

**ПРОБЛЕМИ ВИРОБНИЦТВА СЕРТИФІКОВАНОГО ПОСАДКОВОГО  
МАТЕРІАЛУ ВИНОГРАДУ В УКРАЇНІ**

**Б.Н. Мілкус**

**Одеський державний аграрний університет**

*Велике значення для процесу виробництва розсадницького матеріалу винограду, вільного від шкочинних вірусів, фітоплазми та бактеріального раку мають методи діагностики: імуноферментний аналіз і полімеразна ланцюгова реакція. При інтродукції посадкового матеріалу із-за кордону, необхідне тестування шляхом щеплення на індикаторах. Метод кількісної оцінки ступені ураження винограду вірусами не можна застосовувати при аналізі будь-якої вірусної інфекції.*

**Ключові слова:** виноград, шкочинні віруси, методи діагностики.

Виноград широко культивується у багатьох країнах світу, але не менше 10 % урожаю щорічно втрачається з причини вірусних захворювань. Вірусні захворювання можуть пригнічувати ріст коренів, пагонів, листя, ягід, перешкоджати запиленню, викликати пігментацію різних органів і порушувати різні аспекти метаболізму – дихання, фотосинтез, перенесення асимілятів. Хворі кущі можуть загинути. Досить часто вірусні хвороби протікають у прихованій формі – без наявних симптомів захворювання. Тільки сертифікація посадкового матеріалу дає впевненість у тому, що рослини вільні від шкочинних вірусних інфекцій. Європейське Економічне Співтовариство (ЄС) пропонує програму сертифікації, яка передбачає виробництво посадкового матеріалу винограду, не ураженого наступними шкочинними вірусами: коротковузля (GFLV), скручування листя винограду 1–7 серотипів (GLRaV 1–7), мармуровості винограду (GFkV), вірусу А винограду (GVA), вірусу В винограду (GVB), борознистості деревини Рупестріс (RSPaV) та ямкуватості деревини ЛН 33 [10]. GVA і GVB пов'язані, відповідно з ямкуватістю деревини Кобера і запробковінням кори [11]. Найефективнішим заходом профілактики вірусних захворювань винограду є отримання безвірусного посадкового матеріалу, який використовують для закладання нових насаджень. Тому рання діагностика вірусних захворювань дозволяє швидко визначити якість посадкового матеріалу винограду. Одними із чутливих і специфічних методів діагностики, якими користуються в усіх країнах, є імуноферментний аналіз (ІФА) та полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Ці методи вперше в Україні були опановані, удосконалені та застосовані при виробництві сертифікованого посадкового матеріалу винограду в Лабораторії вірусології та мікробіології Розсадницького комплексу Одеського коньячного заводу [1,9].

В сучасний період сертифікація посадкового матеріалу винограду в Україні є актуальною ще тому, що виявлення вірусних, фітоплазмових хвороб та бактеріального раку у більшості господарств України проводять лише за допомогою візуального фітосанітарного обстеження. На перших етапах фітосанітарної селекції цей метод необхідно застосовувати. На основі отриманих результатів в господарствах приймають рішення або про подальшу експлуатацію виноградників, або про їх знищення. Останній рішення приймають у тих випадках, коли кількість хворих кущів велике й витрати на їхню експлуатацію не компенсуються отриманим урожаєм.

Але у зв'язку із широким завезенням посадкового матеріалу винограду із закордонних країн, питання тестування набувають особливого значення. Це пов'язане з тим, що в Україну можуть завезти посадковий матеріал заражений патогенами, які в цей час у країні відсутні. Тим більш, що в останні роки за кордоном закупають не тільки сертифіковані саджанці, але й рядовий посадковий матеріал. Слід також звернути увагу на те, в Україні великий збиток наносить бактеріальний рак – захворювання, яке не входить у систему сертифікації, прийняту за кордоном. Широко поширилося фітоплазмозна інфекція

- почорніння деревини, яке вперше було нами виявлено і ідентифіковано в Україні в 2004 році [9]. Самим сприйнятливим сортом до цього захворювання є Шардоне. Уже відомі випадки, коли через ураження фітоплазмою викорчуюють десятки гектарів виноградників. За даними Конуп Л.О. [2] поширення почорніння деревини на сорті Шардоне тільки в 2010 році в різних господарствах склало: у Херсонській області – 10-25%, у Миколаївській області – 8-18%, у Одеській області – 5-89%. Почорніння деревини було також виявлено і на інших сортах: Каберне Совіньон, Мерло, Піно чорний. Ураження 89% рослин призвело до знищенню винограднику [2]. У зв'язку із цим, система сертифікації виноградного посадкового матеріалу, яка була прийнята в Україні ще в 1977 році [4], включала тестування винограду не тільки на вірусні захворювання, але й на бактеріальний рак. Надалі в цю систему було додано фітоплазмове захворювання – почорніння деревини.

При завезенні посадкового матеріалу винограду із-за кордону необхідно застосовувати також тестування за допомогою набору сортів-індикаторів, що дозволить запобігти завезенню в країну нових патогенів, які неможливо виявити вищевказаними методами за допомогою ІФА та ПЦР. Тільки за допомогою щеплення на індикаторах нами на підщепі Ріпарія х Рупестріс 3309 було виявлено нове вірусне захворювання винограду [5].

Для боротьби з вірусними захворюваннями й бактеріальним раком застосовують тестування для відбору кущів клонів вільних від цих патогенів, а також термотерапію або комбінацію термотерапії з культурою тканини. Останні два методи досить дорогі і їх застосовують лише в тих випадках, коли в процесі тестування неможливо відібрати посадковий матеріал вільний як від шкочинних вірусів та почорніння деревини, так і від збудника бактеріального раку. Слід також враховувати, що термотерапія в комбінації з культурою *in vitro* не дає 100% оздоровлення [7].

Що стосується фітоплазми, то виноград може бути оздоровлений від неї в результаті водної терапії. Наші дослідження показали, що найбільш оптимальними умовами є термообробка чубуків усіх сортів винограду протягом 30 хв. при 50°C. Встановлено, що найменш стійкими до дії термотерапії є сорт Каберне Совіньон, у якого при дії цих умов утворюється тільки у 20 % чубуків калюс і корені. У той час як у чубуків сортів Мускат олександрійський – 90 %; Мерло – 70 %, а Ріпарія х Рупестріс 101-14 – 85 %.

Мулюкіною Н.А. зі співавторами [3] запропонован метод кількісної оцінки ступені ушкодження винограду вірусом скручування листків. Автори пропонують використовувати його при дослідженні й інших вірусних захворювань винограду. Відомо, що цей метод широко використовується для оцінки ступеня ураження рослин деякими фітопатогенними грибами. На жаль, він зовсім не може застосовуватись для оцінки ступеня ураження рослин вірусами. Це пов'язане з тим, що: по-перше віруси часто перебувають у рослині в прихованому стані, тобто симптоми захворювання відсутні, по-друге, симптоми ураження вірусами бувають схожі на ті, які спричиняються причинами неінфекційного характеру. Зокрема, симптоми скручування листків на винограді можуть виникнути не тільки в результаті вірусної інфекції, але й при зараженні фітоплазмою, при недостатчі в ґрунті калію, при обробці рослин деякими фунгіцидами, які містять мідь і іншими причинами [11]. Таким чином можна зробити висновок, що використовувати цей метод при проведенні молекулярно-генетичних досліджень і пошуку генів, відповідальних за прояв тих або інших симптомів вірусної інфекції неможливо. У цьому немає і необхідності, тому що на відміну від грибних захворювань, які часто можна виявляти на рослинах візуально, вірусні захворювання визначати, ґрунтуючись лише на симптомах, неможливо. Для цього й існують методи діагностики. Що стосується статей, на які посилаються автори, то вони не містять інформації із застосування кількісних оцінок для виявлення ступеня ураження винограду вірусами.

**Література**

1. Жунько І.Д., Н. В. Ліманська, Б. Н. Мілкус, Л. О. Конуп, ЗТ-ПІР ідентифікація представників родів *Vitivirus* та *Foveavirus*, збудників хвороб винограду // Вісник ОНУ.- 2005. 10. 3. - с.136-142.
2. Конуп Л.О. Почорніння деревини винограду та його поширення на Півдні України //Зб. Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України.- 2011, 2, 24. -с.
3. Мулюкіна Н.А., Лосєва Д.Ю., Хохлов О.М. Сучасні методи кількісної оцінки ступеню ураження вірусними хворобами винограду //Зб. Виноградарство і виноробство - 2011, 48. - с. 146-148.
4. Технология производства безвирусного посадочного материала плодовых культур и винограда. Кишинев. Молдавия: Штиинца. -1977, -с. 102.
5. Bovey R. et al. Virus and Virus-like diseases of grapevine // Ed. Payot Lausanne. -1980. - p.182.
6. Milkus, B.N., Marinescu, V.G., Samonina, J.N., and Krylow, A.W. Viruskrankheiten der Reben in der Sowjetunion. (Virus diseases of grapevine in Soviet Union) // Weinberg und Keller. -1976. 23. -p. 419- 435.
7. Milkus B.N., Avery J.D., Pinska V.N. (2000) Elimination of grapevine viruses by heat treatment and meristematic shoot tip culture // Extended abstracts of the 13th ICVG Meeting, 2000-03-12/17. Adelaide, Australia (ed. Symons RH).- p. 174.
8. Milkus B., Clair D., Idir S., Habili N. First detection of stolbur phytoplasma in grapevines (*Vitis vinifera*, cv Chardonnay) affected with grapevine yellows in the Ukraine // New Disease Reports. – 2005. – 5. – p. 7.
9. Milkus B., Konup L.A. N.A.Limanskaja, I.D.Zunjko The virus, phytoplasma and crown gall diseases of grapevine in the South part of the Ukraine. 15<sup>th</sup> ICVG Conference South Africa. - 2006. –p. 119-124.
10. Sanitary selection of the grapevine - Protocols for detection of viruses and virus-like diseases // B. Walter (Ed.). Paris: Institut National de la Recherche Agronomique – 1997 -pp 225.
11. Tomazic I., N. Petrovic, D. Gonzalves, Z. Korosec-Korusa. Analysis of grapevine viruses in association with rugose wood disease // 14th ICVG Meeting at Locorotondo, Bari. Italy. -2003, -p. 135-136

#### **Аннотация**

*Б.Н. Милкус. Проблемы производства сертифицированного посадочного материала винограда в Украине. Большое значение для процесса производства посадочного материала винограда, свободного от вредоносных вирусов, фитоплазмы и бактериального рака имеют методы диагностики: иммуноферментный анализ и полимеразная цепная реакция. При интродукции посадочного материала из-за рубежа, необходимо тестирование путем прививки на индикаторах. Метод количественной оценки степени поражения винограда вирусами неприменим при анализе винограда, как и при анализе любой другой вирусной инфекции.*

*Ключевые слова: виноград, вредные вирусы, методы диагностики.*

#### **Summary**

*B.N. Milkus. Problems of certified planting material of grape in the Ukraine. At the process of grapevine planting material production free from harmful viruses, phytoplasma and a crown gall disease the suitable methods of diagnostic has a great value. First of all it is ELISA-test and polymerase chain reaction. The planting material from abroad should be tested by grafting on some indicators too. The method of the quantitative estimation of grapevine degree contamination by viruses is inapplicable for the analysis such as for of any other virus diseases.*

*Key words: grapes, harmful viruses, diagnostic methods.*