

На правах рукописи

Тихонова Кристина Олеговна

УДК 632.3: 634.711

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, ВРЕДНОСНОСТЬ ВИРУСНЫХ
БОЛЕЗНЕЙ И ЭФФЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ ОЗДОРОВЛЕНИЯ
МАЛИНЫ**

Специальность: 06.01.07 – Защита растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Москва – 2016

Диссертационная работа выполнена в ФГБНУ «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства» в 2012-2015 годах на базе отдела биотехнологии и защиты растений.

Научный руководитель:

доктор сельскохозяйственных наук,
профессор РАН

Упадышев Михаил Тарьевич

Официальные оппоненты:

доктор сельскохозяйственных наук,
профессор кафедры защиты растений
РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Белошапкина Ольга Олеговна

доктор биологических наук,
главный научный сотрудник,
профессор Центра паразитологии
Института проблем экологии и эволюции
имени А.Н. Северцова РАН

Романенко Николай Демьянович

Ведущая организация: ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт садоводства имени И.В. Мичурина"

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 года _____
в _____ часов на заседании диссертационного совета по защите
докторских и кандидатских диссертаций Д 220.019.01, созданного на базе
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и
семеноводства овощных культур» по адресу: 143080, Московская область,
Одинцовский район, п/о Лесной городок, пос. ВНИИССОК, ул.
Селекционная, д.14

Факс (495) 599-22-27

Е-mail: vniissok@mail.ru

aspirantura@vniissok.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ ВНИИССОК и
на сайте института www.vniissok.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2016 года.

Учёный секретарь совета по защите докторских и
кандидатских диссертаций Д 220.019.01,
доктор сельскохозяйственных наук,
старший научный сотрудник

Бондарева Людмила Леонидовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Малина является одной из сильно поражаемых вирусами ягодных культур. К наиболее вредоносным относятся вирусы кустистой карликовости малины, кольцевой пятнистости малины, черной кольцевой пятнистости томата, мозаики резухи, латентной кольцевой пятнистости земляники. Эти вирусы широко распространены как за рубежом, так и в Российской Федерации. Они распространяются с зараженным посадочным материалом, пылью и семенами, нематодами-лонгидоридами и с инструментом при выполнении агротехнических работ. Борьба с вирусами в полевых условиях невозможна, поэтому необходим перевод питомниководства на безвирусную основу, широкое использование современных методов диагностики и соблюдение требований сертификации посадочного материала (Балашова, Пивоваров, 2003; Упадышев и др., 2014; Куликов и др., 2015).

Вирусы снижают вегетативную и генеративную продуктивность растений малины, повышают восприимчивость растений к действию неблагоприятных биотических и абиотических факторов среды. Особая опасность ряда вирусов, в частности, кустистой карликовости малины, заключается в способности передачи вируса от больного растения к здоровому с пылью (Jones, 2004). Это делает контроль за распространением вирусов в насаждениях малины более сложным. Поэтому актуальной задачей является оздоровление и использование для закладки маточных насаждений оздоровленного посадочного материала.

Оздоровление посадочного материала осуществляется с применением методов культуры тканей, хемо - и магнитотерапии, которые должны быть усовершенствованы с учетом биологических особенностей культуры и вида вируса (Высоцкий, 2006; Упадышев и др., 2009; Донецких и др., 2014).

Целью исследований является изучение распространенности и вредоносности вирусов на малине и разработка эффективной технологии оздоровления.

Задачи исследований:

1. Изучить распространенность и видовой состав вредоносных вирусов в насаждениях малины.
2. Оценить вредоносность ряда вирусов на малине.
3. Изучить эффективность оздоровления малины от вирусов различными методами *in vitro*.
4. Оценить экономическую эффективность получения здорового посадочного материала малины с применением различных методов оздоровления.

Научная новизна результатов исследований. Впервые в условиях Центрального региона России с использованием метода иммуноферментного анализа установлена высокая распространенность вируса кустистой карликовости малины (27–46 % от числа тестированных растений). Выявлены сорта малины с высокой и более низкой частотой встречаемости вирусов.

Проведена оценка вредоносности основных вирусов на малине в полевых условиях. Установлено снижение генеративной продуктивности под действием вирусов у ряда изученных сортов на 21–71 %, на некоторых сортах различия в продуктивности зараженных и свободных от вирусов растений не выявлены.

Разработан способ оздоровления растений малины от вредоносных вирусов с помощью магнитотерапии (патент РФ № 2555443), обеспечивший увеличение выхода свободных от вирусов растений на 38–50 %. Впервые использованы противовирусные препараты кагоцел и арбидол для оздоровления малины от вирусов в процессе хемотерапии, и показана их противовирусная активность в отношении фитовирусов.

Установлена высокая экономическая эффективность для способов оздоровления с использованием хемотерапии и магнитотерапии *in vitro*.

Практическая значимость и реализация результатов исследований. Разработанный способ оздоровления растений малины от основных

вредоносных вирусов с применением магнитотерапии *in vitro* обеспечил снижение себестоимости получения здоровых растений в 1,9-2,2 раза по сравнению со стандартным способом. Использование препаратов кагоцел и арбидол для химиотерапии *in vitro* привело к уменьшению себестоимости одного растения в среднем в 2 раза. Разработанные способы магнитотерапии и химиотерапии применяются в условиях лаборатории вирусологии ФГБНУ ВСТИСП.

Эффективность магнитотерапии при оздоровлении растений малины от вирусов подтверждена результатами испытаний стимулятора СМИ-5, проведенными сотрудниками ФГБНУ «Росинформагротех» (акт от 13.10.2013 г.).

Отпрыски от безвирусных растений малины в количестве 300 штук в 2014 г. использованы для закладки маточных насаждений в Центре генофонда и биоресурсов растений ВСТИСП (п. Михнево).

В 2014 году получена серебряная медаль ВДНХ на выставке «Золотая осень» за разработку «Инновационная технология оздоровления плодовых и ягодных культур от вирусов с применением экологически безопасных биотехнологических и вирусологических методов», в 2015 году – благодарность ВДНХ «За разработку способа оздоровления малины от вирусов».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Особенности распространения вредоносных вирусов в насаждениях малины.
2. Вредоносность неповирусов и вируса кустистой карликовости малины.
3. Эффективность оздоровления растений малины от вредоносных вирусов с применением методов химиотерапии и магнитотерапии *in vitro*.

Предметом исследований являются закономерности распространения вирусов в зависимости от местонахождения насаждений, вида вируса и сорта малины, особенности вредоносности вирусов, а также эффективные методы оздоровления от них.

Апробация работы. Основные результаты научных исследований докладывались на международных конференциях: II научно-практической конференции молодых ученых, преподавателей, аспирантов «Инновационные разработки молодых ученых для развития агропромышленного комплекса России и стран СНГ» (Краснодар, 5-9 августа 2014 г.), XIV и XV Молодежных научных конференциях «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» (г. Москва, 8 апреля 2014 г. и 16 апреля 2015 г.), научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы и перспективы исследований растительного мира» (г. Ялта, Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААН Украины, 13-16 мая 2014 г.), научно-практической конференции «Методы и технологии в селекции растений и растениеводстве» (г. Киров, 2-3 апреля 2015 г.), II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (дистанционная) «Роль молодых ученых в инновационном развитии сельского хозяйства» (г. Москва, 18 мая – 7 июня 2015 г.), дистанционной научной конференции «Инновационные достижения в современном ягодоводстве» (г. Москва, 25 февраля – 10 марта 2015 г.), научно-практической конференции «Современное состояние питомниководства и инновационные основы его развития» (г. Мичуринск, 21-23 апреля 2015 г.), научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» (г. Москва, 20-21 мая 2015 г.), Всероссийской научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты развития актуальных направлений в генетике, биотехнологии и вирусологии садовых растений» (г. Москва, 20-22 октября 2015 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, в том числе 10 – в изданиях, рекомендованных ВАК, включая патент РФ на изобретение № 2555443.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах, состоит из введения, 4 глав, заключения и рекомендаций производству, списка литературы из 206 наименований, в том числе – 75 на иностранных языках, содержит 37 таблиц, 15 рисунков, 6 приложений.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснованы актуальность, научная новизна и практическая значимость исследований, сформулированы цель и задачи исследований.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Приведены и проанализированы литературные данные по распространенности и вредоносности основных вирусов на малине. Рассмотрены современные способы оздоровления малины от вирусных болезней и показана необходимость их совершенствования.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполняли в 2013-2015 гг. на базе отдела биотехнологии и защиты растений ФГБНУ ВСТИСП (в лабораториях вирусологии и биотехнологии), на лабораторном и демонстрационном участках ВСТИСП.

Объекты исследований: сорта малины (44 сортов и 9 гибридов) и вирусы кустистой карликовости малины – *Raspberry bushy dwarf virus* (RBDV), кольцевой пятнистости малины – *Raspberry ringspot virus* (RpRSV), мозаики резухи – *Arabis mosaic virus* (ArMV), черной кольцевой пятнистости томата – *Tomato black ring virus* (TBRV), латентной кольцевой пятнистости земляники – *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV).

Распространенность вирусов изучали в условиях Московской (лабораторный и демонстрационный участки ВСТИСП), Брянской (Кокинский ОП ВСТИСП), Рязанской (фермерское хозяйство «Райский сад») и Калужской областей (Калужский ГСУ). Исследования проводили путем визуальной оценки вирусных симптомов, а также методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением сэндвич-варианта твердофазного ИФА и использованием базовой методики по M.F. Clark и A.N. Adams (1977) и антисывороток фирмы Neogen (Великобритания) в соответствии с методическими указаниями «Методические указания по экспресс-диагностике вирусов на ягодных культурах» (2002) и «Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и

ягодных культур» (2013). В качестве образцов для ИФА использовали листья.

Вредоносность вирусов на малине оценивали в насаждениях лабораторного участка и демонстрационного сада ФГБНУ ВСТИСП на растениях сортов Метеор, Пересвет, Бальзам и ремонтантных сортов Журавлик, Геракл, Оранжевое чудо, Рубиновое ожерелье, Евразия, предварительно протестированных на вирусы. Определяли продуктивность растений, свободных от изучаемых вредоносных вирусов и зараженных вирусами, путем подсчета числа плодов и определения массы плодов посредством взвешивания на весах в соответствии с «Программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (1999). В каждом варианте – 10 повторностей (1 растение – 1 повторность).

Клональное микроразмножение осуществляли в соответствии с «Методическими указаниями по клональному микроразмножению черной и красной смородины» на модифицированной среде Мурасиге и Скуга (Высоцкий и др., 1986).

Оздоровление малины от вирусов выполняли с использованием метода магнитотерапии *in vitro* с помощью прибора СМИ-5, сконструированного в отделе механизации ФГБНУ ВСТИСП (Донецких и др., 2014). Объектами испытаний служили экспланты малины (размер 5-10 мм) сортов Арбат, Геракл и Малаховка, зараженные вирусами. Число обработок – 6 на протяжении 30 суток. Повторность в опыте – 20-кратная (1 микрорастение – 1 повторность).

Хемотерапию осуществляли с использованием противовирусных препаратов рибавирин, кагоцел и арбидол в концентрациях от 20 до 80 мг/л путем добавления в состав питательной среды. Повторность в опыте – 20-кратная.

Термотерапию эксплантов величиной 5-10 мм проводили в термостате ТС-1/80 СПУ в течение первых 7 суток при температуре 30-32 °С, в последующие 30 суток – при 37°С, относительной влажности воздуха 70 %,

освещенности около 1 тыс. люкс, фотопериоде 12 часов. Повторность в опыте – 20-кратная.

После завершения терапии микрорастения подвергали тестированию методом ИФА.

Статистическую обработку опытных данных проводили методами дисперсионного и корреляционного анализов с использованием программы Straz (РГАУ – МСХА им. К.А.Тимирязева).

Экономическую эффективность рассчитывали в соответствии с «Методическими рекомендациями по определению экономической эффективности научных достижений в садоводстве» (2005) и на основе технологических карт (Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур, 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение распространенности вирусных болезней на малине

В течение 2013–2015 годов методом ИФА протестировано 540 растений малины на 5 изученных вирусов. Во всех 4 областях России отмечена высокая распространенность вирусов на малине (табл. 1). В Московской и Рязанской областях чаще всего встречался вирус RBDV, в Брянской – вирусы RBDV и RpRSV, в Калужской – TBRV.

Таблица 1 – Распространенность вирусов на малине в разных областях Центрального региона РФ (2013–2015 гг.)

Область	Проверено растений		Общая зараженность вирусами, %	Заражено вирусами растений, %				
	Всего	Из них заражено вирусами		ArMV	RpRSV	SLRSV	TBRV	RBDV
Московская	216	144	66,7	5,8	19,0	11,9	26,1	43,3
Рязанская	44	27	61,4	5,4	8,2	3,9	7,4	45,8
Брянская	78	59	75,6	11,1	49,5	8,6	–	39,6
Калужская	11	5	45,5	9,1	0	0	45,5	27,3

Анализ результатов исследований в среднем за 2013–2015 гг. по 5 сортам малины в условиях Московской области подтвердил наиболее высокую распространенность вирусов на сортах Бальзам, Пересвет и Рубиновое ожерелье (табл. 2).

Таблица 2 – Распространенность вирусов на сортах малины в условиях Московской области (в среднем за 2013–2015 гг.)

Сорт	Проверено растений		Общая зараженность вирусами, %	Заражено вирусами растений, %				
	Всего	Из них заражено вирусами		ArMV	RpRSV	SLRSV	TBRV	RBDV
Бальзам	34	30	88,2	0,0	29,4	14,7	8,8	61,8
Метеор	37	13	35,1	5,4	10,8	10,8	2,7	16,2
Пересвет	32	30	93,8	6,3	18,8	0,0	28,1	62,5
Рубиновое ожерелье	40	31	77,5	0,03	17,5	12,5	35,0	35,0
Евразия	38	15	39,5	5,3	23,7	5,3	18,4	18,4
Всего	181	119	65,7	3,9	19,9	8,8	18,8	37,6

В среднем по 5 сортам распространенность вирусов составила около 66% с превалированием вируса RBDV. Слабая зараженность по всем 5 сортам отмечена для вирусов ArMV и SLRSV.

Сравнительный анализ распространенности вирусов на 4 сортах малины в условиях Московской и Брянской областей показал, что в обеих областях уровень общей зараженности вирусами был одинаково высоким (табл. 3).

Таблица 3 – Сравнительная оценка распространенности вирусов на сортах малины в условиях Московской и Брянской областей РФ

Сорт	Область	Общая зараженность, %	ArMV	RpRSV	SLRSV	RBDV
Брянское диво	Московская	100,0	0	40,0	60,0	100,0
	Брянская	75,0	0	50,0	25,0	50,0
	В среднем	87,5	0	45,0	42,5	75,0
Рубиновое ожерелье	Московская	77,5	0,03	17,5	12,5	35,0
	Брянская	66,7	40,0	40,0	20,0	20,0
	В среднем	72,1	20,0	28,8	16,3	27,5
Оранжевое чудо	Московская	70,0	0	30,0	40,0	40,0
	Брянская	75,0	0	50,0	25,0	50,0
	В среднем	72,5	0	40,0	32,5	45,0
Геракл	Московская	90,9	4,5	27,3	22,7	36,4
	Брянская	100,0	0	67,0	0	33,0
	В среднем	95,4	2,2	47,2	11,4	34,7

Это связано с происхождением растений из одного источника: в Московскую область эти сорта были завезены из Брянской области.

Наибольшая распространенность вирусов выявлена на сорте Геракл, которая составила 95 %, несколько ниже – на остальных сортах. Зараженность сортов малины отдельными вирусами также была различной. Наибольшая зараженность 3-мя вирусами (SLRSV, RBDV и RpRSV) отмечена на сорте Брянское диво в обеих областях. Зараженность вирусом RBDV выявлена на всех сортах в двух областях России. Зараженность вирусом RpRSV варьировала от 17 до 67 %, вирусом SLRSV – от 0 до 60 %. Зараженность вирусом ArMV была наименьшей: на сортах Брянское диво и Оранжевое чудо данный вирус отсутствовал, на сорте Геракл отмечен только в Московской области с низкой частотой встречаемости, на сорте Рубиновое ожерелье выявлен в Брянской области.

В большинстве случаев вирусная инфекция носила латентный характер. Вместе с тем на отдельных растениях малины сорта Пересвет наблюдали симптомы межжилкового хлороза на листьях, а впоследствии – «рассыпухи» плодов. На малине сорта Абрикосовая отмечали деформации и морщинистость на некоторых листьях, вызванные комплексом вирусов, а также уменьшение числа костянок в 3-4 раза, что является характерной особенностью проявления вируса кустистой карликовости малины. На листьях сорта Рубиновое ожерелье отмечали симптомы прижилкового хлороза, вызванные вирусом черной кольцевой пятнистости томата.

В структуре зараженных растений малины преобладали растения с моноинфекцией (76 %), комплексом из 2-х вирусов было заражено 19 %, из 3-х – 3,1 %, из 4-х – 1,9 %. Отмечено наибольшее распространение комплексов RpRSV + RBDV (53 % к числу зараженных 2-мя вирусами растений) и SLRSV + RBDV (25 %).

Изучение вредоносности вирусов на малине

На растениях малины сорта Бальзам вирусы RpRSV, TBRV и RBDV в среднем за 2014–2015 гг. уменьшали продуктивность на 71 %, не оказывая существенного влияния на массу плода (табл. 4). При этом в 2015 году вредоносность данных вирусов оказалась выше, чем в 2014 году, что, возможно, связано с увеличением концентрации вирусов в тканях растений.

Таблица 4 – Генеративная продуктивность растений малины сорта Бальзам в зависимости от зараженности вирусами RpRSV, TBRV и RBDV и года исследований, 2014- 2015 годы

Наличие вирусов	Масса плода, г			Продуктивность, кг/ куст		
	2014 г.	2015 г.	среднее	2014 г.	2015 г.	среднее
–	2,1	3,5	2,8	0,460	0,501	0,480
+	1,8	3,2	2,5	0,383	0,176	0,280
НСР ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	0,053	0,115	0,130

На сорте Бальзам в 2014 г. вирус RBDV и комплекс вирусов RBDV + RpRSV снижали продуктивность растений на 16,6 и 44,0 % соответственно.

В среднем за 2013–2015 годы вирус RpRSV приводил к снижению продуктивности растений малины сорта Евразия на 21 % (табл. 5).

Таблица 5 – Генеративная продуктивность растений малины сорта Евразия в зависимости от зараженности вирусом RpRSV и года исследований, 2013-2015 годы

Наличие вируса	Масса плода, г				Продуктивность, кг/ куст			
	2013 г.	2014 г.	2015 г.	среднее	2013 г.	2014 г.	2015 г.	среднее
–	1,9	2,1	2,5	2,2	0,168	0,202	0,306	0,225
+	1,8	1,7	2,3	1,9	0,148	0,175	0,236	0,186
НСР ₀₅	F _φ <F ₀₅	0,28	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	0,034	0,021

Существенные различия по массе плода между инфицированными вирусом RpRSV и свободными от этого вируса растениями малины сорта Евразия отмечены в 2014 году.

На растениях малины сорта Рубиновое ожерелье существенные различия (42 %) по продуктивности зараженных вирусами и безвирусных растений были отмечены в 2015 году, тогда как в 2014 году различия отсутствовали (табл. 6).

Таблица 6 – Генеративная продуктивность растений малины сорта Рубиновое ожерелье в зависимости от зараженности вирусами TBRV, RBDV и RpRSV и года исследований, 2014-2015 годы

Наличие вирусов	Масса плода, г			Продуктивность, кг/ куст		
	2014 г.	2015 г.	среднее	2014 г.	2015 г.	среднее
–	2,0	2,0	2,00	0,343	0,118	0,230
+	2,0	1,9	1,95	0,364	0,083	0,223
НСР ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	F _φ <F ₀₅	0,025	F _φ <F ₀₅

В среднем за 2013–2014 годы на зараженных вирусами растениях малины сорта Пересвет имела тенденция к снижению продуктивности и массы 1 плода по сравнению с безвирусными растениями, хотя статистически достоверные различия выявлены только по массе плода, а в 2014 г. – по продуктивности (табл. 7).

Таблица 7 – Генеративная продуктивность растений малины сорта Пересвет в зависимости от зараженности вирусами RBDV, RpRSV и года исследований, 2013-2014 годы

Наличие вирусов	Масса плода, г			Продуктивность, кг/куст		
	2013 г.	2014 г.	Среднее	2013 г.	2014 г.	Среднее
–	1,9	2,8	2,4	0,168	0,286	0,227
+	2,0	1,7	1,9	0,175	0,229	0,202
НСР ₀₅	F _φ <F ₀₅	0,36	0,30	F _φ <F ₀₅	0,031	F _φ <F ₀₅

При этом на сорте Пересвет комплекс вирусов RBDV + RpRSV оказался более вредоносным по сравнению с одним вирусом RBDV (снижение продуктивности соответственно на 44 и 17 %).

На сортах Геракл и Брянское диво установлена тенденция снижения продуктивности растений при повышении индекса их зараженности вирусом кустистой карликовости малины (рис. 1).

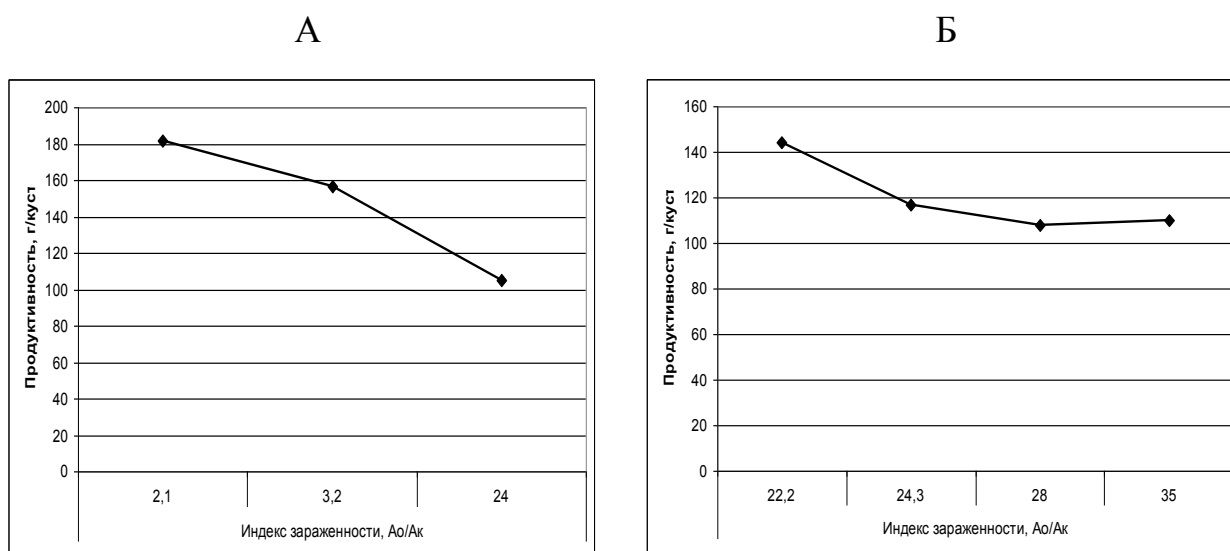


Рисунок 1 – Продуктивность растений малины сортов Геракл (А) и Брянское диво (Б) в зависимости от индекса зараженности вирусом кустистой карликовости малины.

Следовательно, на ряде сортов имелась тенденция по снижению продуктивности у зараженных вирусами растений малины, особенно у тех растений, которые имели симптомы вирусных болезней. Иногда растения, зараженные вирусами в латентной форме, проявляли толерантность, не реагируя на заражение вирусами снижением генеративной продуктивности.

Особенности оздоровления малины от вирусов с применением магнитотерапии, хемотерапии и термотерапии *in vitro*

Проведенные испытания стимулятора СМИ-5 показали, что эффективность оздоровления малины в условиях культуры тканей от вируса кустистой карликовости малины зависела от режима магнитно-импульсной обработки (МИО) и сортовых особенностей.

На малине сорта Арбат применение МИО со снижением частоты импульсов магнитной индукции по закону спадающего ступенчатого темперированного частотного ряда (СТЧР) в диапазоне от 51,2 до 3,2 Гц обеспечивало увеличение выхода здоровых растений на 17 % (табл. 8).

Таблица 8 – Эффективность оздоровления микрорастений малины от вируса кустистой карликовости с использованием магнитно-импульсной обработки

Вариант	Выход здоровых растений, %			Индекс зараженности*		
	Арбат	Малаховка	В среднем	Арбат	Малаховка	В среднем
Контроль – без обработки	33,3 а**	33,3 а	33,3 а	2,0	2,0	2,0
МИО с нарастанием частоты 3,2–51,2 Гц	25,0 а	42,9 а	34,0 а	1,95	1,6	1,78
МИО со снижением частоты 51,2–3,2 Гц	50,0 б	33,3 а	41,7 б	1,90	1,7	1,80
МИО с нарастанием и спадом 3,2–51,2–3,2 Гц	50,0 б	100,0 б	75,0 в	1,93	1,45	1,69
НСР ₀₅	-	-	-	$F_{\phi} < F_{05}$	0,26	0,19

*Индекс зараженности – отношение оптической плотности образца к оптической плотности сероотрицательного контроля (при $A_0/A_k > 2,0$ образец считается зараженным вирусом).

**Разные буквы обозначают существенные различия при 5 %-ом уровне значимости.

Аналогичный эффект на сорте Арбат получен с нарастанием и спадом частоты импульсов в диапазоне 3,2–51,2–3,2 Гц. На сорте Малаховка вариант с нарастанием и спадом частоты в диапазоне 3,2–51,2–3,2 Гц обеспечил увеличение выхода здоровых растений на 66,7 % и снижение индекса зараженности на 38 % в сравнении с контролем. Признаки фитотоксичности на растениях малины, подвергшихся магнитной обработке, отсутствовали.

В среднем по 2 сортам малины вариант с линейным нарастанием и спадом частоты импульсов магнитной индукции в диапазоне 3,2–51,2–3,2 Гц обеспечил увеличение выхода свободных от вируса кустистой карликовости малины растений на 42 % и снижение индекса зараженности на 18 %.

В другом эксперименте выход свободных от вируса мозаики резухи растений малины сорта Арбат в вариантах с магнитной обработкой

повышался на 37,5-50 % при снижении индекса зараженности в 1,5-1,7 раза по сравнению с контролем.

При оздоровлении сорта Геракл от вируса кольцевой пятнистости малины МИО с линейным нарастанием и спадом частоты импульсов в диапазоне 3,2–51,2–3,2 Гц обеспечила увеличение выхода здоровых растений до 50 % и снижение индекса зараженности на 12 % по сравнению с контролем. На разработанный способ оздоровления с применением магнитной обработки получен патент РФ № 2555443.

Эффективность оздоровления малины сорта Арбат от вируса мозаики резухи с использованием хемотерапии зависела от вида использованного препарата (табл. 9).

Таблица 9 – Эффективность оздоровления малины сорта Арбат от вируса ArMV в зависимости от антивирусного препарата (АВП)

Название препарата	Концентрация, мг/л	Выход здоровых растений, %	Индекс зараженности
Без АВП – контроль	-	50,0 б	2,0
Рибавирин – эталон	40	0,0 а	2,0
Арбидол	20	100 в	1,1
	40	33,3 б	2,4
Кагоцел	80	100 в	1,6
НСР ₀₅		-	0,3

Применение рибавирина в концентрации 40 мг/л не позволило получить свободных от вируса растений, тогда как в вариантах с арбидолом (20 мг/л) и кагоцелом (80 мг/л) выход здоровых растений составил 100 %. В этих же вариантах отмечали существенное снижение индекса зараженности растений.

Сравнительная оценка эффективности оздоровления растений малины сорта Арбат от вируса мозаики резухи показала, что все 3 использованных способа повышали выход здоровых растений в сравнении с контролем (табл. 10).

Таблица 10 – Эффективность оздоровления растений малины сорта Арбат от вируса мозаики резухи с использованием различных способов оздоровления

Вариант	Выход здоровых растений, %	Индекс зараженности
Контроль – без обработки	50,0 а	2,0
Термотерапия <i>in vitro</i>	83,3 б	1,7
Хемотерапия <i>in vitro</i> *	100 б	1,1
Магнитотерапия <i>in vitro</i> *	100 б	1,2
НСР ₀₅	-	0,5

В опыте по изучению действия термотерапии выход свободных от вируса мозаики резухи растений малины был на 17 % ниже по сравнению с хемотерапией или магнитотерапией. Индекс зараженности растений, прошедших термотерапию, был на 42-55 % выше, чем у растений при двух других способах оздоровления. Следовательно, по рассматриваемым показателям эффективности оздоровления термотерапия несколько уступала хемотерапии и магнитотерапии *in vitro*.

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ОЗДОРОВЛЕНИЯ РАСТЕНИЙ МАЛИНЫ ОТ ВИРУСОВ

Себестоимость одного оздоровленного от вируса кустистой карликовости растения малины, полученного методом магнитотерапии, снизилась в 2,2 раза по сравнению с контролем. Затраты труда при этом в расчете на одно растение уменьшились в 1,9 раза.

Затраты труда при использовании хемо, магнито- или термотерапии *in vitro* в процессе оздоровления от вируса мозаики резухи снизились в 1,7-2,1 раза по сравнению с применением одной культуры меристем (табл. 11). Себестоимость одного растения, оздоровленного от вируса мозаики резухи с использованием хемо - или магнитотерапии, снизилась соответственно в 2 и 1,9 раза по сравнению со стандартным методом. Себестоимость одного растения, полученного с применением термотерапии, снизилась в 1,6 раза в сравнении с контролем. Следовательно, по эффективности термотерапия несколько уступала хемо - или магнитотерапии.

Таблица 11 – Экономическая оценка получения растений малины, оздоровленных от вируса мозаики резухи, в зависимости от способа оздоровления

Экономический показатель	Способ оздоровления			
	Культура меристем (стандарт)	Магнито-терапия <i>in vitro</i>	Хемотерапия <i>in vitro</i>	Термотерапия <i>in vitro</i>
Выход растений после оздоровления, шт.	30	30	30	30
Выход свободных от вируса растений, %	50	100	100	83
Количество свободных от вируса растений, шт.	15	30	30	25
Всего затрат, руб.	103445	110315	103955	107347
Себестоимость одного растения, руб.	6896,3	3677,2	3465,2	4293,9
Затраты труда, чел. - ч./1 растение	13,1	6,5	6,2	7,8

Себестоимость сертифицированных растений, полученных от базисных растений, существенно снижается (табл. 12). При этом наиболее высокий уровень рентабельности обеспечивали хемотерапия и магнитотерапия.

Таблица 12 – Экономическая оценка получения сертифицированных растений малины в зависимости от способа оздоровления

Экономический показатель	Способ оздоровления			
	Культура меристем (стандарт)	Магнито-терапия <i>in vitro</i>	Хемотерапия <i>in vitro</i>	Термотерапия <i>in vitro</i>
Выход растений, шт.	12705	25410	25410	21175
Затраты, тыс. руб.	2237,9	3489,5	3483,2	3107,3
Себестоимость одного растения, руб.	176,1	137,3	137,1	146,7
Доход от реализации*, тыс. руб.	3176,3	6352,5	6352,5	5293,7
Прибыль, тыс. руб.	938,4	2863,0	2869,4	2186,4
Уровень рентабельности, %	41,9	82,0	82,4	70,4

*Цена реализации 1 растения – 250 руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Распространенность вирусов в насаждениях малины Центрального региона РФ варьировала в пределах 46–76 %, а вирусов в отдельности: ArMV – 5–11 %, RpRSV – 0–50 %, TBRV – 7–46 %, SLRSV – 0–12 %, RBDV – 27–46 %. В условиях Московской и Рязанской областей наибольшей частотой встречаемости характеризовался вирус RBDV (43 и 46 % соответственно), Брянской области – RpRSV (50 %) и RBDV (40 %), Калужской области – TBRV (46 %) и RBDV (27 %). В структуре зараженных растений малины преобладали растения с моноинфекцией (76 %).

2. Установлена высокая распространенность в насаждениях малины вируса кустистой карликовости. Высокая частота встречаемости этого вируса выявлена на сортах Оранжевое чудо (45 %), Пересвет (63 %), Бальзам (62 %), Брянское диво (75 %). Более низкая распространенность вируса RBDV отмечена для сортов Метеор (16 %), Евразия (18 %), Рубиновое ожерелье (28 %). Выявлены свободные от вредоносных вирусов клоны 22 сортов малины.

3. Под действием вирусов у растений ряда изученных сортов малины доказано снижение генеративной продуктивности: у сорта Евразия – на 21 %, Бальзам – на 71 % по сравнению со свободными от вирусов растениями. На сортах Рубиновое ожерелье и Пересвет различия в продуктивности зараженных и свободных от вирусов растений не выявлены.

Масса 1 плода у зараженных вирусами растений сорта Пересвет снизилась на 26 %, тогда как на сортах Евразия, Бальзам и Рубиновое ожерелье существенные различия по данному показателю между зараженными и свободными от изученных вирусов растениями отсутствовали.

4. С увеличением индекса зараженности вирусами отмечено снижение продуктивности. Растения малины, в сильной степени зараженные вирусом кустистой карликовости, характеризовались на 27–47 % более низкой продуктивностью по сравнению с растениями, свободными от этого вируса.

Комплекс вирусов RBDV + RpRSV оказался более вредоносным по сравнению с одним вирусом RBDV.

5. Эффективность оздоровления эксплантов малины в условиях культуры тканей зависела от вида вируса, режима магнитно-импульсной обработки и сортовых особенностей. На сортах Арбат и Малаховка при использовании магнитотерапии *in vitro* с последовательными нарастанием и спадом частоты импульсов достигнуто увеличение выхода свободных от вируса кустистой карликовости малины растений в среднем на 42 % и снижение индекса зараженности на 17 %. Выход свободных от вируса мозаики резухи растений малины сорта Арбат в вариантах с магнитной обработкой повышался на 38-50 % по сравнению с контролем. На сорте Геракл установлено увеличение выхода свободных от вируса кольцевой пятнистости малины растений до 50 %.

6. В процессе хемотерапии растений малины установлена более высокая фитотоксичность рибавирина по сравнению с кагоцелом и арбидолом. Высокие концентрации АВП ингибировали ростовые процессы у эксплантов малины. При концентрации АВП 20 мг/л магнитно-импульсная обработка повышала выход жизнеспособных эксплантов на 10–22 %. На питательных средах с арбидолом и кагоцелом выход свободных от вируса мозаики резухи растений малины сорта Арбат повышался на 50 % по сравнению со средой без АВП.

7. Выход свободных от вируса мозаики резухи эксплантов малины с применением термотерапии *in vitro* был на 17 % ниже по сравнению с хемотерапией или магнитотерапией *in vitro*.

8. Применение методов хемотерапии или магнитотерапии *in vitro* позволяет снизить в 1,9–2,2 раза себестоимость получения здоровых растений и в 1,9–2,1 раза затраты труда по сравнению с методом культуры меристем.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Для обеспечения повышения продуктивности маточных и промышленных насаждений малины их закладку следует осуществлять оздоровленным от основных вредоносных вирусов или тестированным посадочным материалом.

2. С целью повышения эффективности оздоровления растений малины от вирусов рекомендуется применять хемотерапию или магнитотерапию *in vitro*.

3. Магнитно-импульсную обработку растений малины следует осуществлять импульсами магнитной индукции с повышением частоты от 3,2 до 51,2 Гц и с последующим снижением частоты в диапазоне от 51,2 до 3,2 Гц на протяжении 8 минут для каждого частотного диапазона в соответствии с патентом РФ № 2555443.

4. При проведении хемотерапии в питательную среду рекомендуется добавлять кагоцел (80 мг/л) или арбидол (20 мг/л).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. **Тихонова К.О.** Устройство магнитно-импульсного воздействия на посадочный материал садовых растений с управлением от персонального компьютера / В.И. Донецких, В.В. Бычков, М.Т. Упадышев, **К.О. Тихонова**, В. Г. Селиванов // Техника и оборудование для села. – 2014.– № 8.– С. 8–13.
2. Патент РФ № 2555443. Способ оздоровления от вирусов растений малины, выращиваемых *in vitro* / М.Т. Упадышев, **К.О. Тихонова**, В.И. Донецких. – Оpubл. 10.07.2015. – Бюл. № 19.– 6 с.
3. **Тихонова, К.О.** Вредоносность вирусов на малине и оздоровление от них с использованием биотехнологических приёмов / К.О. Тихонова, М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, В.И. Донецких // Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2015. – Т. XXXXIII. – С. 349–353.
4. **Тихонова, К.О.** Оздоровление малины от вредоносных вирусов с использованием современных методов биотехнологии и вирусологии / К.О. Тихонова, М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, В.И. Донецких, А.Д. Петрова // Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2014. – Т. XXXIX. – С. 212–216.
5. **Тихонова, К.О.** О вредоносности вирусов на малине и оздоровлении от них / К.О. Тихонова, М. Т. Упадышев, К.В. Метлицкая // Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2015. – Т. XXXXIII. – С.349–353.
6. **Тихонова, К.О.** О распространенности вирусных болезней малины в Центральном регионе России / М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, **К.О. Тихонова**, С.Н. Евдокименко // Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2014. – Т. XXXVII, ч. 2. – С. 184–190.
7. **Тихонова, К.О.** Оздоровление садовых культур от вирусов с использованием экологически безопасных методов / М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, Г.Ю. Упадышева, В.И. Донецких, **К.О. Тихонова**, А.Д. Петрова

// Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2014. – Т. XXXX. – С. 329–333.

8. **Тихонова, К.О.** Закономерности распространения вредоносных вирусов в агроценозах малины и земляники садовой / М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, А.Д. Петрова, **К.О. Тихонова** // Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2015. – Т. XXXXI. – С. 366–370.

9. **Тихонова, К.О.** Распространенность и вредоносность вирусов малины и современные способы её оздоровления / К.О.Тихонова, М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая // Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2016. – Т. XXXXI V.– С.234–238.

10. **Тихонова, К.О.** Вредоносность вирусов на малине в полевых условиях / **К.О. Тихонова**, К.В. Метлицкая, М.Т. Упадышев/ Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2016. – Т. XXXXI V.–188–192.

Статьи в прочих изданиях:

11. **Тихонова, К.О.** Диагностика вирусных болезней малины с помощью ИФА и методы ее оздоровления / **К.О. Тихонова**, М.Т. Упадышев, В.И. Донецких // Материалы XIV молод. науч. конф. «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии». – М., 2014.– С. 5–6.

12. **Тихонова, К.О.** Действие химических факторов на растения малины при оздоровлении *in vitro* от вирусов / К.О. Тихонова // Материалы XV молод. науч. конф. «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии». – М., 2015.– С. 15–16.

13. **Тихонова, К.О.** Сортовая специфика зараженности малины вирусными болезнями / **К.О. Тихонова**, М.Т. Упадышев // Материалы II Международной научно-практ. конф. молодых учёных, преподавателей, аспирантов, студентов «Инновационные разработки молодых учёных для агропромышленного комплекса России и стран СНГ». – Краснодар: ГНУ ВНИИ риса, 2014. – С. 122.

14. **Тихонова, К.О.** Изучение закономерностей распространения вредоносных вирусов на малине / **К.О. Тихонова**, М.Т. Упадышев //

Материалы международной научно-практ. конф. молодых учёных «Проблемы и перспективы исследований растительного мира». – Ялта, 2014.– С. 70.

15. **Тихонова, К.О.** Вредоносность вирусов на малине и оздоровление от них с использованием биотехнологических приемов / К.О. Тихонова, М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, В.И. Донецких // Материалы международной научно-практической конференции «Современное состояние питомниководства и инновационные основы его развития».– Мичуринск: ВНИИС им. И. В. Мичурина, 2015.– С. 69–73.

16 **Тихонова, К.О.** Диагностика вирусных болезней малины // М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, **К.О. Тихонова**. – М.: ВИГИС, 2014.–С. 330–333.

17. **Тихонова, К.О.** Изучение вредоносности вирусов на малине в условиях средней полосы России / М.Т. Упадышев, **К.О. Тихонова** // **Материалы** междунар. научной конф. «Теория и практика современного ягодоводства: от сорта до продукта». – Самохваловичи, 2014. – С. 209–213.

18. **Тихонова, К.О.** Распространенность вирусных болезней плодовых и ягодных культур и современные методы борьбы с ними / М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, **К.О. Тихонова**, В.И. Донецких, Г.Ю. Упадышева, И.А. Бьядовский, А.Д. Петрова // Живые и биокосные системы. – 2014. – Вып. 9. – <http://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-22>.