

УДК 634.22: 632.1
DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-80-88

**ИЗУЧЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ
СЛИВЫ К ВИРУСУ
ШАРКИ (PPV) ПО КРИТЕРИЮ
«ПРИЖИВАЕМОСТЬ ГЛАЗКОВ»
В ХОДЕ ВЕГЕТАТИВНОГО
РАЗМНОЖЕНИЯ *IN VIVO***

Бунцевич Леонид Леонтьевич
канд. биол. наук
зав. лабораторией вирусологии

Винтер Марина Александровна
мл. научный сотрудник
лаборатории вирусологии

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

Щербаков Николай Алексеевич
канд. с.-х. наук

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский
институт биологической защиты
растений», Краснодар, Россия*

Актуальность исследований обусловлена большим экономическим значением вируса шарки (PPV), определяемым потерями урожайности и качества плодов сливы. У восприимчивых сортов сливы и других косточковых культур заражение вирусом шарки сливы приводит к осыпанию завязавшихся плодов, язвам на поверхности плодов. У толерантных растений вирусная инфекция проявляется симптоматически, но не затрагивает в выраженной степени анатомо-морфологическое и функциональное состояние заражённых организмов. Целью данной работы явилось изучение толерантности сливы домашней к вирусу

UDC 634.22: 632.1
DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-80-88

**THE STUDY OF PLUM
TOLERANCE TO POX VIRUS (PPV)
ON THE CRITERION
«BUD SURVIVAL»
DURING VEGETATIVE
REPRODUCTION *IN VIVO***

Buntsevich Leonid Leontievich
Cand. Biol. Sci.
Head of Laboratory of Virology

Vinter Marina Aleksandrovna
Junior Research Associate
of Laboratory of Virology

*Federal State Budget
Scientific Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

Shcherbakov Nikolay Aleksievich
Cand. Agr. Sci.

*Federal State Budget
Scientific Institution
«All-Russian Research Institute
of Biological Plant Protection»,
Krasnodar, Russia*

The urgency of study is caused by the high economic value of Sharkey's virus (PPV), determined by the losses of productivity and quality of plum fruits. In receptive plum varieties also of other stone fruit crops the infection by Sharkey's virus leads to shedding of the fruits, and ulcers on the surface of fruits. Virus infection is manifested symptomatically in tolerant plants, but does not affect, to the expressed degree the anatomical-morphological and functional state of the infected organisms. The purpose of this work was the study of the plum tolerance

шарки (*PPV*) и выявление закономерности изменения восприимчивости сортов к данному вирусу в ходе размножения способом окулировки. В эксперименте задействованы три сорта сливы домашней: Стенлей, Донецкая и Кубанская ранняя. В процессе исследований изучена приживаемость глазков от заражённых симптомированных и заражённых бессимптомных маточных деревьев. Вирусоносительство растений сливы подтверждено тестированием методом ОТ-ПЦР. Полученные результаты показывают, что глазки с симптомированных маточных деревьев сливы, вирусоносителей *PPV*, приживаются хуже, чем глазки с бессимптомных маточных деревьев, также вирусоносителей *PPV*. Уровень приживаемости в варианте с глазками от симптомированных деревьев в среднем на 17 % ниже, чем в варианте с бессимптомными деревьями, и на 27 % ниже, чем в контроле с безвирусными деревьями. Причиной снижения приживаемости заражённых вирусом шарки сливы глазков на безвирусном подвое является свойство вируса шарки вызывать опробкование недифференцированных растительных тканей. При созревании плодов, например, это свойство шарки сливы приводит к преждевременному формированию отделительного слоя между черешком листа и побегом, что, в свою очередь, вызывает осыпание плодов (за месяц до созревания).

Ключевые слова: СЛИВА, *PPV*, ТОЛЕРАНТНОСТЬ, ОКУЛИРОВКА, ПРИЖИВАЕМОСТЬ, САЖЕНЦЫ

to Sharkey's virus (*PPV*) and the revealing of regularities of the change in the receptivity of plum to this virus in the course of reproduction by the method of inoculation (budding). In the experiment there are three plum varieties: Stanley, Donetskaya and Kubanskaya Rannia. In the process of experiments the regeneration of buds from the infected symptomatic and infected asymptomatic mother trees is studied. Virus carrying of the plum plants is confirmed by OT-PCR testing. The results show that the buds from the symptomatic mother plum trees, virus carriers *PPV*, survive more badly than buds from the asymptomatic mother trees, also the virus *PPV* carriers. The level of survival in the version with the buds from the symptomatic trees on the average to 17% lower than those of the version with the asymptomatic trees, and to 27 % lower than in the control version with the virus-free trees. The reason for reduction in the survival of buds infected Sharkey's virus of plum on the virus-free rootstock is the property of Sharkey's virus to cause the corking of the undifferentiated plant tissues. During ripening of fruits, for instance, this property of plum Sharkey leads to premature shaping of the separating layer between the leafstalk and shoot, that in turn, causes the shedding of fruits (the month before the ripening).

Key words: PLUM-TREE, *PPV*, TOLERANCE, GRAFTING WITH BUDS, SURVIVAL, SAPLINGS

Введение. В современных садоводстве и питомниководстве всё более востребованы сорта плодовых культур с высокой степенью устойчивости как к неблагоприятным факторам среды, так и к вредителям и болезням [1-4]. Среди последних существенное значение имеют инфекции вирусной

этиологии [5]. Основными типами восприимчивости растений к вирусным инфекциям принято считать иммунитет (полная устойчивость), толерантность и сверхчувствительность [6].

Заражение вирусом шарки сливы у восприимчивых сортов этой культуры приводит к осыпанию завязавшихся плодов, уродливым язвам на поверхности сохранившихся и осыпавшихся плодов, в отдельных случаях к подавлению роста растений и их гибели. В отличие от восприимчивых, у растений толерантных сортов вирусная инфекция проявляется симптоматически, но не затрагивает, в выраженной степени, функциональное состояние заражённых организмов.

Считается, что толерантные растения легко заражаются и накапливают вирус. По наблюдениям Р. Мэтьюза [7] и Х. Рагетли [8] в толерантных растениях вирус распространяется по всему растению, и наблюдается сравнительно высокий титр вируса в тканях при отсутствии четких симптомов заболевания. В таких случаях толерантное растение имеет высокую концентрацию вируса в своих тканях, не проявляя симптомов заболевания и существенных потерь урожая. Подобный феномен называется в вирусологии латентной инфекцией или бессимптомным вирусоносительством. В качестве примера в литературе приводится сорт земляники Хаксли, который длительное время хорошо плодоносил и проявлял себя как бессимптомный вирусоноситель. Этот сорт несколько десятков лет сохранял лидирующее положение на юге Англии, в то время как выращивание большинства других сортов было нерентабельным из-за сплошного заражения вирусами. Д. Шэфер [9] различал другой тип толерантности к вирусу, когда ингибировалось размножение вируса, но симптомы заболевания были хорошо выражены.

В литературе приводятся многочисленные сведения о реакции различных сортов сливы на заражение вирусом шарки (*PPV*) – самом опасном и экономически наиболее важном вирусе этой культуры. Указывается, что толерантные сорта не проявляют некротического узора на плодах. Растения этих сортов при заражении становятся носителями вируса. Симптомы раз-

виваются в виде мозаичного узора, пятен, дуг на кожице плодов без отмирания мякоти и камедетечения. К моменту созревания мозаичность может маскироваться общей окраской плода и не снижать товарного вида и качества продукции, но существенного ущерба вирус растению не наносит [10].

Типичный пример толерантного сорта сливы Стенлей. Вирус шарки вызывает у него специфическую мозаику, морщинистость и пятна на листьях и лёгкую мозаику на плодах. Обычно урон, наносимый вирусом сорту Стенлей, тем и ограничивается. Как толерантные к вирусу шарки выделены сорта: Стенлей, Кабардинская ранняя, Анна Шпет [11]. Считается, что восприимчивые сорта (Венгерка итальянская, Большой зелёный Ренклюд) могут реагировать на заражение вирусом шарки системным некрозом древесины и отмиранием кроны. Такие деревья впоследствии усыхают.

Таким образом, толерантность сортов сливы к вирусу шарки проявляется в сохранении нормальных (близких к среднепогодным для конкретного сорта) урожаев плодов при достоверном вирусоносительстве. Симптомы заражения вирусом шарки сливы, как правило, у толерантных сортов проявляются. Однако бывают исключения: симптомы появляются не сразу после заражения, проявляются не у всех заражённых растений [10].

Изучение проявлений восприимчивости сливы к вирусу шарки в ходе вегетативного размножения до настоящего времени не проводилось. В частности, точно неизвестно, изменяется или нет уровень приживаемости глазков в процессе окулировки (т.е. выход саженцев) в зависимости от физиологического состояния (степени симптомированности) инфицированных маточных растений.

Актуальность проводимых по данному направлению исследований опосредована большим экономическим значением вируса шарки (*PPV*). Новизна исследований заключается в отсутствии в мировой практике данных об изменении толерантности сливы к вирусу шарки (*PPV*) при вегетативном размножении.

Целью исследований являются новые знания о толерантности сливы домашней к вирусу шарки сливы (PPV) и выявление закономерности изменения восприимчивости сливы к данному вирусу в ходе размножения способом окулировки. В связи с этим в задачи исследований входило: в группе заражённых вирусом шарки сливы (PPV) маточных деревьев сливы выделить бессимптомные и симптомированные растения, провести ПЦР-анализ выделенных образцов на вирусносительство; сравнить приживаемость глазков от заражённых симптомированных и заражённых бессимптомных маточных деревьев сливы в ходе проведения окулировки.

Объекты и методы исследований. В работе использованы методики сортоизучения и диагностики карантинных фитопатогенов [12, 13] с привлечением математических методов в биологии [14].

Материально-техническая база НИР – лаборатория вирусологии, лаборатория генетики и молекулярной биологии ФГБНУ СКФНЦСВВ.

Опытные сорта сливы – Донецкая, Кубанская ранняя, Стенлей (контроль). Подвой – безвирусные сеянцы алычи. Все маточные растения (симптомированные и бессимптомные) тестированы на вирусносительство с помощью ОТ-ПЦР-анализа. Изучена приживаемость глазков сливы, полученных от симптомированных и бессимптомных маточных деревьев. В ходе опыта учитывался выход прижившихся здоровых окулюсов, взятых от визуально здоровых маточных деревьев сливы и от симптомированных маточных деревьев. Все маточные деревья, по результатам ПЦР-анализа, заражены вирусом шарки сливы (PPV). Каждый изучаемый в опыте сорт заокулирован в 3 вариантах: 1 (контроль) – глазками с безвирусных маточных деревьев, 2 – глазками с бессимптомных (инфицированных) маточных деревьев, 3 – глазками с маточных деревьев с симптомами шарки сливы (PPV). В каждом варианте заокулировано по 25 подвоев. Критерием изучения толерантности сливы к вирусу шарки сливы (PPV) послужила приживаемость глазков в результате окулировки на безвирусный подвой.

Обсуждение результатов. Изучение уровня приживаемости глазков как критерия толерантности сортов сливы к вирусу шарки (PPV) проводилось в первом поле питомника. Как уже отмечалось, в опыте изучена приживаемость глазков сливы, полученных от симптомированных и бессимптомных маточных деревьев, заражённых вирусом шарки сливы. Работа выполнена в 2017 году: в третьей декаде июля проведена окулировка, снятие обвязки и ревизия приживаемости глазков прошли в первой декаде августа. В ходе ревизии учитывался выход прижившихся здоровых окулюсов, взятых от визуально здоровых маточных деревьев сливы и от симптомированных маточных деревьев, вирусоносителей PPV. Результаты исследования представлены в таблице и на рисунке.

Уровень приживаемости глазков с симптомированных и бессимптомных маточных деревьев сливы, заражённых вирусом шарки (PPV)

Сорт	Бессимптомные			Симптомированные			Безвирусные		
	Донецкая	Кубанская ранняя	Стенлей	Донецкая	Кубанская ранняя	Стенлей	Донецкая	Кубанская ранняя	Стенлей
Заокулировано, шт.	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Прижилось, шт. (а)	21	22	21	18	17	16	23	24	24
Уровень приживления, %	84	88	84	72	68	64	92	96	96
НСР ₀₅ (а)	1,33								

Приживаемость у глазков от симптомированных маточных деревьев составила в среднем 68 %: у сорта Донецкая – 72 %, у сорта Кубанская ранняя – 68 %, у сорта Стенлей (контроль) – 64 %. Приживаемость у глазков с бессимптомных маточных деревьев составила в среднем 85 %: у сорта Донецкая – 84 %, у сорта Кубанская ранняя – 88 %, у сорта Стенлей (контроль) – 84 %. В контрольном варианте у безвирусных глазков приживаемость в среднем составила 95 %: у сорта Донецкая – 92 %, у сортов Кубанская ранняя и Стенлей (контроль) по 96 % (см. табл.).

Дисперсионный анализ показал, что от бессимптомных маточных растений сливы экспериментальных сортов прижилось существенно больше глазков (окулюсов), чем от симптомированных.

Результаты исследования показывают, что глазки с симптомированных маточных деревьев сливы, вирусоносителей *PPV*, приживаются хуже, чем глазки с бессимптомных маточных деревьев, также вирусоносителей *PPV*.

Причиной отмирания заражённых вирусом шарки глазков на безвирусном подвое является свойство вируса вызывать опробковение недифференцированных растительных тканей. При созревании плодов, например, это свойство шарки сливы приводит к преждевременному формированию отдельного слоя между черешком листа и побегом, что, в свою очередь, вызывает осыпание завязи (за месяц до созревания). Урожай плодов сливы при этом резко снижаются.



а



б

Рис. Приживаемость глазков (окулюсов): а – с бессимптомных маточных растений, вирусоносителей *PPV* (приживление), б – с симптомированных маточных деревьев, вирусоносителей *PPV* (отмирание)

Выводы. Изучая толерантность экспериментальных объектов по критерию «приживаемость глазков в результате окулировки на безвирусный подвой», изменение толерантности прослеживается в том, установили в том, что приживление глазков от более восприимчивых (симптомирован-

ных) маточных деревьев при вегетативном размножении удаётся хуже. Причиной этого может быть большая активность вируса шарки, накопление токсичных продуктов метаболизма растений, либо истощение маточных растений в условиях сильной вирусной инфекции, либо меньшая толерантность самих эксплантов-окулюсов. В результате, циркуляция вируса шарки сливы PPV в питомнике приводит к существенному снижению выхода саженцев, даже у толерантных сортов (Донецкая, Кубанская ранняя, Стенлей), что подчёркивает негативное экономическое значение этого вируса в питомниководстве и садоводстве косточковых культур.

Литература

1. Ульяновская, Е.В. Создание иммунных и устойчивых к парше генотипов яблони усовершенствованным методом полиплоидии / Научные труды СКЗНИИСиВ. – Том 5. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2014. – С. 22-28.
2. Заремук, Р.Ш. Совершенствование элементов технологии производства плодов косточковых культур в условиях проявления климатических стрессов на Северном Кавказе / Р.Ш.Заремук // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. – С. 38–47. – Режим доступа: <http://journalkubansad.ru/pdf/13/01/05.pdf>. (дата обращения: 29.08.2018).
3. Кузнецова, А.П. Новые подходы к оценке продуктивности сорто-подвойных комбинаций сливы в условиях нестабильной внешней среды / А.П. Кузнецова, С.Н. Щеглов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 28. – № 2. – С. 8-14.
4. Апробация посадочного материала плодовых, ягодных и орехоплодных культур в южной зоне плодоводства: методические рекомендации / Т.Г. Причко, Е.М. Алехина, И.Л. Ефимова, А.П. Луговской, Г.В. Еремин [и др.]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ. – 117 с.
5. Бунцевич, Л.Л. Система безвирусного питомниководства / Л.Л. Бунцевич // Интенсивные технологии возделывания плодовых культур. – Краснодар, 2004. – С. 265-274.
6. Малиновский, В.И. Механизмы устойчивости растений к вирусам / В.И. Малиновский. – Владивосток: Дальнаука, 2010. – 324 с.
7. Мэтьюз, Р. Вирусы растений / Р. Мэтью. – М.: Мир, 1973. – 686 с.
8. Ragetli, H.W.J. Virus-host interactions, with emphasis on certain cytopatic phenomena / H.W.J. Ragetli // Canad. J. Bot. 1967. - V. 45/ - № 8. - P. 1221-1234.
9. Schafer, J.F. Tolerance to plant disease // Ann. Rev. Phytopathol. - 1971. -V. 9. - P. 235-251.
10. Вердеревская, Т.Д. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда / Т.Д. Вердеревская, В.Г. Маринеску. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 311 с.
11. Бунцевич, Л.Л. Влияние вируса шарки сливы (PPV) на урожайность в условиях Краснодарского края / Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк // Параметры адаптивности многолетних культур в современных условиях развития садоводства и виноградарства: материалы междунар. науч.-практич. конф. – Краснодар, 2012. – С. 175-181.

12. Диагностика ряда карантинных фитопатогенов методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов при помощи диагностических наборов производства ООО «АгроДиагностика» (методические указания). – М.: ФГУ Всероссийский центр карантина растений, 2009. – 28 с.

13. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орёл: ВНИИСПК, 1999. – 606 с.

14. Щеглов, С.Н. Математические методы в биологии. Реализация с использованием пакета STATISTICA 5.5. / С.Н. Щеглов. – Краснодар: Кубанский гос. ун-т, 2004. – 36 с.

References

1. Ulyanovskaya, E.V. Sozdanie immunny`x i ustojchivy`x k parshe genotipov yabloni usovershenstvovanny`m metodom poliploidii / Nauchny`e trudy SKZNIISiV. – Tom 5. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2014. – S. 22-28.

2. Zaremuk, R.Sh. Sovershenstvovanie elementov texnologii proizvodstva plodov kostochkovyx kul`tur v usloviyax proyavleniya klimaticheskix stressov na Severnom Kavkaze / R.Sh. Zaremuk // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii [Elektronnyj resurs]. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2013. – S. 38–47. – Rezhim dostupa: <http://journalkubansad.ru/pdf/13/01/05.pdf>.

3. Kuznecova, A.P. Novy`e podxody` k ocenke produktivnosti sortopodvojnyx kombinacij slivy v usloviyax nestabil`noj vneshnej sredy / A.P. Kuznecova, S.N. Shheglov // Plodovodstvo i yagodovodstvo Ros-sii. – 2011. – T. 28. – № 2. – S. 8-14.

4. Aprobaciya posadochnogo materiala plodovyx, yagodnyx i ore-xoplodnyx kul`tur v yuzhnoj zone plodovodstva: metodicheskie rekomendacii / T.G. Prichko, E.M. Alexina, I.L. Efimova, A.P. Lugovskoj, G.V. Eremin [i dr.]. – Krasnodar: SKZNIISiV. – 117 s.

5. Bunceвич, L.L. Sistema bezvirusnogo pitomnikovodstva / L.L. Bunceвич // Intensivnye texnologii vozdeleyvaniya plodovyx kul`tur. – Krasnodar, 2004. – S. 265-274.

6. Malinovskij, V.I. Mexanizmy` ustojchivosti rastenij k virusam / V.I. Malinovskij. – Vladivostok: Dal`nauka, 2010. – 324 s.

7. Met`yuz, R. Virusy rastenij / R. Met`yu. – M.: Mir, 1973. – 686 s.

8. Ragetli, H.W.J. Virus-host interactions, with emphasis on certain cytopatic phenomena / H.W.J. Ragetli // Canad. J. Bot. 1967. - V. 45/ - № 8. - P. 1221-1234.

9. Schafer, J.F. Tolerance to plant disease // Ann. Rev. Phytopathol. - 1971. -V. 9. - P. 235-251.

10. Verderevskaya, T.D. Virusnye i mikoplazmennye zabolevaniya plodovyx kul`tur i vinograda / T.D. Verderevskaya, V.G. Marinesku. – Kishinev: Shtiincza, 1985. – 311 s.

11. Bunceвич, L.L. Vliyanie virusa sharki slivy` (PPV) na urozhajnost` v usloviyax Krasnodarskogo kraja / L.L. Bunceвич, M.A. Kostyuk // Parametry` adaptivnosti mnogoletnix kul`tur v sovremennyx usloviyax razvitiya sadovodstva i vinogradarstva: materialy` mezhdunar. nauch.-praktich. konf. – Krasnodar, 2012. – S. 175-181.

12. Diagnostika ryada karantinnyx fitopatogenov metodom polimeraznoj cepnoj reakcii s fluorescentnoj detekciej rezul`tatov pri pomoshhi diagnosticheskix naborov proizvodstva ООО «АгроДиагностика» (методические указания). – М.: ФГУ Всероссийский центр карантина растений, 2009. – 28 с.

13. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орёл: ВНИИСПК, 1999. – 606 с.

14. Shheglov, S.N. Matematicheskie metody` v biologii. Realizaciya s ispol`zovaniem paketa STATISTICA 5.5. / S.N. Shheglov. – Krasnodar: Kubanskij gos. un-t, 2004. – 36 с.