

УДК 632.38:634.2
© 2010

*Н.В. Тряпичина,
С.О. Васюта,
кандидати сільсько-
господарських наук*

*Інститут садівництва
УААН*

ОЦІНКА КЛОНОВИХ ПІДЩЕП ВИШНЕВО-ЧЕРЕШНЕВОЇ ГРУПИ ЗА ІНФІКОВАНІСТЮ ВІРУСАМИ ПЛОДОВИХ КУЛЬТУР

Оцінено фітовірусологічний стан маточних та колекційних насаджень різних типів клонів підщеп черешнево-вишневої групи та їх потенціал для виробництва безвірусного садивного матеріалу.

В умовах інтенсифікації галузі садівництва України та його переведення на безвірусну основу особливого значення набуває безвірусний матеріал слаборослих клонів підщеп для різних груп плодів культур, які мають значний потенціал для інтенсифікації промислового садівництва. Посилився попит в Україні на такі клонів підщепи і для створення інтенсивних промислових насаджень вишні та черешні, у зв'язку з чим в умовах різних зон садівництва в колекційних маточних насадженнях активно вивчають можливість таких підщеп для інтродукції. Особливу увагу привернули підщепи селекції Кримської ДСС Північно-Кавказського зонального науково-дослідного інституту садівництва і виноградарства ВСЛ-2, Л-2, ВЦ-13, ЛЦ-52 та ін.[1]. Усі вони є високотехнологічними та перспективними щодо можливостей їх інтродукції саме в Україні, де нині вони є основними [4, 7]. Клонів підщепи західної селекції дещо поступаються підщепам російської селекції переважно через недостатній адаптивний потенціал до певних ґрунтово-кліматичних умов України та проблем вегетативного розмноження, що, можливо, вимагає пошуків додаткових оптимізованих підходів до їх інтродукції. Потребує також уточнення і рівень реалізації потенціалу резистентності різних клонів підщеп до вірусних інфекцій в умовах інтродукції, тому нині маточні та колекційні насадження клонів підщеп вишнево-черешневої групи разом з клонів підщепами інших груп є одним з основних об'єктів системних моніторингових обстежень, які проводять відділ вірусології, оздоровлення та розмноження плодів і ягідних культур ІС УААН.

Фітовірусологічний стан вітчизняних насаджень кісточкових культур, у тому числі вишні та черешні, потребує серйозної корекції щодо широкого розповсюдження вірусних інфекцій [2, 3, 6], тому постає питання виробництва безвірусного садивного матеріалу черешні та вишні для інтенсивних садів.

Мета досліджень — оцінка фітовірусологічного стану маточних та колекційних насаджень клонів підщеп вишнево-черешневої групи та їх потенціалу для виробництва безвірусного садивного матеріалу.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведено на основі моніторингових об-

стежень колекційних та маточних насаджень 7-ми типів клонів підщеп вишнево-черешневої групи ВСЛ-2, Л-2, ВЦ-13, ЛЦ-52, Колт, Гізела-5 та Студениківська впродовж 2004—2009 рр. у 12-ти господарствах України.

Ідентифікацію вірусів карликовості сливи (ВКС), некротичної кільцевої плямистості (ВНКП), шарки сливи (ВШС), скручування листя черешні (ВСЛЧ), хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ) проводили методом імуноферментного аналізу (DAS-Double Antibody Sandwich) [8] з використанням сертифікованих специфічних поліклональних антитіл.

Для оцінки фітовірусологічного стану насаджень кожного типу клонів підщеп черешнево-вишневої групи нами було перевірено нульову гіпотезу про рівномірне розповсюдження кожного з 5-ти проаналізованих вірусів у цих насадженнях із використанням 2×2 таблиці зв'язаності ознак. Дані з розподілу між інфікованими та неінфікованими зразками певного типу підщеп окремим вірусом у 2×2 таблиці було протиставлено розподілу між інфікованими та неінфікованими зразками решти типів підщеп за тим самим вірусом [9]. Було розраховано критерії χ^2 -квадрат та коефіцієнти зв'язаності ознак, або контингенції ϕ (Phi). Такий підхід дав змогу виявити загальний потенціал резистентності або, навпаки, чутливості насаджень певного типу підщеп до кожного вірусу порівняно з рештою насаджень клонів підщеп вишнево-черешневої групи. Від'ємні значення коефіцієнта ϕ розцінювали як свідчення певного потенціалу резистентності, позитивні — потенціалу чутливості до вірусних інфекцій. За аналогією було також прораховано узагальнені дані за інфікуванням кожного типу підщеп усіма 5-ма вірусами, щоб вивести узагальнений показник фітовірусологічного стану їхніх насаджень.

У сортових насадженнях кісточкових культур коефіцієнт ϕ відображає селективність вірусу до певного господаря [5] через перенесення вірусу з пилком та насінням. У насадженнях клонів підщеп такий показник є сумарним результатом впливу на їх фітовірусологічний стан комплексу факторів і узагальнює реалізований потенціал резистентності насаджень певного типу підщеп до фітовірусних інфекцій в умовах інтродукції.

Результати досліджень. Протягом 2004—

1. Характеристики загального вірусного інфікування насаджень різних типів підщеп та інфікування окремими вірусами

Тип підщепи	ВСЛЧ		ВНКП		Усі інфіковані рослини	
	Коефіцієнт φ	Рівень достовірності (p)	Коефіцієнт φ	Рівень достовірності (p)	Коефіцієнт φ	Рівень достовірності (p)
ВСЛ-2	-0,013	0,680	-0,295	0,000	-0,168	0,000
Л-2	-0,011	0,744	0,008	0,807	0,001	0,979
ВЦ-13	0,027	0,408	0,053	0,104	-0,027	0,557
Гізела-5	0,024	0,460	0,191	0,000	0,149	0,000
Колт	0,050	0,127	0,101	0,002	0,077	0,000
Студениківська	-0,018	0,580	0,283	0,000	0,208	0,000
ЛЦ-52	-0,042	0,202	0,037	0,261	0,003	0,922

2010рр. відділом вірусології, оздоровлення та розмноження плодкових і ягідних культур ІС УААН обстежено на наявність 5-ти найбільш шкочочних вірусів (ВХПЛЯ, ВНКП, ВКС, ВСЛЧ та ВШС) насаджень 7-ми типів підщеп вишнево-черешневої групи. За підсумками багаторічних моніторингових спостережень [2, 3, 6], рівень загальної інфікованості підщеп вишневої групи у вітчизняних насадженнях становить 10,95%. Серед вірусів за частотою зустрічальності лідирують ВНКП (6,27%) та ВСЛЧ (5,74%), решта вірусів зустрічається досить рідко, зокрема ВКС — 0,21%, ХПЛЯ — 0,11% та ВШС — 0,21%. Але рівень вірусного ураження насаджень окремих типів підщеп широко варіює, відображаючи технологічний рівень утримання таких насаджень і рівень чутливості певних типів підщеп до вірусної інфекції.

Фітовірусологічний стан насаджень кожного типу підщеп є похідним від декількох чинників, серед яких головним є якість вихідного матеріалу, яким вони закладалися. Важливе значення має також рівень технологічних робіт, зокрема розкриття маточних кущів, відділення відсадків, зелене живцювання тощо. Але ймовірність такої контамінації досить низька і може бути пов'язана лише з грубими порушеннями сертифікаційних вимог. Слід також зауважити, що для перенесення деяких вірусів, зокрема для групи Ілар-вірусів, певне значення має щільність садіння насаджень, оскільки можливою є передача вірусів через контакт між кореневою системою сусідніх рослин, яка має сортоспецифічний характер [10]. Але найголовніший чинник — наявність у господаря генетичних особливостей, які забезпечують ефективний захист рослини від вірусної інфекції.

Підщепи типів ВСЛ-2 та ЛЦ-52 є високочутливими до вірусної інфекції, особливо до кільцевих плямистостей, зокрема вірусу НКП. Вважається навіть, що їх можна використовувати як індикаторні рослини для його виявлення. [1]. Але, за нашими даними, цей вірус наявний у насадженнях обох типів підщеп, хоча і з досить різною час-

тотою. Зокрема, рівень інфікованості підщеп вірусом НКП у перевірених насадженнях становить 1,9% для ВСЛ-2 та 15% — ЛЦ-52. Оскільки для тестування методом ІФА відбирали зразки без візуальних симптомів, можна говорити про пороговий ефект впливу вірусу НКП на життєздатність рослин цих типів підщеп. Опосередковано про це свідчать і показники оптичної густини інфікованих зразків, які перевищували відповідні показники контрольних негативних зразків, як правило, у 2—2,5 рази, що свідчить про латентне вірусосоїство. Отже, не можна повністю заперечувати можливість інфікування вірусом НКП насаджень підщеп ВСЛ-2 та ЛЦ-52.

Математичні обчислення даних розповсюдження ВНКП у насадженнях підщеп вишнево-черешневої групи свідчать про його істотне відхилення від нормального розподілу у бік зниження ($\varphi = -0,295$, $p = 0,000$) саме в насадженнях ВСЛ-2 (таблиця), що в цілому можна розцінювати як певний потенціал резистентності до вірусу НКП насаджень цієї підщепи. Можливо, певну роль у цьому відіграє і висока чутливість цієї підщепи до вірусних інфекцій, наслідком якої є природне вибраковування інфікованих клонів із розмноження. Щодо насаджень ЛЦ-52, то відсутність достовірності ($p = 0,261$) не дає можливості однозначно оцінити цей показник. За нашими розрахунками, він може мати значення від $-0,016$ до $0,151$. Отже, чутливість до вірусу НКП підщепи ЛЦ-52 протрєбує подальшого вивчення та уточнення.

Для поширення вірусу НКП у насадженнях підщеп Студениківська, Гізела-5 та Колт виявлено істотне відхилення від нормального розподілу в бік збільшення, особливо підщепи Студениківська ($\varphi = 0,283$, $p = 0,000$). Це свідчить про наявність факторів впливу на розвиток фітовірусологічної ситуації у таких насадженнях. Однією з причин, на нашу думку, може бути різною мірою вираженість схильності цих підщеп до утворення латеральної кореневої системи. Крім того, не завжди можна простежити шляхи потрапляння імпортного садивного матеріалу у вітчизняні насадження. Тому існує ймовірність, що серед матеріалу, яким вони

закладалися, певна його частина мала невизначений фітовірусологічний статус.

Мало що можна сказати про прогнози розвитку фітовірусологічного стану насаджень підщеп ЛЦ-52, Л-2 та ВЦ-13. Наразі не виявлено достовірної ні чутливості, ні резистентності до вірусних інфекцій цих насаджень. Загальний рівень інфікування у них досить близький і становить 11,54%, 11,02 та 15% відповідно. Ймовірніше мова може йти про випадкове інфікування і відсутність додаткових факторів ризику, пов'язаних з генетичними особливостями та умовами інтродукції. Тому варто продовжувати моніторинг та вивчення таких насаджень.

Щодо розповсюдження у насадженнях клонових підщеп ВСЛЧ, то для нього не виявлено жодного випадку достовірного відхилення від нормального розподілу, що може свідчити про відсутність чинників істотного впливу на його поширення. Не виявлено інфікованих цим вірусом

клонів підщеп ЛЦ-52 та Студениківська, а найвищий рівень інфікування ВСЛЧ спостерігали в насадженнях підщеп типу Колт (13,04%) та Гізела-5 (7,81%).

Можна умовно виділити 3 групи серед протестованих підщеп за фактором можливих ризиків, спричинених їхнім фітовірусологічним станом. До групи з позитивним прогнозом належить підщепа ВСЛ-2 (достовірно від'ємний показник коефіцієнта ϕ), негативним — підщепи Студениківська, Гізела-5 та Колт (достовірно позитивні показники коефіцієнта ϕ), до групи з невизначеним прогнозом — підщепи ЛЦ-52, Л-2 та ВЦ-13 (відсутні достовірні показники коефіцієнта ϕ).

Наведені дані свідчать про те, що розмноження підщеп Студениківська, Гізела-5 та Колт потребує додаткових заходів з підтримки безвірусного статусу, зокрема оздоровлення у культурі *in vitro*, термо- чи хемотерапію тощо.

Висновки

За даними нашого аналізу, фітовірусологічний стан насаджень основних клонових підщеп вишнево-черешневої групи може бути істотним фактором ризику при виробництві садивного матеріалу вишні та черешні. Тому для поліпшення якості садивного матеріалу

особливої уваги потребують такі типи клонових підщеп, як Студениківська, Гізела-5, Колт, а адаптивний потенціал до вірусних інфекцій в умовах інтродукції перспективних підщеп ЛЦ-52, Л-2 та ВЦ-13 — подальшого вивчення.

Бібліографія

1. Еремін Г.В. Подбор клоновых подвоев косточковых культур для адаптивного садоводства/Г.В. Еремін, В.Г. Еремін//Проблеми екології сучасного садоводства і пути их решения: матеріали міжнарод. конф. (7—10 сент. 2004 г., КубГАУ). — Краснодар, 2004. — С. 371—377.
2. Васюта С.О. Діагностика вірусів косточкових культур методом імуноферментного аналізу/С.О. Васюта, Н.В. Тряпичина//Садівництво: міжвідомч. тематичн. наук. зб. — 2007. — Вип. 60. — С. 264—275.
3. Васюта С.О. Новые сведения о распространении вирусов косточковых культур в Украине/С.О. Васюта, В.М. Удовиченко, Н.В. Тряпичина, Н.В. Грабовская, К.М. Удовиченко//Тези Міжнарод. конф. «Біоресурси та віруси» (Київ, 10—13 вересня 2007 р.): тез. доп. — К., 2007. — С. 167.
4. Кицак О.А. Агроекономічна оцінка різних способів отримання високоякісного садивного матеріалу черешні (*Cerasus avium* Moench.)/О.А.Кицак//Наук. вісн. НУБіП України. — 2009. — № 03.(10)—http://www.nbu.gov.ua/portal/chem_biol/nvnu/2009_133/09koa.pdf
5. Тряпичина Н.В. Оцінка рівня селективності вірусів косточкових культур до рослинних господарів/Н.В. Тряпичина//Наук. доп. НАУ. — 2009 —

№ 2 (10). <http://www.nbu.gov.ua/e-Journals/nd/2009-2/10vsootd.pdf>

6. Фітовірусологічний моніторинг стану насаджень косточкових культур України/П.В. Кондратенко, Н.В.Тряпичина, С.О.Васюта та ін.//Вісн. аграр. науки. — 2009. — № 6. — С. 22—26.

7. Цвільов М.М. Оцінка вегетативно розмножуваних підщеп вишні (*Cerasus vulgaris* Mill.) у першому полі розсадника в умовах Північно-Східного Лісостепу України/М.М. Цвільов//Наук. вісн. НУБіП України. — 2009. — № 103.(4) — http://www.nbu.gov.ua/portal/chem_biol/nvnu/2009_133/09cmm.pdf

8. Clark M.F. Characteristics of the microplate method of the enzyme — linked immunosorbent assay for the detection of plant virus/M.F. Clark, A.N. Adams// J. Gen. Virol. — 1977. — 34, № 3. — P. 475—483.

9. Kendall M. G. The Advanced Theory of Statistics. Inference and Relationship/M. G. Kendall, A. Stuart. — London: Charles Griffin & Co, 1961. — V. 2. — P. 676.

10. Pethybridge S.J., Wilson C.R., Hay F.S., Leggett G.W., Sherriff L.J. Mechanical transmission of Apple mosaic virus in Australian hop (*Humulus lupulus*) gardens/S.J. Pethybridge, C.R. Wilson, F.S. Hay, G.W. Leggett, L.J. Sherriff//Annals of Applied Biology. — 2002. — № 141. — P. 77—85.