

УДК 634.1:632.38

ОЗДОРОВЛЕННЫЕ ОТ СИСТЕМНЫХ ПАТОГЕНОВ КОЛЛЕКЦИИ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР В БЕЛАРУСИ

Н.В. Кухарчик

РУП «Институт плодоводства»,

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

e-mail: Kychn Nataly@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты исследований 2012–2015 гг. по созданию в Республике Беларусь коллекции свободных от системных патогенов плодовых и ягодных культур. По состоянию на 2015 г. в РУП «Институт плодоводства» депонируются ССЭ растения 34 сортов яблони класса А (более 200 растений), 15 сортов груши (45 деревьев), 9 сортов вишни, 9 сортов черешни, 13 сортов сливы и 8 алычи крупноплодной (157 растений косточковых культур). ССЭ растения яблони, груши, сливы, алычи крупноплодной, вишни и черешни выращиваются в отделах селекции плодовых культур и питомниководства в открытом грунте; косточковых культур *in vitro* – в отделе биотехнологии.

Оздоровленный маточник земляники садовой составляет 20 сортов (более 2300 растений), смородины черной – 27 сортов, смородины красной и белой – 7, крыжовника – 8 сортов (465 растений).

Оздоровленные маточники клоновых подвоев (ССЭ класса А) имеются в культуре *in vitro*, защищенном и открытом грунте: 54-118, 62-396, ПБ-4, ММ 106, ВА-29, 2-31, S-1, ОВП-2, Измайловский, ВСЛ-2, GiSelA-5, Damil, ВВА-1, ВПК-1, ОД-2-3, 140-2.

По данным, полученным в 2012–2015 гг., в насаждениях яблони, груши и косточковых культур отмечено значительное снижение количества растений, пораженных вирусами, вирусные патогены на маточниках класса А земляники садовой, смородины красной и крыжовника не диагностированы.

Ключевые слова: Nuclear stock collection, плодовые культуры, ягодные культуры, вирусы, оздоровление, культура *in vitro*, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Базовые (ССЭ) коллекции, международное обозначение Nuclear stock collection, являются хранилищем здоровых, свободных от системных патогенов (вирусных, фитоплазменных, бактериальных, вирусоподобных), помологически апробированных клонов сортов плодовых и ягодных культур. Основу и наиболее интересную часть подобных коллекций составляют местные, уникальные сорта, перспективные гибриды и формы. Перед тем, как растения включаются в базовые коллекции, они подвергаются целому ряду фитосанитарных тестирований, полевых и лабораторных. Перечень тестируемых патогенов определяется, в первую очередь, законодательством страны, для которой используется коллекция, затем законодательствами стран, являющихся перспективным рынком экспорта посадочного материала. Европейские производители учитывают рекомендации Европейской и Средиземноморской организации по защите растений (ЕРРО).

Материал из Nuclear stock collection Швейцарии, например, реализуется в селекционные институты, маточные насаждения питомников страны, в плодоводческие

районы по всему миру [1, 2]. Количество растений каждого сорта, депонируемых в коллекции для каждой страны, определяется производственной необходимостью. Nuclear stock collection Швейцарии содержит около 334 сортов плодовых культур, которые выращиваются в двухслойной сетчатой теплице.

NATIONAL PROGRAM FOR CONTROLLING VIRUS DISEASES OF TEMPERATE FRUIT TREE CROPS (NRSP5) является единственной программой в Соединенных Штатах, и одна из немногих программ в мире, где создание свободных от вирусов растений плодовых культур осуществляется в промышленных масштабах. Коммерчески важные клоны этих культур получают из отечественных и зарубежных источников, в том числе из государственных и частных селекционных программ, определенных производителей и питомников. Когда все процедуры тестирования патогенов дают отрицательные результаты, растения присоединяются к рабочей коллекции NRSP5. Посредством прикладных и фундаментальных исследований, проводимых по NRSP5, усовершенствованные методы обнаружения патогенов сократили время тестирования новых сортов от 10 лет, на момент начала программы, до чуть более одного года в настоящее время. В рамках программы проводятся дальнейшие исследования по сокращению времени тестирования для быстрого удовлетворения изменяющихся условий рынка. Свободная от вирусов коллекция составляет более 17 тыс. растений 519 сортов и активно используется для исследований в университетах, федеральных научно-исследовательских учреждениях, хранилищах гермоплазмы, карантинных центрах, частных питомниках и коммерческих садах, расположенных в 17 штатах. Все зарубежные поступления посадочного материала проверяются в рамках программы на наличие системных патогенов. Так, среди 185 новых поступлений косточковых культур 14 %, зараженных вирусами (в том числе карантинным для США вирусом шарки сливы PPV), не были допущены в производственные посадки.

Создание банка оздоровленных растений на основе выделенных в результате фитосанитарной селекции и оздоровленных *in vitro* является важнейшим практическим результатом. Выделение безвирусных клонов, их поддержание в условиях минимальной вегетации *in vitro*, нормальной вегетации в открытом и защищенном грунте, и при необходимости их размножение и адаптация, позволяют значительно сократить период возобновления базовых оздоровленных растений и получения высококачественного посадочного материала в большом объеме для промышленного использования.

Увеличение объемов оздоровленного посадочного материала связывается, в основном, с ужесточением фитосанитарного контроля как внутри государств, так и при перемещении посадочного материала между государствами. Практика периодического фитосанитарного контроля насаждений, в первую очередь маточных, категорий Virus free и Virus tested, введенная во многих странах как обязательное карантинное мероприятие, так же служит для снижения общего уровня зараженности растений и реинфицирования насаждений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Порядок проведения фитосанитарных обследований, отбора проб для лабораторной диагностики, протоколы иммуноферментного и ПЦР анализа представлены в опубликованных ранее работах [5].

Для выделения и подтверждения статуса ССЭ базовых растений в маточно-черенковых насаждениях сортов плодовых и ягодных культур, форм клоновых подвоев плодовых культур осматривали и отбирали образцы с каждого растения индивидуально.

Для подтверждения статуса ССЭ базовых растений в маточно-черенковых насаждениях сортов ягодных культур (смородина черная, красная, белая, крыжовник) осматривали и отбирали образцы с каждого сорта растений (наименее здоровые):

- до 20 шт. – 50 %;
- от 21 до 100 шт. – 10 %;
- более 100 шт. – 2,5 %.

Для подтверждения статуса ССЭ базовых растений в отводковых маточниках клоновых подвоев плодовых культур, сортов малины, сортов крыжовника осматривали и отбирали образцы с каждой формы или сорта (наименее здоровые):

- до 0,1 га – 5,0 %;
- свыше 0,1 до 1,0 га – 1,5 %;
- свыше 1,0 га – 0,5 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основными способами формирования безвирусных коллекций являлись фитосанитарный отбор и последующее выделение здоровых растений из имеющихся насаждений, а также оздоровление от вирусов в культуре апикальных меристем, термотерапия, хемотерапия. Выбор того или иного метода формирования коллекций основывался на степени зараженности культур и сортов в условиях Беларуси. При возможности прямого выделения безвирусных растений у сортов плодовых культур, оздоровление не применялось. Так, растения класса А основных плодовых культур были выделены в насаждениях отдела селекции плодовых культур и отдела питомниководства.

По состоянию на 2015 г. в РУП «Институт плодоводства» депонируются **ССЭ растения сортов яблони класса А**, свободные от вирусов ACLSV, АрMV, ASGV, в количестве 34 сортов, более 200 растений (Дарунак – 23, Коваленковское – 6, Мечта – 8, Папировка – 2, Штрифель – 3, Слава победителям – 9, Имант – 4, Антей – 7, Сябрына – 4, Минское Белсад – 3, Пепинка золотистая – 4, Имрус – 3, Белана – 3, Заславское – 5, Вербнае – 5, Дыямент – 12, Зорка – 10, Топаз – 8, Чараўніца – 8, Редкрафт – 2, Редфри – 5, Коштеля – 2, Поспех – 15, Банановое – 3, Надзейны – 13, Память Сикоры – 3, Алесь – 9, Память Коваленко – 6, Память Сябаровой – 5, Белорусское сладкое – 8, Ауксис – 1, Красавіта – 2, Нававіта – 3, Сакавіта – 2); а также растения класса Б, свободные от вирусов АрMV, ASGV: Дарунак – 1, Коваленковское – 4, Елена – 9, Минское – 5, Мечта – 2, Папировка – 6, Штрифель – 1, Сябрына – 1, Имрус – 1, Белана – 10, Заславское – 1, Редкрафт – 3, Коштеля – 10, Антоновка – 5, Антоновка Белсад – 2 и др.

Необходимо отметить, что при тестировании насаждений яблони, в течение 1999–2004 гг., установлено, что вирус хлоротической пятнистости листьев яблони обнаружен в среднем у 59,32 % растений, вирус борозчатости яблони – у 15,38 %, встречаемость вируса мозаики яблони (АрMV) не превышала 3,50 %. По данным, полученным в 2012–2015 гг., ACLSV обнаружен в среднем у 25,66 % растений, ASGV – 0,75 %, АрMV – 0,38 %. Что обусловлено, в первую очередь, регулярно проводимым мониторингом насаждений и использованием для размножения экземпляров, свободных от вирусных патогенов.

Для **груши** в отделах селекции подовых культур и питомниководства имеется коллекция 15 сортов (45 деревьев), свободных от вируса хлоротической пятнистости листьев яблони класса А: Забава – 7, Нарядная Ефимова – 5, Память Яковлева – 3, Лагодная 4, Кудесница – 3, Ясачка – 3, Памяти Яковлева – 2, Юрате – 1, Десертная росошанская – 2, Белорусская поздняя – 1, Духмяная – 2, Чижовская – 2, Просто Мария – 3, Поздняя Белсад – 5, Сладкая из Млиева – 2. Из 49, протестированных в 2012 г.

маточных растений сортов груши, только 3 растения сорта Лагодная оказались инфицированы вирусом ACLSV (6,12 %). Зараженность насаждений в среднем по сортам в предыдущие годы исследований составляла 19,57 %.

Для **сливы и алычи крупноплодной** в отделах селекции подовых культур и питомниководства имеется коллекция из 21 сорта (57 растений сливы и 29 – алычи крупноплодной), свободных от вирусов PDV, PNRSV, PPV, ArMV, ACLSV, класса А: Пердригон, Стенли, Монт Роял, Кромань, Награда неманская, Виктория, Блюфри, Даликатная, Нарач, Венгерка белорусская, Чарадзеяка, Витебская поздняя, Венера, Лодва, Комета, Асалода, Сонейка, Найдена, Мара, Скороплодная, Витьба. При последнем тестировании маточных насаждений сливы и алычи было выявлено только 1 растение, пораженное вирусом некротической кольцевой пятнистости косточковых культур.

Для **вишни и черешни** в отделах селекции подовых культур и питомниководства коллекция состоит из 15 сортов (33 растения вишни и 38 – черешни), свободных от вирусов PDV, PNRSV, PPV, ArMV, ACLSV, CLRV, RRV, класса А: Новодворская, Сеянец №1, Жывица, Вянок, Гриот белорусский, Заранка, Наслаждение, Сюзаровская, Гронкавая, Медуница, Витязь, Соперница, Гасцинец, Народная, Северная. При последнем тестировании маточных насаждений вишни и черешни было выявлено 11 растений, пораженных вирусом некротической кольцевой пятнистости косточковых культур (15,5 %), остальные вирусы диагностированы не были.

Вторым способом получения безвирусных растений явилось оздоровление от вирусных патогенов с использованием культуры апикальных меристем и хемотерапии *in vitro*. Культура *in vitro* применялась при получении безвирусных клонов сортов вишни, сливы и ягодных культур и клоновых подвоев плодовых культур.

В культуре *in vitro* выращивают корнесобственные, свободные от 7 вирусов (PDV, PNRSV, CLRV, PPV, ArMV, ACLSV, RpRSV) растения-регенеранты 6 сортов вишни (Новодворская, Ласуха, Гриот белорусский, Ровесница, Ливенская, Вянок); а также 2 сорта сливы (Даликатная, Венгерка белорусская), 1 алычи (Комета), свободные от 5 вирусов (PDV, PNRSV, PPV, ArMV, ACLSV).

Для земляники садовой закладка ССЭ маточных насаждений проводится ежегодно, поскольку срок ее эксплуатации не превышает двух лет. Диагностика вирусных болезней земляники садовой проводится в маточных насаждениях, выделяются растения, свободные от 5 вирусов (ArMV, RRV, SLRV, TBRV, TomRSV). В течение 2010–2015 гг. вирусные патогены на землянике садовой не диагностированы. По состоянию на весну 2016 г. в отделе биотехнологии имеется оздоровленный маточник земляники более 20 сортов (более 2300 растений) районированных и для научных исследований: Альфа, Вента, Вима Занта, Данге, Дачница, Деснянка кокинская, Дукат, Зенга-Зенгана, Кимберли, Классика, Кокинская заря, Кокинская поздняя, Кокинская ранняя, Красный берег, Лорд, Русич, Сельва, Славутич, Соловушка, Фестивальная, Фламинго, Царица и др.

Для смородины черной, красной и крыжовника при выделении ССЭ растений диагностируется 7 вирусов: BCRV, ArMV, RRV, SLRV, TBRV, TomRSV, CMV. Вирус реверсии смородины черной при первичной диагностике определяется визуально, затем методом ПЦР, остальные вирусы – методом иммуноферментного анализа.

Оздоровленные коллекции смородины черной имеются в отделе биотехнологии (ССЭ насаждения, таблица) и отделе ягодных культур (СЭ насаждения). Для смородины черной репозиторий составляет 27 сортов районированных и для научных исследований, для смородины красной и белой – 7 районированных сортов, для крыжовника – 8 сортов. Общее количество ССЭ растений для этих культур – 465 (смородина черная – 164, красная – 69, крыжовник – 232).

Таблица – ССЭ насаждения смородины черной, красной, крыжовника

Сорт	Количество ССЭ растений, шт.		
	отдел биотехнологии		отдел ягодных культур
	открытый грунт	защищенный грунт	открытый грунт
Смородина черная			
Атлант	5	-	-
Белорусская сладкая	5	1	-
Вера	5	-	-
Волшебница	5	-	-
Гамаюн	5	-	-
Гармония	5	-	-
Геркулес	5	-	-
Голубичка	5	-	-
Дачница	5	-	-
Дебрянск	5	-	-
Журавушка	5	-	-
Загадка	5	1	-
Изюмная	5	-	-
Катюша	5	1	-
Клуссоновская	10	1	-
Нара	5	-	-
Наташа	5	-	-
Нестер Козин	5	-	-
Ника	5	-	-
Память Вавилова	10	1	-
Санюта	10	-	-
Селеченская -2	10	-	-
Сокровище	3	-	-
Стрелец	5	-	-
Титания	5	-	-
Церера	10	1	-
Чёрный аист	5	-	-
Смородина красная, белая			
Фертоди	5	1	5
Ионкер ван Тетс	5	1	5
Рондом	5	1	-
Ненаглядная	9	1	5
Белая Смольянинова	-	1	-
Коралловая	-	-	12
Пурпурная	-	-	13
Крыжовник			
Куру Дзинтарс	-	12	30
Северный капитан	-	4	14
Машека	-	8	30
Раволт	-	8	30
Малахит	-	4	30
Коралл	-	-	17
Берендей	-	-	15
Яровой	-	-	30

Оздоровленные маточники клоновых подвоев создавались на основе фитосанитарного отбора и оздоровления в культуре *in vitro*. В настоящее время в отделе питомниководства сосредоточены посадки свободных от вирусов подвоев в открытом грунте (отводковый маточник), в том числе ССЭ класса А:

клоновые подвой яблони: 54-118 – 54 шт., 62-396 – 54 шт.;

клоновые подвой груши: ВА-29 – 24 шт., S1 – 27 шт.;

клоновые подвой сливы: ВПК-1 – 13 шт., ВВА-1 – 13 шт.;

клоновые подвой вишни: ВСЛ-2 – 13 шт., Измайловский – 13 шт.

В отделе биотехнологии в открытом грунте содержится ССЭ маточник класса А клоновых подвоев косточковых культур (маточно-черенковый): ОБП-2 (8 шт.), Измайловский (6 шт.), ВСЛ-2 (12 шт.), GiSelA-5 (13 шт.), Damil (5 шт.), ВВА-1 (5 шт.), ВПК-1 (5 шт.), ОД-2-3 (5 шт.), 140-2 (4 шт.).

В защищенном грунте собрана коллекция ССЭ клоновых подвоев яблони, груши, сливы и вишни, которая используется для введения материала в культуру *in vitro* в целях тиражирования: 54-118 – 10 шт., 62-396 – 10 шт., ПБ-4 – 10 шт., ММ 106 – 10 шт., ВА-29 – 4 шт., 2-31 – 4 шт., S-1 – 4 шт., ОБП-2 – 4 шт., Измайловский – 4 шт., ВСЛ-2 – 4 шт., GiSelA-5 – 4 шт., ВВА-1 – 4 шт., ВПК-1 – 4 шт., ОД-2-3 – 4 шт., 140-2 – 4 шт.

В культуре *in vitro* и на стадии адаптации при нормальной вегетации имеется коллекция клоновых подвоев яблони, груши, сливы и вишни (54-118, 62-396, ММ 106, ВА-29, 2-31, S-1, ОБП-2, Измайловский, ВСЛ-2, GiSelA-5, ВВА-1, ВПК-1, ОД-2-3, 140-2).

ВЫВОДЫ

По состоянию на 2015 г. в РУП «Институт плодоводства» депонируются ССЭ растения 34 сортов яблони класса А, свободные от вирусов ACLSV, ArMV, ASGV, в количестве более 200 растений. Для груши коллекция составляет 15 сортов (45 деревьев), свободных от вируса хлоротической пятнистости листьев яблони. Для сливы и алычи крупноплодной имеется коллекция из 21 сорта (57 растений сливы и 29 – алычи крупноплодной), свободных от вирусов PDV, PNRSV, PPV, ArMV, ACLSV. Для вишни и черешни коллекция состоит из 15 сортов (33 растения вишни и 38 – черешни), свободных от вирусов PDV, PNRSV, PPV, ArMV, ACLSV, CLRV, RpRSV. В культуре *in vitro* выращиваются корнесобственные, свободные от 7 вирусов растения-регенеранты 6 сортов вишни и 3 сортов сливы и алычи, свободные от 5 вирусов.

Оздоровленный маточник земляники садовой составляет 20 сортов (более 2300 растений).

Для смородины черной репозитарий составляет 27 сортов, для смородины красной и белой – 7, для крыжовника – 8 сортов. Общее количество ССЭ растений для этих культур – 465, свободных от 7 вирусов: BCRV, ArMV, RRV, SLRV, TBRV, TomRSV, CMV.

Оздоровленные маточники клоновых подвоев (ССЭ класса А) имеются в культуре *in vitro*, в защищенном и открытом грунте: 54-118, 62-396, ПБ-4, ММ 106, ВА-29, 2-31, S-1, ОБП-2, Измайловский, ВСЛ-2, GiSelA-5, Damil, ВВА-1, ВПК-1, ОД-2-3, 140-2.

По данным, полученным в 2012–2015 гг., в насаждениях яблони ACLSV обнаружен в среднем у 25,66 % растений, ASGV – 0,75 %, ArMV – 0,38 %. Только 3 растения груши оказались инфицированы вирусом ACLSV (6,12 %). В насаждениях сливы, алычи, вишни, черешни диагностирован только один вирус PNRSV (1,8 % у сливы и 15,5 % у вишни и черешни). В течение 2010–2015 гг. вирусные патогены на маточниках класса А земляники садовой, смородины красной и крыжовника не диагностированы.

Литература

1. <http://www.agroscope.admin.ch/obstbau/02207/02210/02214/index.html?lang=en> (Nuclear stock for fruit trees - what is precisely involved?).
2. Eight principles of integrated pest management / B. Graf [et al.] // Agronomy for Sustainable Development. online, (24 July), 2015. – P. 1-17.
3. <http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/0029253-national-program-for-controlling-virus-diseases-of-temperate-fruit-tree-crops.html>.
4. Occurrence of Two Little Cherry Viruses in Sweet Cherries in Washington State / N.B. Bajet [et al.] // Plant Disease. – 2008. – N 92. – P. 234-238.
5. Методика диагностики основных вирусных инфекций плодовых и ягодных культур / Н.В. Кухарчик [и др.] // Плодоводство: науч. тр. / РУП «Ин-т плодоводства»; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2015. – Т. 27. – С. 341-349.

VIRUS-FREE NUCLEAR STOCK COLLECTIONS OF FRUIT CROPS IN BELARUS

N.V. Kukharchik

SUMMARY

The paper presents the results of studies in 2012-2015 to create collection of fruit and small-fruit crops free of system pathogens in the Republic of Belarus. In 2015 in the Institute for Fruit Growing virus-free (SSE A class) plants of 34 varieties of apple (over 200 plants), 15 varieties of pear (45 trees), 9 varieties of sweet cherry, 9 varieties of cherry, 13 varieties of plum and 8 varieties of cherry plum (157 plants of stone fruit) were stored. Super-elite plants of apple, pear, plum, cherries have been grown in Fruit crops breeding department and Nursery department in the field; stone fruit cultures *in vitro* – in Biotechnology department.

Virus-free nuclear stock of strawberry is 20 varieties (over 2300 plants), black currant – 27 varieties, red and white currants – 7, gooseberries – 8 varieties (465 plants).

Virus-free nuclear stock of dwarf rootstocks (Class A) are *in vitro* culture, in a glasshouse and open field: 54-118, 62-396, PB-4, MM 106, VA-29, 2-31, S-1, OVP-2, Izmailovsky, VSL-2, GiSelA-5, Damil, VVA-1, VPK-1, OD-2-3, 140-2.

According to data of 2012-2015 years, a significant decrease showed in the number of plants infected with viruses in plantations of apple, pear and stone fruit crops. Viral pathogens in A class stock of strawberry, red currant and gooseberry were not diagnosed.

Key words: nuclear stock collection, fruit crops, soft-fruit crops, viruses, virus-free, culture *in vitro*, Belarus.

Дата поступления статьи в редакцию 04.04.2016