

Оздоровление косточковых культур от основных вирусных болезней

Б.Ж. КАБЫЛБЕКОВА
Заведующая лабораторией
генофонда садовых культур, PhD



ЦЕЛЬ - распространение знаний о технологии оздоровление косточковых культур от основных вирусных болезней.

ЗАДАЧИ:

1. Определение наиболее опасных вирусных болезней косточковых культур;
2. Ознакомление биотехнологическими методами оздоровления растений от вирусных болезней;
3. Ознакомление технологией размножения, сохранения и выращивания безвирусного посадочного материала косточковых культур.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ДЛЯ ФЕРМЕРА :

- получение научно-достоверной информации о вирусных болезнях сливы и абрикоса культур;
- ознакомление методами оздоровления растений от вирусных болезней;
- ознакомление технологией размножения, сохранения и выращивания безвирусного посадочного материала косточковых культур.

ТЕКУЩАЯ СИТУАЦИЯ В КАЗАХСТАНЕ

ТЕЗИС	ДЕТАЛИ
Более 5 тыс.га сливы и абрикоса	Производственные сады всех видов косточковых культур занимают 9 377,1 га, из них всего 1 811,1 га слива и 4345,1 га абрикос.
Биоразнообразие дикорастущих форм абрикоса представляет особый научный и практический интерес	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam (син. <i>Prunus armeniaca</i> L.) является эндемичным видом и занесен в красную книгу Казахстана.
Вирус оспы сливы (PPV) является наиболее опасным на территории Казахстана	На сегодняшний день в мире идентифицированы 10 штаммов вируса, и два из них PPV-D и PPV-W встречаются в Казахстане
Отсутствует система безвирусных маточников и питомников	В Казахстане только 21 аттестованных питомников. Из них на долю фермерских и крестьянских хозяйств приходится 10 питомников, сельскохозяйственные предприятия - 9 питомников, и 2 питомника КазНИИПО.
Отсутствуют системы инспекции и сертификации посадочного материала	В КазНИИПО реализована научная-программа совместно с ИББР и грантовый проект

Косточковые культуры поражаются многими вирусами, наиболее часто встречаются представители родов **Illarvirus**, **Potyvirus** и **Trichovirus**. Наиболее важными из них являются: вирус оспы сливы (PPV), вирус некротической кольцевой пятнистости сливы (PNRSV), вирус карликовости сливы (PDV), вирус мозаики яблони (ApMV) и вирус хлоротичной пятнистости листьев яблони (ACLSV).

- вирус зеленой кольцевой крапчатости черешни (Cherry green ring mottle virus)
- вирус хлоротической пятнистости яблони (Apple chlorotic leafspot trichovirus);
- вирус скручивания листьев черешни (Cherry leaf roll nepovirus)
- вирус мозаики резухи (Apple mosaic ilarvirus)
- вирус кольцевой пятнистости малины (Raspberry ringspot nepovirus).
- вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (Strawberry latent ringspot virus)
- вирус черной кольцевой пятнистости томата (Tomato black ring nepovirus)
- вирус латентной кольцевой пятнистости Миробалана (Myrobalan latent ringspot virus)

Вирусоподобные болезни:

- мелкоплодность черешни (Little cherry)
- некротическая ржавая крапчатость (Necrotic rusty mottle)
- ржавая крапчатость (Rusty mottle)
- остановка роста Широфуген (Shirofugen stunt)

Фитопlasма хлоротического скручивания листьев абрикоса (Apricot chlorotic leafroll phytoplasma)

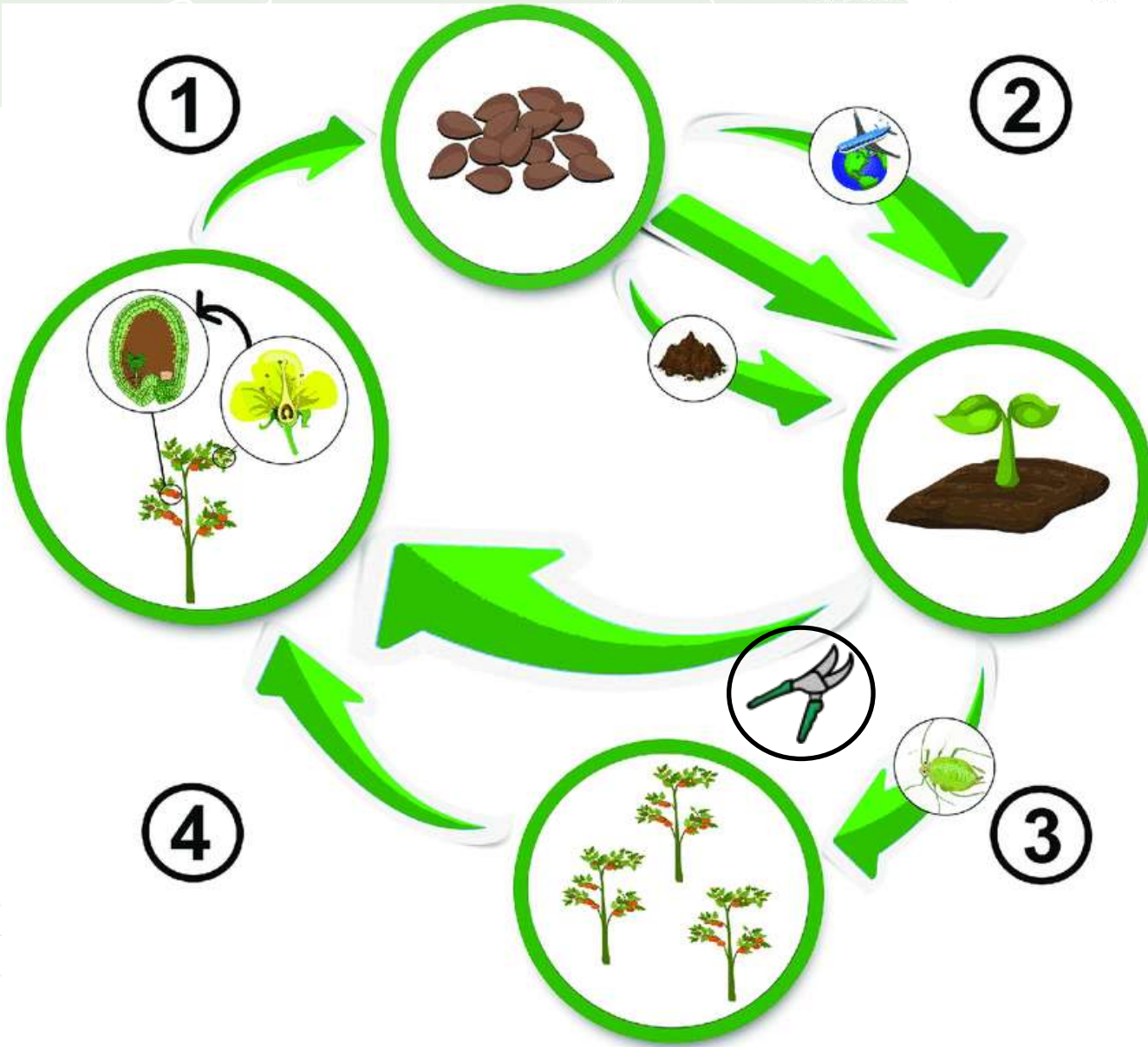
Вирусоподобная болезнь (только на абрикосе и персике)

- астероидная пятнистость персика (Peach asteroid sport agent)

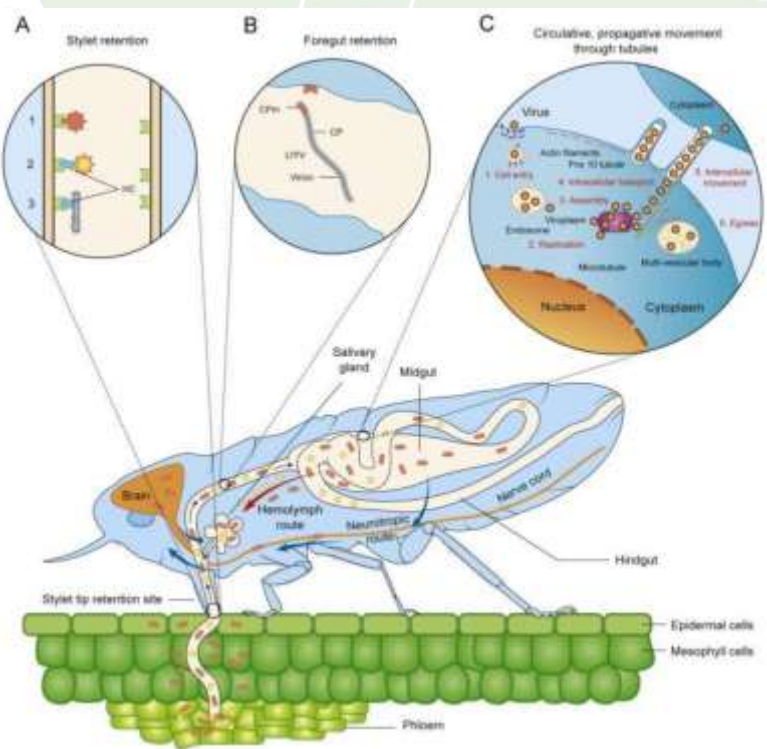
Вириод ленточной мозаики персика (Peach latent mosaic viroid) – карантинный объект

Вирус	Растение
Вирус хлоротической пятнистости яблони Apple chlorotic leaf spot virus	Яблоня, груша, айва, персик, абрикос, миндаль, черешня и вишня, японская и европейская слива
Вирус крапчатости листьев вишни Cherry mottle leaf virus	персик, абрикос, черешня и вишня
Вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых Prunus necrotic ringspot virus	Все виды косточковых культур
Вирус мозаики яблони Apple mosaic virus	Яблоня, груша, миндаль, абрикос, вишня, персик и слива, лесной орех
Вирус карликовости сливы Prune dwarf virus	Черешня и вишня, слива, персик, абрикос и миндаль
Вирус шарки сливы Plum pox virus	Абрикос, персик, европейская и японская слива, мироблан, вишня, черешня

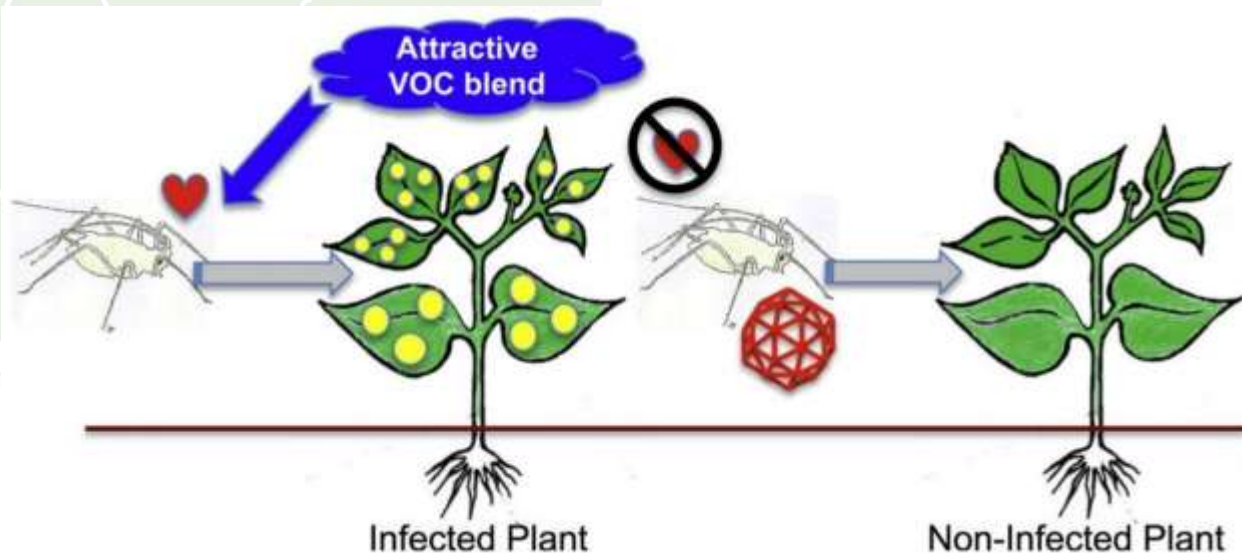
РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ



РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ



Схема, показывающая, как сохранение и перемещение вирусов растений приводит к классификации способа передачи, Whitfield et al. 2015 [120], (Рисунок 1). В этом представлении классификация сделана в терминах: А сохранение стилета (в другом месте описывается как непersistентное), В сохранение передней кишки (полупersistентное) и С циркуляционное движение (включая как persistентно-циркуляционное, так и persistентно-пропагативное).



Схематическое изображение фенотипа растения-хозяина «привлекать и удерживать», Carr et al. 2020 [205], (Рисунок 1). В некоторых непersistентно передаваемых вирусах инфицированное растение выделяет летучие органические соединения, которые привлекают вектор (в данном случае тлю) к посадке и зондированию эпидермальных клеток. Однако заражение вирусом может привести к появлению химических веществ в растениях, которые удерживают вектор от поселения и питания, при этом вектор теперь потенциально приобрел вирус от первоначального зондирования, перемещаясь для потенциальной инокуляции здорового растения.

Вирус шарки сливы

Plum, PPV



Apricot, PPV



Apricot stone, PPV



Peach, PPV



Plum, PPV



Apricot, PPV



Prune, PPV



Peach, PPV



Apricot, ACLSV



Peach ACLSV



Peach, PLMVd



Apricot, HSVd



Apricot, ACLSV



Apricot, ApMV



Plum, HSVd



Apricot, HSVd



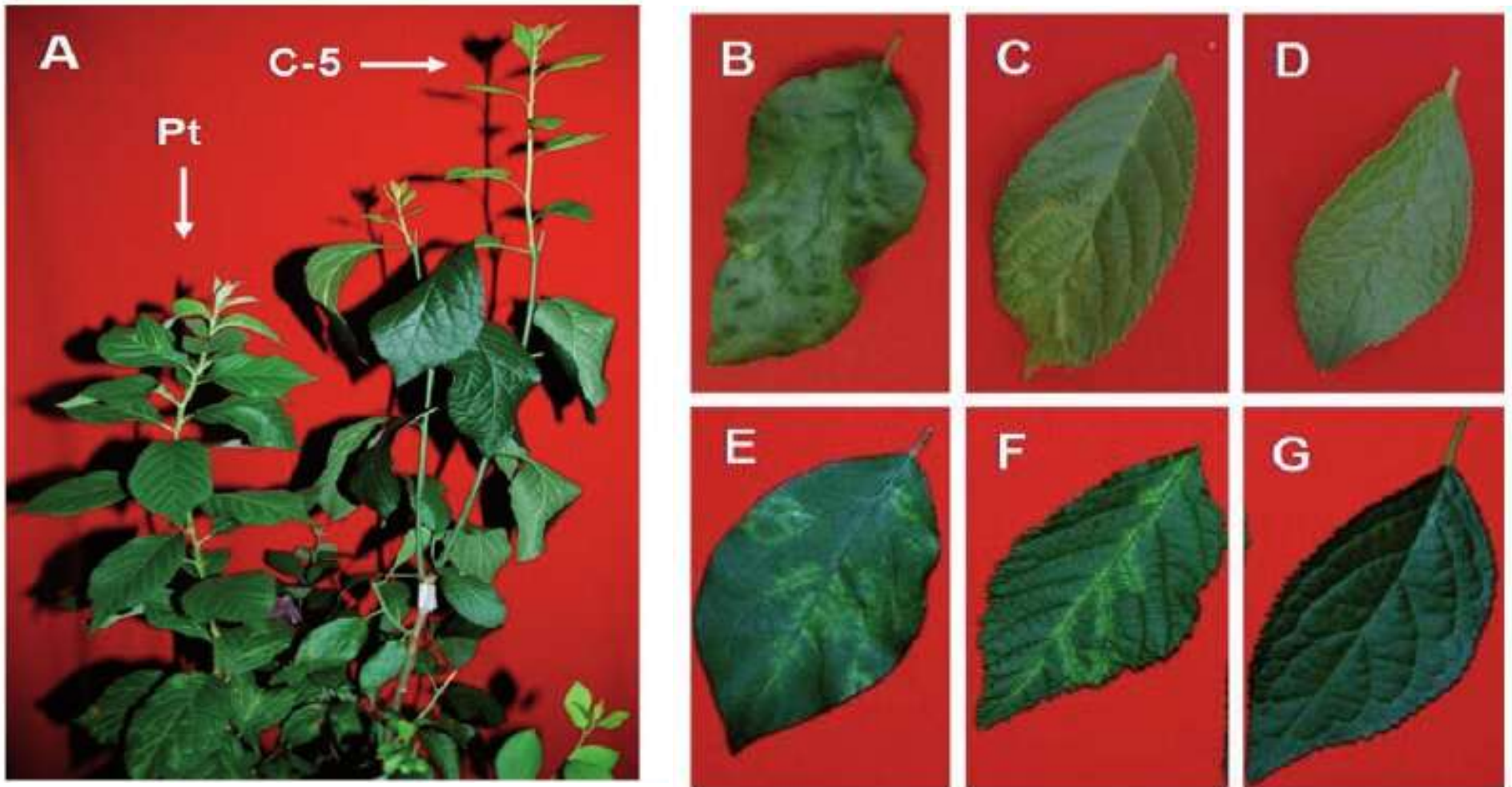
Вирус шарки сливы

Вирус хлоротической пятнистости яблони

Вирус мозаики яблони

Вироид латентной мозаики персика

Вироид хмелевой карликовости



Симптоматика вируса оспы сливы (PPV) в третьем сезоне



A-C, персиково-желтый скат листьев: симптомы пожелтения, увеличение средних жилок и первичных жилок листа, уменьшение размера плодов. На рисунках **A** и **C** здоровые листья и плоды находятся на правом конце. **D**, грушевая листовертка *Cacopsyllapyricola*, природный переносчик фитоплазмы персиково-желтых листьев. **E-K**, симптомы персика, связанные с желтизной европейских косточковых плодов: скручивание и скручивание листьев (**E**, **F** и **H**), увеличение средних жилок и основных боковых жилок (**G** и **H**), изменение цвета флоэмы (**I**), межсезонный рост (**J**), и преждевременное распускание листовых почек (**K**). **L** и **M**, хлоротичные листья и замедленный рост персика (**L**) и пролиферация побегов на подвое GF 677 (**M**), связанные с инфекциями *Candidatus Phytoplasma phoenicium*.

Вирус Шарки (*Plum pox potyvirus* (PPV))

Распространение: **Европа:** Албания, Австрия, Белоруссия, Бельгия, Босния и Герцеговина, Болгария, Великобритания, Венгрия, Германия, Греция, Дания, Испания, Италия, Кипр, Латвия, Литва, Люксембург, Молдавия, Нидерланды, Норвегия, Польша, Португалия, Румыния, Сербия, Словакия, Словения, Турция, Украина, Финляндия, Франция, Хорватия, Черногория, Чехия, Швейцария. **Азия:** Израиль, Индия, Иордания, Иран, Казахстан, Китай, Пакистан, Сирия, Южная Корея, Япония. **Африка:** Египет, Тунис. **Америка:** Аргентина, Канада, США, Чили.

Поражаемые (повреждаемые) растения: Основными древесными хозяевами вируса шарки являются виды *Prunus*, включая абрикос, персик, сливу, алычу, вишню и черешню.

Симптомы (поражений, повреждений): Наиболее четкие признаки заболевания можно увидеть спустя 3-4 недели после цветения. На листьях восприимчивых сортов наблюдаются широкие расплывчатые полосы и кольца сначала светло-зеленой, затем желтой окраски, которые хорошо просматриваются на свету. Летом на сформировавшихся, уже окрашенных и полностью созревших плодах появляются темно-фиолетовые пятна, кольца и полосы. У сливы восприимчивых сортов в этих местах развитие плода прекращается, и на его поверхности образуются вдавленности, которые соединяются в кольцевые узоры, переходящие на косточку.

Пути распространения: Пути распространения – завоз с саженцами и черенками, а также воздушными переносчиками – тлями, соком зараженных растений, возможно, даже с семенами.

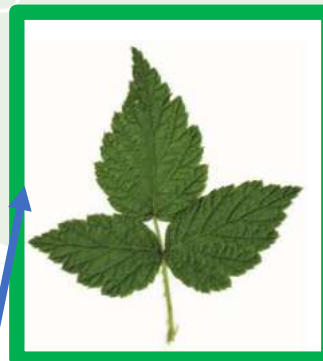
Методы выявления и идентификации: Иммуноферментный анализ, ОТПЦР, ОТ-ПЦР в реальном времени.

Ссылки на основные источники информации по выявлению и идентификации: 1. ГОСТ 33505-2015 Карантин растений. Методы выявления и идентификации потивируса шарки слив; РМ 4/30(1) Схема сертификации миндаля, абрикоса, персика и сливы.

На растительных индикаторах
(травянистые, древесные)

ИФА
(Иммуноферментный анализ)

ПЦР (Полимеразная цепная реакция)

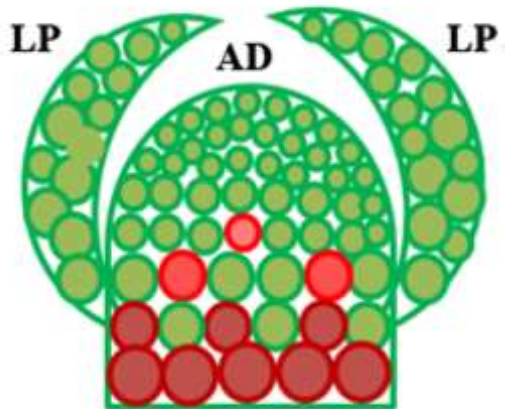


Сохранение в качестве пребазисного материала

Размножение до базисных растений



!Оздоровление!

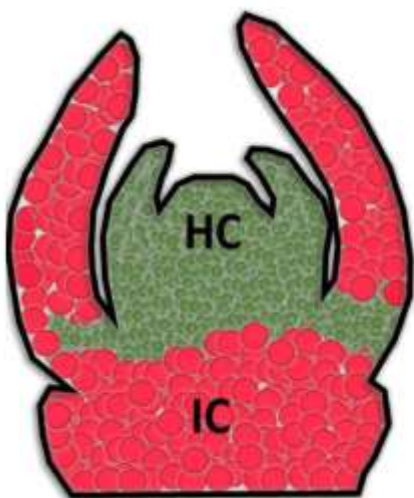


Shoot regeneration (%)

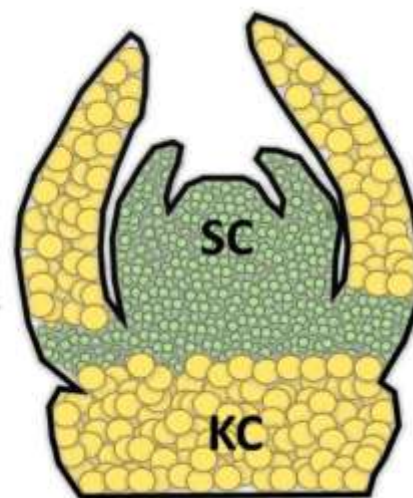
Virus-infected shoot tip

Virus-free frequency (%)

Термотерапия

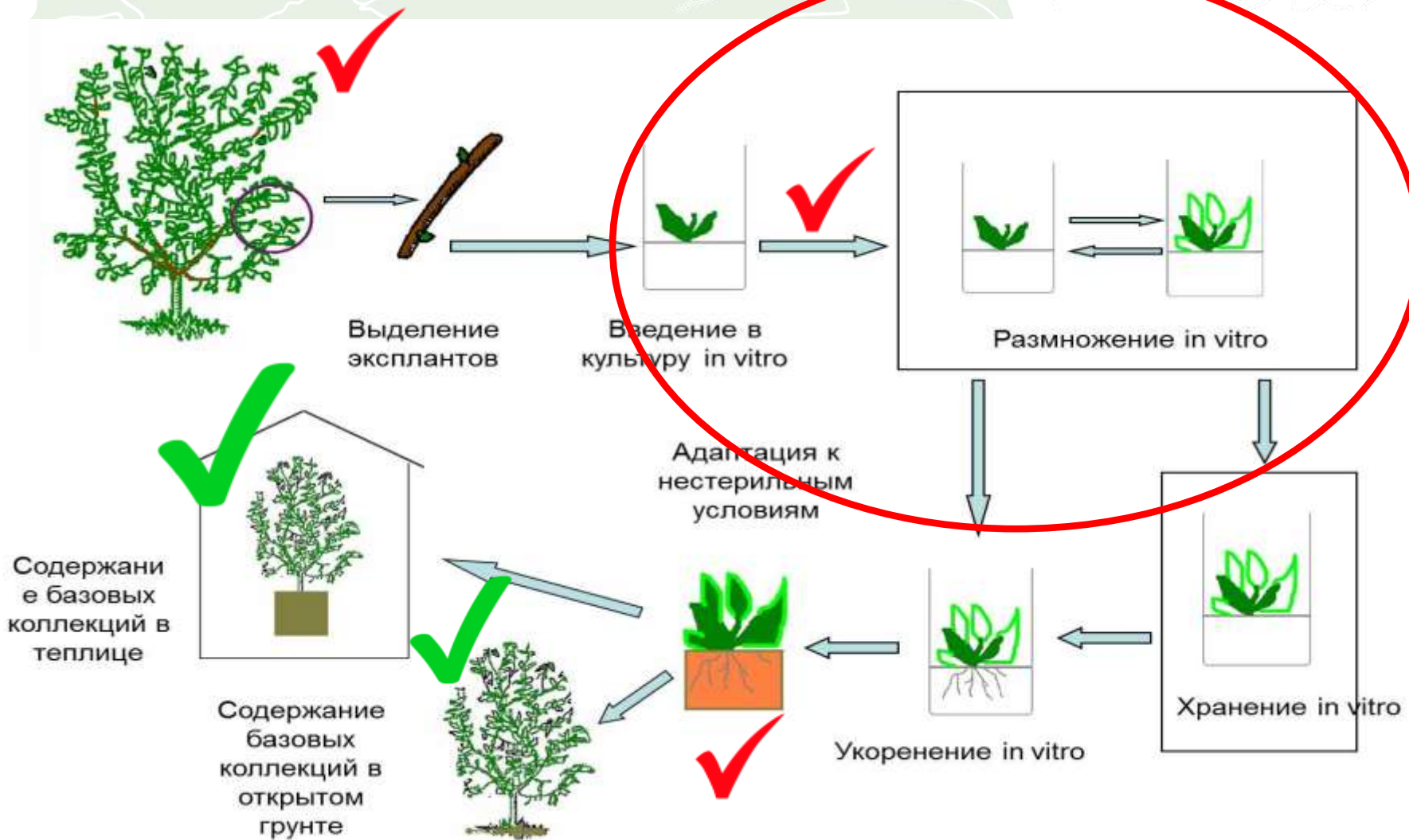


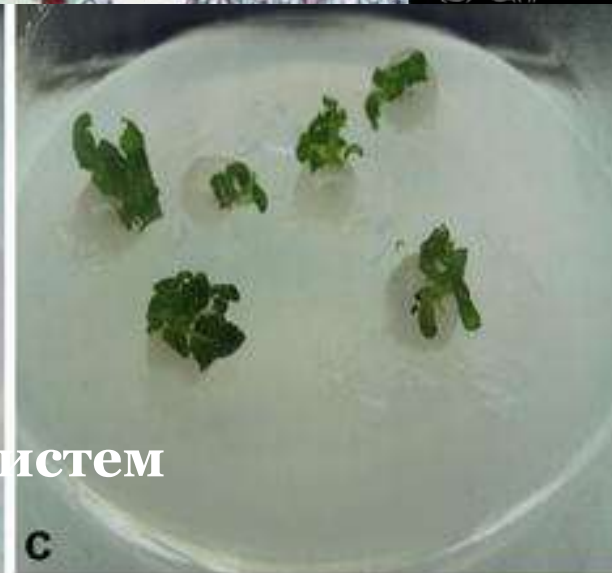
ultra low temperature
&
warming



Криотерапия

ОЗДОРОВЛЕНИЕ РАСТЕНИЙ ОТ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ





Культура апикальных меристем



AP14869380 «Разработка технологии получения высококачественного посадочного материала косточковых культур, оздоровленного от основных вирусных болезней применением комплекса методов питомниководства и биотехнологии»

- ✓ **Apple chlorotic leaf spot trichovirus (ACLSV).**
- ✓ **Apple mosaic ilarvirus (ApM).**
- ✓ **Cherry green ring mottle foverivirus (CGRMV)**
- ✓ **Myrobalan latent ringspot nepovirus (MLRSV)**
- ✓ **Plum pox potyvirus (PPV)**
- ✓ **Prune dwarf ilarvirus (PDV)**
- ✓ **Prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV)**

- ✓ **2 формы дикорастущего абрикоса**
- ✓ **8 сортов абрикоса (Балкия, Никитский Краснощекый, Бурштыновый, Александр, Периковый, Колхозный, Монитоба)**
- ✓ **6 сортов сливы (Ансар, Агыл, Жомарт, Аяна 90-1/20, Ренклюд Талгарский, Стенли)**
- ✓ **7 клоновых подвоев косточковых культур (ВВА-1, Сен-Жульен, Фортуна, Дружба, Кубань, Поумисилет, Эврика)**



AP14869380 «Разработка технологии получения высококачественного посадочного материала косточковых культур, оздоровленного от основных вирусных болезней применением комплекса методов питомниководства и биотехнологии»

Контрольная проверка полевых растений

Введение в культуру зараженные растения

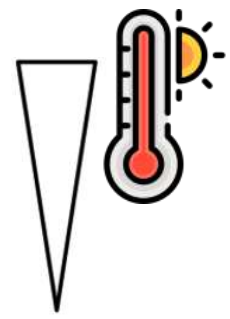
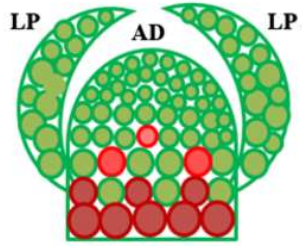
Термотерапия +
Культура апикальных меристем

Термотерапия +
Хемотерапия +
Культура апикальных меристем

Термотерапия +
Хемотерапия
+Криотерапия
Культура апикальных меристем

Контрольная проверка

Клональное микроразмножение



Shoot regeneration (%) Virus-infected shoot tip Virus-free frequency (%)

**14 дней
+ 35-36 (днем)
+ 24-25 (ночью)**



Оздоровление косточковых культур от основных вирусных болезней

Оздоровление, введение в культуру тканей и размножение

Укоренение в культуре тканей



Базисный маточник клоновых подвоев

Базовый маточник клоновых подвоев

Репродуктивный маточник клоновых подвоев

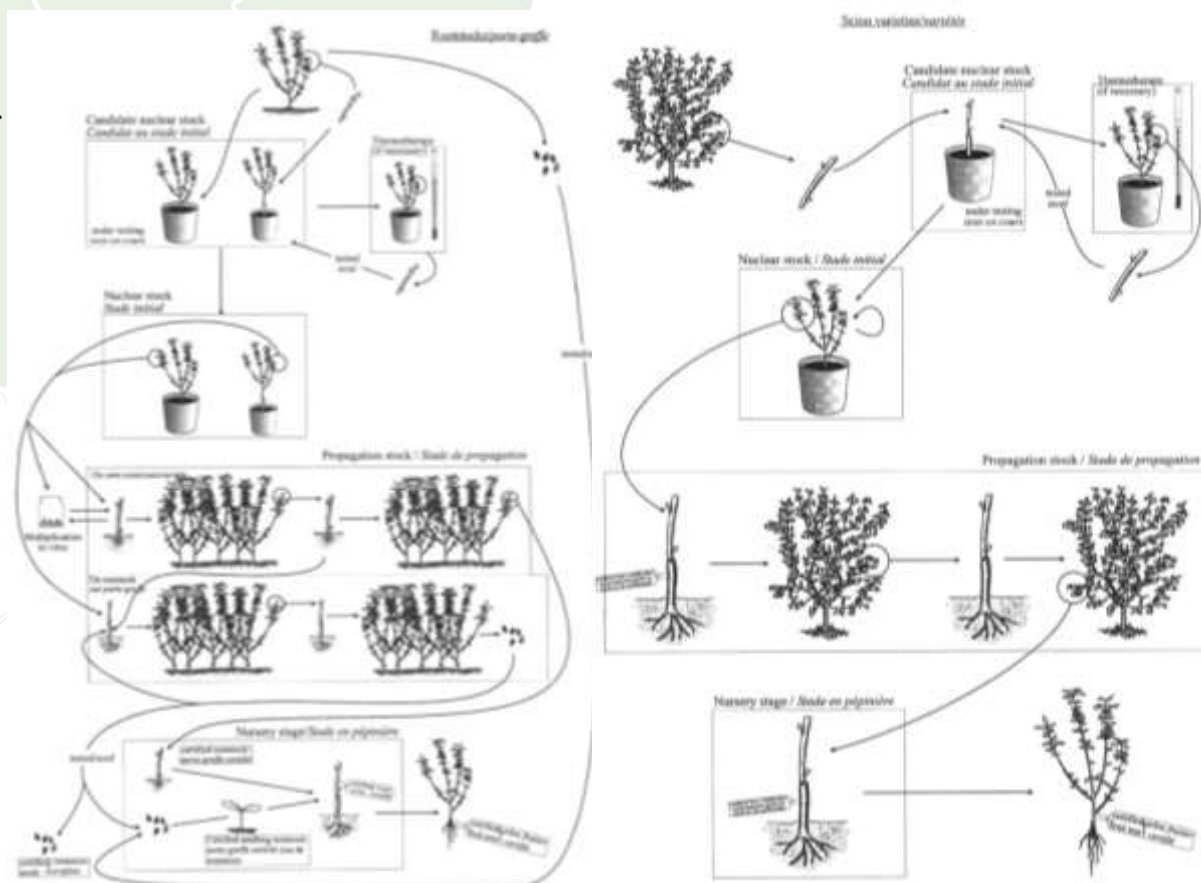
Маточник 1, 2, 3 репродукции

Адаптация и выращивание микроклонированных растений в горшочной культуре



Питомник

- ❖ РМ 4/30(1) **Схема сертификации миндаля, абрикоса, персика и сливы**
- ❖ РМ 4/7(2) **Требования к питомникам** – рекомендуемые требования для предприятий, участвующих в сертификации плодовых или декоративных культур.
- ❖ РМ 4/35(1) **Испытание почвы на вирус-переносчики нематод в рамках стандарта ЕОКЗР**



https://www.eppo.int/RESOURCES/eppo_standards/pm4_certification

БЕЗВИРУСНАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПРЕБАЗИСНЫХ РАСТЕНИЙ САДОВЫХ КУЛЬТУР

- ✓ Ценные сорта и подвои для производства, обмена и селекции
- ✓ Наличие генетических паспортов и сертификации
- ✓ Контейнерная культура
- ✓ Буферные условия
- ✓ Каждые 10 лет проверка на наличие вирусов

БЕЗВИРУСНЫЙ БАЗИСНЫЙ МАТОЧНИК САДОВЫХ КУЛЬТУР

- ✓ Ценные подвои для производства саженцев
- ✓ Наличие генетических паспортов и сертификации
- ✓ Буферные условия
- ✓ Каждые 5 лет проверка на наличие вирусов

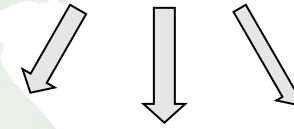
БЕЗВИРУСНЫЙ МАТОЧНО-ЧЕРЕНКОВЫЙ САД САДОВЫХ КУЛЬТУР

- ✓ Ценные коммерческие сорта
- ✓ Наличие генетических паспортов и сертификации
- ✓ Буферные условия
- ✓ Каждые 5 лет проверка на наличие вирусов

Хладохранение *in vitro*



Криоконсервация



Клетки Почки Семена



Хладохранение *in vitro* в климакамере при освещённости $7 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10-ти часовом фотопериоде, температуре $+4^\circ\text{C}$



Длительное хранение *in vitro* позволяет значительно сократить площади и снизить затраты на сохранение генофонда. Растения хранятся от 1 до 3 лет в условиях *in vitro*.

Вишня



Черешня



Яблоня



Сохранение безвирусности пребазисного фонда



Длительное хранение при температуре -196°C позволяет значительно сократить площади и снизить затраты на сохранение генофонда. Растения хранятся без ограничения времени.

НАЗАРЫҢЫЗҒА РАҚМЕТ! БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!

ТОО «Казахский НИИ плодовоощеводства»

г. Алматы, 050060, пр. Гагарина, 238/5, +7 (727) 396-05-11, info@favri.kz

Региональный филиал «Талгар»

Алматинская область, Талгарский район, Алатауский с.о., с.Алмалык, улица Абылай Хан, дом 1а.

+7 771 450 9634 https://www.instagram.com/favri_official/

