5. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
6. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М.: Мир, 1975. – 324 с.

BLACK CURRANT (*RIBES NIGRUM L.*) SOUND PLANTS SELECTION TO CREATE THE VIRUS-FREE CLONES FUND

M.P. TARANUKHO, PhD

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

J.M. KOVALYSHYNA, PhD

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

The authors present the results of the selection of the black currant plants in order to create basic parental gardens. The viral diseases cucumber mosaic and Arabis mosaic virus spread was determined. The visual diagnosis and test on plants-indicators resulted in selecting virus-free clones of the researched crop cultivars (Kazkova, Raduzhna, Oriana, Yuvileina Kopanya, Verbna, Nimfa, Sanyuta, Sofiivs'ka, Vernisazh, Volodymyrs'ka, Cheresheva in order to establish basic and certified orchards. The external signs on naturally infected bushes and test-plants when infected artificially enabled to identify the causative agent – the virus of cucumber mosaic.

Key words: currant, cultivars, basic, biological testing, viral diseases, viral particles, plants-indicators, electronic microscopy.

ОТБОР ЗДОРОВЫХ РАСТЕНИЙ СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ (*RIBES NIGRUM L.*) ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФОНДА БЕЗВИРУСНЫХ КЛОНОВ

Н.П. ТАРАНУХО, кандидат биологических наук

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

Ю.Н. КОВАЛЫШИНА, кандидат биологических наук

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

Изложены результаты отбора растений смородины черной для создания базовых маточных насаждений. Определена распространенность вирусных болезней: огуречной мозаики и мозаики резухи. По результатам визуальной диагностики и тестирования на растениях-индикаторах отобраны безвирусные клоны сортов исследуемой культуры (Казкова, Радужна, Ориана, Ювилейна Копаня, Вэрбна, Нимфа, Санюта, Софиивська, Вэрнисаж, Володымырська, Чэрэшинэва) с целью закладки базовых и сертифицированных садов. Внешние признаки на естественно инфицированных кустах и тест - растениях при искусственном заражении позволили идентифицировать возбудитель – вирус огуречной мозаики.

Ключевые слова: смородина, сорта, базовый, биологическое тестирование, вирусные болезни, вирусные частицы, растения- индикаторы, электронная микроскопия.