

АНАЛИЗ ЗАРАЖЕННОСТИ ВИРУСНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА В ТАДЖИКИСТАНЕ

Х.И. БОБОДЖАНОВА¹, Н.В. КУХАРЧИК², Е.В. КОЛБАНОВА², Т.А. КРАСИНСКАЯ²

¹Центр биотехнологии Таджикского национального университета,
проспект Рудаки, 17, г. Душанбе, 734025, Таджикистан,
e-mail: bobojankh_7@bk.ru

²РУП «Институт плодородия»,
ул. Ковалева, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: nkykhartchuk@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Впервые в Таджикистане проведен анализ распространенности вирусных заболеваний винограда методом иммуноферментного анализа (DAS-ELISA-тест и TAS-ELISA-тест). На сортах винограда диагностированы вирусы: GVA, GLRaV-2, GLRaV-3, GFLV, RRV и установлено отсутствие GLRaV-1, GFkV, SLRV, TBRV, ArMV. Наличие вирусов отмечено на 9 сортах винограда (Пешпазак, Кишмиш Иртышар, Анзоб, Кишмиш черный, Мугчалони, Зебо, Кишмиш адиси розовый, Победа, Сохиби) из 35 и на 5 виноградниках из 6 обследованных.

Ключевые слова: виноград, диагностика, вирусы, иммуноферментный анализ, Таджикистан.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные болезни винограда – инфекционные болезни, возбудителями которых являются вирусы или вирусоподобные, еще не изолированные патогены. На винограде известно более 35 вирусов и вирусоподобных патогенов, которые обнаружены повсеместно и особенно распространены в зоне привитой культуры [1]. Распространяются вирусы механическим путем, пылью, семенами, посадочным материалом и естественными переносчиками (нематодами, тлями, грибами и др.). Однако для многих вирусов естественные переносчики не установлены.

Вирусные заболевания существенно ухудшают качество и снижают количество винограда, выход первосортных саженцев в школке и долговечность лозы. Характерной особенностью вирусных заболеваний является то, что они системные и хронические, зараженные растения остаются больными в течение всей жизни. Поэтому вегетативное размножение зараженных кустов приводит к производству больного посадочного материала, способствуя тем самым дальнейшему распространению вирусов [2].

В Республике Таджикистан состав и распространение вирусных заболеваний винограда изучены слабо, а сведения о вирусных заболеваниях винограда в соседних Среднеазиатских странах весьма скудны. В 1988–1995 гг. Н.А. Абдурахмоновым [3] было проведено визуальное обследование насаждений во всех зонах промышленного виноградарства Таджикистана. В ходе обследований визуально выявлены симптомы, характерные для вирусных заболеваний: короткоузлие, инфекционный хлороз, прижильковая мозаика, скручивание листьев, мраморность, некроз жилок, энация и крапчатость.

Вирус короткоузлие винограда (*Grapevine fanleaf virus (GFLV)*) распространен повсеместно во всех зонах виноградарства республики [3]. От 6 до 17 % кустов сорта Тайфи розовый были поражены этим вирусом; сорта Кишмиш черный – 8–14 %. У сортов Обак таджикский и Хусайни белый зараженность кустов составляла 87 %. Менее поражены сорта Джаус, Караджанджол и Анзоб. Виноград, пораженный вирусом короткоузлие, характеризуется большим разнообразием симптомов. По мнению Маринеску [4], изменчивость симптомов является следствием различной патогенности штаммов вируса, сортовой реакции на вирусные инфекции и влияние окружающей среды.

Вирус короткоузлия винограда относится к группе NEPO-вирусов. Пораженные кусты отличаются подавленным ростом. Побеги на таких кустах тонкие, с короткими междоузлиями, на которых можно обнаружить двойные узлы, превращение усика в побег, дихотомическое ветвление, ремневидность, обильные пасынки. Листья мелкие, деформированные, с заостренными зубчиками и широко открытыми черешковыми выемками. Вирус передается нематодами *Xiphinema index* и *X. italiae*. Передача на большие расстояния проходит с посадочным материалом. Растения – хозяева вируса в дикой природе не установлены [5].

Скручивание листьев обнаружено на сортах Саперави, Кишмиш, черный, Гузаль-кара и во всех зонах виноградарства Таджикистана. Степень заражения сортов в среднем составляет 14 %, но на некоторых насаждениях она иногда достигает 50 %. Болезнь снижает урожай с куста на 30–46 %. Качество оставшегося урожая хуже на больных кустах за счет уменьшения интенсивности окраски ягод и их сахаристости [3].

Скручивание листьев винограда (*grapevine leafroll virus (GLRaV)*) Closteroviruses. Существует несколько типов частиц, ассоциированных с этим заболеванием: GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4 и др. Симптомы заболевания в виде скручивания листьев краями вниз, начиная от основания побегов, проявляются в августе и прогрессируют до конца вегетационного периода. У сортов с красными ягодами вирус вызывает преждевременное покраснение листовых пластинок, за исключением узкой полосы вдоль главных жилок, а у сортов со светлоокрашенными ягодами – появление легкого хлороза. Подвойные сорта винограда поражаются вирусом скручивания листьев в латентной форме, что в значительной степени способствует распространению болезни в зоне привитого виноградарства. Болезнь снижает урожай на 10–40 %, уменьшает размер гроздей, число их на куст и качество ягод, постепенно уменьшает размер куста. Плоды с пораженных кустов содержат меньше сахара на 25–50 %, характеризуются уменьшением пигментации ягод красных сортов. Вирус снижает морозостойкость зараженных кустов [5].

Крапчатость винограда выявлена Б.Н. Милкусом [3]. Это заболевание обнаружено в Молдавии, Болгарии, Таджикистане [3, 6]. Симптомы заболевания проявляются в конце лета в виде мелких желтых крапинок, разбросанных по поверхности листьев. Желтые пятна различной формы и величины вначале появляются на нижних листьях побега. В дальнейшем симптомы распространяются на большую часть листовой пластинки, поэтому количество пятен на листьях и самих листьев с симптомами варьирует. В Таджикистане болезнь встречается на сорте Ркацители, снижая урожай на 10–40 % [3].

Прожилковая мозаика выявлена на сортах Кишмиш хишрау, Обак таджикский, Карджанджал, Анзоб, Нимранг, и др. Во всех районах виноградарства Таджикистана заражение отдельных сортов достигает 26 % [3].

Смешанная вирусная инфекция на винограде представляет собой довольно частое явление во многих виноградарских странах мира. Она выявляется примерно в 10 % случаев при тестировании латентного поражения вирусами. Наиболее часто выявляется комплексное поражение различными серотипами вируса скручивания листьев, одновременное поражение вирусом скручивания листьев и вирусом мраморности, вирусом скручивания листьев и вирусом А винограда, реже – вирусом скручивания листьев и вирусом короткоузлия винограда [7, 8].

Единственными эффективными способами борьбы с болезнями винограда вирусной этиологии в настоящее время признаны система фитосанитарного отбора и оздоровление в культуре *in vitro*. Фитосанитарный отбор основан на выделении безвирусных растений, их тиражировании для получения безвирусного посадочного материала. Оздоровление применяется в случае отсутствия здоровых растений в естественных насаждениях, при этом зараженные вирусами растения освобождают от патогенов с использованием термотерапии или хемотерапии и культуры апикальных меристем *in vitro*. Полученные здоровые растения используют в качестве базовых, для дальнейшего размножения.

Целью исследований являлась оценка распространенности вирусов винограда в насаждениях различных регионов Таджикистана методом иммуноферментного анализа.

МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ зараженности сортов винограда вирусными заболеваниями проведен с использованием иммуноферментного анализа: GLRaV-2 и GFkV определяли TAS-ELISA-тестом, остальные вирусы (GVA, GLRaV-1, GLRaV-3, GFLV, RRV, SLRV, TBRV, ArMV) – DAS-ELISA-тестом. Анализы проводили с использованием реактивов и методических указаний фирмы Sediag. Положительными считали образцы, значение оптической плотности которых превышало оптическую плотность отрицательного контроля в 1,5 раза ($A_o/A_k > 1,5$). Для исследований отбирали листья в первую очередь с визуальными симптомами, поврежденные вредителями, морфологически аномальные. При отсутствии симптомов листья отбирали с разных сторон лозы со средней части побегов. Образцы помещали в индивидуальные пластиковые пакеты и хранили не более 7 дней при температуре +4 °С. ИФА проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства».

Оценена зараженность 35 сортов винограда, произрастающих на территории Таджикистана.

Сорта винограда Мугчалони, Исписор, Сарвар, Чиялки ленинабадский, Аушон ранний, Жемчуг Саба взяты из коллекционного участка филиала Института садоводства и овощеводства им. Мичурина Таджикской академии сельскохозяйственных наук, Согдийская область, район Б. Гафурова, джамоат Овчи Калача, городок Мичурина (регион 1).

Сорта винограда Анзоб, Кишмиш Согдиана, Чиялки белый, Чиялки красный, Кишмиш сафед круглый, Кишмиш черный, Кишмиш Хишрау, Кишмиш Иртышар, Джаус черный, Думи рубох, Кишмиш Дуоба, Гиссарский ранний, Нимранг, Пешпазак и Бобо Зокир взяты из коллекционного участка филиала Института садоводства и овощеводства им. Мичурина, Согдийская область, Истаравшанский район (регион 2).

Сорта винограда Кишмиш Нилуфар, Нухурский крупный, Зебо, Кишмиш адиси розовый и Сангвор взяты из коллекционного участка «Навбахор» Института садоводства и овощеводства Таджикской академии сельскохозяйственных наук, район Рудаки (регион 3).

Сорта винограда Регарский ранний, Шохона и Победа взяты из фермерского хозяйства «Ватан 2008» (фермер Негматов Усмон). Район Турсунзода, участок Янгибог (регион 4).

Сорта винограда Гиссарский ранний, Тайфи розовый и Шахритузский черный взяты из плододопитомнического хозяйства им. М. Турсунзаде Шахринавского района (регион 5).

Сорта винограда Ризамат, Сохиби и Зариф взяты из частной коллекции (Р.Ю. Каландаров) района Рудаки (регион 6).

Регионы 1 и 2 расположены в Согдийской области; регионы 3–6 расположены в Гиссарской долине.

Все перечисленные выше сорта винограда хранятся также в коллекции Центра биотехнологии Таджикского национального университета.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сорта винограда были проверены на зараженность следующими вирусами: GVA – вирус А винограда, GLRaV-1 – вирус скручивания листьев винограда 1, GLRaV-2 – вирус скручивания листьев винограда 2, GLRaV-3 – вирус скручивания листьев винограда 3, GFkV – вирус пятнистости винограда, GFLV – вирус короткоузлия винограда, SLRV – вирус латентной кольцевой пятнистости земляники, RRV (RpRSV, RRSV) – вирус кольцевой пятнистости малины, TBRV – вирус черной кольчатости томата и ArMV – вирус мозаики арабис.

Результаты иммуноферментного тестирования 35 сортов винограда на наличие вирусной инфекции (10 вирусов) представлены в таблице.

Методом иммуноферментного анализа на исследованных сортах винограда диагностированы вирусы: GVA, GLRaV-2, GLRaV-3, GFLV, RRV и установлено отсутствие GLRaV-1, GFkV, SLRV, TBRV, ArMV.

Таблица – Результаты иммуноферментного тестирования сортов винограда на наличие вирусной инфекции (исходные черенки)

Регион выращивания	Сорт	Ао/Ак									
		GVA	GLRaV-1	GLRaV-2	GLRaV-3	GFKV	GFLV	SLRV	RRV	TBRV	ArMV
Регион 1	Мугчалони (2015 г.)	1,19	1,04	1,20	1,01	1,07	0,98	0,99	0,95	0,89	1,09
Регион 1	Мугчалони (2016 г.)	1,18	1,03	1,03	1,66	нт*	нт	1,08	нт	нт	нт
Регион 1	Исписор	1,01	0,99	1,01	1,29	нт	нт	1,05	нт	нт	нт
Регион 1	Сарвар	1,21	1,05	1,05	1,21	нт	нт	1,00	нт	нт	нт
Регион 1	Чилиаки ленинабадский	1,08	1,00	0,99	1,34	нт	нт	1,04	нт	нт	нт
Регион 1	Аушон ранний	1,18	1,06	1,02	1,15	нт	нт	0,97	нт	нт	нт
Регион 1	Жемчуг Саба	1,22	1,01	0,99	1,31	нт	нт	1,07	нт	нт	нт
Регион 2	Анзоб (2015 г.)	1,08	1,10	1,17	1,00	0,96	1,00	1,01	1,63	0,95	1,01
Регион 2	Анзоб (2016 г.)	0,98	0,97	0,93	1,52	нт	нт	0,99	нт	нт	нт
Регион 2	Кишмиш Согдиана	1,29	1,30	1,31	1,07	1,07	1,06	1,02	0,99	0,87	1,01
Регион 2	Чилиаки белый	1,35	1,06	1,15	1,00	0,98	0,98	1,02	0,96	0,96	1,04
Регион 2	Чилиаки красный	1,40	1,06	1,11	1,03	1,08	1,03	0,99	0,96	0,90	1,02
Регион 2	Кишмиш сафед круглый	1,24	1,14	1,18	1,12	1,06	1,01	0,96	1,06	0,95	1,02
Регион 2	Кишмиш черный	1,23	1,10	1,19	1,06	1,07	1,03	0,97	1,61	1,03	1,05
Регион 2	Кишмиш Хишрау (2015 г.)	1,41	1,13	1,24	1,03	1,11	1,05	0,98	0,95	0,87	1,01
Регион 2	Кишмиш Хишрау (2016 г.)	1,03	1,04	0,99	1,31	нт	нт	1,02	нт	нт	нт
Регион 2	Кишмиш Иртышар	1,31	1,28	1,66	1,13	1,08	14,39	1,03	0,95	0,95	1,02
Регион 2	Джаус черный	1,33	1,09	1,21	1,02	1,06	0,98	0,97	0,97	1,01	1,08
Регион 2	Думи рубох	1,29	1,18	1,29	1,12	1,02	1,02	0,98	0,97	0,86	1,00
Регион 2	Кишмиш Дуоба (2015 г.)	1,43	1,07	1,18	1,03	1,01	1,19	1,02	1,02	0,89	1,01
Регион 2	Кишмиш Дуоба (2016 г.)	1,10	1,02	1,04	0,91	нт	нт	1,03	нт	нт	нт
Регион 2	Гиссарский ранний	1,19	1,03	1,13	0,99	0,98	0,98	1,02	0,96	0,88	1,05
Регион 2	Нимранг	1,02	0,99	1,03	1,26	нт	нт	1,09	нт	нт	нт
Регион 2	Пешпазак	4,22	1,00	1,10	1,43	нт	нт	1,06	нт	нт	нт
Регион 2	Бобо Зокир	1,14	1,05	1,00	0,97	нт	нт	0,98	нт	нт	нт
Регион 3	Кишмиш Нилуфар	1,19	1,05	1,04	1,34	нт	нт	1,04	нт	нт	нт
Регион 3	Нухурский крупный	1,22	1,08	1,10	1,38	нт	нт	1,06	нт	нт	нт
Регион 3	Зебо	1,03	1,00	0,98	1,55	нт	нт	1,17	нт	нт	нт
Регион 3	Кишмиш адиси розовый	1,14	1,00	0,98	1,81	нт	нт	1,13	нт	нт	нт
Регион 3	Сангвор	0,99	1,03	0,98	1,43	нт	нт	0,98	нт	нт	нт
Регион 4	Регарский ранний	1,05	0,99	1,05	1,2	нт	нт	1,00	нт	нт	нт
Регион 4	Шохона	1,01	1,02	1,06	1,50	нт	нт	0,99	нт	нт	нт
Регион 4	Победа	1,25	1,00	1,02	1,72	нт	нт	1,06	нт	нт	нт
Регион 5	Шахритузский черный	0,97	1,03	1,01	1,37	нт	нт	1,02	нт	нт	нт
Регион 5	Гиссарский ранний	1,02	1,01	0,94	1,21	нт	нт	1,01	нт	нт	нт
Регион 5	Тайфи розовый	1,05	1,04	0,96	1,47	нт	нт	1,06	нт	нт	нт
Регион 6	Ризамат	1,04	0,99	0,96	1,06	нт	нт	1,07	нт	нт	нт
Регион 6	Сохиби	1,10	1,01	0,98	1,56	нт	нт	1,06	нт	нт	нт
Регион 6	Зариф	1,09	1,00	0,99	0,97	нт	нт	0,98	нт	нт	нт

Примечание: нт* – не тестировали.

Вирус винограда А (GVA) диагностирован у сорта Пешпазак (Ао/Ак = 4,22). Установлено, что сорт Кишмиш Иртышар поражен вирусом короткоузлия (GFLV). Оптическая плотность образца превышала оптическую плотность отрицательного контроля более чем в 14 раз (Ао/Ак = 14,39). Этот же сорт поражен (Ао/Ак = 1,66) вирусом скручивания листьев винограда (GLRaV-2).

Наибольшее количество растений сортов винограда поражено вирусом GLRaV-3 – Мугчалони (Ао/Ак = 1,66), Зебо (Ао/Ак = 1,55), Кишмиш адиси розовый (Ао/Ак = 1,81), Победа (Ао/Ак = 1,72), Сохиби (Ао/Ак = 1,56), Анзоб (Ао/Ак = 1,52).

Сорта Анзоб и Кишмиш черный поражены (превышение оптической плотности образца над оптической плотностью отрицательного контроля составляет 1,63 и 1,61 соответственно) виру-

сом кольцевой пятнистости малины (RRV). Ранее этот вирус в Таджикистане визуально не диагностировался.

В регионах 1 и 2, расположенных в Согдийской области, идентифицированы вирусы GVA, GLRaV-2, GLRaV-3, RRV, GFLV.

В регионах 3, 4 и 6, расположенных в Гиссарской долине, выделены растения с вирусами GLRaV-3.

В хозяйстве им. М. Турсунзаде Шахринавского района (5-й регион) растений, пораженных вирусами, не выявлено.

Сорта, свободные от протестированных вирусов, могут быть использованы для размножения и получения свободного от вирусов посадочного материала.

ВЫВОДЫ

1. Впервые в Таджикистане проведен анализ распространенности вирусных заболеваний винограда методом иммуноферментного анализа (DAS-ELISA-тест и TAS-ELISA-тест).

2. На сортах винограда диагностированы вирусы: GVA, GLRaV-2, GLRaV-3, GFLV, RRV и установлено отсутствие GLRaV-1, GFkV, SLRV, TBRV, ArMV.

3. Наличие вирусов отмечено на 9 сортах винограда: Пешпазак (GVA), Кишмиш Иртышар (GFLV, GLRaV-2), Анзоб (GLRaV-3, RRV), Кишмиш черный (RRV), Мугчалони (GLRaV-3), Зебо (GLRaV-3), Кишмиш адиси розовый (GLRaV-3), Победа (GLRaV-3), Сохиби (GLRaV-3).

4. На двух виноградниках, расположенных в Согдийской области, идентифицированы вирусы GVA, GLRaV-2, GLRaV-3, RRV, GFLV. На трех виноградниках, расположенных в Гиссарской долине, выделены растения с вирусом GLRaV-3.

5. В хозяйстве им. М. Турсунзаде Шахринавского района (Гиссарская долина) растений, пораженных вирусами, не выявлено.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Вирусные болезни винограда // Виноградарство и виноделие [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://sortov.net/bolezni-i-vrediteli/virusnye-bolezni-vinograda-podrobnee.html>. – Дата доступа: 14.03.2017.
2. Бондарчук, В.В. Вирусные заболевания винограда (распространение, вредоносность, диагностика и меры борьбы) / В.В. Бондарчук // Все о винограде – виноградарство, сорта винограда, виноделие [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://vinograd.info/info/raznoe/virusnye-zabolevaniya-vinograda.html>. – Дата доступа: 14.03.2017.
3. Абдурахмонов, Н.А. Вирусные заболевания и бактериальный рак виноградного куста в условиях Таджикистана и способ борьбы с ними / Н.А. Абдурахмонов; под ред. Х.Х. Каримова. – Душанбе, 1997. – С. 131.
4. Маринеску, В.Г. Мраморность винограда / В.Г. Маринеску, Е.З. Земчик, Т.Д. Вердеревская // Вирусные заболевания культурных растений Молдавии / Акад. наук Молд. ССР, Отд. генетики растений; ред.: Н.Н. Балашова [и др.]. – Кишинев, 1984. – С. 106–114.
5. Методика диагностики основных вирусных инфекций плодовых и ягодных культур / Н.В. Кухарчик [и др.] // М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, НАН Беларуси, РУП «НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству», РУП «Институт плодоводства». – Минск: А.Н. Вараксин, 2015. – 32 с.
6. Вердеревская, Т.Д. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда / Т.Д. Вердеревская, В.Г. Маринеску; отв. ред. Г.А. Патерило. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 311 с.
7. Савченко, А.Д. Виноградарство в Таджикистане / А.Д. Савченко, З.А. Имамкулова // Защита и карантин растений. – 2008. – № 5. – С. 33–34.
8. Лосева, Д.Ю. Комплексная вирусная инфекция при поражении скручиванием листьев винограда / Д.Ю. Лосева, Н.А. Мулюкина // Виноградарство и виноделие. – 2011. – Т. 41, № 1. – С. 36–37.

ANALYSIS OF INFECTION OF GRAPE BY VIRAL DISEASES IN TAJIKISTAN

H.I. BOBODGANOVA, N.V. KUKHARCHIK, E.V. KOLBANOVA, T.A. KRASINSKAYA

Summary

For the first time in Tajikistan the analysis of prevalence of grape viral diseases was carried out by enzyme immunoassay (DAS-ELISA and TAS-ELISA). The following viruses have been found in grape cultivars: GVA, GLRaV-2, GLRaV-3, GFLV, RRV. Viruses GLRaV-1, GFkV, SLRV, TBRV, ArMV were absent in grapes cultivars. Viruses were found in 9 grape cultivars ('Peshpazak', 'Kishmish Irtyshar', 'Anzob', 'Kishmish Cherny', 'Mugchaloni', 'Zebo', 'Kishmish adisi rozovy', 'Pobeda', 'Sokhibi') of 35 and in 5 vineyards of 6 surveyed.

Keywords: grape, diagnostics, viruses, enzyme immunoassay, Tajikistan.

Дата поступления статьи в редакцию 12.05.2017