

УДК 634.725:631.53:581.143.6

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕГЛАМЕНТ ПРОИЗВОДСТВА ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА КРЫЖОВНИКА*

Е.В. Колбанова, Н.В. Кухарчик

РУП «Институт плодоводства»,

ул. Ковалева, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,

e-mail: kolbanova@tut.by

РЕЗЮМЕ

В технологии отражены этапы производства оздоровленного посадочного материала крыжовника, включающие в себя отбор и оценку исходных растений, тестирование исходных растений на наличие или отсутствие сокопереносимых вирусов с использованием иммуноферментного анализа (DAS-ELISA-тест), размножение исходных растений крыжовника в культуре *in vitro* (введение в стерильную культуру, питательные среды, микроразмножение, укоренение растений-регенерантов, адаптация пробирочных растений в нестерильных условиях), содержание и размножение базовых и маточных растений крыжовника. Использование разработанной технологии позволяет получать оздоровленный посадочный материал крыжовника, отличающийся высоким качеством и соответствующий современным требованиям, класса «А» категории супер-суперэлита (ССЭ), суперэлита (СЭ), элита и 1-я репродукция; класса «Б» категории элита и 1-я репродукция.

Ключевые слова: крыжовник, вирусные заболевания, DAS-ELISA-тест, размножение *in vitro*, культура тканей, стерилизация эксплантов, адаптация, базовые и маточные растения, Беларусь.

СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА КРЫЖОВНИКА

1. Отбор по помологическим признакам исходных растений сортов, включенных в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь.

2. Оценка выбранных исходных растений по отсутствию визуальных симптомов заражения всеми группами патогенных организмов (грибные, вирусные, вирусоподобные заболевания и вредители).

3. Тестирование исходных растений на наличие вирусов, вирусоподобных агентов в соответствии со стандартами Республики Беларусь для классов «А» и «Б» [1]. В случае отсутствия таких заболеваний, присвоение исходным растениям статуса базовое растение (Nuclear stock, супер-суперэлита).

4. При отсутствии здоровых растений среди исходных растений – освобождение их от патогенов методами культуры *in vitro*, термотерапии, хемотерапии и их комбинирования с обязательным повторным тестированием. В случае отсутствия перечисленных заболеваний при повторном тестировании, присвоение исходным растениям статуса базовое растение (Nuclear stock, супер-суперэлита).

*Рекомендован к публикации Учёным советом РУП «Институт плодоводства», протокол № 10 от 01.11.2013.

5. Содержание базовых растений в условиях, исключающих реинфицирование воздушными или почвенными векторами переноса вирусов в закрытом грунте.

6. Ретестирование базовых растений, один раз в 3 года.

7. Размножение базовых растений вегетативным способом и получение маточных растений (Propagation stock, суперэлита).

8. Содержание маточных растений в условиях, исключающих реинфицирование воздушными или почвенными векторами переноса вирусов в открытом грунте.

9. Производство вегетативным способом элитного посадочного материала классов «А» и «Б».

10. Производство вегетативным способом посадочного материала 1-й репродукции классов «А» и «Б».

Этапы 1-7 проводятся в специализированных лабораториях научно-исследовательских учреждениях по плодоводству, этапы 8–9 в научно-исследовательских учреждениях, базовых питомниках. Производство посадочного материала 1-й репродукции классов «А» и «Б» осуществляется в специализированных питомниках, имеющих соответствующий паспорт.

ОТБОР И ОЦЕНКА ИСХОДНЫХ РАСТЕНИЙ

Отбор и выделение исходных растений крыжовника по помологическим признакам проводится селекционером или помологом. Визуальная фитосанитарная оценка осуществляется вирусологом методом маршрутных обследований насаждений. Обследования проводятся в период распускания листьев – начала цветения для выявления НЕПО-вирусов и в период активного роста растений (конец мая и начало июня) для выявления вируса огуречной мозаики и окаймления жилок крыжовника путём покустных осмотров с регистрацией симптомов вирусных заболеваний. Со всех исходных кустов отбираются листья для дальнейшего тестирования на наличие сокопереносимых вирусов методом иммуноферментного анализа (DAS-ELISA-теста). Растения крыжовника также должны быть свободны от грибных заболеваний и вредителей в соответствии со стандартами на посадочный материал.

Вирус окаймления жилок крыжовника (*Gooseberry vein-banding virus, GVBV*). Относится к роду *Badnavirus*. Наиболее типичным диагностическим признаком считается появление бледно-желтого окаймления жилок листа. В дальнейшем листья недоразвиваются и приобретают морщинистость. Это вирусное заболевание отмечается на молодых листьях, распускающихся весной, когда вся сетка жилок может быть окаймлена. На листьях, развившихся в период интенсивного роста, могут быть поражены только отдельные жилки или короткие участки главных жилок (рисунок 1). Поэтому начало весны, когда распускаются первые листья, – лучшее время для обследования, и кусты ещё не поражены тлей. *Векторы заражения:* вирус переносится четырьмя видами тлей, искусственно передаётся при прививке. Диагностируется путём тестирования на растениях-индикаторах, высокочувствительных к вирусу (*R. Rubrum* (Jonkheer van Tets), gooseberry clones «Leveller» или B1385/81) [2, 3].

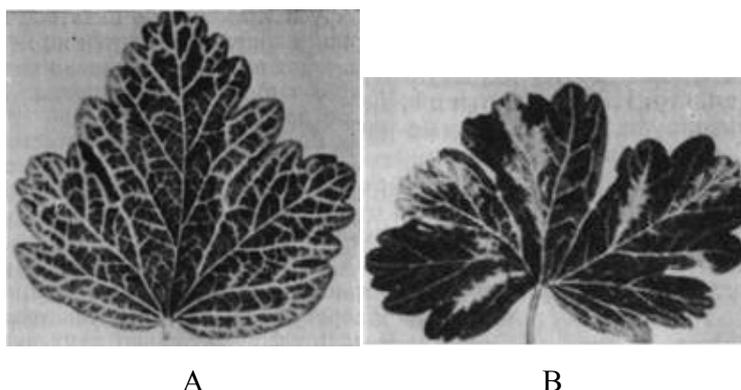


Рисунок 1 – Окаймление жилок крыжовника. Лист, сформировавшийся весной (А) и в середине лета (В).

Методом DAS-ELISA-теста определяется наличие/отсутствие следующих сокопереносимых вирусов:

1. **Вирус огуречной мозаики (*Cucumber mosaic virus, CMV*)**. Относится к роду *Cuscutovirus*. Частицы изометрические, около 30 нм в диаметре. Проявляется в виде зеленой крапчатости, хлоротической пятнистости, линейного рисунка, деформации листьев. *Векторы заражения:* вирус переносится многими видами тлей. Диагностируется с помощью ELISA-теста, легко определяется механической инокуляцией сока на многие травянистые растения-индикаторы [4, 5].

2. **Вирус кольцевой пятнистости томата (*Tomato ringspot virus, TomRSV*)**, **вирус чёрной кольчатости томата (*Tomato black virus, TBRV*)**, **вирус кольцевой пятнистости малины (*Raspberry ringspot virus, RRV*)**, **вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (*Strawberry latent ringspot virus, SLRV*)**, **вирус мозаики арабиса (*Arabis mosaic virus, ArMV*)**. Все эти вирусы относятся к роду *Nepovirus*. Частицы изометрические, около 28-30 нм в диаметре. Симптомы заражения – хлоротическая крапчатость и/или пятнистость, кольцевая пятнистость, некротические пятна на листьях, деформирование листьев, задержка роста растений. Наиболее ярко симптомы проявляются весной, в начале активного роста растений, летом они становятся менее заметны. *Векторы заражения:* вирусы распространяются нематодами *Xiphinema* и *Longidorus*, семенами, многие пылью и при вегетативном размножении инфицированных растений. Диагностируются с помощью ELISA-теста и тестирования на травянистых растениях-индикаторах (*Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Cucumis sativus*, *Petunia hybrida*, *Phaseolus vulgaris*) [6-12].

Тестирование исходных растений на наличие/отсутствие сокопереносимых вирусов с использованием иммуноферментного анализа (DAS-ELISA-тест)

Порядок отбора растительного материала:

- проба должна быть собрана с одного растения, обозначенного этикеткой с номером так, чтобы в дальнейшем возможна была индивидуальная идентификация растения. Пробы собираются в день проведения анализа либо за сутки до анализа при условии хранения отобранной пробы в индивидуальном пластиковом пакете при +4...+6 °С (в холодильнике).

- с одного растения (куста) отбирают 4-6 листьев с разных сторон со средней части побегов. Однако, если на растении видны следы тли, наблюдаются хлоротические или некротические пятна, деформации листьев, прежде всего, следует собрать пробы с поражённых частей растения.

Проведение DAS-ELISA-теста осуществляется по следующей схеме (в деталях следует придерживаться рекомендаций производителя наборов для тестирования вирусов):

1. *Абсорбция антител.* Специфические поликлональные антитела, разведенные в покровном буфере в соотношении, рекомендованном производителем (обычно 1:100), адсорбируют на поверхности, инкубируя микроплааты, обычно в течение 2 часов при +37 °С. Затем проводят трёхкратную промывку буфером при помощи вошера.

2. *Внесение экстракта тестируемых образцов.* В лунки микроплаат вносят экстракт каждого тестируемого образца (по две лунки на образец), полученный в результате гомогенизирования растительных тканей образца в экстрагирующем буфере в соотношении 1:10 (или в ином соотношении, рекомендованном производителем наборов для тестирования). Микроплааты инкубируют в течение 16-18 часов при +4...+6 °С (в холодильнике). Затем осуществляют трёхкратную промывку с помощью вошера. В результате антигены из экстракта присоединяются к адсорбированным антителам.

3. *Конъюгация.* В лунки микроплаат вносят поликлональные антитела, связанные с энзимом, разведенные в конъюгатном буфере обычно в соотношении, рекомендованном производителем (обычно 1:100). Микроплааты инкубируют обычно в течение 2 часов при +37 °С, затем осуществляют трёхкратную промывку с помощью вошера. В результате в лунке образуется комплекс «антитело – антиген – антитело».

4. *Субстратная реакция.* В каждую лунку вносят р-нитрофенилфосфат, растворённый в субстратном буфере. Микроплааты инкубируют в течение 15 мин при +37 °С и затем при комнатной температуре в темноте до появления светло-жёлтой окраски.

Регистрация результатов проводится на автоматическом ридере при длине волны 405 нм (A_{405}). Положительными (т. е. инфицированными) считают образцы, значение оптической плотности которых (A_o) на 100 % и более превышает среднюю оптическую плотность отрицательного контроля (A_k): $A_o \geq A_k + 100\%$.

Свободными от вирусов считаются образцы, для которых $A_o < A_k + 100\%$. Для каждой микроплааты и каждого тестируемого вируса устанавливается значение оптической плотности отрицательного и положительного контролей.

Результаты тестирования считают достоверными, если оптическая плотность положительного контроля превышает оптическую плотность отрицательного контроля не менее чем в 10 раз.

РАЗМНОЖЕНИЕ ИСХОДНЫХ РАСТЕНИЙ КРЫЖОВНИКА В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Организация работ по микроразмножению

Необходимым условием при выполнении работ по микроразмножению является соблюдение строгой стерильности. Стерилизация инструментов, посуды для введения в культуру *in vitro* проводится в течение 2 ч при +140...+160 °С. Во время работы в ламинар-боксе инструменты опускаются в пробирку с 96%-ным этанолом и обжигаются в пламени спиртовки после каждой манипуляции с растительной тканью. Перед началом работы ламинар-бокс протирается этиловым спиртом и облучается ультрафиолетовой лампой в течение 40-60 минут.

Для удобства в работе и ускорения процесса приготовления питательной среды целесообразно заранее приготовить концентрированные растворы макро- и микросолей (таблица 1). Растворы регуляторов роста и витаминов готовятся из расчёта 1 мг вещества в 1 мл раствора. Раствор хелата железа готовится путём растворения при нагревании в дистиллированной воде и хранится в склянке из тёмного стекла. Все приготовленные растворы хранятся в холодильнике при 2-4 °С в течение 4-6 недель.

Таблица 1 – Состав маточных растворов для питательной среды Мурасиге и Скуга (MS)

Исходный компонент		Количество вещества в 100 мл маточного раствора, мг	Объём маточного раствора на 1 л среды, мл
Макросоли	Нитрат аммония (NH_4NO_3)	16500	10
	Нитрат калия (KNO_3)	19000	10
	Гептагидрат сульфата магний ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	3700	10
	Дигидроортофосфат калий (KH_2PO_4)	1700	10
	Дигидрат хлорида кальция ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	4400	10
Хелат железа	Гептагидрат сульфата железа (II) ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	557	5
	Трилон Б ($\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	745	
Микросоли	Тетрагидрат сульфата марганца ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	2230	1
	Гептагидрат сульфата цинка ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	860	
	Ортоборная кислота (H_3BO_3)	620	
	Иодид калия (КJ)	83	
	Дигидрат молибдата натрия ($\text{Na}_2\text{MO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	25	
	Пентагидрат сульфата меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	2,5	
	Гексагидрат хлорида кобальта ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	2,5	

Стерилизация сред ведётся при давлении 0,8-1 атм. в течение 15 минут. Приготовленная среда используется в течение недели.

Условия культивирования растений *in vitro*: освещение 2,5-3 тыс. люкс, температура 21 ± 2 °С, фотопериод 16/8 часов. Длительность субкультивирования 4-5 недель. На этапе размножения растения-регенеранты культивируются в пробирках размером 20×20 мм с объёмом питательной среды 7-10 мл, на этапе введения – пробирки 15×15 мм и объём питательной среды 3-5 мл.

Введение в культуру *in vitro*

Для введения в культуру выбираются маточные растения с доказанной сортовой принадлежностью, визуально здоровые, а если таких нет, то согласно п. 4 на 1-й странице. Введение в культуру *in vitro* проводится в фазу полного покоя вегетативных почек (октябрь-ноябрь). Эксплантами служат верхушечные и пазушные почки (до 12-й почки по счёту сверху) однолетних одревесневших побегов.

Растительный материал предварительно обрабатывают: удаляют покровные чешуи, почки стерилизуют, выделяют меристему размером 1,0-1,5 мм с помощью бинокулярного микроскопа Olympus-SZ61 и специального набора инструментов. Для стерилизации можно использовать один из способов:

1-й способ

- 0,5%-ный раствор оксихома (нестерильно, с использованием мешалки) – 45 минут;

все остальные этапы проводятся стерильно, в ламинар-боксе

- 70%-ный раствор этанола – 1 минута;
- 33%-ный раствор перекиси водорода – 10 минут;
- промывка стерильной водой 1 раз – 5 минут.

Преимуществом использования перекиси водорода является: 1) минимальное время стерилизации в ламинар-боксе, так как отпадает необходимость продолжительной промывки стерильной водой из-за быстрого её разложения; 2) менее всего повреждает растительные ткани.

2-й способ

- ✓ 0,5%-ный раствор оксихома (нестерильно, с использованием мешалки) – 45 минут; все остальные этапы проводятся стерильно, в ламинар-боксе
- ✓ 70%-ный раствор этанола – 1 минута;
- ✓ 10%-ный раствор хлорамина – 20 минут;
- ✓ промывка стерильной водой 3 раза по 5 минут.

Питательные среды

Для культивирования крыжовника рекомендованы следующие модифицированные питательные среды MS с различным содержанием макро- и микросолей, дополненные биологически активными веществами в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 – Состав питательной среды для культивирования крыжовника

Исходный компонент	Объём маточного раствора на 1 л среды, мл					Среда для укоренения
	Среда для инициации культуры in vitro		Среда для размножения			
	I	II	I	II	III (элонгация)	
NH ₄ NO ₃			3,33	8	8	4
KNO ₃	3,33	5	3,33	8	8	4
MgSO ₄ ·7H ₂ O	10	10	10	8	8	4
KH ₂ PO ₄	10	10	10	8	8	4
CaCl ₂ ·2H ₂ O	10	10	10	8	8	4
Хелат железа	5	5	5	5	5	2,5
Микросоли	1	1	1	1	1	0,5
Витамин В ₁	0,1	0,1	0,4	0,4	0,4	0,4
Витамин В ₆	0,5	0,5	-	-	-	-
Витамин РР	0,5	0,5	-	-	-	-
Витамин С	1,0	1,0	-	-	-	-
Глицин	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Мезоинозит, мг/л	100	100	-	-	-	-
Бензиладенин (6-БА)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,1-0,2	-
Гибберелловая кислота (GA ₃)	-	-	-	-	0,3 и 0,5	-
Индолилмасляная (ИМК)	0,02	0,02			-	0,3
Глюкоза, г/л	20	20	-	-	-	-
Сахароза, г/л	-	-	-	-	-	20
Сахароза или глюкоза, г/л	-	-	20	20	20	-
Агар, г/л	4,6					
pH	5,6–5,7					

Микроразмножение

На начальном этапе микроразмножения (1-2-й пассажи) сортов крыжовника можно использовать как питательную среду MS, в которой содержание макросолей уменьшено на 20 % (вариант II, среда для размножения), так и питательную среду MS, в которой в три раза уменьшено только содержание нитрата аммония и калия (вариант I, среда для размножения). В качестве источника углеводов можно использовать как сахарозу, так и глюкозу (таблица 2).

Для крыжовника в культуре *in vitro* необходима посадка конгломератами, так как деление конгломерата во время пересадки на свежую питательную среду на отдельные микроробегии ведёт к задержке их роста и развития.

При культивировании крыжовника *in vitro* необходим дополнительный этап вытягивания микроробегов – элонгации, так как лучше всего укореняются растения-регенеранты высотой более 1,2-1,5 см. Для вытягивания конгломератов растений-регенерантов крыжовника подходит питательная среда MS, в которой содержание макросолей уменьшено на 20 % с добавлением GA₃ в концентрации 0,3 или 0,5 мг/л в сочетании с 6-БА (0,1-0,2 мг/л) (вариант III (элонгация), среда для размножения) (таблица 2).

При размножении сортов крыжовника в стерильной культуре следует учитывать сортовые особенности.

Укоренение растений-регенерантов крыжовника *in vitro*

Лучшей для укоренения сортов крыжовника является питательная среда, указанная в таблице 2.

Адаптация растений в нестерильных условиях

Растения-регенеранты после этапа ризогенеза *in vitro* лучше высаживать в кассеты объёмом 50 мл, заполненные ионообменным субстратом БИОНА-112. Субстрат БИОНА-112 представляет собой субстрат на основе катионита КУ-2 (H⁺) и анионита ЭДЭ-10П (ОН⁻) в соотношении 1:2,05, насыщенный различными макро- и микроэлементами в ионообменном виде.

Кассеты накрываются полиэтиленовой пленкой, чтобы создать условия повышенной влажности, до тех пор, пока они не начинают трогаться в рост. Полив производится дистиллированной водой. Через пять недель укоренившиеся растения в ионообменном субстрате пересаживаются в горшки с нестерильным торфяным субстратом «Флорабел-5» объёмом 500 мл. Субстрат «Флорабел-5» – это торф, насыщенный следующими элементами, мг/100 г: азот (N) – 130±40, фосфор (P₂O₅) – 130±40, калий (K₂O) – 170±50, рекомендован для выращивания овощных, декоративных культур и рассады. Значение рН водной вытяжки из торфяного субстрата – 7,7.

Условия адаптации: освещение 2,5-3 тыс. люкс, температура 20-22 °С, фотопериод 16/8 часов.

СОДЕРЖАНИЕ И РАЗМНОЖЕНИЕ БАЗОВЫХ И МАТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ

Базовые растения крыжовника выращиваются в защищенном грунте с закрытой корневой системой в условиях, исключающих реинфицирование воздушными или почвенными векторами переноса вирусов. Культивирование проводится в хорошо проветриваемых теплицах, закрытых от насекомых и клещей специальной сеткой с мелкой ячейкой (Fugafil saran N 400/230). В отсеки теплицы высаживаются растения, полученные непосредственно в культуре *in vitro* (ССЭ), без промежуточного вегетативного размножения *in vivo*.

Маточные растения крыжовника выращиваются в открытом грунте в условиях, исключающих реинфицирование воздушными или почвенными векторами переноса вирусов. Почва контролируется на отсутствие нематод. Проводятся мероприятия по защите базовых и маточных растений крыжовника против вредителей и болезней (таблица 3).

Таблица 3 – Система защитных мероприятий против вредителей и болезней в базовых и маточных насаждениях крыжовника

Срок проведения	Вредные организмы	Условия проведения защитных мероприятий	Препарат и норма расхода
До набухания почек (период покоя)	Зимующие стадии вредителей и болезней	Прореживание кустов с вырезкой на уровне почвы, удалением и сжиганием поражённых побегов	
Набухание и распускание почек	Гусеницы крыжовниковой пяденицы	Обработка одним из инсектицидов при температуре воздуха +13...+15 °С	актеллик, к.э. – 1,5 л/га; фуфанон, к.э. – 1-2,6 л/га; новактион, ВЭ – 1,3 л/га; кинмикс, к.э. – 0,24-0,48 л/га
Период бутонизации	Гусеницы смородинной, полосатой ночной и крыжовниковой пядениц, листовёртки, тля, пилильщики, крыжовниковая огнёвка	Обработка одним из инсектицидов	актеллик, к.э. – 1,5 л/га; фуфанон, к.э. – 1-2,6 л/га; новактион, ВЭ – 1,3 л/га; кинмикс, к.э. – 0,24-0,48 л/га
	Антракноз, септориоз, американская мучнистая роса	При поражении кустов болезнями в предыдущем году добавить к инсектициду фунгицид	каратан ЛЦ, к.э. – 0,5 л/га; титул, ККР – 0,25 л/га
Сразу после цветения, и далее через 2 недели в случае необходимости	Гусеницы смородинной, полосатой ночной и крыжовниковой пядениц, листовёртки, тля, пилильщики, крыжовниковая огнёвка	Обработка одним из инсектицидов	актеллик, к.э. – 1,5 л/га; фуфанон, к.э. – 1-2,6 л/га; новактион, ВЭ – 1,3 л/га; кинмикс, к.э. – 0,24-0,48 л/га
	Антракноз, септориоз, американская мучнистая роса	Обработка фунгицидом	каратан ЛЦ, к.э. – 0,5 л/га; титул, ККР – 0,25 л/га

Тестирование вирусных заболеваний для подтверждения статуса базовое или маточное растение проводится один раз в 3 года, в соответствии со стандартами Республики Беларусь для классов «А» и «Б». Тестирование проводится в мае–начале июня при температуре окружающей среды не более +25 °С. В случае выявления вирусных заболеваний при повторном тестировании, инфицированные растения удаляются.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В регламенте отражены этапы производства оздоровленного посадочного материала крыжовника районированных сортов (Северный капитан, Куршу Дзинтарс, Раволт, Машека, Малахит), включающие в себя отбор и оценку исходных растений, тестирование исходных растений на наличие или отсутствие сокопереносимых вирусов с использованием иммуноферментного анализа (DAS-ELISA-тест), размножение исходных растений в культуре *in vitro* (введение в стерильную культуру, питательные среды, микро-размножение, укоренение растений-регенерантов, адаптация пробирочных растений в нестерильных условиях), содержание и размножение базовых и маточных растений.

Процент жизнеспособности эксплантов крыжовника после стабилизации культуры *in vitro* составляет 62-100 % в зависимости от сорта. Коэффициент размножения в среднем за 1 пассаж – 5,4 и колеблется от 2,4 до 8,5 в зависимости от сорта и пассажа. Процент укоренения растений-регенерантов *in vitro* составляет 72-91 %, доля адаптированных растений *ex vitro* на субстрате БИОНА-112 – 42-74 %.

Использование разработанного регламента позволяет получать оздоровленный посадочный материал крыжовника, отличающийся высоким качеством и соответствующий современным требованиям, класса «А» категории супер-суперэлиты (ССЭ), суперэлиты (СЭ), элита и 1-я репродукция; класса «Б» категории элита и 1-я репродукция.

Литература

1. Саженьцы смородины черной, красной, белой и крыжовника. Технические условия: СТБ 1606-2006. – Введен 2006-05-01. – Минск: Госстандарт, 2006. – 9 с.
2. Adams, A.N. Gooseberry vein banding / A.N. Adams, A.F. Posnette // Virus diseases of small fruits; ed. by R.H. Converse. United States Department of Agriculture, Agriculture Handbook. – Washington, 1987. – № 631. – P.129-130.
3. Adams, A.N. Vein clearing and vein net disease of black currant / A.N. Adams, J.M. Thresh // Virus diseases of small fruits; ed. by R.H. Converse. United States Department of Agriculture, Agriculture Handbook. – Washington, 1987. – № 631. – P.137-138.
4. Francki, R.I.B. Cucumber mosaic virus / R.I.B. Francki, D.W. Mossop, T. Hatta // CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough. – 1979. – № 213.
5. Musil, M. Some properties of cucumber mosaic virus isolated in Czechoslovakia from *Ribes nigrum* L. / M. Musil, D. Rakus, V. Mucha // Biologia. – 1979. – Vol. 34, № 4. – P. 321-327.
6. Tomato ringspot nepovirus // European and Mediterranean Plant Protection Organization [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Tomato_ringspot_virus/TORSV0_ds.pdf. – Date of access: 20.01.2014.
7. Tomato black ring nepovirus // European and Mediterranean Plant Protection Organization [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Tomato_black_ring_virus/TORSV0_ds.pdf. – Date of access: 20.01.2014.
8. Raspberry ringspot nepovirus // European and Mediterranean Plant Protection Organization [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Raspberry_ringspot_virus/TORSV0_ds.pdf. – Date of access: 20.01.2014.

9. Arabis mosaic nepovirus // European and Mediterranean Plant Protection Organization [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Arabis_mosaic_virus/TORSV0_ds.pdf. – Date of access: 20.01.2014.

10. Strawberry latent ringspot nepovirus // European and Mediterranean Plant Protection Organization [Electronic resource]. – 1997. – Mode of access: http://www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Strawberry_laten_ringspot_virus/TORSV0_ds.pdf. – Date of access: 20.01.2014.

11. Murant, A.F. Nepoviruses / A.F. Murant // Plant virus infections; ed. by E. Kurstak. – Amsterdam, Netherlands: Elsevier North Holland Biomedical Press, 1981. – P. 197-238.

12. Taylor, C.E. Nematode Vectors of Plant Viruses / C.E. Taylor, D.J. Brown // CAB International. – Wallingford (GB), 1997. – P. 67-77.

PROCESS GUIDE FOR PRODUCTION OF GOOSEBERRY IMPROVED PLANTING STOCK

E.V. Kolbanova, N.V. Kukharchik

RESUME

The technology reflects the stages of a production of a gooseberry planting stock. They include selection and estimation of primary plants, testing of primary plants on presence or absence of juice borne viruses with the help of enzyme immune assay (DAS-ELISA-test), in vitro propagation of primary gooseberry plants (introduction in a sterile culture, nutritional media, micropropagation, rootage of plants-regenerants, adaptation of test tube plants in non sterile conditions), the content and propagation of basic and parent gooseberry plants. Using the developed technology allows receiving the improved gooseberry planting stock which is distinguished by high quality and corresponds to modern requirements. It is an A class one of the categories super-super elite, super elite, elite and the 1st reproduction and a B class one of the categories elite and the 1st reproduction.

Key words: gooseberry, virus diseases, DAS-ELISA-test, in vitro propagation, tissue culture, explants sterilization, adaptation, basic and parent plants, Belarus.

Дата поступления статьи в редакцию 06.03.2014