

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ САДІВНИЦТВА**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПАВЛЮК ЛІЛІЯ ВАСИЛІВНА

УДК 634.23:632.3:578.2

ДИСЕРТАЦІЯ

**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ УДОСКОНАЛЕННЯ ВІДБОРУ
БЕЗВІРУСНИХ КЛОНІВ У СИСТЕМІ СЕРТИФІКАЦІЇ САДИВНОГО
МАТЕРІАЛУ ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ**

203 Садівництво та виноградарство
20 Аграрні науки та продовольство

Подається на здобуття наукового ступеня
доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Павлюк Л.В.

Науковий керівник: **Бублик Микола Олександрович**, доктор
сільськогосподарських наук, професор, член-кореспондент НААН

АНОТАЦІЯ

Павлюк Л. В. Наукове обґрунтування удосконалення відбору безвірусних клонів у системі сертифікації садивного матеріалу вишні та черешні. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 «Садівництво та виноградарство» (20 — Аграрні науки та продовольство). — Інститут садівництва НААН, Київ, 2021.

У дисертаційній роботі проаналізовано вірусні хвороби вишні та черешні. Встановлено поширення патогенів на території України, вивчено молекулярно-біологічні особливості окремих ізолятів.

В Україні насадження вишні та черешні займають 49,5 % загальної площі насаджень кісточкових культур. Отже, є потреба в якісному садивному матеріалі. Лімітуючим чинником отримання як садивного матеріалу, так і стабільної та високої урожайності є вірусні патогени. Сумісність сортопідщепних комбінувань під дією вірусів досі не з'ясована. Тому актуальним було вивчення впливу патогенів на ріст і розвиток саджанців.

Згідно з рекомендаціями Європейської і Середземноморської організації захисту рослин (ЄОЗР) та розробленим ними стандартом РМ(4)29(1) «Схема сертифікації черешні та вишні», необхідним є тестування садивного матеріалу на 15 вірусних патогенів. Оскільки до часу планування наших досліджень у насадженнях вишні та черешні ідентифіковано лише п'ять вірусів, то актуальним є проведення фітовірусологічного моніторингу на розширену панель вірусів. Отримані результати досліджень дали можливість з'ясувати наявність і поширення патогенів у насадженнях, а вивчення молекулярно-генетичних характеристик виділених ізолятів дало змогу з'ясувати їх мінливість, походження та вплив на рослину. Отже, проведені дослідження актуальні.

Новизна досліджень полягає в ідентифікації панелі патогенів вишні, черешні та їхніх підщеп відповідно до стандарту РМ(4)29(1). Уперше в Україні проведено моніторинг насаджень вишні, черешні та їхніх підщеп на 10 вірусів зі стандарту РМ(4)29(1), а також ВШС — одного з найбільш шкочочинних вірусних патогенів кісточкових. Визначено, що інфікованість насаджень вишні становить 33 %, черешні — 30,6 %, підщеп — 13 %. Уперше в насадженнях вишні, черешні та їхніх підщеп виявлено низку патогенів: вірус зіркоподібної мозаїки петунії (ВЗМП), вірус чорної кільцевої плямистості томату (ВЧКТ), вірус мозаїки яблуні (ВМЯ), вірус мозаїки резухи (ВМР), вірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ) та вірус латентної кільцевої плямистості суниці (ВЛКПС). Проведено філогенетичний аналіз ізолятів вірусу некротичної кільцевої плямистості кісточкових (ВНКП), вірусу карликовості сливи (ВКС), які виділені з рослин вишні та черешні, а також вірусу шарки сливи (ВШС), виділеного з вишні магалебської. Виявлено, що ізоляти ВНКП належать до різних груп, які, зі свого боку, як помірно, так і виражено негативно діють на рослину.

Вивчено вплив вірусних патогенів на сорто-підщепні комбінування та функціональний стан вишні та черешні.

З метою вивчення фітовірусологічного стану насаджень вишні, черешні та їхніх підщеп проведено тестування рослинного матеріалу на 10 вірусних патогенів, визначених ЄОЗР, а також ВШС, оскільки цей вірус небезпечний для всіх кісточкових культур. Основним методом тестування була серологічна діагностика, оскільки вона дає змогу надійно встановити вірусний статус рослин і призначена для проведення аналізу великої кількості матеріалу.

За роки досліджень протестовано 291 зразок, із них черешні — 134, вишні — 103, підщеп — 54 зразки. Рослинний матеріал відібраний у десяти областях України в господарствах різних форм власності. Під час досліджень виявлено всі вірусні патогени, на які проводили тестування. Серологічна діагностика зразків показала високий рівень інфікованості матеріалу — 28,6 %. Найбільша частка інфікованих зразків зафіксована в матеріалі вишні

— 33 %, черешні — 30,6 %, а найменша — у перевіренних зразках підщеп — 13 %. З виявлених вірусів переважав ВНКП, а саме в зразках вишні — 14 %. Двома і більше вірусами досліджувані культури інфіковані в межах 5,5—9,7 %.

Установлено, що інфікованість перевіренних сортів черешні коливається від 23 до 45,5 %, залежно від сорту; вишні — від 7,1 до 42,9 %, а підщеп — 4,2 (ВСЛ-2) та 33,3 % (вишня магалебська). Попри значний відсоток інфікованості сортів, вдалося відібрати чисті клони для подальшого розмноження й закладання промислових насаджень. Загалом виділено 209 зразків, із них рослин черешні — 95, вишні — 67, підщеп — 47.

Для достовірної серологічної діагностики ВНКП і ВКС підібрано оптимальні строки й типи тканин рослинного матеріалу для ефективного виявлення патогенів. Найвищі вірусні титри зафіксовані в матеріалі листків навесні (квітень-травень), тоді як тестування у жовтні дає хибно негативні результати.

Для проведення філогенетичного аналізу обрали ізоляти ВНКП і ВКС, виділені з рослин вишні та черешні, а також ізоляти ВШС — з насінневої підщепи вишні магалебської. Під час дослідження сиквеновані ізоляти були депоновані до світового генетичного банку – GenBank NCBI із присвоєнням відповідних номерів.

На основі аналізу послідовності нуклеотидів ВНКП встановлено, що виділені ізоляти належать до різних груп: PV-96 (MT828889) та PV-32 (MT892676), які циркулюють у Київській та Запорізькій областях. Симптоми відрізняються залежно від штамової належності патогену, це пояснює той факт, що деякі інфіковані рослини не проявляють симптомів захворювання. Кластеризація ізолятів підтвердила наявність трьох груп, які не залежать від рослини-господаря та географічного походження.

Філогенетичний аналіз ВКС установив, що вітчизняні ізоляти MT828888 і MT828887 мають високу ідентичність — 99,6 %. Найближчим до них виявився словацький ізолят виділений із черешні, його ідентичність із

вітчизняним становила 94,9—95,3 %. Під час кластеризації сформувалися дві групи з розподілом на дві підгрупи. У нашому випадку до другої групи ввійшли лише черешневі ізоляти, що може свідчити про існування окремого кластера, сформованого на основі рослини-господаря.

Оскільки виділені ізоляти ВШС на 100 % подібні між собою, до Генбанку депонували лише один — MW055900. Встановлено, що цей ізолят належить до штаму D і не є типовим господарем для вишні. Це свідчить про пристосування вірусу до нових рослин-господарів, а отже, становить загрозу для більшого кола культур.

Для вдосконалення схеми сертифікації запроновано внести зміни до чинних документів, а саме: ДСТУ 4791:2007 «Підщепи плодових культур. Методи визначення якості» та ДСТУ 4792:2007 «Саджанці плодових культур. Методи визначення якості». Потребує уточнення панель патогенів, що відображені в їхніх додатках D. Зважаючи на склад ідентифікованих патогенів на території України, необхідно визначити такий їх перелік для тестування рослинного матеріалу: вірус мозаїки яблуні (ВМЯ), вірус некротичної кільцевої плямистості кісточкових (ВНКП), вірус карликовості сливи (ВКС), вірус мозаїки резухи (ВМР), вірус скручування листя черешні (ВСЛЧ), вірус чорної кільцевої плямистості томату (ВЧКТ), вірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ), вірус латентної кільцевої плямистості суниці (ВЛКПС), вірус хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ), вірус зіркоподібної мозаїки петунії (ВЗМП) та вірус шарки сливи (ВШС).

Під час вивчення сортопідщепних комбінувань досліджено реакцію чутливих підщеп на щеплення інфікованими окулянтами. У підщепи ВСЛ-2 та ЛЦ-52 спостерігали камедетечу на місці щеплення, а згодом і зміну кольору листків на антоціанове забарвлення. Інтенсивність забарвлення була різною — інтенсивно-червоне спостерігали на ВСЛ-2, тоді як на ЛЦ-52 воно було менш яскраве. Також на цих підщепах навесні спостерігали 100 % випадів у другому полі розсадника. На відміну від попередніх підщеп, на ВЦ-13 подібних реакцій не зафіксовано. Приживлюваність інфікованих окулянтів становила 50 % із

сортом Ніжність і 76,6 % із сортами Богуславка та Ксенія, тоді як у неінфікованих контрольних рослин цей показник становив 90 %.

Під час спостережень за динамікою росту досліджуваних рослин відмічали, що деякі інфіковані бруньки залишалися у стані спокою, в той час як здорові окулянти починали відростати.

Вплив патогенів на функціональний стан рослин вишні та черешні вивчали на інфікованих і неінфікованих рослинах у другому полі розсадника. Виявлено негативну дію вірусу на стан фотосинтезуючого апарату рослини. Загалом фіксували зменшення хлорофілу *a* від 20,9 до 38 %, хлорофілу *b* від 31 до 43,9 %, залежно від сорту й вірусу, що інфікував рослину. Методом індукції флуоресценції хлорофілу листків встановлено, що в саджанцях із вірусною інфекцією, якщо порівнювати з безвірусними, флуоресценція хлорофілу зростає в усьому часовому діапазоні реєстрації її індукційних змін. Також виявлено, що віруси некротичної плямистості й карликовості сливи негативно впливають на морозостійкість генеративних бруньок досліджуваних сортів. Визначено, що вірусне навантаження на рослину спричинило пошкодження бруньок інфікованих сортів Ксенії (ВНКП) і становить 3,5—4,5 бала, а Богуславки (ВКС) — 4,5, водночас у здорових (контрольних) рослинах рівень пошкодження — від 1,7 до 3,5 бала, залежно від температури, патогену й сорту. Під час вивчення впливу вірусної інфекції на якість однорічних саджанців фіксували зменшення площі листової пластинки на 7,6—31 %, залежно від патогену й сорту рослини. Натомість питома поверхнева щільність у інфікованих сортів Богуславка (ВКС) та Ніжність (ВКС + ВНКП) була більшою на 5,5 і 39,9 % відповідно, тоді як у сортозразка Ксенія (ВНКП) цей показник був меншим від контролю на 27,4 %. Підвищення питомої поверхневої щільності листків (ППЩЛ) в деяких варіантах вплинуло на збільшення вмісту води в клітинах: у зразках Богуславка на 1,4 %, Ксенія — 5,7 %, натомість під час комплексного інфікування сорту Ніжність фіксували зменшення оводненості на 20,2 %.

Під час аналізу параметрів вирощених саджанців простежується тенденція до зменшення середнього діаметру штамбу під впливом вірусного інфікування. У саджанців черешні сорту Ніжність діаметр штамбу зменшується на 18,8 %, у сорту вишні Богуславка — на 13,3 %. Винятком стали рослини вишні сорту Ксенія, де не фіксували різницю між інфікованими рослинами й контролем. При цьому середня висота саджанців зменшується на 3,1 і 13 % у сортів вишні Богуславка та Ксенія відповідно, а в черешні Ніжність — на 36,3 %.

У ході досліджень підраховано, що використання інфікованого матеріалу для вирощування саджанців зменшує їх вихід, якщо порівнювати з використанням вільного від вірусів матеріалу. Загалом було отримано лише 8,88 тис. шт. / га рослин сорту Богуславка, 11,1 і 26,64 тис. шт. / га сортів Ніжність і Ксенія відповідно. Водночас у контрольних варіантах цей показник становив 49,95 тис. шт. / га.

Розрахунки економічної ефективності вирощування саджанців свідчать про збільшення рентабельності при використанні тестованого на віруси садивного матеріалу.

Отже, проведені дослідження забезпечують оцінювання фітовірусологічного стану насаджень вишні, черешні та їхніх підщеп в Україні. Моніторинг насаджень дає змогу знешкодити осередок інфікування й запобігти подальшому поширенню вірусів. Велике практичне значення має виділення чистих клонів, які надалі можуть бути використані як садивний матеріал.

Ключові слова: віруси, ІФА, ЗТ-ПЛР, філогенетичний аналіз, хлорофіли, динаміка росту, саджанці.

ABSTRACT

Pavliuk L.V. Scientific basis of improvement of virus-free clones selection in the system of certification of sweet and sour cherry planting material. — Qualification scientific work as the manuscript.

The thesis for the scientific degree of Doctor of Philosophy on specialty 203 “Horticulture and Viticulture” (20 – Agriculture Sciences and Food Technology). - The Institute of Horticulture of the NAAS, Kyiv, 2021.

The thesis analyzes the viral diseases of sour and sweet cherry. The occurrence of pathogens in the territory of Ukraine has been established and the molecularly biological peculiarities of the certain isolates have been investigated.

In Ukraine, the plantings of sour and sweet cherry occupy 49.5 % of the stone fruit crops plantations total area. Therefore, there is a necessity for quality planting material. Viral pathogens are the limiting factor in obtaining both planting material and stable and high yields. The compatibility of variety-rootstock combinations under the influence of viruses has not yet been clarified. Therefore, it was relevant to study the effect of pathogens on the growth and development of nursery transplants.

In accordance with the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) recommendations and their PM (4) 29 (1) «Certification scheme for cherry» standard, it is necessary to test the planting material for 15 viral pathogens. As only five viruses have been identified in the sour cherry and sweet cherry orchards at the time of our research planning, it is important to carry out phytovirological monitoring for the expanded panel of viruses. The research results made it possible to find out the presence and distribution of pathogens in plantations, and the study of the molecular and genetic characteristics of the detected isolates made it possible to determine their variability, origin and influence on the plant. So, the research carried out is very timely.

The novelty of the research lies in the identification of a pathogens panel of sour cherry, sweet cherry and their root-stocks in accordance with the PM(4)29(1) standard. For the first time in Ukraine, monitoring of plantings of sour cherry, sweet cherry and their rootstock was carried out for 10 viruses from the PM(4)29(1) standard, as well as PPV, one of the most harmful viral stone fruit pathogens. It was established that the infection rate of sour cherry plantings is 33 %, sweet cherries – 30,6 %, root-stock — 13 %. For the first time, a number of pathogens have been detected in the plantations of sour cherry, sweet cherry and their rootstock: petunia asteroid mosaic tombusvirus (PeAMV), tomato black ring nepovirus (TBRV), apple mosaic ilarvirus (ApMV), arabis mosaic nepovirus (ArMV), raspberry ringspot nepovirus (RpRSV) and strawberry latent ringspot virus (SLRSV).

A phylogenetic analysis of such isolates as prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV), prune dwarf ilarvirus (PDV) selected from sour cherry and sweet cherry plants, as well as of plum pox virus (PPV) isolated from mahaleb cherry was carried out. It was revealed that PNRV isolates belong to different groups, which, for their part, affect the plant both in moderate and strongly negative way.

The influence of viral pathogens on variety-rootstock combinations and the functional state of sour cherry and sweet cherry has been studied.

In order to study the phyto-virological state of the plantings of sour cherry, sweet cherry and their rootstock, the plant material was tested for 10 viral pathogens identified by EPPO, as well as PPV, since this virus is dangerous for all the stone fruit crops. The main testing method was serologic diagnosis, since it allows to establish reliably the plants viral status and is designed to analyze a large amount of material.

Over the years of research, 291 samples have been tested, including 134 sweet cherries, 103 sour cherries, and 54 root-stock ones. The plant material was selected in ten regions of Ukraine in farms of different ownership forms. During the research, all viral pathogens for which testing was carried out were detected. Serologic diagnosis of the samples showed a high infection level of the material — 28,6 %. The largest share of infected samples was recorded in the sour cherry material —

33 %, sweet cherry — 30,6 %, and the smallest - in the tested root-stock samples — 13 %. Among the viruses detected, PNRV prevailed, namely, in sour cherry samples — 14 %. The cultures under study within 5,5—9,7 % are infected with two or more viruses.

It was found that the infection rate of the tested sweet cherry varieties ranges from 23 to 45,5 %, depending on the cultivar; sour cherries — from 7,1 to 42,9 %, and root-stock — 4,2 % (VSL-2) and 33,3 % (*Prunus mahaleb*). Despite the significant percentage of cultivars infection, we have succeeded in selecting pure clones for further reproduction and establishment of industrial plantings. A total of 209 samples were selected, including 95 sweet cherry plants, 67 sour cherry plants, and 47 rootstock.

For true serologic diagnosis of PNRV and PDV, the optimal timing and types of plant material tissues have been selected for effective pathogens detection. The highest viral titers have been reported in leaf material in spring (April-May), while testing in October gives false negative results.

For phylogenetic analysis, PNRV and PDV isolates recovered from sour cherry and sweet cherry plants have been selected, as well as PPV isolates from the seed rootstock of mahaleb cherry. In the course of the investigation, the sequenced isolates were deposited into the global GenBank with the assignment of the corresponding numbers.

Based on the analysis of the PNRV nucleotide sequence, it was found that the recovered isolates belong to different groups: PV-96 (MT828889) and PV-32 (MT892676), circulating in the Kyiv and Zaporizhzhia regions. Symptoms differ depending on the pathogen strain, which explains the fact that some infected plants do not show symptoms of the disease. Clustering of isolates confirmed the presence of three groups independent of the host plant and geographic origin.

Phylogenetic analysis of PDV established that domestic isolates MT828888 and MT828887 have a high identity — 99,6 %. The closest to them was the Slovak sweet cherry isolate, its identity with the domestic one was 94,9—95,3 %. During clustering, two groups were formed with division into two subgroups. In our case,

the second group included only the sweet cherry isolates, which may indicate the existence of a separate cluster formed on the basis of the host plant.

Since the PPV isolates selected are 100 % similar to each other, only one, MW055900, was deposited with GenBank. It was found that this isolate belongs to strain D and is not a typical sour cherry host. This indicates the adaptation of the virus to new host plants, which means it is a threat to a wider range of crops.

To improve the certification scheme, it was proposed to amend the existing documents, namely: national standard DSTU 4791:2007 «Rootstocks of fruit crops. Quality Determination Methods» and DSTU 4792: 2007 «Saplings of fruit crops. Quality Determination Methods». Clarification of the pathogens panel reflected in their appendices D is required. Due to the composition of the pathogens identified on the territory of Ukraine, it is necessary to determine such a list for testing plant material: apple mosaic ilarvirus (ApMV), prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV), prune dwarf ilarvirus (PDV), arabis mosaic nepovirus (ArMV), cherry leaf roll nepovirus (CLRV), tomato black ring nepovirus (TBRV), raspberry ringspot nepovirus (RpRSV), strawberry latent ringspot virus (SLRSV), apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), petunia asteroid mosaic tombusvirus (PeAMV), plum pox virus (PPV).

In the process of studying variety-rootstock combinations, the response of sensitive rootstocks to grafting with infected oculants was investigated. Within the rootstock of VSL-2 and LC-52, the gummosis was observed at the site of inoculation, and subsequently a change in the color of the leaves to an anthocyanin coloration. The color intensity was different - intense red was observed on VSL-2, while on LC-52 it was less bright. Also in the spring, 100% of attacks were observed in the second field of the nursery on these rootstocks. Unlike previous rootstocks, no such reactions were recorded at VC-13. The survival rate of infected oculants was 50 % with the Nizhnist` cultivar and 76,6 % with the Bohuslavka and Kseniia varieties, while in uninfected control plants this indicator was equal 90 %.

During the observation of the studied plants growth dynamics, it was noted that some infected buds remained dormant, while healthy ones began to grow back.

The influence of pathogens on the functional state of sour cherry and sweet cherry plants was studied on infected and uninfected plants in the second field of the nursery-garden. The negative effect of the virus on the state of the plant's photosynthetic apparatus was revealed. In general, there was a decrease in chlorophyll *a* from 20,9 to 38 %, chlorophyll *b* from 31 to 43,9 %, depending on the cultivar and the virus that infected the plant. Applying the method of leaves chlorophyll fluorescence induction, it was found that in seedlings with a viral infection, when compared with virus-free ones, chlorophyll fluorescence increases over the entire time range of its induction changes registration. It was also found that prunus necrotic ringspot and prune dwarf viruses have a negative effect on the frost resistance of the studied varieties reproductive buds. It was determined that the viral load on the plant entailed damage to the bourgeons of infected of Kseniia varieties (PNRV) amounting to 3,5—4,5 points, and Bohuslavka (PDV) — 4,5. At the same time, in healthy (control) plants, the level damage was from 1,7 to 3,5 points, depending on temperature, pathogen and variety. When studying the effect of a viral infection on the quality of one-year-old seedlings, a decrease in the area of the leaf blade by 7,6—31 % was recorded, depending on the pathogen and plant variety. The specific surface density of the infected cultivars Bohuslavka (PDV) and Nizhnist (PDV + PNRV) was 5,5 and 39,9 % higher, respectively, while in cultivar Kseniia (PNRV) this indicator was less than the control by 27,4 %. An increase in the specific surface density of leaves (SSDL) in some variants influenced an increase in the water content in the cells: by 1,4 % in the Bohuslavka samples, 5,7 % in Kseniia ones, with a complex infection of the variety, while with a complex infection of the Nizhnist` variety, a decrease in hydration by 20,2 % was recorded.

When analyzing the parameters of the grown seedlings, there is a tendency to a decrease in the average diameter of the stem under the influence of viral infection. In sweet cherry saplings of the Nizhnist` variety, the diameter of the bole decreases by 18,8 %, in the Bohuslavka sour cherry variety — by 13,3 %. Sour cherry plants of the Kseniia variety became an exception, where the difference between the infected plants and the control was not recorded. At the same time, the average

height of seedlings decreases by 3,1 and 13 % in the Bohuslavka and Kseniia sour cherry varieties, respectively, and in the Nizhnist` sweet cherry — by 36,3 %.

As the research progressed, we have calculated that using infected material for growing seedlings reduces their yield when compared to using virus-free material. In total, only 8,88 thousand units per ha of the Bohuslavka variety plants were received, 11,1 and 26,64 thousand pcs per ha of cultivars Nizhnist and Ksenia, respectively. At the same time, in the control variants this figure was 49,95 thousand pcs per ha.

Calculations of the economic efficiency of growing seedlings indicate an increase in profitability when using planting material tested for viruses.

Consequently, the studies carried out provide an assessment of the phyto-virological state of sour cherry, sweet cherry and their rootstocks plantings in Ukraine. Planting monitoring allows you to neutralize the focus of infection and prevent further spread of viruses. Isolation of pure clones, which can later be used as planting material, is of a great practical importance.

Key words: viruses, ELISA, RT-PCR, phylogenetic analysis, chlorophyll, growth dynamics, seedlings.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1 **Павлюк Л. В.**, Ряба І. А., Удовиченко К. М., Тряпїцина Н. В., Бублик М. О. Фітовірусологічний стан маточних насаджень вишні та черешні в Україні. *Вісник аграрної науки*. 2019. №7 (796). С. 20 – 26. DOI: <https://doi.org/20.31073/agrovisnyk201907-3> (Здобувачкою опрацьовано літературні джерела, проведено експеримент, узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Статті у періодичному науковому виданні іншої держави, яка входить до Організації економічного співробітництва та розвитку та/або Європейського Союзу:

2 **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Determining the optimal season for detection of prune dwarf virus and prunus necrotic ringspot virus in sour cherry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2020. №4. P. 94 – 100. DOI: <https://doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2020.2585-8246.094-100> (Здобувачкою опрацьовано літературні джерела, проведено експеримент, узагальнено експериментальні дані, написано статтю)

3 **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *Agronomy Research*. 2021. №19. DOI: <https://doi.org/10.15159/ar.20.238> (Здобувачкою опрацьовано літературні джерела, проведено експеримент, узагальнено експериментальні дані, написано статтю)

4 **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Variability of some isolates of Prunus necrotic ringspot virus and Prune dwarf virus infecting sour and sweet cherry in Ukraine. *Acta agriculturae Slovenica*. 2021. №117 (1). DOI: <https://doi.org/10.14720/aas.2021.117.1.1844> (Здобувачкою опрацьовано

літературні джерела, проведено експеримент, узагальнено експериментальні дані, написано статтю)

Тези наукових доповідей:

5 **Павлюк Л. В.,** Удовиченко К. М., Тряпціна Н. В. Контроль поширення вірусних інфекцій в насадженнях вишні та черешні. *Біотехнологія: звершення та надії: збірник тез VII Міжнародної науково-практичної конференції 29 листопада 2018 р. Київ 2018. С. 76 – 78.*

6 **Павлюк Л. В.,** Удовиченко К. М., Ряба І. А. Характеристика українського ізоляту вірусу некротичної кільцевої плямистості кісточкових. *Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур: збірник тез VIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів 24 квітня 2020 р. Миронівка 2020. С. 74.*

7 **Pavliuk L.,** Udovychenko K, Riaba I. Occurrence of plum pox virus in cherry orchards in Ukraine. *Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology: collection of abstracts II Scientific and practical Conference of young researchers 23-26 November 2020. Kyiv 2020. P. 27.*

8 **Pavliuk L.,** Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *12 th International Conference on Biosystems Engineering 2021: Book of Abstracts. 5-7 May 2021. Tartu, Estonia. P.87.*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	20
1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ, ЩО ІНФІКУЮТЬ ВИШНЮ, ЧЕРЕШНЮ ТА ЇХНІ ПІДЩЕПИ.....	25
1.1. Вірусні хвороби вишні та черешні в Україні.....	25
1.1.1. Характеристика вірусів роду <i>Parvivirus</i>	28
1.1.2. Характеристика вірусів роду <i>Nepovirus</i>	31
1.1.3. Характеристика триховірусу хлоротичної плямистості листя яблуні	34
1.1.4. Характеристика потівірусу шарки сливи	35
1.1.5. Характеристика вірусу латентної кільцевої плямистості суниці.....	38
1.1.6. Характеристика томбусвірусу зіркоподібної мозаїки петунії	40
1.2. Шкодочинність вірусних хвороб у насадженнях вишні та черешні ..	41
1.3. Чутливість підщеп вишні та черешні до вірусних патогенів.....	43
1.4. Методи діагностики вірусів вишні та черешні	44
2. УМОВИ, ОБ'ЄКТИ Й МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	48
2.1. Місце проведення та об'єкти досліджень	48
2.2. Кліматичні умови	49
2.3. Ґрунтові умови	51
2.4. Серологічні та молекулярно-генетичні методи досліджень	52
2.4.1. Візуальний огляд насаджень і відбір зразків	52
2.4.2. Метод імуноферментного аналізу	53
2.4.3. Виділення тотальної рибонуклеїнової кислоти з рослинного матеріалу.....	54
2.4.4. Ідентифікація вірусів за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР)	56
2.4.5. Сиквенування та філогенетичний аналіз нуклеотидних послідовностей	57
2.5 Вивчення впливу вірусних патогенів на ріст і розвиток саджанців....	60

2.6. Економічна ефективність і статистичні обрахунки.....	63
3. ФІТОВІРУСОЛОГІЧНИЙ СТАН МАТОЧНИХ НАСАДЖЕНЬ ВИШНІ, ЧЕРЕШНІ ТА ЇХНІХ ПІДЩЕП В УКРАЇНІ	64
3.1. Візуальний огляд насаджень на предмет інфікування вірусними патогенами.....	64
3.2. Імунодіагностика рослинного матеріалу вишні, черешні та їхніх типів підщеп	67
3.3. Інфікованість сортів вишні, черешні та типів їхніх підщеп	75
3.4. Визначення оптимальних термінів для проведення діагностики ВКС і ВНКП	77
4. ФІЛОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДІЛЕНИХ ІЗОЛЯТІВ	88
4.1. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу некротичної кільцевої плямистості кісточкових.....	89
4.2. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу карликовості сливи	93
4.3. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу шарки сливи	97
5. УДОСКОНАЛЕННЯ СХЕМИ СЕРТИФІКАЦІЇ САДИВНОГО МАТЕРІАЛУ ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ	101
6. ВПЛИВ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ	104
6.1. Оцінка сортопідщепних комбінувальних у розсаднику на фоні вірусного інфікування.....	104
6.2. Динаміка росту саджанців вишні та черешні в другому полі розсадника	109
6.3. Вплив вірусної інфекції на вміст зелених пігментів у листках вишні та черешні.....	113
6.4. Дослідження залежності індукції флуоресценції хлорофілу саджанців вишні та черешні від вірусної інфекції.....	115
6.5. Вплив вірусної інфекції на морозостійкість рослин	117
6.6. Вплив вірусної інфекції на якість однорічних саджанців вишні та черешні	119
7. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИРОЩУВАННЯ САДЖАНЦІВ ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ НА ФОНІ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ.....	124
ВИСНОВКИ	127

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	129
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	130
ДОДАТКИ	168

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
РНК – рибонуклеїнова кислота
зт-ПЛР – зворотно-транскрипційна ПЛР
ІФА – імуноферментний аналіз
ВМЯ – вірус мозаїки яблуні
ВНКП – вірус некротичної кільцевої плямистості кісточкових культур
ВКС – вірус карликовості сливи
ВМР – вірус мозаїки резухи
ВСЛЧ – вірус скручування листа черешні
ВЧКТ – вірус чорної кільцевої плямистості томату
ВКПМ – вірус кільцевої плямистості малини
ВЛКПС – вірус латентної кільцевої плямистості суниці
ВЗМП – вірус зіркоподібної мозаїки петунії
ВШС – вірус шарки сливи
ВХПЛЯ – вірус хлоротичної плямистості листа яблуні
ППЩЛ – питома поверхнева щільність листків
нт – нуклеотиди
нм – нанометри
кб – кілобази
п.о. – пар основ
п.н. – пар нуклеотидів

ВСТУП

Актуальність теми. В Україні вишня та черешня є традиційними культурами, які посідають важливе місце в структурі насаджень кісточкових. Згідно даних Державної служби статистики України, станом на 2020 рік вишня та черешня займає 49,5 % загальної площі насаджень кісточкових культур [35]. Отже, є потреба в якісному садивному матеріалі. Основний спосіб інтенсифікації цього сектору садівництва — використання безвірусного високоякісного сертифікованого садивного матеріалу. Вірусні захворювання є одним із головних лімітуючих чинників під час виробництва такого матеріалу. Під впливом вірусних патогенів урожайність чутливих сортів може зменшуватися від 20 до 56 % [65], підвищується чутливість рослин до грибкових і бактеріальних хвороб [65, 336], виникає несумісність сортопідщепних комбінувань, що призводить до зменшення виходу товарних саджанців [52, 118], віруси також можуть призводити до повної загибелі дерева [326].

Вплив і прояви патогену під час вирощування саджанців, зокрема на сумісність клонових підщеп із сортами вітчизняної селекції, досі не з'ясовані. Тому це питання потребує детального вивчення.

На сьогодні, згідно з рекомендаціями Європейської і Середземноморської організації захисту рослин (ЄОЗР), визначеними стандартом РМ(4)29(1) «Схема сертифікації черешні та вишні» [95], під час виробництва садивного матеріалу необхідно проводити тестування материнських рослин на 15 вірусних патогенів. Наявність і рівень поширення більшості вірусів із цього переліку у вітчизняних насадженнях вишні та черешні потребують з'ясування, оскільки до цього часу в таких насадженнях ідентифіковано лише п'ять вірусних патогенів. Моніторинг насаджень забезпечить наявність даних про поширення вірусних патогенів у насадженнях

вишні та черешні, а також вчасно виявить інфіковані рослини, що, зі свого боку, є важливим заходом для запобігання інтродукції вірусів.

Важливим також є вивчення молекулярно-генетичних характеристик виділених ізолятів. Це дасть змогу з'ясувати їх мінливість, можливі шляхи походження та еволюційні процеси вірусних патогенів, оскільки через високу рекомбінаційну здатність вони можуть утворювати нові, раніше не відомі штами з новими властивостями.

Отже, дослідження з проведення фітосанітарного моніторингу насаджень вишні та черешні на наявність вірусних патогенів, вивчення їх видового складу, молекулярно-генетичних характеристик і впливу на сортопідщепні комбінування є актуальним завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дане дисертаційне дослідження проводилося впродовж 2017—2021 років у відділі вірусології, оздоровлення та розмноження плодових і ягідних культур Інституту садівництва НААН. Дисертація є складовою частиною завдань 19.01.02.01.Ф «Розроблення теоретичних основ систем розмноження і сертифікації садивного матеріалу плодових, ягідних і декоративних культур на безвірусній основі (0116U000653, 2016-2020); 14.00.03.03.Ф «Розроблення біотехнологічних основ створення, розмноження і контролю якості садивного матеріалу плодових і ягідних культур» (0121U108148, 2021-2025).

Мета й завдання дослідження. З'ясувати поширення вірусних хвороб вишні, черешні, їхніх підщеп на території України; вивчити молекулярно-біологічні властивості виділених ізолятів.

Для досягнення мети визначено такі *завдання*:

1. Провести обстеження маточних насаджень і визначити рівень інфікування вірусними патогенами рослинного матеріалу сортів вишні, черешні й типів їхніх підщеп.
2. Виділити вільні від вірусів клони перспективних сортів вишні, черешні та їхніх підщеп для поповнення базових колекцій.

3. Визначити оптимальні строки проведення серологічної діагностики ВНКП і ВКС.

4. Вивчити генетичне різноманіття виділених ізолятів вірусних патогенів.

5. Удосконалити схеми сертифікації вишні та черешні в Україні.

6. Вивчити вплив вірусних патогенів на сумісність сортопідщепних комбінувань у розсаднику.

Предмет дослідження — віруси, що інфікують вишню, черешню та їхні підщепи.

Об'єкт дослідження — поширення вірусів і молекулярно-біологічні властивості виділених ізолятів.

Методи дослідження — дослідження виконані на трьох загальноприйнятих взаємопов'язаних рівнях: експериментальному, теоретичному й описово-узагальнювальному. З рослинами вишні та черешні в розсаднику виконували експерименти й вірусологічні дослідження: імуноферментний аналіз, екстракція тотальної рибонуклеїнової кислоти, полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією, електрофорез в агарозному гелі, сиквенування нуклеотидних послідовностей із використанням методу Сенгера. Використано також логічні міркування під час удосконалення схем сертифікації вишні та черешні в Україні. На теоретичному рівні, застосовуючи методи статистичного аналізу й математичного моделювання, узагальнено вплив вірусних патогенів на сумісність сортопідщепних комбінувань у розсаднику. Описово-узагальнювальний рівень використано під час візуального обстеження маточних насаджень вишні, черешні та їхніх підщеп.

Наукова новизна. Уперше в Україні виконано моніторингові дослідження щодо поширення 11 вірусів у насадженнях вишні та черешні. Визначено, що рівень інфікованості перевірених маточних насаджень кісточкових культур в Україні становить 28,6 %. У маточно-живцевих насадженнях вишні та черешні вперше виявлено вірус мозаїки петунії

(ВЗМП), вірус чорної кільцевої плямистості томату (ВЧКТ), вірус мозаїки яблуні (ВМЯ), вірус мозаїки резухи (ВМР), вірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ) та вірус латентної кільцевої плямистості суниці (ВЛКПС).

Уперше отримано молекулярно-генетичні характеристики вітчизняних ізолятів вірусу некротичної кільцевої плямистості, вірусу карликовості сливи й вірусу шарки сливи.

Проведено оптимізацію консерваційного етапу схеми сертифікації садивного матеріалу вишні та черешні в умовах України відповідно до сучасного європейського законодавства.

Подальшого розвитку набуло питання впливу підщепи на якість садивного матеріалу вітчизняних сортів вишні та черешні в умовах вірусної інфекції: вивчено прояви несумісності в першому й другому полях розсадника та вплив патогенів на функціональний стан саджанців.

Науково-практичне значення одержаних результатів. Після проведення моніторингу насаджень вишні, черешні та їхніх підщеп виділено тестовані на віруси рослини, які будуть рекомендовані для використання під час подальшого розмноження й закладання насаджень різного типу. Визначено оптимальні строки для проведення серологічного тестування рослинного матеріалу на ВКС і ВНКП. Установлено штамову належність виділених ізолятів ВКС, ВНКП і ВШС, що забезпечує детальніше вивчення біологічних властивостей патогенів, які циркулюють територією України. Нуклеотидні послідовності виділених ізолятів можуть бути використані для подальшого вивчення їхніх молекулярних характеристик і розробки високоспецифічних праймерів. Запропоновано зміни до ДСТУ 4791:2007 «Підщепи плодкових культур. Методи визначення якості» і ДСТУ 4792:2007 «Саджанці плодкових культур. Методи визначення якості»: розширити панель вірусних патогенів для тестування рослинного матеріалу вишні, черешні та їхніх підщеп. Вивчено взаємодію компонентів щеплення в умовах вірусної інфекції.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною роботою, автором опрацьовано літературні джерела. Постановку та проведення досліджень, обговорення й узагальнення результатів виконано за участі наукового керівника, д. с-г. н. Бублика М. О. Особистий внесок здобувача становить 80 %.

Апробація результатів досліджень. Основні результати досліджень були обговорені на засіданнях відділу вірусології, оздоровлення та розмноження плодових і ягідних культур Інституту садівництва НААН (2017—2021 рр.). Також результати досліджень були представлені на VII Міжнародній науково-практичній конференції «*Біотехнологія: звершення та надії*» (м. Київ, 2018), VIII Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених і спеціалістів «*Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур*» (м. Миронівка, 2020), II Науково-практичній конференції молодих дослідників «*Молодь та сучасні проблеми мікробіології та вірусології*» (м. Київ, 2020), XII Міжнародній конференції з питань проєктування біосистем (м. Тарту, Естонія, 2021).

Публікації. За результатами дисертаційних досліджень опубліковано вісім наукових праць, із них три — у наукових виданнях держав, що входять до Європейського союзу, зокрема дві статті — у виданнях, які індексуються в SCOPUS.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація складається із вступу, 7-ми розділів, висновків, списку використаних джерел (337 найменувань на 38 сторінках), 2 додатки, містить 18 таблиць, 32 рисунки. Основний текст викладений на 107 сторінках. Загальний обсяг роботи становить 170 сторінок.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ, ЩО ІНФІКУЮТЬ ВИШНЮ, ЧЕРЕШНЮ ТА ЇХНІ ПІДЩЕПИ

1.1. Вірусні хвороби вишні та черешні в Україні

Черешня (*Prunus avium* L.) та вишня (*Prunus cerasus* L.) можуть інфікуватися понад 25 вірусними патогенами [238]. Проте, за європейським законодавством, зокрема стандартом РМ 4/29(1), економічно важливими є лише 15 (табл. 1.1). Цей стандарт розроблено Європейською організацією захисту рослин (ЕОЗР), до функцій якої належить створення міжнародних стратегій для запобігання поширенню хвороб рослин. Станом на сьогодні до ЕОЗР входять 52 країни, серед яких і Україна, яка долучилася 1994 року як самостійна держава.

В Україні фітовірусологічні дослідження насаджень вишні та черешні проводили ще з 1996 року [7] в Інституті садівництва (ІС) Національної академії аграрних наук України (НААН). До переліку патогенів того періоду входили лише чотири найменування: вірус хлоротичної плямистості яблуні — Apple chlorotic leafspot virus, вірус шарки сливи — Plum pox virus, вірус карликовості сливи — Prune dwarf virus, та вірус некротичної кільцевої плямистості кісточкових — Prunus necrotic leafspot virus. Діагностику проводили переважно на рослинах-індикаторах. Згодом почали використовувати метод імуноферментного аналізу (ІФА), а до переліку вірусних патогенів додали вірус скручування листя черешні — Cherry leaf roll virus [44]. Отже, з попередніх досліджень випливає, що поширення вірусних патогенів, які є економічно важливими в насадженнях вишні та черешні, в Україні досліджено не повністю.

Варто зазначити, що вірус кільцевої плямистості малини — Raspberry ringspot perovirus, станом на сьогодні входить до Переліку регульованих шкідливих організмів А-1 «Карантинні організми, відсутні в Україні», затвердженого наказом Міністерства аграрної політики України від 29.11.2006

№ 716 (зі змінами) [38]. Хоча наявні відомості попередніх досліджень свідчать про те, що на території України вірус присутній у насадженнях малини й персика [44, 49].

До переліку А-1 також входять кластерові віруси дрібноплідності черешні 1 та 2 — Little cherry virus 1, 2. Ці патогени не ідентифіковані на території України, проте про них повідомляли з Азії, Європи, Північної Америки та Нової Зеландії. Зокрема у Європі вірус виявлено в Німеччині, Італії, Швейцарії, Англії [209], Бельгії [303], Словаччині [140], Польщі [185] та Чеській Республіці [278].

Не менш поширеним у світі є вірус зеленої кільцевої крапчастості черешні — Cherry green ring mottle ideovirus, який ідентифікований у Європі, Америці, Азії та Новій Зеландії [127, 132, 162, 169, 204, 321, 322, 339]. Деякі вчені вважають, що вірус може зустрічатися на всіх континентах, з огляду на частоту латентних інфекцій [169]. Вірус крапчастості листя черешні — Cherry mottle leaf trichovirus, що спричиняє бородавчасту хворобу персика (*Peach wart disease*) [231], виявлений лише у Європі (Франція, Італія), Китаї [214] та Північній Америці [256]. Вірус кільцевої плямистості гвоздики — Carnation italian ringspot virus, був діагностований у Кореї, Німеччині, Італії, Великій Британії та США [94, 288, 263].

Незважаючи на відсутність в Україні патогенів ВЗККЧ, ВКЛЧ та ВКПГ, вони не внесені до переліку карантинних організмів А-1. Їх ідентифікація, як і кластеровірусів дрібноплідності черешні, можлива лише за допомогою молекулярних методів. Оскільки нині для цієї панелі патогенів немає серологічних тестових систем, що ускладнює рутинну перевірку рослинного матеріалу, їх поширення на території України досі не з'ясоване.

Таблиця 1.1 — Перелік вірусів та інших збудників захворювань вишні, черешні та їхніх підщеп, згідно зі стандартом ЄОЗР

Українська назва	Міжнародна назва	Родина	Рід
Вірус мозаїки яблуні (ВМЯ)	Apple mosaic ilarvirus (ApMV)	<i>Bromoviridae</i>	<i>Illarvirus</i>

<i>Продовження таблиці 1.1</i>				
Вірус кільцевої некротичної плямистості кісточкових (ВНКП)	Prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV)	<i>Bromoviridae</i>	<i>Iilarvirus</i>	
Вірус карликовості сливи (ВКС)	Prune dwarf ilarvirus (PDV)	<i>Bromoviridae</i>	<i>Iilarvirus</i>	
Вірус мозаїки резухи (ВМР)	Arabis mosaic nepovirus (ArMV)	<i>Comovirinae</i>	<i>Nepovirus</i>	
Вірус скручування листя черешні (ВСЛЧ)	Cherry leaf roll nepovirus (CLRV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	
Вірус чорної кільцевої плямистості томату (ВЧКТ)	Tomato black ring nepovirus (TBRV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	
Вірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ)	Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>	
Вірус латентної кільцевої плямистості суниці (ВЛКПС)	Strawberry latent ringspot virus (SLRSV)	<i>Secoviridae</i>	не призначено	
Вірус хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ)	Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Trichovirus</i>	
Вірус зіркоподібної мозаїки петунії (ВЗМП)	Petunia asteroid mosaic tombusvirus (PeAMV)	<i>Tombusviridae</i>	<i>Tombusvirus</i>	
Вірус кільцевої плямистості гвоздики (ВКПГ)	Carnation italian ringspot virus (CIRV)	<i>Tombusviridae</i>	<i>Tombusvirus</i>	
Вірус дрібноплідності черешні 1 (ВДПЧ-1)	Little cherry virus 1 (LCV-1)	<i>Closteroviridae</i>	<i>Velarivirus</i>	
Вірус дрібноплідності черешні 2 (ВДПЧ-2)	Little cherry virus 2 (LCV-2)	<i>Closteroviridae</i>	<i>Ampelovirus</i>	
Вірус зеленої кільцевої крапчастості черешні (ВЗККЧ)	Cherry green ring mottle foveavirus (CGRMV)	<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Vitivirus</i>	
Вірус крапчастості листя черешні (ВКЛЧ)	Cherry mottle leaf trichovirus (CMLV)	<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Trichovirus</i>	
Вірусоподібні захворювання				
Некротична іржава крапчастість		Necrotic rusty mottle		
Іржава крапчастість (Європейська)		Rusty mottle (European)		

Станом на сьогодні вірус шарки сливи входить до Переліку регульованих шкідливих організмів А-2 «Карантинні організми, обмежено поширені в Україні. Проте фітовірусологічний моніторинг проведений науковцями виявив присутність патогену у десяти областях (Одеській, Черкаській, Київській, Харківській, Івано-Франківській, Вінницькій, Львівській, Миколаївській, Тернопільській, Чернівецькій) та Автономній Республіці Крим [44, 186, 194].

Фітовірусологічний моніторинг насаджень малини й персика виявив наявність неповірусів, що здатні інфікувати вишню і черешню, та вірусу латентної кільцевої плямистості суниці — Strawberry latent ringspot virus [44, 49], які входять до переліку стандарту РМ 4/29.

Вірус мозаїки яблуні, який може інфікувати вишню та черешню, ідентифікований у насадженнях зерняткових, кісточкових і ягідних культур [12, 44, 49]. Проте немає відомостей про його наявність у вишнево-черешневих насадженнях, як і про більшість вірусних патогенів.

Оскільки вірусні патогени можуть поширюватися під час виконання агротехнічних прийомів, при запиленні й за допомогою векторів переносників, вони можуть бути присутні в насадженнях вишні та черешні.

Для впровадження схеми сертифікації рослинного матеріалу вишні та черешні необхідно з'ясувати наявність і поширення вірусних патогенів на території України. Також потребують перегляду переліки карантинних вірусів, оскільки активно відбувається неконтрольований обмін рослинним матеріалом, що, зі свого боку, призводить до поширення патогенів, які раніше не зустрічалися на території України.

1.1.1. Характеристика вірусів роду *Iarvirus*

Рід *Iarvirus* — один із шести родів, що входять до складу родини *Bromoviridae* [249]. Іларвіруси — це група ізометричних і лабільних патогенів, які можуть інфікувати низку трав'янистих і деревних господарів. Такі представники, як вірус мозаїки яблуні — Apple mosaic virus (ApMV), вірус карликовості сливи — Prune dwarf virus (PDV), і вірус некротичної кільцевої плямистості кісточкових — Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), є збудниками великої кількості хвороб плодових дерев. Ці патогени, як і решта вірусів роду *Iarvirus* (родина *Bromoviridae*), характеризуються геномом, що складається з трьох фрагментів, мають квазіізометричні віріони [87] та одноланцюгову смислову РНК [70, 249, 273].

Покривний білок іларвірусів утворює оболонку для трьох сегментів геному й відіграє головну роль у кількох етапах реплікації та ініціації в поширенні патогену [67, 81, 167].

Характерним способом поширення цих патогенів є передача за допомогою пилку. Як зазначено в спеціальних літературних джерелах, передача за допомогою пилку й насіння більш притаманне для ВКС і ВНКП [64, 65, 70, 159, 235]. Установлено факт передачі ВНКП рослинам абрикоса за допомогою насіння. Виявлено, що зазначеним вірусом були інфіковані 10 % сіянців [64].

Іларвірус мозаїки яблуні, ВМЯ (Apple mosaic ilarvirus, ApMV).

На сьогодні, після проведення численних сиквенсів, виокремлюють два штами цього вірусу — штам, що інфікує під родину *Maloideae*, та штам, який уражає інші господарсько-цінні породи, як-от: черешня, вишня, слива (*P. domestica* L.), хміль (*H. lupulus* L.) тощо [143].

Цей вірус поширений на всіх континентах, де є рослини-господарі, та здатний інфікувати до 65 видів рослин [142]. Хоча, відповідно до спостережень, у країнах Європи він більше присутній у рослинах роду *Prunus*, ніж у *Malus* [252]. У насадженнях кісточкових вірус часто зустрічається в комплексному інфікуванні з ВНКП і ВКС, а також у насадженнях зерняткових із вірусом хлоротичної плямистості листя яблуні (ACLSV), вірусом ямкуватості деревини яблуні (ASPV) та вірусом борознистості деревини яблуні (ASGV) [262].

На листках інфікованих рослин абрикоса, персика, вишні спостерігаються типові візерунки та жовті лінії, яскраво-жовті плями й кільця. Симптоми з'являються переважно на початку літа, а в деяких випадках присутні лише на обмеженій кількості листків і довільно розподіляються по ураженій рослині [142]. Хоча більшості іларвірусів притаманне передавання за допомогою пилку, головним способом поширення ВМЯ є щеплення. Ефективність механічного передавання може відрізнитися залежно від господаря та/або техніки щеплення [73, 261].

Іларвірус некротичної плямистості кісточкових культур, ВНКП (*Prunus necrotic ringspot ilarvirus, PNRSV*).

Вірус має одноланцюговий тристоронній геном, розмір якого становить 7868 нт (нуклеотидів). Кожний геном окремо інкапсульований білком оболонки в ікосаедричні частини РНК1 (3332 нт), РНК2 (1943 нт), які відповідають за реплікацію, та РНК3(1951 нт), що кодує білок руху й білок оболонки [180]. На основі молекулярних характеристик ВНКП ізоляти об'єднані в три різні групи: PV-32, PV-96 та PE-5 [133, 149, 245]. ВНКП має нерозвинені ізометричні та квазіізометричні віріони: 23, 25 і 27 нм (нанометрів) [148].

Вірус найбільш небезпечний для таких культур, як вишня, черешня, персик (*P. persica* L.), слива та мигдаль (*P. dulcis* Mill.) [249].

Патоген індукує появу некротичних і хлоротичних кілець на листках, які з часом перетворюються на темно-коричневі некротичні ділянки. Центри некротичних ділянок часто зникають, що призводить до утворення отворів. Вірус спричиняє деформацію листків, квіток і плодів, що, у відповідь, призводить до зниження продуктивності, хоча часто інфікування може мати латентний характер [294]. Поява характерних симптомів залежить від кліматичних умов, штаму вірусу, а різниця в толерантості до патогену рослини-господаря може давати необмежені варіації цих симптомів [98].

Вірус карликовості сливи, ВКС (*Prune dwarf ilarvirus, PDV*).

ВКС, як і інші представники роду *Ilarvirus*, багатопартитний і має три вірусні молекули: РНК1, РНК2 та РНК3. РНК1 та РНК2 кодують білки реплікації, які необхідні для відтворення вірусу в інфікованій клітині, тоді як РНК3 кодує білок руху й покривний білок. Вірус може утворювати два типи віріонів одночасно — ікосаедричні та бациліформні. Ікосаедричні (сферичні) частини мають діаметр від 26 до 38 нм, тоді як бациліформні завдовжки від 30 до 85 нм та в діаметрі від 10 до 26 нм [189].

Патоген інфікує низку культурних рослин, таких як вишня, черешня, персик, слива [249]. Вірус поширений на всіх континентах: Африка, Азія, Європа, Північна та Південна Америка, Австралія, Нова Зеландія [268].

Симптоми, спричинені вірусом карликовості, можуть значно різнитися залежно від кліматичних умов і виду господаря, якого він уражає [244]. На листках вишні й черешні можуть спостерігатися хлоротичні кільця та плями, листкова пластинка може змінювати форму — ставати вузькою або згорнутою, скорочуються міжвузля [301]. Деревя, інфіковані комплексом із ВКС та ВНКП, формують менше плодівих бруньок [192], що в свою чергу у подальшому зменшує урожайність.

1.1.2. Характеристика вірусів роду *Nepovirus*

Неповіруси — представники роду *Nepovirus*, що належать до родини *Secoviridae* та, як і решта представників *Secoviridae*, мають віріони ікосаедричної форми (28—30 нм) [18].

Багато представників неповірусів можуть спричиняти епіфітотії, завдаючи значних збитків світовій економіці. До господарсько важливих патогенів можна зарахувати вірус чорної кільцевої плямистості томату — *Tomato black ring virus* (TBRV), вірус кільцевої плямистості малини — *Raspberry ringspot virus* (RpRSV), вірус мозаїки резухи — *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV), вірус скручування листя черешні — *Cherry leaf roll virus* (CLRV) [25].

Характерною екологічною особливістю неповірусів є їхня здатність використовувати специфічні вектори — нематоди (*Nematoda Rudolphi*), що вільно живуть у кореневих системах. Звідси походить назва роду: від англ. *NE*matode*tr*ansmitted *PO*lyhedral *vir*uses (поліедричні віруси, що передаються нематодами) [85, 158, 230, 282]. Репродукція неповірусів у тканинах нематод не описана, проте вірусні частки тривалий час (за деякими даними — до місяця) зберігаються в каналі стилета й у стравоході тварин [283, 284].

Вірус кільцевої плямистості малини, ВКПМ (Raspberry ringspot nepovirus, RpRSV).

Про вірус кільцевої плямистості в насадженнях малини вперше згадано в Шотландії [88]. Відтоді про нього повідомляли різні країни [326].

На сьогодні можна виокремити три основні штами цього патогену: шотландський (S), англійський (E), який має серологічні відмінності від шотландського штаму, і штам «Ллойд Джордж» (LG) [326].

У виноградниках на території Німеччини виділено ще два додаткові штами — штам, який інфікує черешню (RpRSV-ch) [122], та штам, що інфікує виноград (RpRSV-grapevine) [325]. На уражених деревах вишні й черешні можна спостерігати такі симптоми: листки відстають у розвитку, стають вузькими з аномально великими зубчиками [108]. Показово, що симптоми, спричинені черешневим штамом, можуть бути дуже виражені та призвести навіть до повної загибелі дерева [326].

Вірус скручування листя черешні, ВСЛЧ (Cherry leaf roll nepovirus, CLRV).

Уперше вірус, виявлений на черешні, описаний в Англії (1955 р.) [265]. На сьогодні про його наявність повідомлялося з Європи, Північної Америки [75], Чилі [154], Перу [109], Нової Зеландії [319], Японії [330], Австралії та Китаю [327].

ВСЛЧ не передається ґрунтовими нематодами, як це характерно для інших представників роду *Nepovirus* [172, 322]. Натомість для цього вірусу властиве поширення через насіння в таких деревних господарів, як береза (*Betula pendula* L.f.), вишня, бузина (*Sambucus nigra* L.), волоський горіх (*Juglans regia* L.) [106, 221], або за допомогою пилку [93]. Висловлено припущення про передавання вірусних часток, вивільнених із кореня інфікованої рослини, через живильний розчин [76].

На інфікованих деревах черешні та вишні вірус спричиняє деформацію і скручування листків, прижилкову мозаїку, а також затримку росту й відмирання окремих гілок або всього дерева [47].

Вірус мозаїки резухи, ВМР (*Arabis mosaic perovirus*, ArMV).

Як підтверджують попередні дослідження, цей вірус при окулірування інфікує близько 93 видів рослин з 28 родин дводольних. Цей збудник особливо небезпечний для рослин вишні, малини (*Rubus idaeus* L.), винограду (*Vitis vinifera* L.) і хмелю. Вірус дуже поширений у Європі [161].

Найбільш характерними симптомами вірусної хвороби є плямистість на листках, їх деформації та енації. Варіації симптомів залежать від виду господаря, сорту, ізоляту й пори року. Вірус мозаїки резухи у комбінуванні спільно з ВНКП чи ВКС на вишні індукує таку хворобу, як «європейська рашпилевидність листя», що призводить до затримки росту дерева [72].

Окрім характерного для неповірусів поширення за допомогою нематод, ВМР також може передаватися через насіння й вегетативно [184]. Поширення через насіння виявили щонайменше в 15 видів рослин, у яких інфікувалося 100 % рослин другого покоління [236].

Вірус чорної кільцевої плямистості томату, ВЧКТ (*Tomato black ring perovirus*, TBRV).

Уперше цей вірус був описаний 1946 року у Великобританії [290]. Відтоді його виявляли у Європі, Північній і Південній Америці, Індії та Японії [86, 151].

Вірус уперше виділили із плодів рослин томатів (*Solanum lycopersicum* L.). Незважаючи на назву, ВЧКТ рідко зустрічається в помідорах, який не є головним господарем вірусу [290]. Проте виокремлюють низку плодів рослин, що можуть бути інфіковані цим патогеном: виноград, вишня, абрикос (*P. armeniaca*), персик, малина, смородина, суниця (*Fragaria ananassa* Duch.); а також деякі пасльонові культури: картопля (*Solanum tuberosum*), перець стручковий (*Capsicum annuum* L.), табак (*Nicotiana tabacum*) [86, 292].

Характерними симптомами можуть бути хлоротична плямистість, мозаїка, некротичні ураження, кільцеві плями або малюнки та деформація плодів [292]. Вірус також може передаватися за допомогою насіння [84, 152].

1.1.3. Характеристика триховірусу хлоротичної плямистості листя яблуні

Рід *Trichovirus* належить до родини *Betaflexiviridae* [147]. До цього роду належать п'ять вірусів, зокрема й вірус хлоротичної плямистості листя яблуні — Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV). Генوم роду *Trichovirus* є одноланцюговою РНК розміром 5,9—9,5 кілобаз (кб). [58].

Вірус хлоротичної плямистості листя яблуні, ВХПЛЯ (Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV).

Патоген складається з одноланцюгової смислової РНК [331]. Геном ВХПЛЯ складається із 7474-7561 нт [147]. Вірус має ниткоподібні частки довжиною 640-760 нм [147, 195].

Вірус інфікує такі комерційні сільськогосподарські культури, як яблуня (*Malus domestica* Borkh.), груша (*Pyrus communis* L.), слива, вишня, абрикос, персик та айва (*Cydonia oblonga* Mill.) [195].

Відомо, що серед ВХПЛЯ існує висока біологічна й молекулярна мінливість ізолятів [251]. Ідентичність 10 повногеномних ізолятів від різних рослин-господарів варіювала від 67,2 до 95,1 % [147, 195]. Завдяки космополітичному поширенню вірус вважається одним із найбільш економічно важливих патогенів, що інфікують кісточкові та інші плодові насадження. Вираженість симптомів багато в чому залежить від виду рослини та штаму вірусу. Деякі штами вірусів спричиняють сильну деформацію листків і плодів абрикоса, персика, вишні; розтріскування кори сливи; несумісність сортопідщепних комбінунань в абрикосах і деяких сортах яблунь [117, 251]. Інфіковані рослини стають чутливішими до бактеріальних і грибкових захворювань, також вони більш сприйнятливі до негативних абіотичних факторів навколишнього середовища [195, 336].

ВХПЛЯ поширюється під час проведення агротехнічних заходів — окулірування та обрізки насаджень. Наразі немає відомостей про передавання вірусу за допомогою насіння [147].

1.1.4. Характеристика потівірусу шарки сливи

Potyviriidae — це найбільша родина рослинних РНК-вмісних вірусів. Усі патогени, що належать до цієї родини, мають одноланцюгову смислову РНК і гнучкі, нитковидні частки завдовжки 680—900 нм і шириною 11—20 нм [328].

Вірус шарки сливи, ВШС (*Plum pox virus, PPV*).

Цей вірус належить до родини *Potyviriidae* роду *Potyvirus* [90].

Уперше симптоми ВШС були помічені в Болгарії після Першої світової війни, згодом, 1933 року, хворобу описав Д. Атанасов [121]. З того часу вірус поступово поширився до Європи, Південної та Північної Америки, Азії [77]. Попри значні зусилля та впровадження карантинних заходів у багатьох країнах, ВШС виявлений на більшості рослин роду *Prunus* у всьому світі. Проте деяким країнам усе-таки вдалося уникнути спалахів інфекції на своїх територіях. Станом на 2013 рік вірус шарки сливи не був зафіксований у Каліфорнії (США), Австралії, Новій Зеландії та Південній Африці [131].

Зважаючи на відмінності геномних послідовностей і філогенетичного аналізу, виокремлюють окремі штами вірусу шарки сливи: М (Marcus), D (Dideron), EA (ElAmar), С (Cherry), Rec (Recombinant), W (Winona), Т (Turkey), PPV-CR (Cherry Russian), PPV-An [131], PPV-CV (Cherry Volga) [99, 100].

Про існування серотипів М та D уперше повідомили Керлан і Дюнез (1979 р.) [179], а з появою молекулярної біології ці штами відокремлено один від одного за відмінностями нуклеотидних послідовностей [198, 217, 248, 308].

Штам PPV-M розділяють на дві підгрупи за географічним походженням. До першої підгрупи ввійшли ізоляти із Середземноморських країн, тоді як до другої — з країн Центральної та Східної Європи [113, 237]. Ізоляти PPV-M поширюються здебільшого за допомогою векторів — попелиць, спричиняючи епідемії, уражаючи переважно персик [92, 113, 114].

Штам EA виділений з єгипетського ізоляту. Він має суттєві розбіжності в геномній послідовності з іншими штамами, що виокремлює його в окремий штам [139, 240, 323]. Поки що EA географічно обмежений Єгиптом [224, 334].

З початком використання методів молекулярної біології з'явилася можливість виявлення групи ізолятів, утворених шляхом рекомбінації штамів PPV-M і PPV-D. Ці ізоляти класифіковані як рекомбінантний штам — PPV-Res. Ізоляти, які належать до цього штаму, знайдені в кількох Європейських країнах, а також поза Європою та інфікують переважно сливу й абрикос [91, 137, 223, 309]. Попелиця є ефективним вектором поширення цього штаму [137]. Зважаючи на те, що вперше про рекомбінантний штам повідомлено із Сербії [96], були пропозиції зробити цю країну центром походження PPV-Res [134].

Ізолят PPV-W3174, виділений 2003 року зі сливового дерева в Канаді [164], показав молекулярну відмінність з уже наявними штамми й зарахований до нового штаму PPV-W. Пізніше ізоляти, що їх ідентифікували як цей штам, виявили в Латвії, Україні та Росії [136, 227, 289], тим самим підтверджуючи припущення про його походження зі Східної Європи. До того ж ці ізоляти відрізнялися від канадського W3174 відсутністю двох випадків рекомбінацій [136]. На сьогодні аналіз геномних послідовностей свідчить, що штам W може бути більш різноманітним, ніж інші штами вірусу шарки сливи [135, 227, 289].

Характеристика геному атипових турецьких ізолятів Ab-Tk виявила рекомбінацію, яка вплинула на його 5'-геномну ділянку [134, 314]. Відтак ізоляти, виявлені в Туреччині, класифіковані як новий штам PPV-T (Turkey) [314].

Виявлені в Росії ізоляти з вишневих дерев сформовані в другий вишневий штам PPV-CR (Cherry Russian) [138]. Епідеміологія цього штаму досі не вивчена. У Татарстані виділений ще один окремий штам PPV-CV (Cherry Volga) [99, 100].

Штам ВШС PPV-An вважається давнім предком вірусу шарки сливи, який зафіксований лише в Албанії [224, 250].

Основними штамми ВШС, від яких еволюціонували інші, вважають PPV-D, PPV-M і PPV-Res, які часто зустрічаються у Європі [298]. Під час

вивчення повної нуклеотидної послідовності виявлено, що штами PPV-D, PPV-M та PPV-Res поділяють ідентичність геному понад 95 % (близько 96 % між PPV-M і PPV-D, і вище ніж 97 % між PPV-D і PPV-Res або між PPV-M і PPV-Res). Незважаючи на досить високу ідентичність, ці штами все-таки відрізняються, головним чином при порівнянні найбільш змінних частин їхнього геному (ділянка N1b-CP) [297]. Окрім варіабельності послідовностей, штами відрізняються посттрансляційними модифікаціями покривного білка та біологічними властивостями, зокрема їх поширенням [131].

Вишню та черешню тривалий час вважали імунними до вірусу шарки сливи [119]. Були проведені дослідження щодо неспроможності ізолятів PPV-M та D інфікувати вишню після щеплення. Проте все-таки повідомлялося про інфікування ВШС дерев вишні в Молдові [174]. Згодом вірус ідентифікували в насадженнях вишні та черешні в Італії [107], Болгарії [312] та Угорщині [241]. Споріднені ізоляти ВШС із вишні (PPV-SoC) та черешні (PPV-SwC) запропоновано зарахувати до підгрупи PPV-C [243].

У природних умовах вірус шарки сливи здатний інфікувати всі кісточкові рослини роду *Prunus* [114, 163], а також низку трав'янистих рослин, як-от: вероніка плющоліста (*Veronica hederifolia*), грицики звичайні (*Capsella bursa-pastoris*), латук дикий (*Lactuca serriola*), горобейник польовий (*Lithospermum arvense*, щавель кучерявий (*Rumex crispus*) [233], кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*), осот рожевий (*Cirsium arvense*), берізка польова (*Convolvulus arvensis*), цикорій (*Cichorium sp.*), горлянка женеvська (*Ajuga genevensis*) [210]. Експериментально вірус штаму С переносили за допомогою окулірування на сливу, персик, вишню магалебську (*P.mahaleb* L.), аличу (*P.cerasifera* Ehrh.), абрикос і деякі міжвидові гібриди [79, 107, 174, 241], що можуть бути потенційними рослинами-господарями для PPV-C [80].

Основними способами поширення вірусу є вегетативне розмноження та попелиці (*Aphis spiraecola*, *Myzus persicae*) [131]. Але передача за допомогою цих векторів відбувається не персистентно: попелиця може бути резервуаром для патогену від кількох секунд [176] до чотирьох годин [173] і здатна

переносити вірус відразу після живлення інфікованою рослиною. На сьогодні відомо до 20 видів попелиць, які можуть передавати ВШС [205], деякі з них зафіксовані на Закарпатті — сливова опилена попелиця (*Hyalopterus pruni*), хмелева попелиця (*Phorodon humuli*), геліхризова попелиця (*Brachycaudus helichrysi*), татарникова попелиця (*Brachycaudus cardui*) [56] та в Одеській області — персикова зелена попелиця (*Myzus persicae* Sulz.) [40]. Попелиці, які поширені на території України, є колонізуючими видами, що можуть займати ареал насаджень як видів *Prunus*, так і *Phragmites*, *Compositae*, *Hops*, або бути поліфагами. Ефективність поширення патогену вектором залежить від штаму вірусу, сорту й віку господаря, виду попелиці та пори року [205]. Наприклад, передача ізолятів М успішно продемонстрована попелицею *M. persicae*, також були повідомлення про перенесення цим видом персикових ізолятів штаму D [213].

Однак на великі відстані патоген поширюється через інфікований садивний матеріал. Такий спосіб передачі потребує не меншої уваги, ніж через природні вектори [298].

Характерними симптомами вірусу шарки сливи є поява хлоротичних плям або злегка пігментованих жовтих кілець чи ліній. Плоди зазнають деформації та передчасного відриву [115]. Вірус штаму С також може впливати на урожайність і якість плодів. Плоди не дозрівають на них з'являються темні кільця, прожилки на листках можуть змінювати колір на світло-зелений, часто відбувається деформація листків, а на гілках черешні спостерігається некроз [170, 241].

1.1.5. Характеристика вірусу латентної кільцевої плямистості суниці

Родина *Secoviridae* є важливою групою рослинних вірусів. Ці патогени здатні інфікувати широке коло культурних рослин. Переда вірусних часток здійснюється за допомогою векторів — нематод, жуків і попелиць [311].

Вірус латентної кільцевої плямистості суниці, ВЛКПС (Strawberry latent ringspot virus, SLRSV).

Вірус належить до родини *Secoviridae*, рід поки не визначений [310]. Через поширення за допомогою тваринних векторів — нематод *Xiphinema coxi* та *X. diversicaudatum* [307], вірус спочатку був класифікований як *Nepovirus*, але 2004 року ВЛКПС зарахований до роду *Sadwavirus* [228]. Філогенетичний аналіз показав, що вірус має спільні характеристики з членами родів *Cheravirus*, *Fabavirus* та *Comovirus*, що свідчить про його унікальність [313]. Проте на сьогодні деякі дослідники зараховують цей вірус до новоутвореної родини *Stralarivirus* [120]. Це одноланцюговий РНК вірус, який має ізометричні віріони діаметром 30 нм [124].

Уперше патоген, виявлений на малині, описав 1964 року Лістер [208]. ВЛКПС, зазвичай, вважається європейським вірусом, хоча про нього повідомляли з Австралії, Канади, Індії, Лівану, Туреччини, США, Північної Африки (Єгипет, Туніс) та Нової Зеландії [190, 220].

Патоген інфікує широке коло господарів, включно з багатьма комерційно важливими культурами, як-от суниця, малина, ожина (*Rubus subg. Eubatus Focke*), чорна смородина (*Ribes nigrum* L.), порічки (*R. rubrum* L.), вишня, персик, слива, виноград, селера (*Apium graveolens* L.), спаржа (*Asparagus officinalis* L.), петрушка (*Petroselinum crispum* Mill.), маслина (*Olea europaea*) [124, 307].

Уперше вірус, виявлений на дикій черешні (*P. avium* 'Bing'), описаний в Онтаріо (Канада) та виділений із вегетативних і генеративних органів 16-річного дерева. У зв'язку з відсутністю специфічного вектора переносника — *Xiphinema diversicaudatum*, було висунуто припущення, що вірус завезений до регіону разом із садивним матеріалом [61].

Майже в усіх рослин, уражених цим вірусом, перебіг хвороби часто безсимптомний. Лише зрідка можуть проявлятися крапчастість і відмирати пагони. Загалом вірус не призводить до великих збитків [24]. Винятком може

стати інфікування маслин, де часто спостерігають зміну видовженість та скручування листків, деформацію плодів, зниження урожайності [124].

1.1.6. Характеристика томбусвірусу зіркоподібної мозаїки петунії

Для рослин черешні та вишні збитковими є патогени родини *Tombusvirus*. Деякі представники цієї родини, а саме: вірус зіркоподібної мозаїки петунії — *Petunia asteroid mosaic virus* (PeAMV), та вірус кільцевої плямистості гвоздики — *Carnation Italian ringspot virus* (CIRV), здатні спричиняти пухирчастий рак [48, 168].

Вірус зіркоподібної мозаїки петунії, ВЗМП (*Petunia asteroid mosaic tombusvirus*, PeAMV).

Цей вірус належить до родини *Tombusviridae* роду *Tombusvirus* [211]. Уперше його, виявивши на черешні, описав вчений Блаттні 1955 року в Чехословаччині [78] під назвою «вишневий шкідник».

Вірус нерівномірно поширюється по рослині, тому симптоми можна спостерігати лише в тій частині, у якій він локалізується [60, 62, 129]. Перебіг захворювання, спричинений цим вірусним патогеном, характеризується некрозом, що призводить до скручування листків, розтріскування кори, деформації гілок та їх згинання набік. Плоди покриваються некротичними плямами, відбувається їх деформація. Зазвичай симптоми проявляються навесні, хоча іноді їх можна спостерігати протягом всього вегетаційного періоду [168, 193]. З того часу томбусвіруси регулярно виділяли з хворих дерев Їх було охарактеризовано як вірус куцистості томату — *Tomato bushy stunt tombusvirus*, або як штами цього вірусу [59].

Характерні симптоми в насадженнях вишні, подібні до ВЗМП, спостерігали в Канаді Аллен і Девідсон (1967 р.) [62] і описали їх як «отруйна хвороба вишні». Більш детальні серологічні дослідження дали змогу визначити, що такі симптоми індукує вірус зіркоподібної мозаїки петунії [181]. Сюди додали ізоляти з колишньої Чехословаччини, Канади [155],

колишньої НДР [144] та швейцарський ізолят. Ізоляти, виділені з яблуні, груші, сливи, вишні та черешні, що спочатку були зараховані до ВКТ, згодом визначили як вірус зіркоподібної мозаїки петунії [177].

Вірус має широке коло господарів та може інфікувати близько 20 родин як диких так і культурних рослин [168].

Томбусвіруси можуть механічно передаватися під час окулірування [193]. Також вірус успішно переносили на травянисті рослини індикатори такі як: кіноа (*Chenopodium quinoa* Willd.), огірок звичайний (*Cucumis sativus* L.), перець стручковий (*Сápsicum ánnum*, L.) , дурман звичайний (*Datura stramonium* L.), квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris* L.) [181]. Природний вектор поширення поки що невідомий. Здатність вірусу передаватися з насінням спостерігали в яблуні [193], але такої динаміки не помічали у вишні та черешні. Хоча за допомогою ІФА в насінні останніх виявлено вірусні титри [263].

Вірусні частки *Tombusvirus* можуть бути в річках і озерах. Вода з цих водойм, імовірно, може стати джерелом поширення цих патогенів. Один такий випадок зафіксовано на півночі Баварії. Проте в експерименті з поливом у вишневих насадженнях, коли до води додали ВЗМП, отримали негативний результат, тож такий спосіб поширення не підтверджений експериментально [178, 182].

1.2. Шкодочинність вірусних хвороб у насадженнях вишні та черешні

Як показує світовий досвід виробників плодів та ягід, а також виробників садивного матеріалу, віруси можуть завдавати неабияких збитків сільському господарству. Патогени можуть впливати на якість плодів, зменшувати урожайність, а також спричиняти повну загибель дерева.

Ларвіруси ВНКП і ВКС часто зустрічаються в комплексних інфекціях, посилюють прояви хвороби і збільшують втрати від них. Ці патогени особливо

небезпечні для вишні, черешні, персика та мигдалю. Через зменшення кількості квіткових бруньок, що спричинено цими двома вірусами [175], знижується урожайність культур. Зокрема урожайність персика може бути зменшена на 60 % [316]. Інфікування рослин роду *Prunus* вірусом некротичної кільцевої плямистості зменшує приріст дерев на 30 % та знижує урожайність від 20 до 56 %, а також робить рослини дуже сприйнятливими до низьких температур [65]. Особливо помітні втрати врожаю в молодих насадженнях вишні, що спричинено ВНКП. Такі втрати можуть сягати близько 76—93 % [52].

Моноінфікування вірусом карликовості сливи може призводити до втрат врожаю до 100 % у чутливих до нього культур [89, 244]. Не менш значне зниження урожайності спостерігається під дією вірусу мозаїки яблуні та може сягати понад 25 % у сприйнятливих до нього культур роду *Prunus* [175, 252].

Дослідження щодо впливу вірусу карликовості сливи або комплексів із ВКС та ВНКП на прикладі сорту вишні *Монморансі* показує, що інфікування цими патогенами через п'ять років знижує урожайність на 50 %. Поснетт, Кроплі та Свейт детально вивчили вплив цих двох іларвірусів на черешню [264]. Вони встановили, що площі з насадженнями черешні в Англії в період від 1957 до 1966 року зменшилися вдвічі, і основною причиною було масове інфікування промислових сортів вірусними патогенами, зокрема й ВКС та ВНКП, що їх виявили в 56 % насаджень [9].

Хвороби, спричинені вірусами роду *Nepovirus*, можуть призвести до повної загибелі дерева, зокрема таким впливом на рослину характеризується вірус кільцевої плямистості малини [326].

Інфікування насаджень ВЗМП також призводить до значних економічних збитків. Втрата товарної якості плодів через вплив вірусної інфекції сягають від 5 до 30 % [150]. На півночі Баварії до 1985 року спорадично спостерігався вірусний некроз на гілках інфікованих рослин, але це не вважали серйозним захворюванням. Проте відтоді фіксували спалахи хвороби в трьох великих насадженнях вишні, в яких інфікувалося понад 500

дерев. Подальший моніторинг виявив захворювання у 33 плодоносних насадженнях із загальною кількістю близько 450 інфікованих дерев. Хворі рослини становили в садах від 3 до 50 %. За результатами зазначеного моніторингу, уражені дерева завжди були інфіковані томбусвірусами — ВЗМП або ВКПГ. Водночас комплексне інфікування цими двома вірусами траплялося рідко. ВКПГ спричиняє аналогічні з ВЗМП симптоми, проте його шкодочинність зазвичай менша [263].

Вірус шарки сливи є чи не найбільш згубним патогеном культур родини *Prunus*. 2006 року підраховали, що збитки від ВШС, пов'язані з вирощуванням плодкових (не враховуючи непрямі торгові витрати), у всьому світі за останні 30 років загалом сягали близько 10 мільярдів євро [77, 90].

Як бачимо, вірусні хвороби завдають колосальної шкоди комерційним плодovим культурам: від збитків у розсадниках до зниження урожайності плодоносних насаджень. Тому перевірка рослинного матеріалу з метою вибракування інфікованих рослин є головним засобом боротьби з поширенням вірусної інфекції.

1.3. Чутливість підщеп вишні та черешні до вірусних патогенів

У сучасних інтенсивних технологіях під час вирощування вишні та черешні використовують підщепи, які дають змогу отримати слаборослі, швидкоплідні й високоврожайні форми дерев. Проте віруси можуть перешкоджати створенню високоякісного садивного матеріалу.

ВКС і ВНКП вважають найпоширенішими патогенами кісточкових. Їхній вплив на щепи вивчений більш детально, ніж інших вірусів. Після щеплення інфікованим садивним матеріалом на рослині спостерігають глеєтечу, листки передчасно жовтіють і обпадають, також виникають надломи в місцях щеплень, а приживлюваність вічок зменшується до 39 % [52]. У наступному вегетаційному періоді може спостерігатися повна загибель рослини [201]. Особливо це помітно при комбінуванні сортів із підщепою

ВСЛ-2, яку часто використовують як рослину-індикатор у тестуванні рослинного матеріалу [2]. Підщепа дуже негативно реагує на віруси НКП та карликовості сливи, на ній часто виникають надломи в місцях щеплень, після чого надалі росте й розвивається лише підщепа [196]. На відміну від підщепи ВСЛ-2, підщепи Мазард (*P. avium*) та магалєбська вишня (*P. mahaleb* L.) не проявляють виражених симптомів при щепленні інфікованим матеріалом.

Вихід здорових саджанців вишні сорту Монморансі на підщепі *P. cerasus* був знижений на 53,9 % через інфікування ВКС [244].

На гіперчутливих підщепках ознаки несумісності можуть проявлятися після 10 тижнів від дати щеплення. Окрім цього, після проведення спостережень виокремлено низку підщеп із різною чутливістю до вірусних патогенів. Надчутливими виявилися підщепи: GI.1, GI.4, GI.10, GI.11, Gi.154/4, Gi.154/7, Gi.172/7; до чутливих були зараховані: GI.7, GI.8, Camil, а толерантність проявили: Mazzard, Mahaleb, Colt, GI.5, GI.6, GI.12, Gi.169/15, Gi.196/4, Inmil, Damil, MxM.2, MxM.60 [201].

Однак, попри те, що нині відомі підщепи, які є чутливими до вірусів, прояв несумісності на тлі інфікування вірусними патогенами із сортами вітчизняної селекції досі не з'ясований.

1.4. Методи діагностики вірусів вишні та черешні

Більшість вірусів, що інфікують рослини роду *Prunus*, часто латентні, а отже, хвороба проходить без характерних симптомів, також симптоматика вірусних захворювань схожа на реакцію абіотичних факторів, що унеможлиблює візуально відрізнити здорову рослину від інфікованої [249]. Це призводить до накопичення вірусів у рослинах та їх поширення з інфікованим садивним матеріалом. Тому якісна діагностика має займати провідне місце при виробництві сертифікованого садивного матеріалу.

На сьогодні для ідентифікації вірусів є серологічні, молекулярно-генетичні методи та їх модифікації [160, 171, 332, 333].

Загалом вірус некротичної кільцевої плямистості вперше був виявлений у США (1941) на рослинах персика [104]. З того часу розроблено низку методик, включно з ІФА та молекулярними методами (ЗТ-ПЛР, флуоресцентна ЗТ-ПЛР, ПЛР у режимі реального часу, ізотермічна ампліфікація), які використовують для виявлення ВНКП [160].

Однак виявлення патогену за допомогою ІФА нерідко може мати помилкові результати, оскільки зниження вірусних титрів у рослині в період спокою може давати хибно негативний результат [160]. Шпігель порівняв ці дві методики для виявлення ВНКП у період спокою рослини. Результати були такі: лише два з 17 зразків виявилися позитивними за серологічною детекцією, водночас ЗТ-ПЛР виявила всі інфіковані зразки, крім одного, в яких відбулася неспецифічна реакція [295].

Метод ЗТ-ПЛР та ізотермічної петлевої ампліфікації зі зворотною транскрипцією — *Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP)*, виявилися найбільш достовірними для детекції патогенів у рослинах у стані спокою, якщо порівнювати із серологічними методиками для тестування зразків черешні на наявність вірусу НКП [285, 340]. Проте, окрім переваг останніх, вони мали певні недоліки. Зокрема ПЛР передбачає використання гель-електрофорезу, що збільшує час для тестування та спричиняє ризик контамінації зразків, а методика *RT-LAMP* має порівняно низьку специфічність через використання барвників [296]. Найбільше переваг серед методик виявлення ВНКП має полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі. Аналіз надійно виявляє вірус у корі сплячих дерев вишні та сливи. Крім того, він добре пристосований для рутинного виявлення ВНКП, оскільки передбачає ризик контамінації, адже реакція проходить в одній закритій пробірці. Однак метод потребує дорогого обладнання та реагентів [219], що може стати основним недоліком його використання.

Cross priming amplification (CPA) — це порівняно новий метод із високою чутливістю та специфічністю [329], який успішно себе зарекомендував для виявлення широкого кола збудників: від бактерій до

вірусів [112, 125, 296, 320, 335, 337]. Він дає змогу виявити патоген за досить короткий час — від 5 до 10 хвилин [187]. Для ідентифікації ВНКП метод був дещо модернізований шляхом поєднання *CPA* зі зворотною транскрипцією і отримав назву *Reverse transcription-cross-priming amplification coupled (RT-CPA-NATSC)*. Загалом *RT-CPA-NATSC* зарекомендувала себе як надійний і швидкий метод виявлення ВНКП [160].

Не менш успішною методикою виявлення вірусів черешні та вишні є полімеразна ланцюгова реакція з імунозахопленням — *Reverse transcription polymerase chain reaction ELISA (RT-PCR-ELISA)*. Цей метод продемонстрував успішну детекцію вірусу карликовості й віспи сливи в таких культурах, як вишня, персик і слива. При ідентифікації ВШС та ВКС цей аналіз виявився чутливішим, ніж ЗТ-ПЛР, у межах від 10 до 100 разів [332].

Заслуговує уваги й такий молекулярний метод діагностики, як мультиплексна ЗТ-ПЛР. Цей метод економить час і витрати реагентів, якщо порівнювати з моноспецифічною ЗТ-ПЛР, що потребує декількох реакцій на однакову кількість зразків. Мультиплексну ЗТ-ПЛР (*m-RT-PCR*) розробили 1994 року для ідентифікації рослинних вірусів. За її допомогою можна ідентифікувати два або більше патогенів одночасно в одному рослинному зразку [333]. На сьогодні відомі такі комбінації вірусів, успішно виявлених за допомогою мультиплексної ЗТ-ПЛР: ВНКП і ВШС [183], ВХПЛЯ і ВШС [242], ВШС і ВКС [332]. Такі комбінації успішно виявляли з тою самою чутливістю, що й під час монотестування ЗТ-ПЛР. Завдяки постійним удосконаленням і модифікаціям нині ця методика дає змогу виявляти близько п'яти вірусних патогенів у одному зразку. Відомі дослідження, коли успішно проводили мультиплексну ЗТ-ПЛР для ВХПЛЯ, ВНКП, ВКС, ВШС і ВЧКТ [333].

Чутливість полімеразної ланцюгової реакції над серологічними методами доведена низкою спостережень [206, 212, 229]. Проведені дослідження показують, що в насадженнях кісточкових ефективнішим методом виявлення вірусної інфекції є полімеразна ланцюгова реакція,

особливо це стосується таких вірусів, як некротична кільцева плямистість кісточкових і карликовість сливи. ВНКП був ідентифікований у 30,7 % тестованого методом ПЛР матеріалу, тоді як показники ІФА того самого матеріалу становили лише 12,7 %. Щодо ВКС, то результати ЗТ-ПЛР були на 5,5 % вищі за ІФА. Ефективність виявлення вірусів хлоротичної плямистості та мозаїки яблуні була майже однакова як за результатами ПЛР, так і за ІФА. Винятком можна вважати вірус шарки сливи — його ідентифікація ІФА (2,4 %) більш ефективна, ніж ПЛР (1,5 %) [141].

Як бачимо, на сьогодні методи діагностики рослинного матеріалу базуються переважно на двох технологіях — ІФА та ПЛР, які постійно удосконалюються щодо чутливості, надійності й простоти застосування. Деякі з них потребують досить дорогого обладнання, тому їх використання в рутинній діагностиці великої кількості матеріалу не виправдовує поставлених цілей. Натомість ІФА є досить чутливим методом тестування рослинних вірусів, зокрема й тих, що інфікують вишню та черешню. Для попередньої діагностики материнських рослин і моніторингових досліджень його використання цілком доцільне.

Огляд наукової літератури показує, що проведення фітосанітарного моніторингу насаджень вишні та черешні на наявність вірусних патогенів, вивчення їх видового складу, молекулярно-генетичних характеристик і впливу на сортопідщепні комбінування є актуальним завданням.

2. УМОВИ, ОБ'ЄКТИ Й МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Місце проведення та об'єкти досліджень

Дослідження проводили у 2018—2021 роках у відділі вірусології, оздоровлення та розмноження плодових і ягідних культур Інституту садівництва (ІС) НААН. Відбір зразків здійснювали в маточних насадженнях на території десяти областей України (Івано-Франківська, Київська, Запорізька, Тернопільська, Донецька, Харківська, Херсонська, Закарпатська, Дніпропетровська, Черкаська) (рис. 2.1) у господарствах різних форм власності.

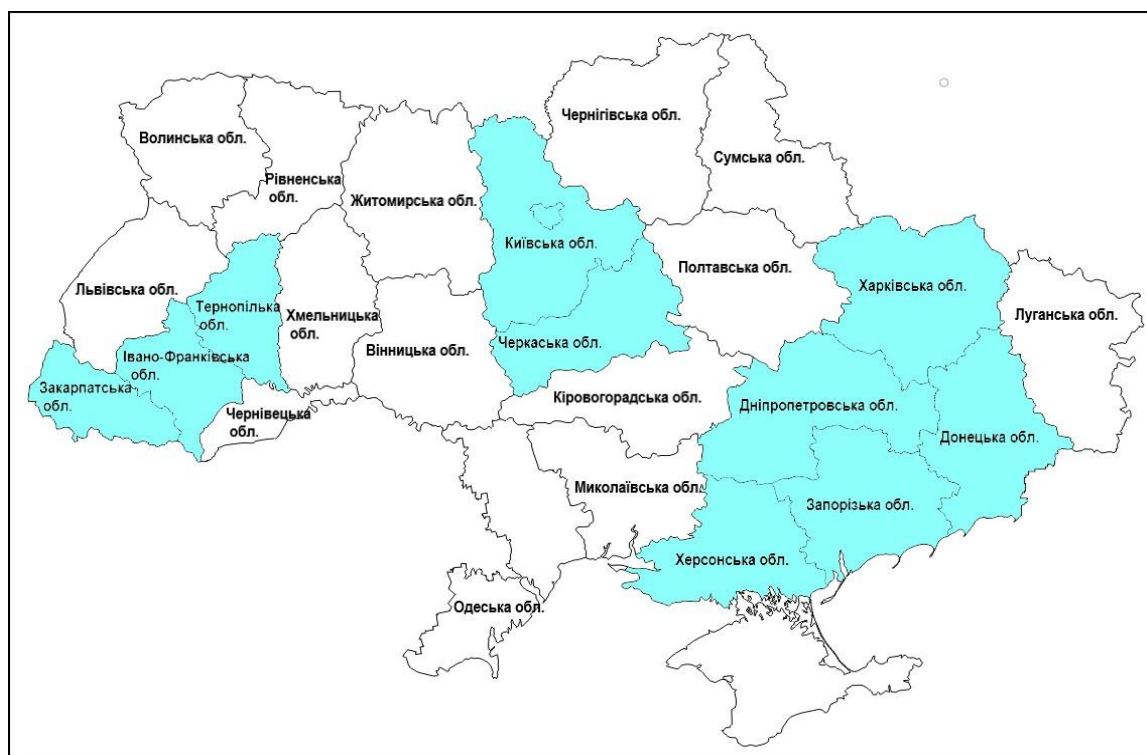


Рисунок 2.1 — Місця відбору зразків сортів вишні, черешні та їхніх підщеп

Зокрема сюди належать насадження Інституту садівництва (с. Новосілки), Державного підприємства «Дослідне господарство Бахмутської дослідної станції розсадництва ІС НААН» (с. Ягідне),

Державного підприємства «Дослідне господарство «Мелітопольське» Мелітопольської дослідної станції садівництва ім. М. Ф. Сидоренка ІС НААН» (с. Фруктове), Дослідної станції помології імені Л. П. Симиренка ІС НААН (с. Мліїв), а також у господарствах приватних форм власності.

Найбільше зразків (268 шт.) відібрано безпосередньо в зонах, придатних для вирощування досліджуваних культур (Південний Степ, Степ, Донбас, Східний Лісостеп та Правобережний Лісостеп), інші зразки (23 шт.) походили із західних регіонів (Закарпаття, Прикарпаття, Західний Лісостеп). У нашому дослідженні протестовано 16 сортів черешні: Аеліта, Анонс, Бігарро Бурлат, Валерій Чкалов, Донецька красавиця, Донецький угольок, Китаївська чорна, Кордія, Крупноплідна, Мелітопольська чорна, Міраж, Ніжність, Регіна, Сказка, Талісман, Удівительна; 13 сортів вишні: Альфа, Аннушка, Богуславка, Василіса, Відродження, Встреча, Ігрушка, Ксенія, Любава, Мальва, Солідарність, Тургенівка, Шалунья; та чотири типи підщеп: ВСЛ-2, Колт, вишня магалєбська, Студениківська.

Предметом наших досліджень є 11 вірусних патогенів, що інфікують вишню, черешню та їхні підщепи. Об'єктом є поширення вірусів і молекулярно-біологічні властивості виділених ізолятів.

2.2. Кліматичні умови

Клімат регіону помірно-континентальний, характеризується певною мінливістю протягом календарного року. Безморозний період триває близько 246 діб. Середньорічна температура повітря становить $7,4 \pm 1,1$ °С, за цих умов максимальне відхилення температури від середнього значення за місяць припадає на холодний період $-2,9 \pm 0,7$ °С, а мінімум — на теплий період із показником $-1,8 \pm 0,2$ °С. Максимальна температура повітря спостерігається в липні, а мінімальна — у січні. Літні місяці характеризуються середньою температурою 18—20 °С, а зимові — від -2 °С до -6 °С. У перехідні періоди середня температура становить 0—16 °С навесні та 2—14 °С восени [3].

У роки проведення досліджень температурні умови дещо відрізнялися від багаторічних даних. Середня температура повітря у 2019 і 2020 рр. становила 11,1 та 11,5 °С, що на 3,8—4,2 °С вище за багаторічні показники, а середні показники 2021 року (станом на жовтень) були вищими на 3,4 °С, якщо порівнювати з багаторічними (рис. 2.2). Максимальну температуру повітря 2019 року фіксували у червні, натомість у 2020—2021 рр. — у липні, що цілком відповідає багаторічним даним, а от мінімальну — у лютому, в той час як за багаторічними показниками мінімальну температуру повітря відзначають у січні.

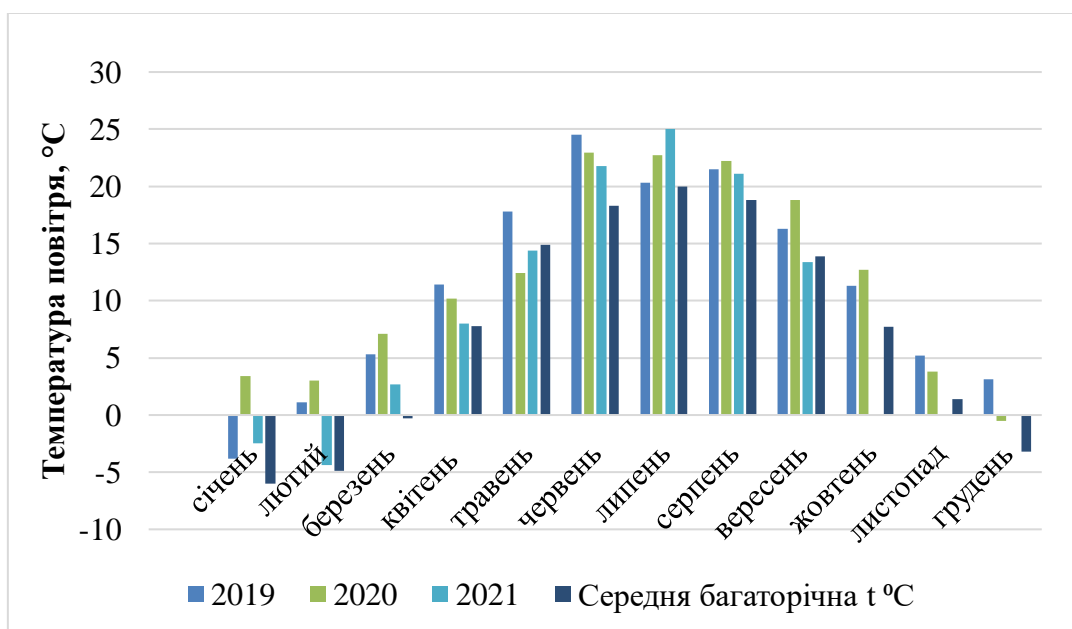


Рисунок 2.2 — Температурні умови під час проведення досліджень (2019—2021 рр.)

Київська область вважається зоною достатнього зволоження, а середній багаторічний показник суми опадів становить 597 мм. Проте в роки досліджень відзначали значні відхилення від багаторічних даних (рис. 2.3). 2019 року ця різниця становила 276,8 мм, 2020-го — 188,8 мм, а 2021-го (станом на жовтень) — 249,4 мм. Максимальні суми опадів фіксували у травні (2019—2021 рр.), найбільше їх випадає у теплий період (квітень-жовтень).

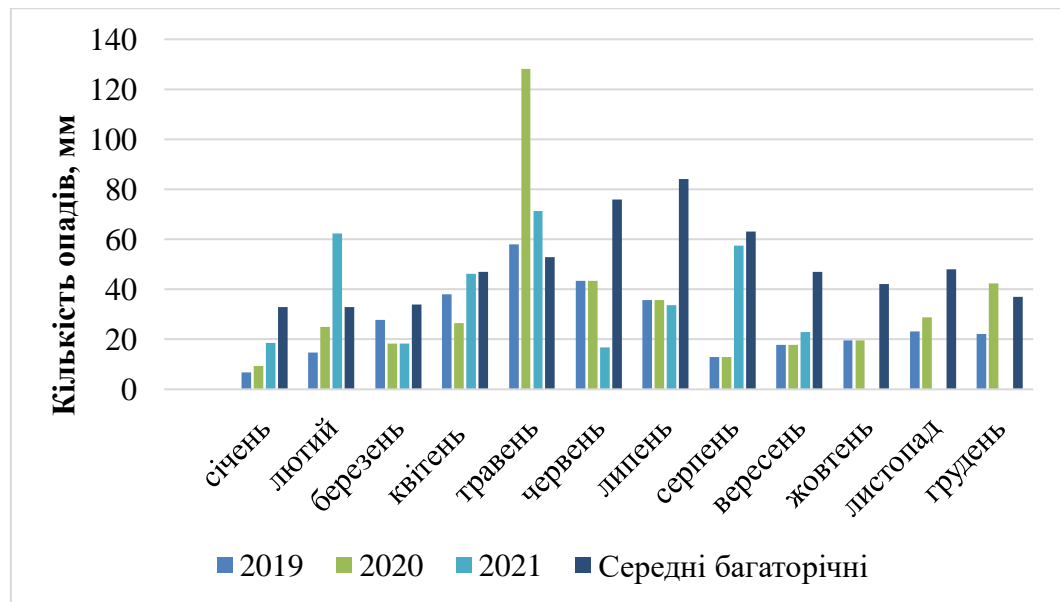


Рисунок 2.3 — Сума опадів під час проведення досліджень (2019—2021 рр.)

Отже, як бачимо кліматичні умови у роки проведення досліджень різнилися, особливо це стосується температурного режиму зимових місяців, якщо порівнювати із середніми багаторічними даними. Проте це не перешкоджає відбору зразків для тестування, проведення серологічної діагностики й вирощуванню саджанців культури вишні та черешні.

2.3. Ґрунтові умови

За даними сектору агрохімічних досліджень ІС НААН, ґрунт дослідної ділянки у плодовому розсаднику — темно-сірий опідзолений легкосуглинковий на лесовидному суглинку. Відсоток гумусу в орному шарі становить близько 2—2,3 %; фосфору — 6,6—6,9; калію — 6,2—6,5 мг у 100 г ґрунту. Рельєф ділянки — слабохвилясте плато. Генетичний горизонт гумусово-елювіальний (HE), який лежить у шарі 0—35 см, темно-сірий, комкувато-зернистий, легкосуглинковий, ущільнений, вологий зі слабо вираженою присипкою діоксиду кремнію (SiO_2). Перехід до наступного горизонту поступовий за кольором і складом. Наступний горизонт — гумусово-ілювіальний (HI) — лежить на глибині 36—60 см, темно-бурий,

горіхувато-зернистий, легкосуглинковий, ущільнений, вологий, з рясною присипкою діоксиду кремнію. Перехід до наступного горизонту виражений за будовою. Наступний генетичний горизонт — ілювіальний (I), лежить на глибині 61—65 см, темно-коричневий, комкувато-призматичний, середньосуглинковий, сильно ущільнений, вологий, структурні грані призм покриті діоксином кремнію. Перехід до горизонту виражений будовою і кольором. Горизонт P₁K, який лежить у шарі 66—120 см, складається зі світло-коричневого комкуватого легкосуглинкового рихлого вологого мулу у вигляді псевдофібр; перехід за кольором і закипанням від 10 % соляної кислоти (HCl). Залягання ґрунтових вод — на глибині понад 5—6 м.

Як бачимо, ґрунт дослідної ділянки цілком відповідає технологічним вимогам по закладанню розсадників для культури вишні та черешні.

2.4. Серологічні та молекулярно-генетичні методи досліджень

2.4.1. Візуальний огляд насаджень і відбір зразків

Під час проведення фітовірусологічного моніторингу маточних насаджень вишні та черешні (Інститут садівництва НААН, Київська обл.) використовували метод візуальної діагностики, основою якого є аналіз зовнішніх ознак інфікування вірусними патогенами.

За результатами візуальних обстежень відбирали зразки від безсимптомних рослин із підтвердженою сортовою ідентичністю для виявлення латентних інфекцій та від рослин із симптомами — для виявлення конкретних патогенів. Обстеження проводили весною, під час фази розпускання листків і цвітіння, і влітку — у період формування плодів. Для ідентифікації патогенів лабораторними методами (ІФА, ЗТ-ПЛР) відбирали зразки з чотирьох боків дерева, для аналізу брали базальну частину листової пластинки. Матеріал пакували в поліетиленові пакети, маркували та зберігали в холодильній камері за температури 4 °С.

2.4.2. Метод імуноферментного аналізу

Після відбору зразків детекцію вірусів (табл. 2.1) проводили методом класичного імуноферментного аналізу (ІФА) згідно з методикою, запропонованою 1977 року М. Кларком та А. Адамсом [103], з використанням комерційних тестових наборів виробництва Loewe Biochemica GmbH (Німеччина) і Bioreba AG (Швейцарія) відповідно до рекомендацій виробників. Рослинний зразок, у співвідношенні 1:20, гомогенізували у кон'югатному буфері з додаванням Твін-20. У якості негативного та позитивного контролю використовували комерційні контролі відповідно до патогену на який проводили тестування.

Таблиця 2.1 – Віруси вишні та черешні, тестовані методом ІФА

Українська назва	Міжнародна назва
Вірус мозаїки яблуні (ВМЯ)	Apple mosaic ilarvirus (ApMV)
Вірус некротичної кільцевої плямистості кісточкових культур (ВНКП)	Prunus necrotic ringspot ilarvirus (PNRSV)
Вірус карликовості сливи (ВКС)	Prune dwarf ilarvirus (PDV)
Вірус мозаїки резухи (ВМР)	Arabis mosaic nepovirus (ArMV)
Вірус скручування листя черешні (ВСЛЧ)	Cherry leaf roll nepovirus (CLRV)
Вірус чорної кільцевої плямистості томату (ВЧКТ)	Tomato black ring nepovirus (TBRV)
Вірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ)	Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV)
Вірус латентної кільцевої плямистості суниці (ВЛКПС)	Strawberry latent ringspot virus (SLRSV)
Вірус шарки сливи (ВШС)	Plum pox virus (PPV)
Вірус хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ)	Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)
Вірус зіркоподібної мозаїки петунії (ВЗМП)	Petunia asteroid mosaic tombusvirus (PeAMV)

Інкубацію зразків здійснювали за кімнатної температури протягом 60 хв після внесення субстратного буфера. Результати реєстрували за допомогою мікропланшетного фотометра ImmunoChem-2100 Microplate Reader (USA) з довжиною хвилі 405 нм (A_{405} нм). Позитивним вважали зразок, у якому

значення екстинції зразка перевищувало негативний контроль щонайменше у 2,5 рази.

Зміну концентрацій вірусних титрів ВКС вивчали на прикладі сорту Богуславка, ВНКП — сорту Ксенія, як негативний контроль використовували здорові рослини тих же сортів і негативний контроль із комерційного тестового набору. Зразки відбирали з двох інфікованих дерев і кожен зразок тестували у дворазовому повторенні. Збір матеріалу проводили щомісяця протягом 2019—2021 років, починаючи з квітня, з чотирьох боків дерева та формували середню пробу. Переважно досліджуваним матеріалом обирали листки, у квітні додатково тестували квітки, у червні — плоди, а в осінній і зимовий період — камбій та бруньки.

Попередньо наявність патогенів у обраних рослин підтверджено методом ЗТ-ПЛР.

2.4.3. Виділення тотальної рибонуклеїнової кислоти з рослинного матеріалу

Виділення тотальної РНК здійснювали за допомогою комерційного набору Genomic DNA Purification Kit компанії Thermo Fisher Scientific.

Протокол виділення РНК передбачав такі етапи:

- зразок (50—100 мг) гомогенізували в ступці з додаванням 400 мкл Lysis solution, гомогенат переносили до стерильної пробірки (1,5 мл) типу Eppendorf;
- інкубували цю суспензію 8 хв за температури 65 °С у термостаті TDB-120 типу Dry Block;
- додавали хлороформ 600 мкл і перемішували, після останньої маніпуляції гомогенат центрифугували 10 000 об/хв упродовж 4 хв;

- надосад переносили до нової пробірки й додавали розчин для преципітації 800 мкл (720 мкл води та 20 мкл Precipitation solution), після додавання преципітатного розчину перемішували суспензію вручну;
- центрифугували 10 000 об/хв упродовж 4 хв;
- зливали водну фазу, а осад розчиняли в 100 мкл 1,2 Н *NaCl*;
- додавали 300 мкл попередньо охолодженого етанолу (96 %) та залишали НК для преципітації за температури -20°C на 20 хв;
- центрифугували за 10 000 об/хв упродовж 4 хв;
- повторювали процедуру очищення НК етанолом ще раз і розчиняли НК у 50 мкл деіонізованої води.

Якість виділеної НК перевіряли за допомогою горизонтального гелелектрофорезу у 2 % агарозному гелі з додаванням 0,5 мкг/мл бромистого етидію в 1xTAE буфері (рис. 2.4) або з використанням спектрофотометра DeNovix DS-11 з довжиною хвилі A260 та оцінювали забрудненість препаратів полісахаридами з довжиною хвилі A260/A230 і білками — A260/A280.

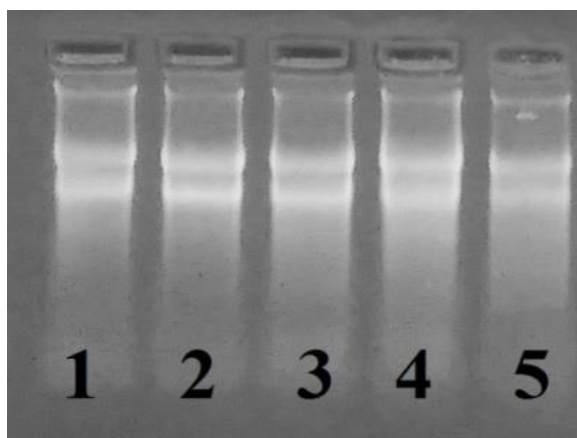


Рисунок 2.4 — Гель-електрофорез виділеної тотальної нуклеїнової кислоти зразків вишні, черешні та їхніх підщеп (підписи зразків див. таблицю 2.2).

Таблиця 2.2 — Якість виділеної рибонуклеїнової кислоти

Назва зразка	Концентрація, нг/мкл	A260	260/280	260/230
Ніжність р. 16 д. 15	1904,2	47,6	2,17	2,26
Богуславка р. 1 д. 67	1407,4	35,1	2,13	2,28

<i>Продовження таблиці 2.2</i>				
Ксенія р. 4 д. 1	1102,8	27,5	2,13	2,31
Вишня магалебська зр. № 1	2007,9	50,1	2,17	2,26
Вишня магалебська зр. № 2	985,6	24,6	2,16	2,27

Для проведення ЗТ-ПЛР використовували концентрацію РНК у межах 200—400 нг/мкл. За таких умов показники 260/280 мають бути близько 2, а 260/230 — у межах 2—2,2.

2.4.4. Ідентифікація вірусів за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР)

Для ідентифікації патогенів методом ЗТ-ПЛР використовували раніше розроблені іншими авторами та опубліковані пари праймерів до фрагмента гена покривного білка кожного з вірусів. Для підтвердження проходження реакції зворотної транскрипції як внутрішній контроль використовували праймери, що дають змогу візуалізувати специфічну ампліфікацію мРНК, а саме фрагмент гена мітохондріального дегідрогеназа (dehydrogenase subunit 5 (NADH)) (табл. 2.3).

Реакційна суміш для ПЛР-діагностики містила такі компоненти (для однієї реакції):

- 2X Master Mix (ThermoPrime Taq DNA Polymerase, RT buffer, dNTPs, MgCl₂) — 10 мкл;
- Verso Enzyme Mix (includes RNase inhibitor) — 0,4 мкл;
- RT Enhancer — 1 мкл;
- Primer forward — 0,4 мкл (10 мМ);
- Primer reverse — 0,4 мкл (10 мМ);
- Nad forward — 0,2 мкл (10 мМ);
- Nad reverse — 0,2 мкл (10 мМ);
- H₂O — 6,2 мкл;
- RNA — 1,2 мкл;

Таблиця 2.3 — Праймери для проведення ЗТ-ПЛР

Назва	Послідовність	Розмір амплікона	Т-ра відпалу, С	
PNRSV-10F	5'-TTC TTG AAG GAC CAA CCG AG AGG-3'	348	55°	[222]
PNRSV-10R	5'-GCT AAC GCA GGT AAG ATT TCC AAG C-3'			
PDV-17F	5'-CGA AGT CTA TTT CCG AGT GGA TGC-3'	303	55°	
PDV-12R	5'-CAC TGG CTT GTT TCG CTG TGA AC-3'			
PPV – P1	5'-ACC GAG ACC ACT ACA CTC CC-3'	243	60°	[324]
PPV – P2	5'-CAG ACT ACA GCC TCG CCA GA-3'			
Nad5-f	5'-GAT GCT TCT TGG GGC TTC TTG TT-3'	181	50-60°	[232]
Nad5-r	5'-CTC CAG TCA CCA ACA TTG GCA TAA-3'			

Ампліфікацію проводили в програмуючому термостаті Eppendorf Mastercycler Personal (Eppendorf AG, Germany) для ВКС, ВНКП та ВШС із такими параметрами: 50 °С — 15 хв, 95 °С — 2 хв, 40 циклів ампліфікації (95 °С — 20 с, 55—60 °С (температура для відповідної пари праймерів) — 30 с, 72 °С — 15 с), 72 °С — 5 хв.

Наявність продуктів ампліфікації перевіряли за допомогою розділення в агарозному 2 % гелі з 1хТВЕ буфером та з додаванням 0,5 мкг/мл бромистого етидію. Електрофорез проводили в електрофоретичній камері MSCHOICEST 20: multiSUB.

2.4.5. Сиквенування та філогенетичний аналіз нуклеотидних послідовностей

Отримані амплікони виділених ізолятів сиквенували методом Сенгера. Послідовності гена капсидного білка (ВКС, ВНКП) та гена поліпротеїну (ВШС) порівнювали з відомими послідовностями в Генбанку (www.ncbi.nlm.nih.gov) за допомогою програмного забезпечення BLAST 2.10.0. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей здійснювали за допомогою алгоритму Clustal W з MEGA 10 [191]. Побудову філогенетичного дерева проводили в програмному забезпеченні MEGA 10 методом приєднання

найближчих сусідів (Neighbor-Joining, NJ) [279] з використанням 2-параметричної моделі Кімури. Статистичну значимість отриманих результатів розраховували за допомогою бутстреп-аналізу при 500 реплікаціях [126].

Для побудови філодендрограми та порівняння молекулярних характеристик ВНКП відібрали з Генного банку 25 відомих ізолятів (табл. 2.4), для ВКС — 30 ізолятів (табл. 2.5). Ці ізоляти виділені з різних рослин і відрізняються за географічним походженням. Для ВШС обрали 17 ізолятів, які циркулюють на території України, а також представників штамів С, СR, СV (табл. 2.6).

Таблиця 2.4 — Ідентичність нуклеотидних та амінокислотних послідовностей українських і відомих ізолятів ВНКП із Генного банку

№	Номер ізоляту	Країна походження	Рослина-господар	PNRV 4-1		PNRV 16-15	
				ідентичність		ідентичність	
				Нт	Ак	Нт	Ак
1.	AJ133205.1	Італія	<i>P. persica</i>	100	100	97,9	100
2.	AJ133208.1	Іспанія	<i>P. persica var. nucipersica</i>	100	100	97,9	100
3.	JQ005044.1	Канада	<i>P. avium</i>	100	100	97,9	100
4.	JQ005057.1	Канада	<i>P. persica</i>	100	100	97,9	100
5.	MH730938.1	Китай	<i>P. persica</i>	100	100	97,9	100
6.	AJ133204.1	Італія	<i>P. dulcis</i>	99,7	100	97,6	100
7.	JQ005036.1	Канада	<i>P. avium</i>	99,7	100	97,6	100
8.	AJ133202.1	Італія	<i>P. dulcis</i>	99,3	100	97,2	100
9.	AJ133203.2	Італія	<i>P. avium</i>	99,3	100	97,2	100
10.	JQ005043.1	Канада	<i>P. avium</i>	99,3	100	97,6	100
11.	AJ133212.1	Італія	<i>P. domestica</i>	99,3	100	97,2	100
12.	AJ133213.1	Італія	<i>P. domestica</i>	98,6	100	99,3	100
13.	AJ133201.1	Італія	<i>P. armeniaca</i>	98,3	100	99,6	100
14.	JQ005051.1	Канада	<i>P. persica</i>	97,9	100	98,6	100
15.	LC382468.1	Індія	<i>P. armeniaca</i>	97,9	100	98,6	100
16.	MF069040.1	Чеська Республіка	<i>P. avium</i>	97,9	100	99,3	100
17.	AY948440.1	Індія	<i>Rose</i>	97,9	100	99,3	100
18.	KX650619.1	Китай	<i>P. avium</i>	97,9	100	99,3	100
19.	AY948441.1	Індія	<i>Rose</i>	97,6	100	99	100
20.	MH730942.1	Китай	<i>P. cerasifera</i>	97,6	100	99	100
21.	JN416776.1	Канада	<i>P. persica</i>	97,2	100	98,6	100
22.	AJ133210.1	Італія	<i>P. avium</i>	91,5	98,3	90,7	98,3
23.	FJ546091.1	Мексика	<i>P. persica</i>	91,1	98,3	90,7	98,3
24.	L38823.1	США	<i>P. persica</i>	90,3	96,5	89,9	96,5
25.	AJ133207.1	Італія	<i>P. persica</i>	91,1	98,3	90,7	98,3

Таблиця 2.5 — Ідентичність нуклеотидних та амінокислотних послідовностей українських і відомих ізолятів ВКС із Генного банку

№	Номер ізоляту	Країна походження	Рослина-господар	PDV 1-67		PDV 16-15	
				НТ	АК	НТ	АК
1.	KU949346	Словаччина	<i>P. avium</i>	94,9	97,7	95,3	98,8
2.	MK139689	Болгарія	<i>P. avium</i>	94	95,3	94,4	96,5
3.	GU181404	Італія	<i>P. cerasus</i>	94	96,5	94,4	97,7
4.	EU170000	Польща	<i>P. cerasus</i>	94	96,5	94,4	97,7
5.	KU949343	Словаччина	<i>P. avium</i>	93,5	95,3	94	96,5
6.	AF208741	Чеська Республіка	<i>P. avium</i>	93,1	92,9	93,6	94
7.	MK560342	Канада	<i>P. avium</i>	93	95,3	93,5	96,5
8.	GU181402	Італія	<i>P. domestica</i>	92,7	95,3	93,2	96,5
9.	GU181398	Італія	<i>P. dulcis</i>	92,7	95,3	93,1	96,5
10.	EU170005	Польща	<i>P. avium</i>	92,7	92,9	93,1	94,1
11.	MK139682	Болгарія	<i>P. avium</i>	92,3	95,3	92,8	96,5
12.	KU949338	Словаччина	<i>P. avium</i>	92,3	92,9	92,7	94,1
13.	KF718675	Туреччина	<i>P. avium</i>	92,3	95,3	92,7	96,5
14.	GU066797	Італія	<i>P. cerasus</i>	92,3	95,3	92,8	96,5
15.	EF524264	Туреччина	<i>P. armeniaca</i>	92,3	95,3	92,7	96,5
16.	GU066795	Італія	<i>P. dulcis</i>	91,9	94	92,3	95,3
17.	AF208745	Чеська Республіка	<i>P. domestica</i>	91,9	92,9	92,3	94,1
18.	AF208742	Чеська Республіка	<i>P. persica</i>	91,9	95,3	92,3	96,5
19.	MK834276	Бельгія	<i>P. avium</i>	91,8	92,9	92,2	94,1
20.	GU066792	США	<i>P. avium</i>	91,5	92,9	91,9	94,1
21.	GU066791	Польща	<i>P. avium</i>	91,4	92,9	91,9	94,1
22.	AY554274	Угорщина	<i>P. cerasus</i>	91,4	92,9	91,9	94,1
23.	MK139685	Болгарія	<i>P. avium</i>	91,3	94	91,8	95,3
24.	KC965106	Китай	<i>P. avium</i>	90,9	92,9	91,4	94,1
25.	GU187047	Польща	<i>P. persica</i>	90,9	94,1	91,4	95,3
26.	GU181399	Італія	<i>P. cerasus</i>	90,9	94,1	91,4	95,3
27.	K949349	Словаччина	<i>P. avium</i>	90,5	90,4	90,9	91,6
28.	EF524267	Туреччина	<i>P. avium</i>	89	91,6	89,6	92,9
29.	AY554275	Угорщина	<i>P. avium</i>	87,8	89,1	88,3	90,4
30.	K949339	Словаччина	<i>P. avium</i>	85,9	86,5	86,4	87,8

Таблиця 2.6 — Ідентичність нуклеотидних та амінокислотних послідовностей українських і відомих ізолятів ВШС із Генного банку

№	Номер ізоляту	Країна / область походження	Рослина-господар	Mahaleb 1		Mahaleb 2	
				АК	НТ	АК	НТ
1.	MK209077	Одеська	<i>P. persica</i>	100	100	100	100

<i>Продовження таблиці 2.6</i>							
2.	МК209076	Харківська	<i>P. persica</i>	100	100	100	100
3.	МК209075	Харківська	<i>P. armeniaca</i>	94	93,7	94	93,7
4.	МК209074	Одеська	<i>P. domestica</i>	89,5	79,7	89,5	79,7
5.	МК209073	Одеська	<i>P. persica</i>	100	100	100	100
6.	МК209072	Черкаська	<i>P. domestica</i>	95	100	95	100
7.	МК209071	Одеська	<i>P. persica</i>	100	100	100	100
8.	FJ752497	-	<i>P. domestica</i>	99,3	100	99,3	100
9.	JN637991	-	<i>P. cerasifera</i>	100	100	100	100
10.	JN596110	Донецька	<i>P. spinosa</i>	94,1	100	94,1	100
11.	KR028387	АР Крим	<i>P. cerasifera</i>	100	100	100	100
12.	KR028386	АР Крим	<i>P. persica</i>	99,32	100	99,32	100
13.	KR028385	АР Крим	<i>P. persica</i>	99,3	100	99,3	100
14.	KR006730	АР Крим	<i>P. domestica</i>	99,3	100	99,3	100
15.	KR006729	АР Крим	<i>P. persica</i>	99,3	100	99,3	100
16.	KF472134	-	<i>P. cerasifera</i>	95	100	95	100
17.	KJ914573	Запорізька	<i>P. cerasus</i>	100	100	100	100
18.	MG736816	Російська Федерація	<i>P. cerasus</i>	90	97,4	90	97,4
19.	MF447180	Російська Федерація	<i>P. cerasus</i>	92,5	97,4	92,5	97,4
20.	MH346311	Російська Федерація	<i>P. cerasus</i>	93,3	100	93,3	100

2.5 Вивчення впливу вірусних патогенів на ріст і розвиток саджанців

Дослід проводили у плодовому розсаднику ІС НААН у 2020—2021 рр. Сортопідщепні комбінування вивчали в умовах вірусного інфікування прищеп. Як контроль використовували матеріал тих же сортів, вільних від вірусів. Окулірування проводили способом вприклад у другій декаді серпня. Перше поле розсадника закладено відповідно до схеми садіння 1,20 × 0,15 м.

Схема дослід:

Варіант 1 — ВСЛ-2 / Ніжність, інфікована ВКС + ВНКП.

Варіант 2 — ВСЛ-2 / Богуславка, інфікована ВКС.

Варіант 3 — ВСЛ-2 / Ксенія, інфікована ВНКП.

Варіант 4 — ЛЦ-52 / Ніжність, інфікована ВКС + ВНКП.

Варіант 5 — ЛЦ-52 / Богуславка, інфікована ВКС.

Варіант 6 — ЛЦ-52 / Ксенія, інфікована ВНКП.

Варіант 7 — ВЦ-13 / Ніжність, інфікована ВКС + ВНКП.

Варіант 8 — ВЦ-13 / Богуславка, інфікована ВКС.

Варіант 9 — ВЦ-13 / Ксенія, інфікована ВНКП.

У досліді використовували два сорти вишні — Ксенія і Богуславка, та один сорт черешні — Ніжність, у комбінаціях із клоновими підщепами ВСЛ-2, ЛЦ-52 і ВЦ-13. На сьогодні ці сорти занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні.

Дослід проводили у трьох повтореннях по 10 рослин у кожному, розміщення ділянок рендомізоване.

Під час експерименту здійснювали такі обліки і спостереження:

- осіння і весняна ревізії на предмет приживлюваності окулянтів;
- вимірювання приростів пагонів;
- показники росту саджанців;
- вивчення вмісту зелених пігментів і загального стану саджанців.

Усі дослідження проводили згідно з «Методикою проведення польових досліджень з плодовими культурами» П. Кондратенка та М. Бублика [23].

Вміст пігментів вивчали в умовах вірусного інфікування в другому полі розсадника. Матеріал відбирали з одного боку саджанця на одній висоті рослини. Вміст хлорофілу *a* та *b* визначали за допомогою спектрофотометра КФК-3 з довжиною хвиль 649 і 665 нм. Як екстрагуючу рідину використовували 96 % етанол. Розрахунки проводили відповідно до методики Х. Починка [37].

Для діагностики загального стану саджанців (фотосинтетичного апарату) використовували комплекс параметрів індукції флуоресценції хлорофілу, яку вимірювали за допомогою приладу «Флоратест».

Основні показники:

- F_0 — початкове значення флуоресценції після ввімкнення освітлення;

- F_{pL} — рівень флуоресценції на час тимчасового сповільнення зростання її сигналу (плато);
- F_{max1} — максимальне значення флуоресценції;
- F_{max2} — другий максимум флуоресценції;
- F_t — стаціонарний рівень флуоресценції через 1,5—3 хв після початку освітлення;
- K_i — коефіцієнт ефективності електронного транспорту поблизу реакційних центрів;
- RFD — коефіцієнт ефективності темнових фотохімічних процесів.

Усі показники індукційної кривої наведено у відносних одиницях еталона флуоресценції (світлофільтр OC14) з емісією в тому самому спектральному діапазоні, що й флуоресценція хлорофілу листка. Інтенсивність збуджувального світла для приладу «Флоратест» становила 50—60 Вт/м² [19].

Морозостійкість генеративних бруньок інфікованих рослин вишні визначали за допомогою лабораторного методу штучного створення низьких температур [4] за температури -25 , -30 °C та варіант за температури 4 °C. Як контрольний варіант використовували ті самі сорти вишні без вірусного інфікування.

Бал пошкодження визначали за такою шкалою:

- 0 — ушкоджень немає;
- 1 — незначна зміна забарвлення, пошкоджено до 20 %, границі тканин чітко візуалізуються;
- 2 — середнє пошкодження тканин (40 %);
- 3 — середнє пошкодження тканини, водночас чітко спостерігається побуріння її межі з іншими тканинами (60 %);
- 4 — сильне пошкодження тканин: тканини бурого кольору з чорними межами з іншими тканинами (80 %);
- 5 — повна загибель тканин, неможливість візуально відокремити одну тканину від іншої (100 %).

2.6. Економічна ефективність і статистичні обрахунки

Економічну ефективність вирощування саджанців на фоні впливу вірусної інфекції розраховували за «Методикою економічної та енергетичної оцінки типів плодючих насаджень, помологічних сортів і результатів технологічних досліджень у садівництві» [27].

Статистичні обрахунки здійснювали, за рекомендаціями В. Мойсейченка [29], методами дисперсійного аналізу за допомогою програми обробки даних AGROSTAT і MS Excel Office 2010.

Рівень інфікованості зразків різних культур (%) обчислювали за такою формулою:

$$Fik = \frac{Nik}{Nk} \times 100$$

де Nk — кількість тестованих зразків,

Nik — кількість інфікованих зразків i вірусом у насадженнях k .

Достовірність отриманих результатів визначали за допомогою довірчого інтервалу [29].

Для аналізу якісних показників вираховували такі статистичні характеристики, як-от: частка наявності ознаки p , частка відсутності ознаки q , варіація якісного показника s , коефіцієнт варіації Vp , похибка частки вибірки Sp . Загальний обсяг вибірки позначали літерою N , а кількість об'єктів із наявною ознакою — n . Для подальших обрахунків використовували такі формули:

- частка наявності ознаки: $p = n/N$;
- частка відсутності ознаки: $q = 1 - p$;
- варіація якісного показника: $s = \sqrt{p \times q}$;
- коефіцієнт варіації: $Vp = 100(S/Sm\alpha x)$;
- похибка частки вибірки: $Sp = \sqrt{p \times q/N}$;
- інтервальна оцінка: $p = \pm 2sp$, на рівні довірчого інтервалу

$P_{0,95}$.

3. ФІТОВІРУСОЛОГІЧНИЙ СТАН МАТОЧНИХ НАСАДЖЕНЬ ВИШНІ, ЧЕРЕШНІ ТА ЇХНІХ ПІДЩЕП В УКРАЇНІ

3.1. Візуальний огляд насаджень на предмет інфікування вірусними патогенами

Важливість перевірки насаджень полягає в тому, щоб максимально якісно виділити вільні від вірусних хвороб рослини. Для лабораторної діагностики відбирають матеріал із візуально здорових рослин. Деревя, на яких під час візуального обстеження були помічені симптоми захворювання, мають бути негайно видалені задля запобігання поширення хвороби.

Під час обстеження насаджень у фазу цвітіння нами виявлено значні пошкодження квіток і бутонів: відсутність пелюсток і недорозвиненість квітки, скорочення відстані між міжвузлями, зменшення кількості букетних гілочок та оголення пагона, що є характерними симптомами інфікування вірусом карликовості сливи [130, 175]. Зокрема, такі симптоми спостерігали на деревах вишні сорту Богуславка (рис. 3.1). Присутність патогену в цих зразках пізніше підтвердили лабораторними методами.



Рисунок 3.1 — Деформація квіток сорту вишні Богуславка (А — відсутність пелюсток, Б — недорозвиненість квітки)

Ретельний огляд листків на деревах виявив деформацію листкової пластинки вздовж прожилків (рис. 3.2 А), хлоротичні й темно-коричневі плями, що утворювали невеликі отвори. Слід зауважити, що хлороз був найпоширенішим симптомом серед усіх обстежених дерев. Такі симптоми притаманні інфікуванню ВКС і неодноразово описувалися низкою авторів [222, 259, 291]. Подібну симптоматику також спостерігали в Болгарії під час обстеження насаджень вишні на предмет виявлення цього вірусу [175].

Інфікування вірусом некротичної кільцевої плямистості кісточкових характеризується подібними симптомами з ВКС, він також здатний індукувати некротичні та хлоротичні плями, мозаїку й деформацію листової пластинки, квіток і плодів, але часто може мати латентний характер [294].

Симптоми, індуковані ВНКП, можуть змінюватися залежно від часу з моменту інфікування. Одразу після потрапляння вірусу до рослини (шокова фаза) часто спостерігають найбільш виражений некроз. За хронічного перебігу захворювання симптоми частково можуть маскуватися. На деревах вишні в шоківій фазі інфікування можна спостерігати некротичні плями, у центрі яких із часом утворюються некрози й отвори, у результаті чого листова пластинка має рваний вигляд. Також при первинному інфікуванні вірус затримує розпускання бруньок по всьому дереві чи на окремих гілках, молоді листки часто дрібніші ніж звичайно.

Характер плямистостей може варіюватися залежно від сорту. У дослідженнях інших авторів на сортах Анадольська, Сіянець Авдєєва, Рабатская красавица, Пражская мускатная спостерігали симптоми шершавості листків, тоді як на сортах Владімірська, Гріот Португальський, Уманська рання зазвичай розвивалася некротична плямистість [9]. Під час проведення фітовірусологічного моніторингу насаджень кісточкових в Ірані спостерігали характерні симптоми ВНКП [294]. До цього часу цей вірус там виявляли лише в насадженнях троянд [270].

Інфікування рослин ВКС і ВНКП може індукувати появу більш агресивних і виражених симптомів [89]. Зокрема, під час обстеження

насаджень черешні в Київській області ми фіксували наявність хлоротичних плям і невеликих некротичних отворів на листках окремих дерев черешні сорту Ніжність (рис. 3.2 Б).

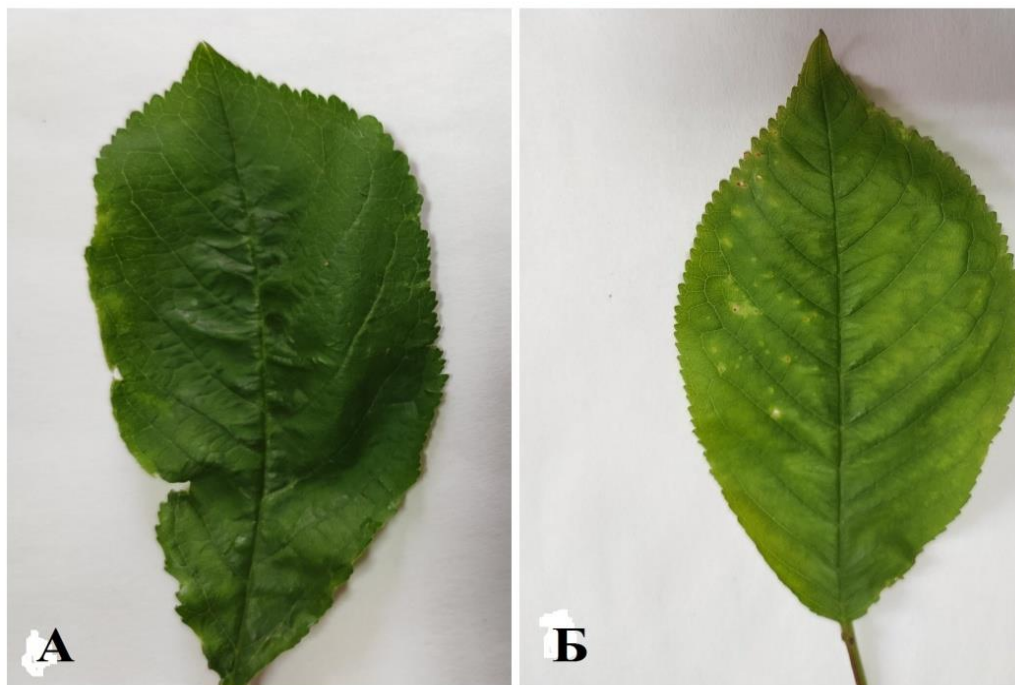


Рисунок 3.2 — Деформація та хлороз листкової пластинки (А — сорт Богуславка, Б — сорт Ніжність)

Подальша перевірка молекулярними методами виявила присутність обох патогенів у цих зразках. Ці два віруси часто зустрічаються в комплексі, адже легко передаються за допомогою пилку.

Як уже згадувалося, перебіг вірусної хвороби часто має латентний характер без маніфестації симптомів. У наших дослідженнях це спостерігали під час обстеження рослин вишні сорту Ксенія (рис. 3.3). На деревах не виявляли характерних симптомів інфікування ВНКП, хоча серологічна діагностика дала протилежний результат, згодом наявність вірусу НКП підтвердили й за допомогою ЗТ-ПЛР. У випадку латентного перебігу захворювання інфіковані рослини стають джерелом поширення патогену, особливо це небезпечно коли вірус переноситься у природний, неконтрольований спосіб.



Рисунок 3.3 — Листок сорту Ксенія з латентним перебігом інфікування ВНКП

Отже, симптоматика, подібна до вірусних уражень, може бути спричинена грибними й бактеріальними хворобами, нестачею елементів живлення, пошкодженням рослини комахами чи наслідком абіотичних факторів. Оскільки візуальне обстеження не завжди дає змогу визначити наявність вірусних хвороб, потрібно проводити саме лабораторну діагностику матеріалу, яка дасть точний результат вірусологічного стану рослини.

3.2. Імунодіагностика рослинного матеріалу вишні, черешні та їхніх типів підщеп

У результаті серологічної діагностики нами визначено кількісний і якісний склад вірусних патогенів у рослинному матеріалі. Всього перевірено 291 зразок, із них черешні — 134, вишні — 103, підщеп — 54 зразки.

Імунодіагностика перевірених зразків показала високий рівень інфікованості матеріалу — 28,6%. Це свідчить про недотримання умов утримання маточних насаджень, що, зі свого боку, може призвести до збільшення рівня інфікованості й поширення вірусних патогенів із садивним

матеріалом. Інфікованість сортозразків вишні мала найвищий показник і становила 33 % (рис. 3.4), а рівень інфікованості черешні — 30,6 %. Найменш інфікованими виявилися перевірені зразки підщеп — 13 %.

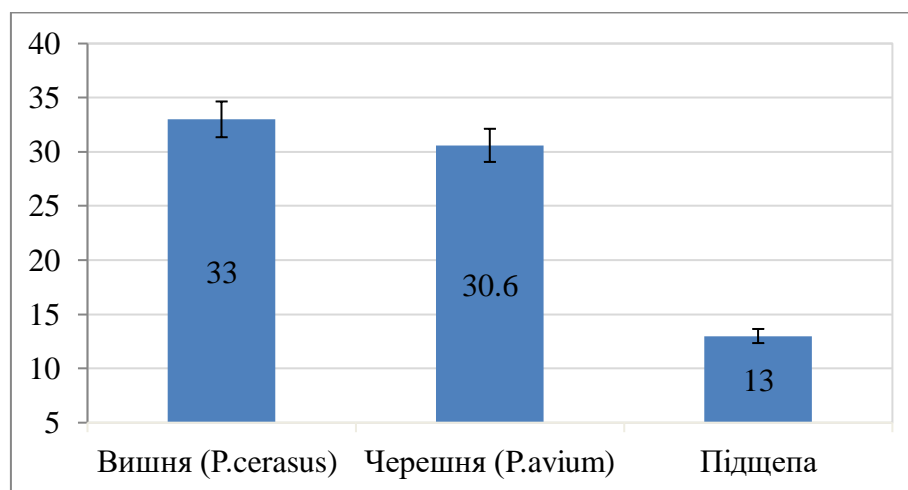


Рисунок 3.4 — Інфікованість вірусами перевіреного матеріалу з маточних насаджень вишні, черешні й типів їхніх підщеп, % (2018—2020 рр.)

За роки проведення досліджень нами виявлено 11 вірусів, зокрема три з них було ідентифіковано вперше в насадженнях вишні та черешні в Україні. Десять із них додано до переліку ЄОЗР, а також ВШС, який неодноразово виявляли на території нашої держави [44, 186, 194] та у світі [77]. Оскільки цей патоген досить поширений, а останнім часом з'являються повідомлення про нові штами, які здатні уражувати вишню й черешню [99, 100], виникла потреба у проведенні тестування рослинного матеріалу на наявність цього вірусу.

Всі ідентифіковані нами вірусні патогени можна об'єднати у три групи: представники таксономічної групи *Parvivirus*, *Nepovirus* і третя група, до якої ввійшли віруси з різних родин.

Серед іларвірусів (ВНКП, ВКС, ВМЯ) (рис. 3.5) найчастіше зустрічався ВНКП. Інфікованість ним сортозразків вишні сягала 14 %, черешні — 10,4 %, а підщеп — 5,5 %. ВНКП є найпоширенішим патогеном кісточкових не лише в Україні [45] і часто трапляється в комплексному інфікуванні разом із ВКС [101, 234, 218]. Рівень присутності останнього патогену в тестованому нами матеріалі черешні становив 5,2 %, вишні — 3,9 %, а підщепи — 5,6 %.

Рівень поширення досліджуваних вірусів значно відрізняється в насадженнях кісточкових різних країн. На Піренейському півострові інфікування плодоносних насаджень вишні та черешні ВНКП сягало 46 %, ВКС — 32 %, а їхні комплексні інфекції траплялися в 15 % випадків серед протестованих дерев [258]. У садах такого самого типу в Іспанії переважав ВКС (62 %), водночас поширення ВНКП становило лише 13 % [259]. У Сербії ВКС траплявся в 16,8 % протестованих зразків, відібраних у колекційних насадженнях, ВНКП — 18,4 %, комплексне інфікування становило 16 % [218].

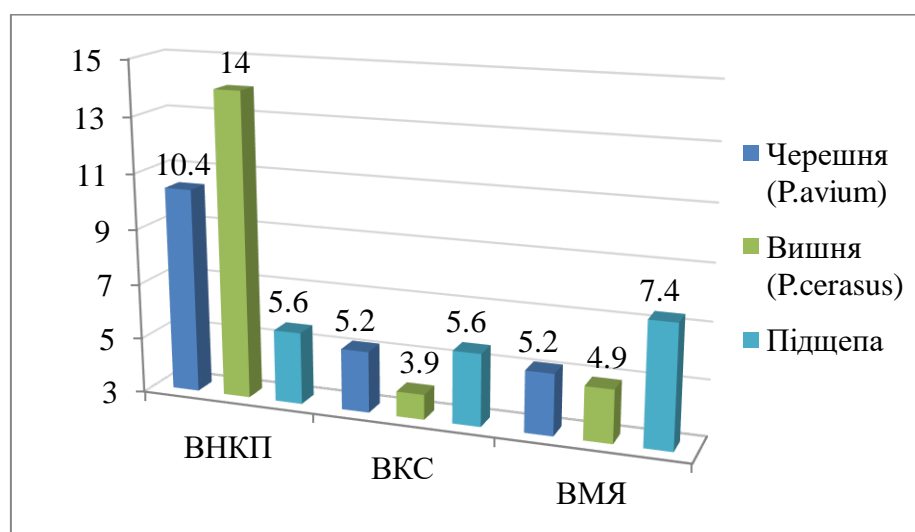


Рисунок 3.5 — Інфікованість зразків вишні, черешні та типів їхніх підщеп іларвірусами, % (2018—2020 рр.)

За даними російських вірусологів, ці віруси найбільш поширені й у центральному регіоні Росії. Плодоносні насадження вишні уражені ВКС на 37 %, ВНКП — 40 %, майже однакові показники поширення ВКС і ВНКП у черешні — 33 та 39 % відповідно. Інфікування комплексами цих двох патогенів виявили в 10 % перевіреного матеріалу [51].

Інфікованість цими патогенами маточних насаджень кісточкових культур у Чеській Республіці, якщо порівнювати з іншими європейськими країнами, має найнижчий рівень — 10,2 % ВКС і 1,8 % ВНКП, і лише 0,3 % становлять їхні комплексні ураження [299].

На противагу двом першим іларвірусам, частка рослинного матеріалу, інфікованого ВМЯ, становила: 5,2 % зразків черешні, 4,9 % — вишні, 7,4 % — підщепи. Повідомлень про ураження вишні та черешні ВМЯ у світі значно менше, якщо порівнювати з ВНКП і ВКС. Відомо, що в насадженнях цих культур в Алжирі рівень інфікування ВМЯ становить лише 2 % усіх перевірених дерев [274]. На півдні Італії повідомляли про цей вірус у насадженнях вишні [239], а в Йорданії — у насадженнях персика [63], проте відсоток інфікованого матеріалу там був незначний. У Латвії ВМЯ ідентифікували в насадженнях сливи, він становив близько 2 % [141].

Як бачимо, присутність іларвірусів у обстежених нами насадженнях свідчить про недотримання в господарствах агротехнічних вимог щодо догляду за маточниками. Оскільки основним способом поширення іларвірусів є перенесення з пилком, необхідно не допускати цвітіння маточних дерев.

Другою таксономічною групою вірусних патогенів, які інфікують вишню та черешню, є неповіруси (ВКПМ, ВМР, ВЧКТ, ВСЛЧ) (рис. 3.6).

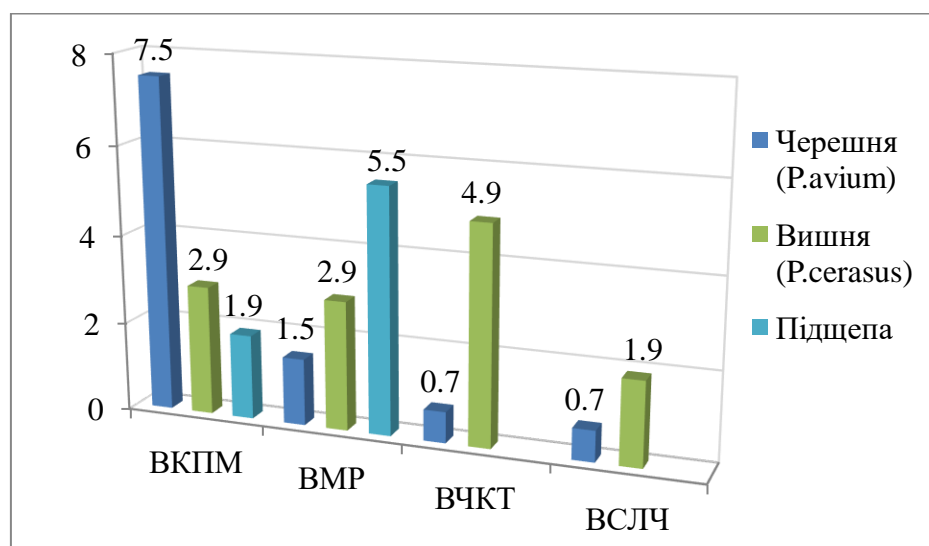


Рисунок 3.6 — Інфікованість зразків вишні, черешні та типів їхніх підщеп неповірусами, % (2018—2020 рр.)

Домінантним неповірусом виявився ВКПМ, присутність якого в матеріалі черешні становила 7,5 %, вишні — 2,9 %, а в матеріалі підщепи — 1,9 %. Також у досліджуваних культурах ідентифікували ВМР. Переважав цей

патоген у зразках підщепи (5,5 %), тоді як у матеріалі вишні та черешні він становив 2,9 і 1,5 % відповідно. Незважаючи на виявлення цих неповірусів у вишнево-черешневих насадженнях в Україні, у Європі повідомлення про ці віруси поодинокі.

Наявність ВЧКТ і ВСЛЧ зафіксували лише в матеріалі вишні та черешні, тестовані зразки підщепи були вільними від цих патогенів.

Рівень інфікованості ВЧКТ матеріалу вишні становив 4,9 %, а черешні — 0,7 %. Раніше цей патоген не ідентифікували в насадженнях черешні та вишні на території України, натомість його виявили в насадженнях малини та персика (29,6 і 3,8 % відповідно) [44, 49]. У Польщі цей патоген ідентифіковано на чорній бузині [266], а у Литві — на томатах (*Lycopersicon esculentum*), ревені (*Rheum rhabarbarum* L), суниці (*Fragaria vesca* L) [292]. Як бачимо, коло рослин-господарів цього вірусу досить широке, тому багато рослин можуть бути резервуарами для його накопичення, що, зі свого боку, збільшує ймовірність зараження основних рослин-господарів.

ВСЛЧ виявляли в 1,9 % зразків вишні та 0,7 % — черешні. Цей патоген досить поширений у вишнево-черешневих насадженнях в Україні. За попередніми даними, колекційні плантації черешні інфіковані ВСЛЧ на 21,63 %, а вишні — на 16,19 % [47]. У Росії вірус виявлений у насадженнях вишні, черешні та їхніх підщеп у 8,9—28,6 % зразків [51].

Інші вірусні патогени, знайдені в перевіреному матеріалі, належали до різних родин. Зокрема, сюди ввійшли вейкавірус ВЛКПС, триховірус ВХПЛЯ, томбусвірус ВЗМП та потівірус шарки сливи (рис. 3.7).

Серед цих патогенів найбільш поширеним виявився ВЛКПС. Він, як і попередні віруси, може передаватися за допомогою нематод. Оскільки останнім часом на території України переважають теплі зими, це може сприяти розмноженню потенційних векторів переносників і підвищенню ризиків зараження рослин вірусами за допомогою нематод. У нашому дослідженні рівень інфікованості матеріалу черешні та вишні був 9 та 5,8 % відповідно, тоді як у зразках підщепи він становив 3,7 %. Цей вірус

характеризується латентним перебігом захворювання й не призводить до серйозних збитків, проте на деяких сортах суниці він може знижувати урожайність [257, 277].

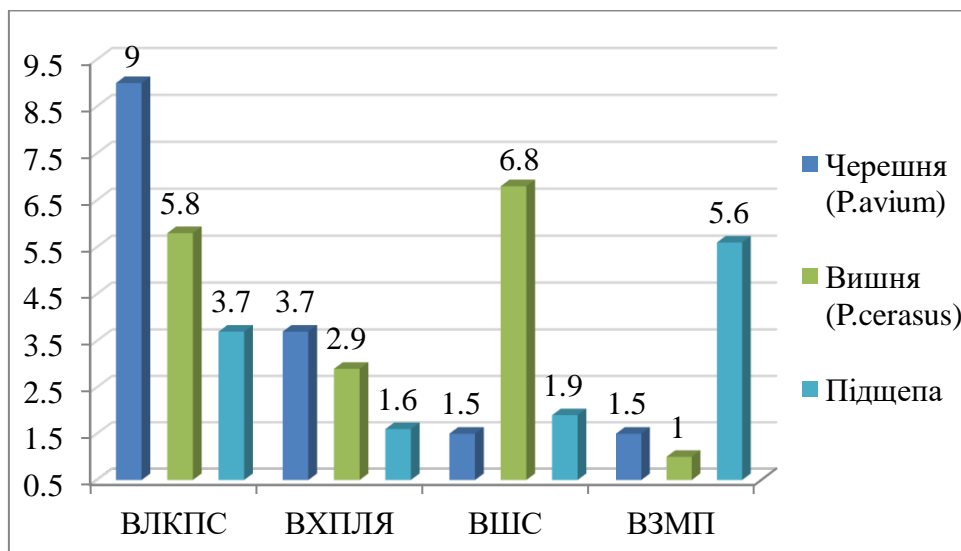


Рисунок 3.7 — Інфікованість зразків вишні, черешні та типів їхніх підщеп вірусами різних таксономічних груп, % (2018—2020 рр.)

Триховірус ВХПЛЯ є одним із найпоширеніших вірусів зерняткових, а також може завдавати серйозних збитків у насадженнях кісточкових та інших плодкових культур. Він характеризується космополітичним поширенням, хоча в Україні насадження вишні та черешні вважалися вільними від цього патогену. У вітчизняних маточних насадженнях черешні ми виявляли ВХПЛЯ в 3,7 % зразків, вишні — в 2,9 %, підщеп — в 1,6 %.

Дані нашого моніторингу значно менші, ніж отримані результати щодо плодоносних насаджень черешні в Іспанії, де інфікованість ВХПЛЯ сягала 16 % [259]. У Середземноморському регіоні показник інфікованості ВХПЛЯ вишні та черешні становив 14 % [239], у Боснії і Герцеговині в насадженнях кісточкових вірус присутній у 4 % протестованого матеріалу [225], такий само результат отримано під час тестування сортозразків черешні та вишні в Сербії [218]. Найменший рівень інфікованості вишні та черешні цим патогеном виявлено в Туреччині в провінції Іспарта — лише 1 % зразків [97]. Незважаючи на поширеність ВХПЛЯ, у насадженнях вишні в Алжирі цього

патогену не фіксували [274]. У вишневих насадженнях Палестини інфікованість ВХПЛЯ сягала 25 %, проте ВШС, ВЧКТ і ВСЛЧ там не виявляли [166].

Уперше нами на території України виявлено вірус зіркоподібної мозаїки петунії. Раніше про присутність цього патогену на плодових чи ягідних культурах не повідомляли, зокрема він вважався таким, що відсутній у насадженнях вишні та черешні. ВЗМП здатний спричиняти пухирчастий рак і завдавати серйозних збитків насадженням плодових культур.

Найвищий відсоток інфікованого матеріалу спостерігали у зразках підщепи — 5,6 %, у черешні й вишні — 1,5 і 1 % відповідно. Загалом про цей вірус у насадженнях черешні повідомляли в Канаді, Чеській Республіці, Німеччині, Швейцарії, Латвії [141, 181], проте немає моніторингових даних про його рівень присутності в насадженнях. У Латвії ВЗМП виявили на сливі сортів Кубанська комета і Скороплідна. Тут він траплявся в комплексних інфекціях разом із ВМР, ВЧКТ і ВЛКПС [141].

Особливу увагу слід звернути на потівірус шарки сливи, присутність якого в дослідженому нами матеріалі становила від 1,5 до 6,8 %. ВШС є одним із найнебезпечніших патогенів кісточкових, зокрема сливи, аличі, персика. За допомогою специфічного вектора — попелиць, вірус може з легкістю переноситися з однієї культури на іншу. Тому своєчасно проводити профілактичні й планові тестування та видаляти хворі дерева важливо для всіх кісточкових культур.

ВШС досить поширений у колекційних насадженнях вишні та черешні в Боснії і Герцеговині (47 %) [225], натомість у садах такого само типу в Сербії та провінції Іспарта патогену немає [97, 218].

У наших дослідженнях ми виявляли також комплексні інфікування (табл. 3.1). У матеріалі черешні зафіксовано 11 різних комбінацій двох і більше вірусних патогенів, у вишні — 10, а у підщепи — три. Загалом частка зразків одночасно інфікованих щонайменше двома збудниками становила по 9,7 % черешні і вишні та 7,4 % у зразках підщепи.

Таблиця 3.1 — Рівень інфікованості маточних насаджень вишні, черешні та типів їхніх підщеп комплексними інфекціями, % (2018—2020 рр.)

Культура	Комплексні інфекції від загальної кількості протестованого матеріалу, %	
	Черешня (<i>Prunus avium</i>)	ВНКП + ВЛКПС
ВНКП + ВМЯ		
ВСЛЧ + ВКПМ		0,7
ВМЯ + ВЛКПС + ВКПМ		
ВНКП + ВКС		
ВНКП + ВКС + ВЛКПС		
ВКС + ВНКП + ВМЯ + ВКПМ + ВЛКПС		
ВНКП + ВЛКПС		
ВКПМ + ВХПЛЯ		
ВХПЛЯ + ВШС + ВНКП + ВМЯ		
ВМР + ВКПМ		
Вишня (<i>Prunus cerasus</i>)	ВНКП + ВКС	
	ВЧКТ + ВМЯ + ВЛКПС + ВМР + ВКПМ	
	ВЧКТ + ВМЯ + ВЛКПС	
	ВШС + ВМЯ + ВЛКПС	
	ВШС + ВМЯ + ВМР + ВКПМ	
	ВШС + ВЧКТ + ВЛКПС + ВМР + ВКПМ	
	ВНКП + ВХПЛЯ	
	ВНКП + ВЧКТ	
	ВШС + ВЛКПС	
	ВНКП+ВЛКПС+ВСЛЧ	
Тип підщеп	ВМЯ + ВНКП + ВЛКПС + ВЗМП + ВМР	3,7
	ВХПЛЯ + ВШС	1,9
	ВМЯ + ВНКП + ВЗМП + ВМР + ВКС + ВКПМ	

Найчастіше в комплексному інфікуванні зустрічалися ВНКП+ВЛКПС та ВНКП+ВМЯ. Тестування матеріалу вишні та персика в Лівані також показало високий рівень присутності ВНКП у сполученні з іншими патогенами. Загалом, 19,4 % тестованого матеріалу виявилось з різними вірусними комбінуваннями: ВНКП + ВХПЛЯ, ВНКП + ВКС, ВКС + ВХПЛЯ [101]. Коінфікування ВНКП і ВКС зустрічалось на мигдалі в Південній Болгарії — 7,14 %, проте матеріал вишні виявився вільний від комплексу цих патогенів [234]. У насадженнях черешні в Іспанії переважала комбінація з ВКС + ВХПЛЯ — 12 %, менше інфікованого матеріалу виявлено з ВКС + ВНКП (10 %). Інфікування ВКС + ВХПЛЯ + ВНКП зустрічалось лише

у 2 % зразків, тоді як найменше фіксували таких комбінацій, як ВНКП + ВХПЛЯ — 1 % [259].

Як бачимо, комбінації при коінфікуванні можуть бути дуже різноманітними навіть за умови різних способів поширення — збільшення вірусного навантаження на рослину може підвищувати негативний вплив на рослину-господаря. У нашому випадку зустрічалося інфікування кількома патогенами, які належать до однієї родини. Проте деякі дослідження вказують на те, що близькоспоріднені віруси часто просторово ізольовані один від одного [305, 306]. Така здатність патогенів забезпечує їхнє існування й унеможливорює рекомбінації [123].

3.3. Інфікованість сортів вишні, черешні та типів їхніх підщеп

Загалом у нашому дослідженні перевірено 16 сортів черешні, 13 сортів вишні та 4 типи підщеп. Найвищий рівень інфікування фіксували на сортах черешні Донецький угольок (45,5 %) і Валерій Чкалов (42,6 %) (табл. 3.2).

Сорт Валерій Чкалов зареєстрований ще 1954 року і призначений для універсального використання. Також він рекомендований для вирощування у трьох зонах України (Степ, Лісостеп і Полісся) [13]. Саме через свої характеристики й високі смакові якості цей сорт дуже популярний серед населення, тому його розмноження часто могло бути неконтрольованим і без урахування санітарних вимог, що на сьогоднішній день призвело до такого рівня інфікування.

Донецький угольок і Донецька красавиця є сортами селекції Бахмутської дослідної станції розсадництва [13], 23 % досліджених зразків були інфіковані різними вірусами. Загалом можемо сказати, що Донецька область виявилася ареалом найбільшої локалізації патогенів (додаток А).

Сорти Китаївська чорна, Талісман і Ніжність інфіковані на 33,3 %. Перші два сорти відбирали на території Київської області, тоді як сортозразки Талісману походили із Запорізької та Харківської областей. На сьогодні ці

сорта внесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, а отже, потребують ретельнішого моніторингу на відсутність патогенів. Попри високу інфікованість перевірених сортів, зразки черешні Мелітопольська чорна виявилися вільними від патогенів.

Таблиця 3.2 — Інфікованість найпоширеніших сортів вишні, черешні та типів їхніх підщеп (2018—2020 рр.)

Культура	Сорт	Рівень інфікованості, %
Черешня (<i>Prunus avium</i>)	Бігарро Бурлат	23,5
	Валерій Чкалов	42,6
	Донецька красавиця	23
	Донецький угольок	45,5
	Китаївська чорна	33,3
	Крупноплідна	28,6
	Мелітопольська чорна	-
	Ніжність	29,4
	Талісман	37,5
	Вишня (<i>Prunus cerasus</i>)	Богуславка
Встреча		7,1
Ксенія		29
Шалунья		42,9
Тип підщеп	Вишня магалебська	33,3
	ВСЛ-2	4,2
	Колт	-

У всіх перевірених сортів вишні виявляли інфіковані зразки. Найвищі рівні інфікованості фіксували на сортах Шалунья — 42,9 %, Богуславка — 33,3 %, Ксенія — 29 %. У сортозразках Шалуньї ідентифікували чотири патогени, у Богуславки — три, тоді як у Ксенії — лише ВНКП. Усі ці сорти внесені до Державного реєстру сортів рослин і рекомендовані до вирощування в різних зонах плодівництва в Україні.

У зразках підщепи Колт патогенів не виявили, інфікованість вишні магалебської становила 33,3 %, тоді як ВСЛ-2 — лише 4,2 %. Варто зауважити, що лише у зразках вишні магалебської ідентифікували ВЗМП. Здатність цього патогену до трансмісії за допомогою насіння достовірно не підтверджена, але частки цього вірусу виділяли з насіння рослин вишні та

черешні [263]. Оскільки цей вид підщепи розмножують саме насінням, можливо, це і стало основним джерелом інфікування.

Тестовані нами підщепи популярні не лише в Україні, а й широко використовуються в насадженнях вишні та черешні у Європі [8, 110, 165, 216], тому варто приділити більше уваги їхньому фітовірусологічному стану.

Незважаючи на високу інфікованість сортів досліджуваних культур, нам усе-таки вдалося виділити чисті рослини-кандидати в материнські рослини (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 — Колекція вільних від вірусів клонів сортів вишні, черешні та типів їхніх підщеп (2018—2020 рр.)

Культура	Сорт
Черешня (<i>Prunus avium</i>)	Анонс, Бігарро Бурлат, Валерій Чкалов, Донецька красавиця, Донецький угольок, Китаївська чорна, Крупноплідна, Мелітопольська чорна, Міраж, Ніжність, Регіна, Сказка, Талісман, Удівительна
Вишня (<i>Prunus cerasus</i>)	Альфа, Аннушка, Богуславка, Василіса, Відродження, Встреча, Ксенія, Любава, Солідарність, Тургенівка, Шалунья
Тип підщеп	Вишня магалебська, вишня Студениківська, ВСЛ-2, Колт

Загалом нами виділено 95 рослин черешні, 67 — вишні, 47 підщеп для подальшого розмноження й закладання промислових насаджень.

Оскільки віруси досліджуваних культур передаються різними способами — за допомогою пилку, насіння, векторів-переносників та механічно, слід ретельно дотримуватися фітосанітарних заходів під час розмноження садивного матеріалу й утримання насаджень, а також вчасно видаляти хворі рослини, які можуть стати джерелом поширення патогенів.

3.4. Визначення оптимальних термінів для проведення діагностики ВКС і ВНКП

З часів виявлення ВКС і ВНКП розроблено низку методик, які дають змогу надійно виявляти ці вірусні інфекції в рослинному матеріалі. Усі ці

методи відрізняються за чутливістю й використовуються для різних цілей, але найкращим варіантом для проведення діагностики великої кількості рослинного матеріалу залишається саме ІФА.

Однак виявлення вірусів цим методом може давати помилкові результати, наприклад, у разі зниження вірусних титрів у рослині в період спокою або під час підвищеного температурного режиму повітря [160]. Тому нами було вирішено визначити оптимальні терміни проведення діагностики методом ІФА протягом календарного року з використанням різних частин рослини як досліджуваного матеріалу.

Листки є найбільш поширеним матеріалом для тестування на наявність вірусів, оскільки вони доступні протягом тривалого періоду, а також легко піддаються гомогенізації. В умовах Правобережної частини Західного Лісостепу (Київська область) вегетація рослин вишні починається в другій декаді квітня, тому дослідження починали проводити в цей період.

Під час порівняння рівнів абсорбції (A_{405}) ВКС у 2019—2020 рр. відзначено, що 2019 року показники були більш стабільними. Найвищий рівень A_{405} у 2019 році спостерігали у квітні ($1,015 \pm 0,03$) (рис. 3.8).

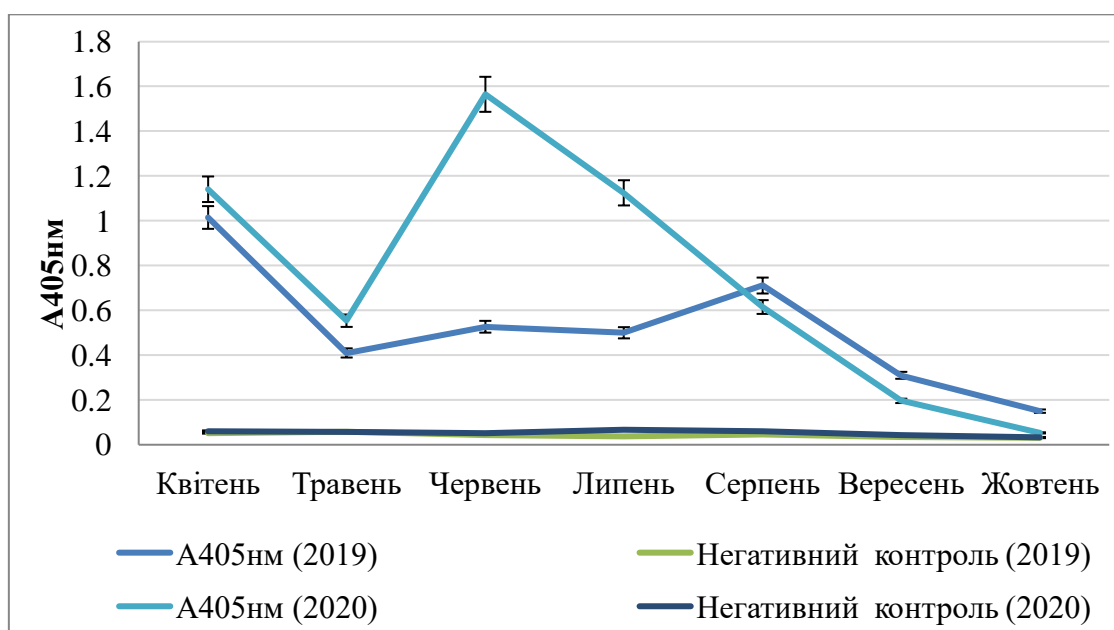


Рисунок 3.8 — Середній показник рівня абсорбції (A_{405} нм) ВКС у зразках листків (2019—2020 рр.)

Незважаючи на підвищення температури в червні $23 \pm 0,07$ °C (рис. 3.9), показники A_{405} нм залишалися в цьому місяці досить високими — $0,527 \pm 0,1$, подальше зростання концентрації реєстрували в серпні — $0,711 \pm 0,03$. У наступних місяцях показники A_{405} нм знижувалися, але перевищували негативний контроль у понад 2,5 раза, що давало нам змогу вважати результати позитивними.

2020 року рівень абсорбції був дещо вищим. Найбільший показник відмічали у квітні ($1,141 \pm 0,01$) та червні ($1,565 \pm 0,2$). Варто зазначити, що A_{405} нм, який фіксували у червні, став найвищим за роки проведення досліджень. Це, можливо, пов'язано з помірною середньодобовою температурою протягом кількох тижнів до відбору зразків ($16,9 \pm 0,2$) та активним ростом дерева, що сприяє реплікації вірусу.

Далі показники поступово знижувалися. У жовтні A_{405} нм перевищував негативний контроль лише в 1,6 раза, що не дав змоги вважати отриманий результат позитивним.

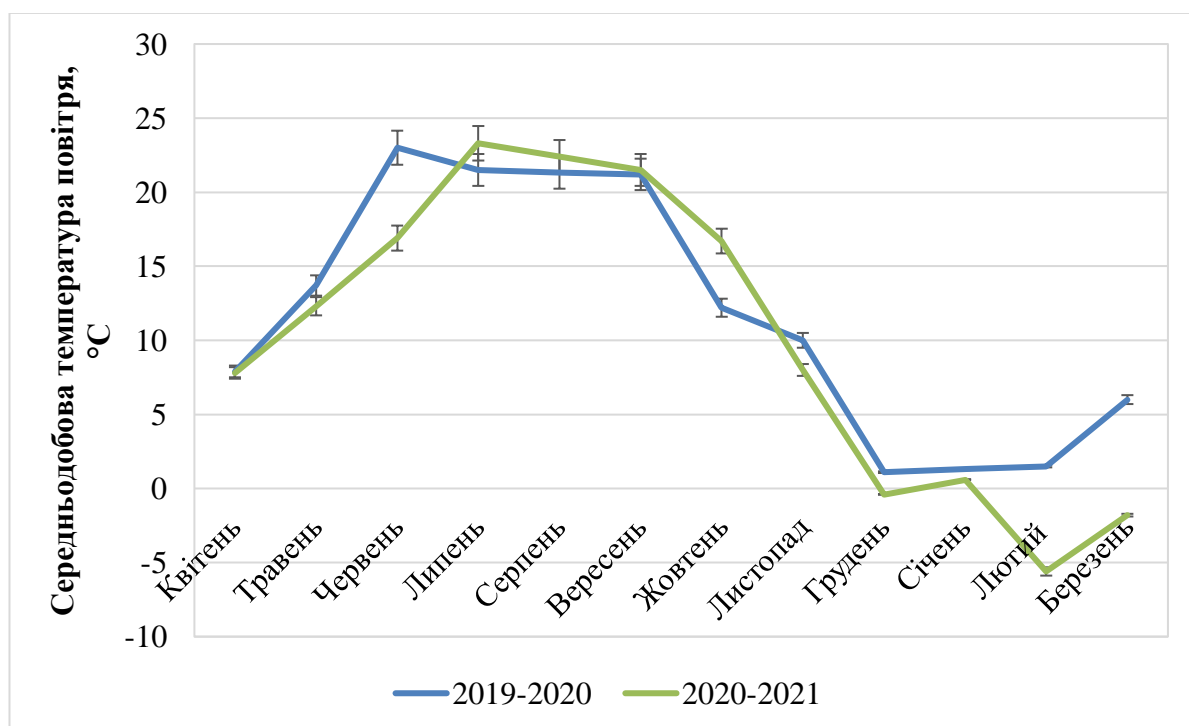


Рисунок 3.9 — Середньодобова температура повітря за 30 днів до відбору зразків (2019—2020 рр.)

Середній показник абсорбції за два роки у зразках квіток становив $1,332 \pm 0,04$. Цей матеріал давав високі результати й легко піддавався гомогенізації, але він доступний лише короткий відтинок часу, тому його тестування обмежене. У червні для діагностики додатково брали плоди, середній рівень A_{405} нм за два роки становив $0,133 \pm 0,04$ і перевищував негативний контроль у 2,7 раза. Цей показник давав нам змогу вважати зразок позитивним, але титр вірусу перебував на межі чутливості тестового набору.

Від вересня, окрім листків, тестували камбіальні тканини (рис. 3.10). Загалом, можемо сказати, що за роки проведення досліджень ми отримували високі показники рівня абсорбції, які перевищували негативний контроль у декілька разів, що давало змогу достовірно оцінити фітовірусологічний стан рослин. Винятком стало тестування у жовтні, коли рівень абсорбції знизився і дорівнював лише $0,080 \pm 0,05$ (2019 рік) та $0,088 \pm 0,002$ (2020 рік), що перевищувало негативний контроль у 2,2 раза. Проте вже в листопаді та грудні ситуація змінилася, і титри вірусу в рослині почали зростати.

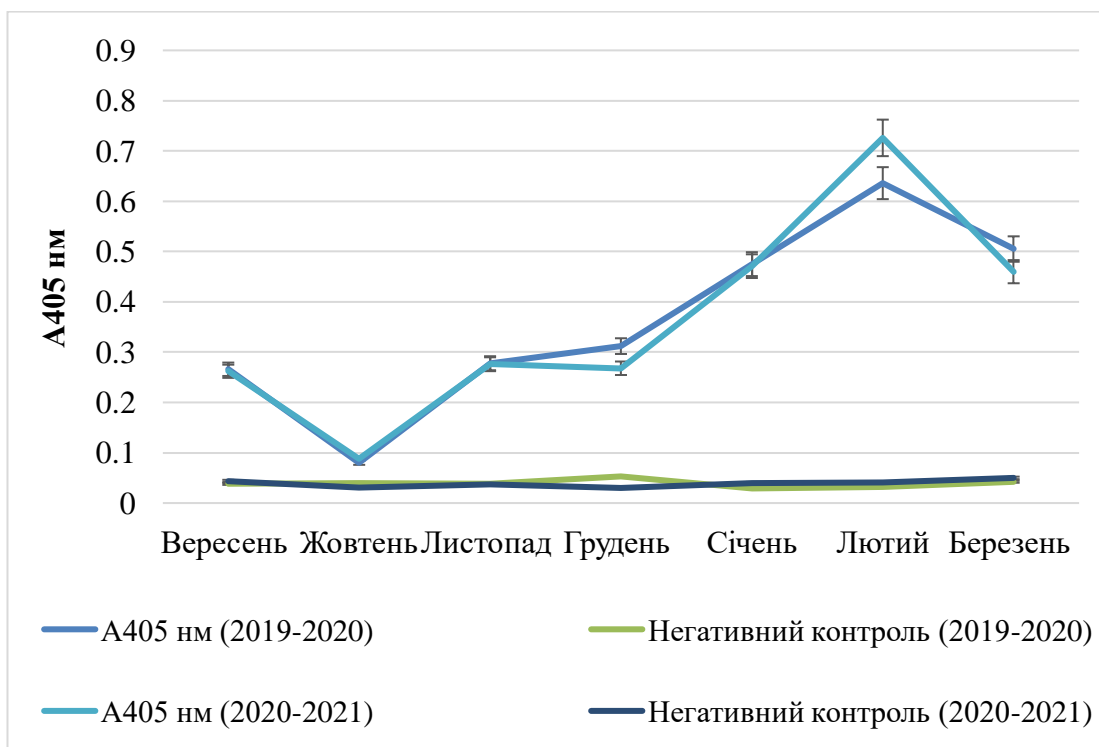


Рисунок 3.10 — Середній показник рівня абсорбції (A_{405} нм) ВКС у камбіальних тканинах (2019—2021 рр.)

Від листопада до березня перевіряли вірусні титри в матеріалі бруньок. Матеріал добре піддавався гомогенізації та давав стабільно високі показники протягом усього періоду тестування (рис. 3.11). Окрім показників, отриманих у грудні 2020 року, коли $A_{405 \text{ нм}}$ був майже на рівні з негативним контролем і становив $0,053 \pm 0,001$.

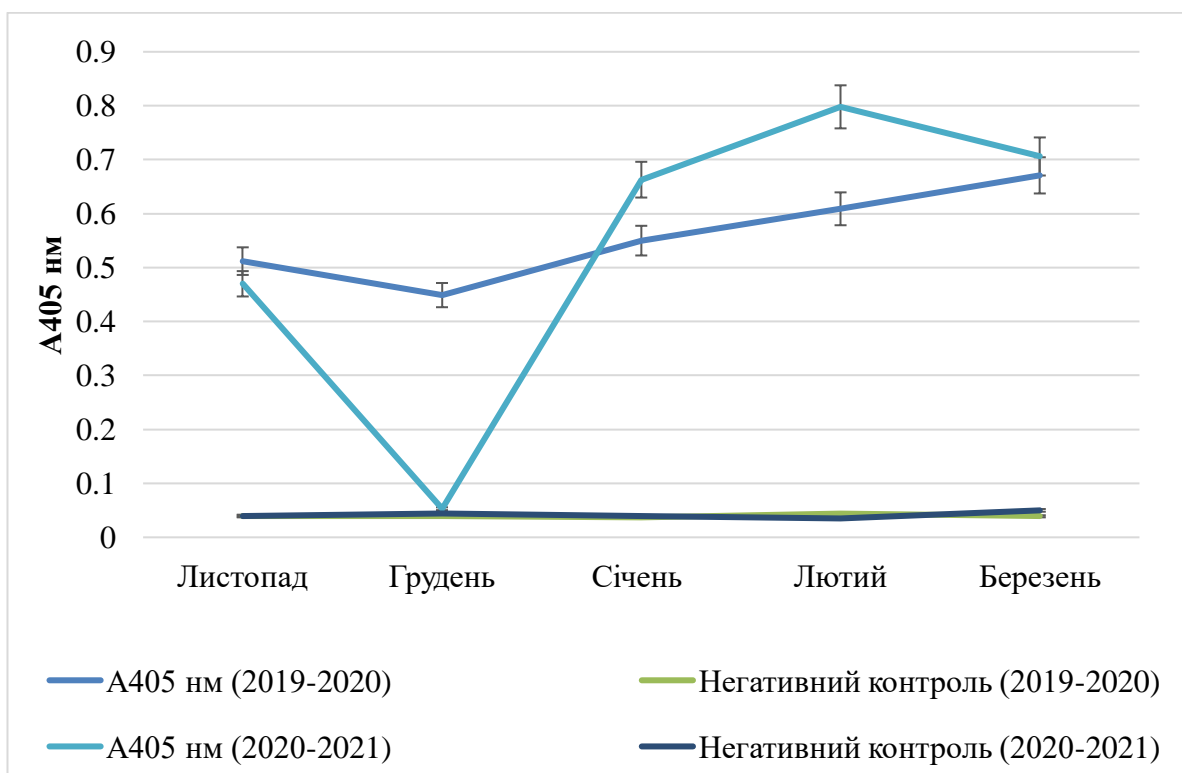


Рисунок 3.11 — Середній показник рівня абсорбції ($A_{405 \text{ нм}}$) ВКС у тканинах генеративних бруньок (2019 – 2021 рр.)

Отримані результати рівня абсорбції ВНКП у 2019–2020 рр. сильно різнилися в роки проведення досліджень (рис. 3.12). На початку вегетації показники $A_{405 \text{ нм}}$ були досить високими й перевищували негативний контроль у 39—46 разів. У перший рік дослідження високі титри фіксували протягом усього весняно-літнього періоду з несуттєвим їх зниженням ближче до осені. У вересні та жовтні $A_{405 \text{ нм}}$ дорівнював $0,505 \pm 0,07$ і $0,267 \pm 0,01$ відповідно. Осінні результати перевищували негативний зразок у понад 2,5 рази, що вважалося позитивним результатом.

У 2020 році спостерігали кілька підвищень показників A_{405} . У 2020 р. найвищий рівень абсорбції був зафіксований у квітні — $2,613 \pm 0,03$, і травні — $1,104 \pm 0,08$. У червні відбулося значне зниження титру вірусу в листках, але цей матеріал був ще придатний для серологічного тестування й успішного виявлення інфікованих і здорових рослин.

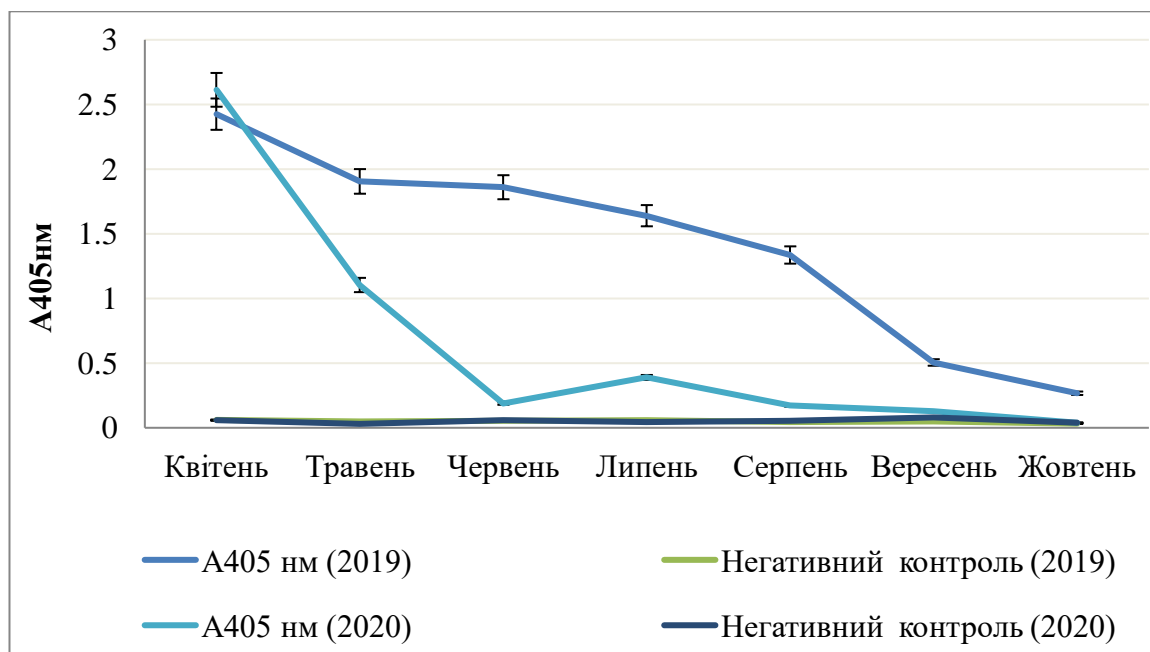


Рисунок 3.12 — Середній показник рівня абсорбції (A_{405} нм) ВНКП у зразках листків (2019—2020 рр.)

В осінні місяці показник A_{405} нм інфікованих зразків листків перевищував негативний контроль лише в 1,6 раза у вересні та був однаковим із ним у жовтні. Варто відзначити, що 2020 року відбулося загальне зниження концентрації ВНКП в інфікованих рослинах, що може свідчити про задіяння механізмів захисту рослин від вірусів і перехід хвороби у хронічну форму [9, 157].

Додатково тестували квітки, плоди й камбіальні тканини. Показники A_{405} нм, які фіксували в матеріалі квіток, давали досить високий результат і в середньому за два роки становили $2,239 \pm 0,1$. На відміну від попереднього матеріалу, плоди виявилися непридатними для виявлення інфікованих рослин.

Середній показник $A_{405 \text{ нм}}$ у плодах за два роки становив $0,067 \pm 0,009$, що не перевищувало негативний контроль у 2,5 рази.

Тестування камбіальних тканин у жовтні дало хибно негативні результати (рис. 3.13), натомість уже в листопаді спостерігали підвищення титру вірусу, що дало змогу отримати достовірні значення $A_{405 \text{ нм}}$.

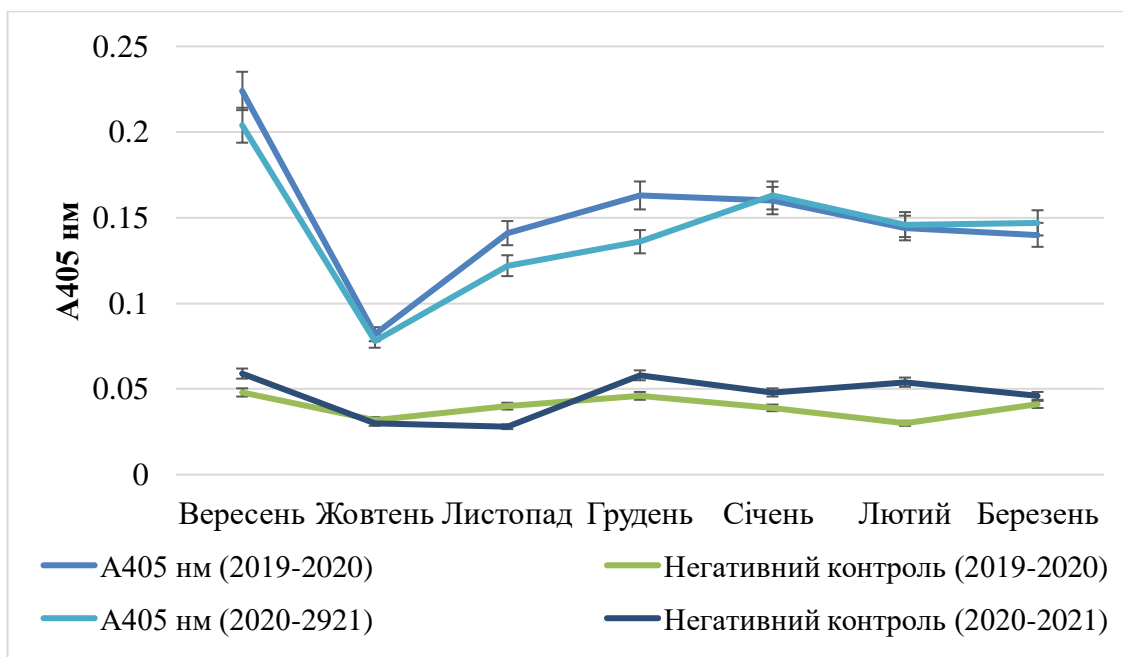


Рисунок 3.13 — Середній показник рівня абсорбції ($A_{405 \text{ нм}}$) ВНКП у камбіальних тканинах (2019—2021 рр.)

Зважаючи на попередні результати, ми не рекомендуємо проводити діагностику ВНКП і ВКС у зразках вишні в середині осені, використовуючи за таких умов камбії.

Під час тестування бруньок виявлено, що такий матеріал є цілком придатним для тестування вірусу НКП у холодну пору року (рис. 3.14), адже з його використанням ми отримували достовірні результати. Максимальний показник $A_{405 \text{ нм}}$ фіксували в березні 2021 року ($2,343 \pm 0,1$), що перевищувало негативний контроль у 44 рази, а мінімальний — у січні цього ж року ($0,310 \pm 0,04$), що цілком відображає фітовірусологічний статус досліджуваного дерева.

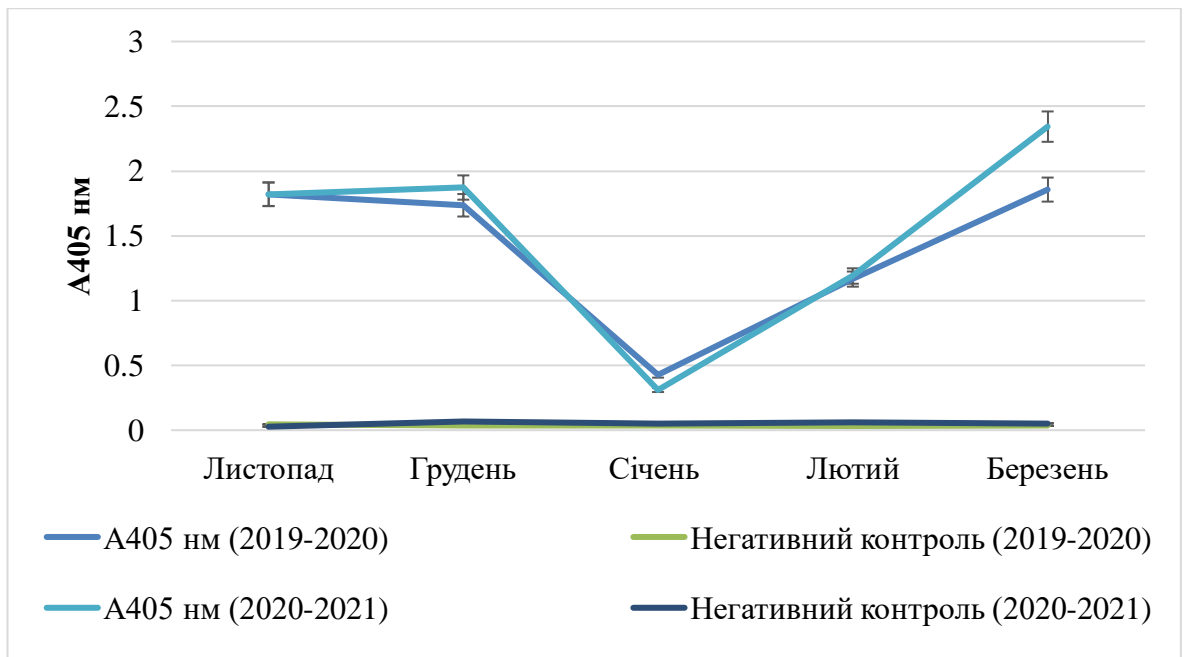


Рисунок 3.14 — Середній показник рівня абсорбції (A405 нм) ВНКП у тканинах генеративних бруньок (2019 – 2021 рр.)

Подібні дослідження проводили Свобода і Полак [302] для вивчення зміни титру вірусу мозаїки яблуні (ВМЯ) й отримали такі ж результати. Автори пояснюють, що отримані навесні високі титри ВМЯ пов’язані з тим, що реплікація вірусу найкраще відбувається в прохолодну пору року [302]. Інші науковці вказують, що сприятливим часом для реплікації вірусів є період, коли температура повітря перебуває в межах 15—30 °С, та в період активного росту рослини [157, 285, 317].

У наших дослідженнях отримали аналогічні результати, адже найвищі показники A₄₀₅ нм ми фіксували навесні, хоча для клімату Київської області літній і зимовий періоди виявилися також цілком сприятливими для тестування за умови правильного вибору матеріалу. Ми простежували, що чутливість і достовірність виявлення обох вірусів знижувалася у вересні та жовтні, що може бути пов’язано із зупинкою ростових процесів.

Використання плодів як матеріалу для тестування на наявність ВКС і ВНКП також не є оптимальним варіантом. Наші висновки співпадають із результатами, отриманими під час тестування матеріалу бруньок, листків, квіток, камбію і плодів рослин мигдалю, персика та сливи, що росли на півдні

Йорданії. Проте під час тестування плодів останньої культури не отримали позитивного результату [281]. Водночас при тестуванні важливо враховувати сортові особливості, оскільки наявна інформація, що величина показника A_{405} нм може змінюватися залежно від сорту [341].

Наші дослідження дали змогу визначити оптимальні строки для проведення серологічної діагностики ВНКП і ВКС в умовах Західного Лісостепу України. За таких умов температурний режим повітря відіграє важливу роль, адже відомо, що підвищення температури не сприяє накопиченню патогенів у рослині. Найбільш високі результати отримували у квітні — травні, використовуючи молоді листки або квітки.

У період спокою рослини також може виникнути потреба тестування зразків, наприклад, під час імпортування садивного матеріалу. Тому допустимим є використання камбіальних тканин і бруньок протягом цього часу, окрім середини осені, оскільки є велика ймовірність отримання хибно негативного результату. Плоди виявилися ненадійним джерелом для тестування, якщо порівнювати з листками, тому використовувати їх недопустимо.

Беручи до уваги наведені нами результати, можна значно розширити строки тестування рослинного матеріалу.

Висновки до 3-го розділу

1. Встановлено, що візуальний метод діагностики вірусних захворювань недостатньо інформативний для достовірного визначення вірусологічного статусу рослин вишні та черешні.

2. За допомогою серологічної діагностики виявлено, що інфікованість рослинного матеріалу з маточних насаджень становить 33 % у вишні, 30,6 % — черешні, 13 % — підщепи.

3. Показано, що на території України поширено 11 вірусних патогенів, здатних інфікувати вишню, черешню та їхні підщепи. Окремі з них у матеріалі досліджуваних культур виявлено вперше (ВЗМП, ВЧКТ, ВХПЛЯ).

4. Виявлено, що ВНКП присутній у 14 % вишні та 10,4 % черешні, що свідчить про найбільшу поширеність цього патогену. Зафіксовано, що ВЗМП, який вважався таким, якого немає на території України, присутній у 5,6 % зразків підщеп, 1,5 % черешні та 1 % вишні.

5. Виявлено, що комплексне інфікування присутнє в усіх досліджуваних культурах — від 5,5 до 9,7 % зразків.

6. Найвищий рівень інфікованості виявився у сортів Донецький угольок (45,5 %), Валерій Чкалов (42,6 %), Шалунья (42,9 %) та у зразків підщепи вишня магалебська (33,3 %).

7. Виділено чисті клони 14 сортів черешні, 13 — вишні, 4 типи підщеп для подальшої перевірки методом ЗТ-ПЛР і закладання промислових насаджень.

8. Визначено оптимальні строки проведення й частини рослин для серологічної діагностики матеріалу вишні на наявність ВНКП і ВКС в умовах Правобережної частини Західного Лісостепу.

Публікації до 3-го розділу

1. **Павлюк Л. В.**, Ряба І. А., Удовиченко К. М., Тряпціна Н. В., Бублик М. О. Фітовірусологічний стан маточних насаджень вишні та черешні в Україні. *Вісник аграрної науки*. 2019. № 7 (796). С. 20—26. DOI: <https://doi.org/20.31073/agrovisnyk201907-3>

2. **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Determining the optimal season for detection of prune dwarf virus and prunus necrotic ringspot virus in sour cherry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2020. № 4. P. 94—100. DOI: <https://doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2020.2585-8246.094-100>

3. **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *Agronomy Research*. 2021. № 19. DOI: <https://doi.org/10.15159/ar.20.238>

4. ФІЛОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДІЛЕНИХ ІЗОЛЯТІВ

Однією з важливих ознак вірусів із невеликими геномами, характерними для більшості рослинних вірусів, є їхня висока здатність генерувати генетичне різноманіття, а отже, швидко еволюціонувати [156]. Швидкі темпи еволюції рослинних вірусів пов'язані з високим коефіцієнтом мутацій вірусного геному, великою чисельністю популяції та коротким часом існування одного покоління.

Поряд з мутаціями важливим фактором утворення нових ізолятів і штамів є рекомбінації, що відіграють важливу роль у підтримці генетичного різноманіття в популяціях вірусів рослин [247]. Саме завдяки рекомбінаційним здатностям геному ВШС на сьогодні налічує дев'ять штамів, принаймні три з них — PPV-C, PPV-CR і PPV-CV — можуть інфікувати вишню і черешню [99]. ВНКП також відзначається наявністю трьох штамів: PV-96, PV-32 і PE-5, які відрізняються за своїми патогенними властивостями [249].

До цього часу в Україні велися лише моніторингові дослідження за допомогою серологічних методів на поширення ВКС і ВНКП. Молекулярні характеристики ізолятів цих патогенів не вивчалися. Тому актуальним є вивчення ізолятів вірусів, що циркулюють на території України.

За результатами ІФА обрали інфіковані рослини для подальшого дослідження методом ЗТ-ПЛР (рис. 4.1). Для вивчення молекулярно-генетичних характеристик локальних ізолятів вірусів обрали зразки вишні, черешні та підщепи вишня магалебська, з різних областей України. У Київській області виділено ізолят PNRV 4-1 (вишня Ксенія) та ізолят PDV 1-67 (вишня Богуславка), водночас із зразків, які походили із Запорізької області, виділили чотири ізоляти — PDV 16-15 і PNRV 16-15 (черешня Ніжність), Маhaleb 1, Маhaleb 2 (вишня магалебська, інфікована ВШС).

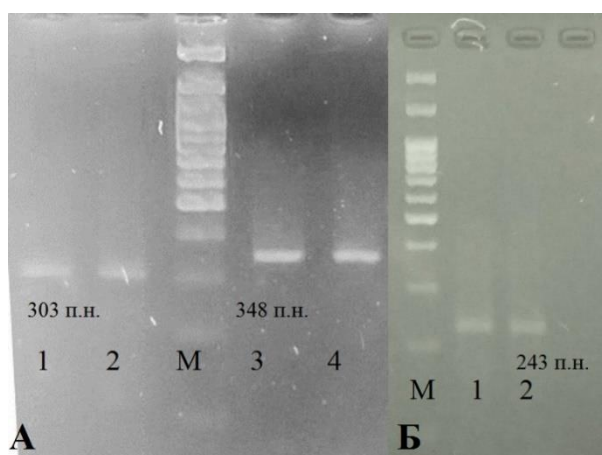


Рисунок 4.1 — Електрофореграма отриманих продуктів ампліфікації (А: 1 — ВКС (Ніжність), 2 — ВКС (Богуславка), 3 — ВНКП (Ніжність), 4 — ВНКП (Ксенія); Б: 1 — ВШС (вишня магалебська, зр. № 1), 2 — ВШС (вишня магалебська, зр. № 2); М — маркер молекулярної маси SibEnzyme 100 по).

Після проведення ЗТ-ПЛР і розділення продуктів ампліфікації в агарозному гелі ми підтвердили інфікування обраних рослин вірусними патогенами та провели сиквенування виділених ізолятів.

4.1. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу некротичної кільцевої плямистості кісточкових

Залежно від групи ізоляти ВНКП можуть відрізнятися за своїм впливом на рослину. Для ізолятів, що належать до групи PV-96, притаманний безсимптомний перебіг інфікування, тоді як ізоляти PV-32 здатні індукувати помітні прояви хвороби, PE-5 може викликати як легкі, так і виражені симптоми. Проте інформація про патогенність ізолятів обмежена, тому не завжди є кореляція між груповою належністю вірусу й симптомами [149].

Отримані нами сиквенси ізолятів депонували до Генбанку з присвоєнням відповідних номерів: ізолят, виділений із сорту вишні Ксенія, — MT828889 (PNRV 4-1), ізолят із сорту черешні Ніжність — MT892676 (PNRV 16-15). За результатами аналізу нуклеотидної послідовності виділені нами

ізоляти належать до двох різних груп: PNRV 4-1 увійшов до групи PV-96, а ізолят PNRV 16-15 — до PV-32.

Сиквеновані фрагменти гена покривного білка ВНКП після його вирівнювання становили 295 нуклеотидів, які займають положення в діапазоні від 1601 до 1895 у РНК3. Ця ділянка містить кодуєчу частину від 1601 до 1777 нт і становить 177 нт, решта досліджуваного фрагмента є некодуєчою частиною. Варто зазначити, що наявність некодуєчої послідовності не впливала на філогенетичне групування ізолятів. Сиквенована ділянка геному ізолятів PNRV 4-1 і PNRV 16-15, яка є С-термінальним кінцем гена СР, надзвичайно консервативна, оскільки містить димеризаційну ділянку положенні 1694—1744 нт (198—215 амінокислот) [69].

Ідентичність між нуклеотидними послідовностями всього досліджуваного фрагмента ізолятів PNRV 4-1 та PNRV 16-15 становила 97,9 %, на амінокислотному рівні — 100 %. Більш варіабельною виявилася некодуєча ділянка — 95,5 %. Ідентичність між кодуєчими фрагментами становила 98,7 %. Різниця в 1,3 % між вітчизняними ізолятами викликана двома нуклеотидними замінами Т/С, які відбулися в позиціях 1642 і 1714 нт (рис. 4.2).

```
PNRV_4-1      1601 GATTTAGATTTGACACTTTTGC GCGTACGCATCGTGTGCGTTATCGAATTCAAGACCGAA 1660
PNRV_16-15    GATTTAGATTTGACACTTTTGC GCGTACGCATCGTGTGCGTCATCGAATTCAAGACCGAA
                *****

PNRV_4-1      1661 GTGCCCCTGGGGCCAAGGTCTTGTTAGGGATTTGTACGTAGTGGTAAGTGATTTACCA 1720
PNRV_16-15    GTGCCCCTGGGGCCAAGGTCTTGTTAGGGATTTGTACGTAGTGGTAAGTGACTTACCA
                *****

PNRV_4-1      1721 CGAGTGCAAATTCGACTGATGTCTTGCTGGTCGATGAAGACCTGCTTGAGATCTAG 1777
PNRV_16-15    CGAGTGCAAATTCGACTGATGTCTTGCTGGTCGATGAAGACCTGCTTGAGATCTAG
                *****
```

Рисунок 4.2 — Вирівнювання нуклеотидних послідовностей фрагментів гена покривного білка українських ізолятів вірусу некротичної кільцевої плямистості

Під час побудови філодендрограми сформувалося три основні кластери. Перший кластер (рис. 4.3) складався з 12 ізолятів, що є представниками PV-96, включно з PNRV 4-1. Його ідентичність з іншими ізолятами цієї самої групи коливалася від 100 до 99,3 % на нуклеотидному рівні. Найбільш подібними виявилися AJ133205.1 (персик, Італія), AJ133208.1 (нектарин, Іспанія), JQ005044.1 і JQ005057.1 (черешня і персик, Канада), MH730938.1 (персик, Китай). Розмах варіювання в межах цієї групи становив 99,7—99,3 %. Це свідчить про нуклеотидні заміни, які відбулися всередині групи.

Вітчизняний ізолят PNRV 16-15 за молекулярними характеристиками належить до групи PV-32. Крім PNRV 16-15, сюди ввійшли 10 відомих ізолятів із Генного банку. З цієї групи найбільш подібними виявилися AJ133213.1 (слива, Італія), MF069040.1 (черешня, Чеська Республіка), AY948440.1 (троянда, Індія), KX650619.1 (черешня, Китай). Подібність представників цієї групи з PNRV 16-15 становила 99,6—98,6 %.

Під час порівняння послідовностей ізолятів ми виявили заміни нуклеотидів як усередині груп, так і між ними. Загалом встановлено 13 нуклеотидних замін. Ці заміни були синонімічними та не впливали на амінокислотну послідовність. Усі ізоляти, що входили до груп PV-96 і PV-32, на 100 % ідентичні на амінокислотному рівні.

Окремо виділилася група PE-5. Їх ізоляти характеризувалися низькою подібністю з PV-групами. Ідентичність вітчизняних ізолятів, за нуклеотидними послідовностями, із представниками PE-5 становила 90,3—91,5 % із PNRV 4-1 і 89,8—90,7 % із PNRV 16-15.

Аналіз показав, що групування ізолятів не залежить від географічного походження й рослини-господаря, що підтверджує висновки, зроблені в попередніх дослідженнях іншими науковцями [68, 69, 280, 287].

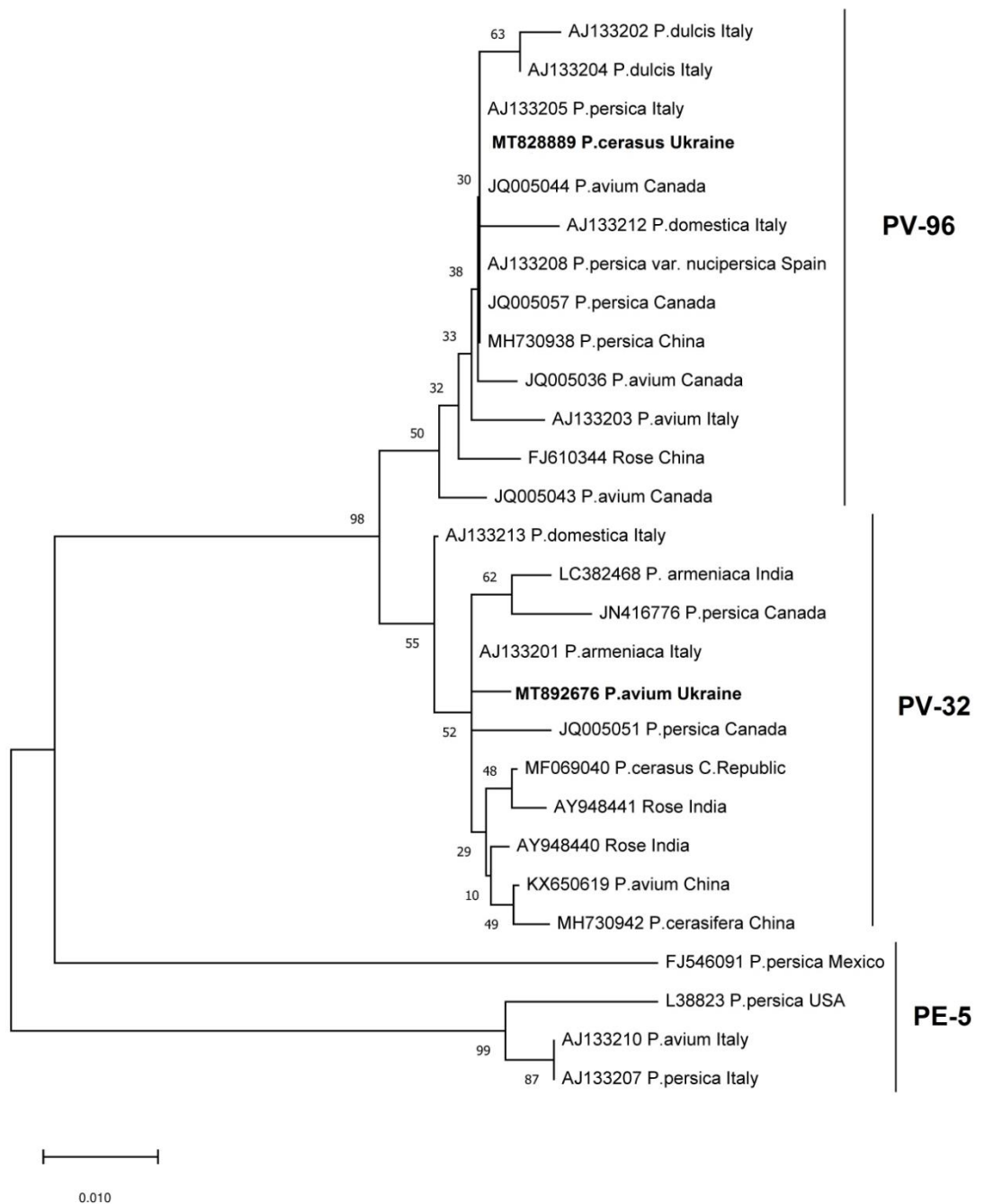


Рисунок 4.3 — Філогенетичне дерево ізолятів ВНКП, побудоване на основі фрагментів гена покривного білка й некодуєчого фрагмента за допомогою методу приєднання найближчих сусідів у програмі MEGA 10 (проведено бутстреп-аналіз 500 повторень; послідовності, отримані в цьому дослідженні, виділені напівжирним шрифтом; шкала позначає кількість замін на нуклеотид)

4.2. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу карликовості сливи

Дослідження варіабельності ізолятів ВКС, виділених із різних рослин-господарів виду *Prunus*, включно з черешнею та вишнею з різних географічних регіонів, переважно проводилися за послідовністю гена покривного білка [83, 128, 246, 249, 267, 315, 318], а також за послідовностями гена руху [267].

На відміну від ВНКП, у ВКС не виокремлюють чітких молекулярних груп і штамів. У попередніх дослідженнях турецькі вчені намагалися згрупувати ізоляти на основі рослини-господаря [315], проте подальший аналіз філогенетичних зв'язків не підтвердив таке групування [318]. Спроба болгарських вірусологів провести кореляцію між кластерами і симптоматикою також не завершилася успіхом [175]. На сьогодні спостерігається чітка розбіжність лише між ізолятами мигдалю та ізолятами, виділеними з інших господарів *Prunus*, що, можливо, відображає відмінності в сільськогосподарській практиці [128].

Виділені нами ізоляти депонували до Генного банку, у результаті чого їм присвоїли відповідні номери: ізолят PDV 1-67 (вишня Богуславка) — MT828888, PDV 16-15 (черешня Ніжність) — MT828887.

Сиквеновано фрагмент гена покривного білка ВКС розміром 262 нт, що займають положення 1340—1601 нт у РНК3. Ця ділянка кодує 87 амінокислот у положенні 43—129. Досліджуваний нами фрагмент є частиною ORF3b [74, 188].

Ідентичність виділених ізолятів між собою становила 99,6 % за нуклеотидною і 98,8 % за амінокислотною послідовностями. Єдина заміна нуклеотиду А/Т у позиції 1455 нт (рис. 4.4) призвела до заміни амінокислоти F (фенілаланін) ізоляту PDV 16-15 на Y (тирозин) у PDV 1-67 у позиції 81. Варто зазначити, що в усіх інших ізолятів, обраних для аналізу, цієї заміни немає. Обидва вітчизняні ізоляти характеризувалися наявністю нуклеотиду С у позиції 1519 нт, тоді як у інших ізолятів у цій позиції був Т. Однак ця заміна була синонімічною та не призвела до зміни послідовності білка.

Розмах ідентичності PDV 1-67 і PDV 16-15 з іншими ізолятами досить широкий і коливається в межах 85,9—95,3 % на нуклеотидному рівні, що свідчить про досить високу варіабельність геному ізолятів. Ідентичність за амінокислотними послідовностями була трохи вища за 86,5—97,7 %, що вказує на наявність синонімічних нуклеотидних замін. Загалом під час аналізу всіх досліджуваних ізолятів нараховано 24 позиції, у яких відбувалися амінокислотні заміни.

```

PDV_1-67      1340 TCGAAGTCTATTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCAAATGTACCCGTGAAAAATTTTTCC 1399
PDV_16-15    TCGAAGTCTATTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCAAATGTACCCGTGAAAAATTTTTCC
                *****

PDV_1-67      1400 GGTATGATTTCCCGTACCGAGAATTTGACGGTCAATTCGACCGCTTCCGGTGTATTTTAC 1459
PDV_16-15    GGTATGATTTCCCGTACCGAGAATTTGACGGTCAATTCGACCGCTTCCGGTGTATATTAC
                *****

PDV_1-67      1460 ACCATGAAAGTCCGCGAACTTTTCAAGGACTTTTCTATTGATACCAAGGTATACGGAATC 1519
PDV_16-15    ACCATGAAAGTCCGCGAACTTTTCAAGGACTTTTCTATTGATACCAAGGTATACGGAATC
                *****

PDV_1-67      1520 GTTTTCCGTTACTGCCTTGATGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAGGTTTCGAT 1579
PDV_16-15    GTTTTCCGTTACTGCCTTGATGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAGGTTTCGAT
                *****

PDV_1-67      1580 GTGAATGCGCCCGTGCGCCTA 1601
PDV_16-15    GTGAATGCGCCCGTGCGCCTA
                *****

```

Рисунок 4.4 — Вирівнювання нуклеотидних послідовностей фрагмента гена покривного білка українських ізолятів вірусу карликовості сливи

Під час побудови філогенетичного дерева всі ізоляти об'єдналися у дві основні групи (рис. 4.5). Перша група містила дві підгрупи. Підгрупа ІА складалася із 17 ізолятів, які відрізнялися географічним походженням і рослиною-господарем. До цієї підгрупи також увійшли українські ізоляти. Ізолят KU949346 (черешня, Словаччина) виявився найближчим за амінокислотною і нуклеотидною послідовностями. Рівень ідентичності за нуклеотидними послідовностями становив 95,3 % із PDV 16-15 і 94,9 % із PDV 1-67, за амінокислотними послідовностями — 98,8 і 97,7 % відповідно. Ідентичність цієї підгрупи з іншими ізолятами коливалася між 88,3—94,4 %,

тоді як середня ідентичність підгрупи становила 93,81 %. Підгрупа ІБ містила 11 ізолятів. Розмах ідентичності з PDV 1-67 і PDV 16-15 становив 93,6—91,4 % за нуклеотидними послідовностями. Ізоляти цієї підгрупи більш подібні між собою — 95,97 %. Загальна середня ідентичність усіх ізолятів першої групи становила 93,41 %.

Другий кластер сформувався на основі рослини-господаря черешні, тоді як географічне походження цих ізолятів різне. У більшості попередніх досліджень не спостерігалось групування на основі рослини-господаря або географічного походження [246, 249, 267, 318].

Під час вивчення ізолятів ВКС із Туреччини описували чотири групи. Перша та друга групи містили лише ізоляти вишні й мигдалю, водночас третя й четверта — ізоляти, виділені з різних рослин-господарів [315]. Ідентичність ізолятів цієї групи з PDV 1-67 і PDV 16-15 варіювала від 85,9 до 90,9 % за нуклеотидними послідовностями. Загалом ця група була найвіддаленішою, а середня ідентичність ізолятів становила 93,67 %.

Філодендрограма, побудована на основі амінокислотних послідовностей, показала схожі результати об'єднання ізолятів у дві групи. Такі само результати отримали в попередньому дослідженні, яке аналізувало амінокислотні послідовності гена покривного білка ізолятів, що містяться в Генному банку [249].

Отже, ізоляти ВКС, що циркулюють на території України, можуть відрізнятися за молекулярними характеристиками, хоча й були виділені із рослини-господаря одного роду.

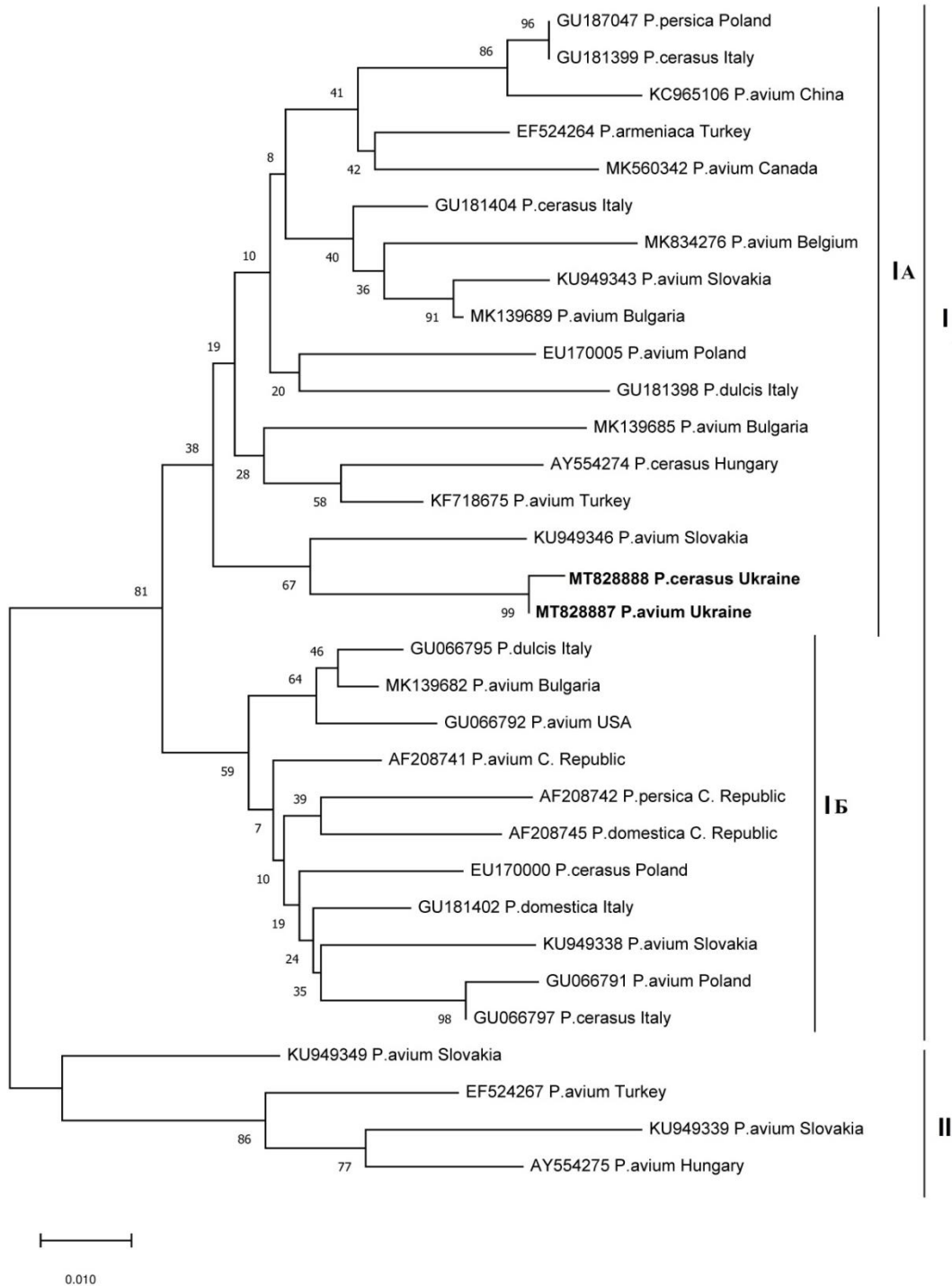


Рисунок 4.5 — Філогенетичне дерево ізолятів ВКС, побудоване на основі фрагментів гена покривного білка за допомогою методу приєднання найближчих сусідів у програмі MEGA 10 (проведено бутстреп-аналіз 500 повторень; послідовності, отримані в цьому дослідженні, виділені напівжирним шрифтом; шкала позначає кількість замін на нуклеотид)

4.3. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусу шарки сливи

Для побудови філогенетичного дерева ВШС обрали 17 ізолятів, доступних у Геннбанку (вересень 2020 р.), виділені з рослин, які територіально походять з України, і три ізоляти, що представляють вишнево-черешневі штами.

Виділені ізоляти ВШС (Mahaleb 1, Mahaleb 2) виявилися на 100 % подібними між собою. Тому до Генбанку депонували лише один, якому був присвоєний номер MW055900. Після сиквенування отримали фрагменти завдовжки 243 нт (рис. 4.6), які займали положення 9313—9555 нт у вірусному геномі. За результатами порівняння виділених нами ізолятів із відомими встановлено їх належність до штаму D. На рослинах вишні магалєбської, уражених штамом D, не спостерігали прояву симптомів, на відміну від описаних іншими авторами рослин, уражених вишневими штамами [99, 170].

Інфікування вишні магалєбської ВШС штаму D свідчить про те, що вірус здатний пристосовуватися до нових рослин-господарів, на яких раніше його не виявляли. Це значно розширює ареал інфікування й накопичення цього патогену.

```
9313 CAGACTACAGCCTCGCCAGATATGCCTTTGATTTTTACGAAATGACTTCAACGACACCCG 9372  
9373 TACGGGCACGTGAAGCTCATATCCAGATGAAGGCAGCAGCATTGAGAAATGTTCAAAATC 9432  
9433 GTTTATTTGGCTTGGATGGAAACGTCGGAACACAAGAAGAGGACACAGAGAGACACACCG 9492  
9493 CTGGTGATGTTAATCGCAACATGCACAACCTCCTCGGTGTGAGGGGAGTGTAGTGGTCTC 9552  
9553 GGT 9555
```

Рисунок 4.6 — Вирівнювання послідовності фрагмента гена вірусу шарки сливи ізоляту Mahaleb 1

Оскільки ця ділянка високо консервативна, принаймні 272 відомі ізоляти, що походять із різних країн і виділені з різних культур, виявилися на 100 % подібними з нашими ізолятами.

Після побудови філогенетичного дерева ізоляти ВШС об'єдналися в чотири групи. Першу групу склали представники штаму Дідерон. Ця група виявилася найбільш чисельною, до неї ввійшло 14 ізолятів, включно з ізолятами з нашого дослідження. Ще два представники цього самого штаму утворили окрему групу (IV) (рис. 4.7).

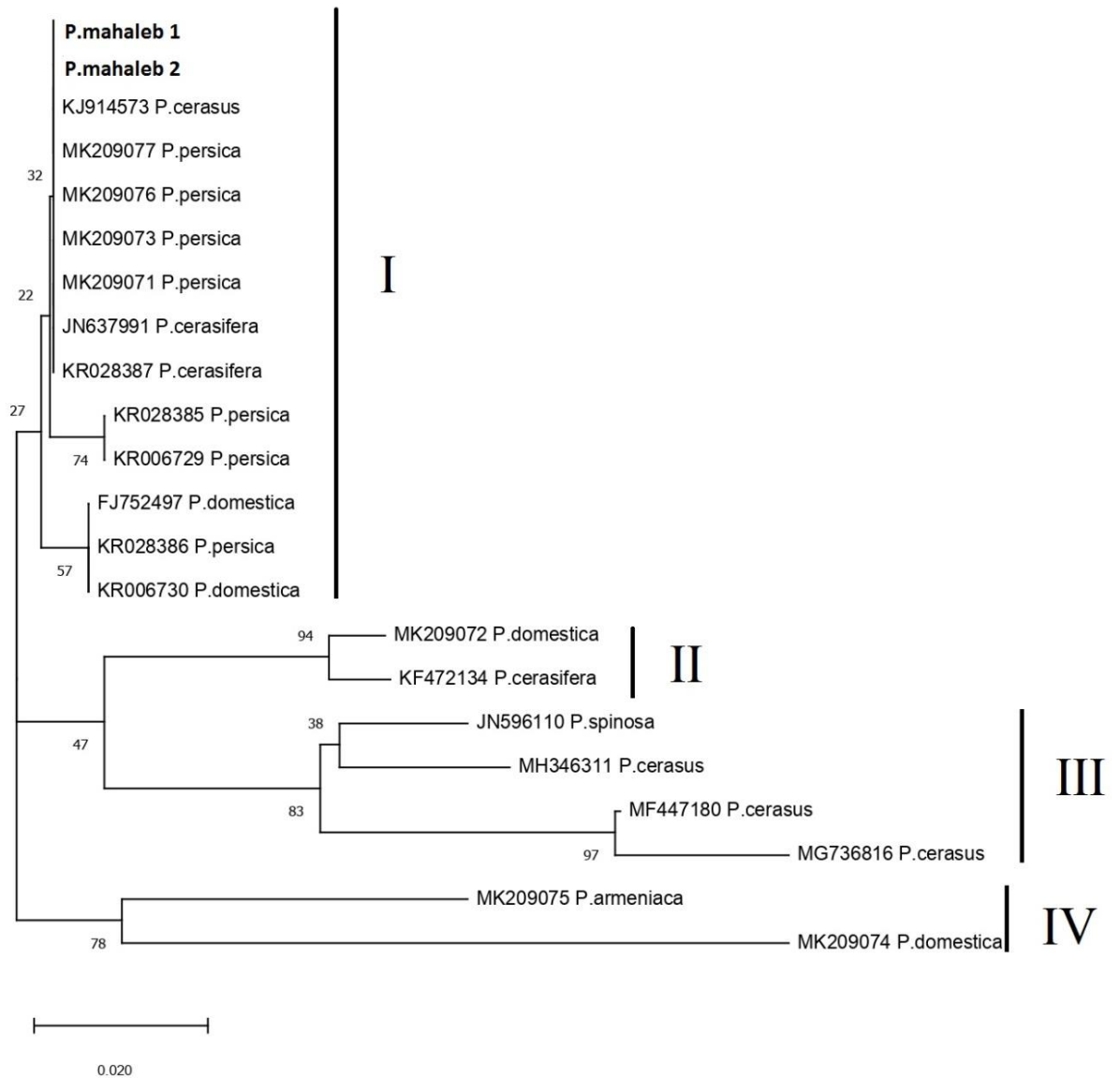


Рисунок 4.7 — Філогенетичне дерево ізолятів ВШС, побудоване на основі фрагментів гена покривного білка за допомогою методу приєднання найближчих сусідів у програмі MEGA 10 (проведено бутстреп-аналіз 500 повторень; послідовності, отримані в цьому дослідженні, виділені напівжирним шрифтом; шкала позначає кількість замін на нуклеотид)

Найбільш подібними (100 %) з Mahaleb виявилися такі ізоляти: зі сливи KJ914573, персика MK209077, MK209076, MK209073, MK209071, аличі JN637991 і KR028386. Віддаленими стали MK209075 (абрикос, Харківська область) і MK209074 (слива, Одеська область). За нуклеотидними послідовностями ідентичність наших ізолятів становила 94 та 89,5 % відповідно, а розмах варіабельності всіх представників штаму D коливався в межах 89,5—100 %, тоді як загальна середня ідентичність становила 97 %.

Окрему групу (II) утворили ізоляти штамів M і Res. Під час порівняння ізолятів Mahaleb з ізолятами, які належать до цих штамів, рівень ідентичності становив 95 %.

Представники вишневих штамів разом з ізолятом JN596110, який належить до штаму W, зараховані до групи III. Ізоляти Mahaleb подібні на 90 % з ізолятом MG736816 (CR), 92,5 % — з ізолятом MF447180 (CV), 93,3 % — з MH346311 (C).

Висновки до 4-го розділу

1. Уперше досліджено ізоляти ВНКП і ВКС, виділені з культур вишні й черешні, та ізолят ВШС, виділений із типу підщепи вишня магалєбська.
2. У результаті наших досліджень уперше вітчизняні ізоляти ВНКП і ВКС депоновані до світового Генного банку.
3. Установлено, що на території України циркулюють ізоляти принаймні з двох груп ВНКП, тому симптоматика, яку вони індукують, може відрізнятися.
4. Визначено, що вітчизняні ізоляти ВКС мають нуклеотидні заміни А/Т у позиції 1455 нт, яких немає в інших ізолятах.
5. Установлено штамову належність ВШС, знайденого на підщепі вишня магалєбська.

Публікації до 4-го розділу

1. **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *Agronomy Research*. 2021. № 19. DOI: <https://doi.org/10.15159/ar.20.238>
2. **Pavliuk L.**, Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Variability of some isolates of Prunus necrotic ringspot virus and Prune dwarf virus infecting sour and sweet cherry in Ukraine. *Acta agriculturae Slovenica*. 2021. № 117 (1). DOI: <https://doi.org/10.14720/aas.2021.117.1.1844>

5. УДОСКОНАЛЕННЯ СХЕМИ СЕРТИФІКАЦІЇ САДИВНОГО МАТЕРІАЛУ ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ

На сьогодні основні вимоги до садивного матеріалу прописані в Законі України «Про насіння і садивний матеріал» [39] і державних стандартах, які передбачають тестування матеріалу на основні шкодочинні вірусні патогени.

Для вдосконалення схем сертифікації садивного матеріалу будь-якої культури необхідно визначити видовий склад небезпечних вірусів, що циркулюють на території країни. На поточний момент в Україні ідентифіковано 10 вірусних патогенів вишні та черешні, тестування яких під час вирощування садивного матеріалу передбачено стандартом РМ(4)29(1), а також ВШС.

Слід зазначити, що згідно з ДСТУ 4791:2007 «Підщепи плодкових культур. Методи визначення якості» і ДСТУ 4792:2007 «Саджанці плодкових культур. Методи визначення якості» передбачено тестування кісточкового рослинного матеріалу лише на 5 вірусних патогенів. Згідно з додатком Д у ДСТУ 4791:2007, підщепи кісточкових мають перевірятися на такі вірусні патогени: ВХПЛЯ, ВКС, ВНКП, ВМЯ, ВШС, а садивний матеріал черешні для присвоєння категорії «перевірений на віруси» (відповідно до ДСТУ 4792:2007, додаток Д) має бути перевірений на ВХПЛЯ, ВМЯ, ВКС, ВНКП та ВКПМ. Як бачимо, українське законодавство потребує уточнень і доопрацювання для вдосконалення сертифікаційних схем садивного матеріалу.

Для оптимізації схеми сертифікації садивного матеріалу вишні та черешні слід запровадити тестування на ВШС не лише підщеп, а і їхніх сортів, оскільки на це є низка причин. Згідно з даними Державної служби статистики кісточкові культури в Україні, які є основними рослинами-господарями ВШС (вишня, черешня, слива, алича, персик, абрикос), налічують близько 66,5 тис. га, що займає орієнтовно третину площ насаджень усіх плодово-ягідних

культур. Це є досить масштабним ареалом потенційного поширення патогену [35].

На сьогодні в Україні відомо про чотири штами ВШС: D, W, M і Rec. Штам D найпоширеніший в Україні, до нього належать близько 83 % ізолятів, депонованих до Генного банку. Рослинами-господарями є переважно персик, абрикос і слива. Інфікування вишні та черешні штамми D і M не є типовими випадками, але в Україні повідомляють про інфікування штамом M черешні [33]. А в нашому дослідженні штам D знайдено на вишні магалебській. Це вкотре підтверджує, що вірус здатний адаптуватися до нових господарів і накопичуватись, а згодом поширюватися на чутливі до цих штамів рослини [116].

Зважаючи на збитки, завдані ВШС, і широкий перелік його культурних рослин-господарів, деякі країни розробили стратегію щодо викорінення патогену з їхніх територій. Північноамериканська організація захисту рослин (NAPPO) розробила стандарт RSPM 181 («Вказівки щодо фітосанітарних дій після виявлення вірусу шарки сливи») [276]. Загалом, у цьому документі запропоновано порядок дії для викорінення й урегулювання поширення ВШС у країнах Північної Америки. Проте головною стратегією боротьби з патогеном визначено використання сертифікованого матеріалу. З огляду на ці фактори, є обґрунтована необхідність тестування матеріалу всіх видів кісточкових культур на відсутність ВШС.

Стосовно інших патогенів, які ідентифікували в садивному матеріалі вишні та черешні, — їх також потрібно додати до чинних стандартів із методів визначення якості садивного матеріалу плодкових культур. Оскільки чинні державні стандарти в Україні переглядали останній раз 2007 року, хоча їх актуалізація має відбуватися кожні 5 років, зокрема й задля оптимізації панелі патогенів, необхідно внести зміни до ДСТУ 4791:2007 «Підщепи плодкових культур. Методи визначення якості» та ДСТУ 4792:2007 «Саджанці плодкових культур. Методи визначення якості», а саме до їхніх додатків Д, а також визначити такий перелік патогенів для культур вишні, черешні та їхніх

підщеп: вірус мозаїки яблуні (ВМЯ), вірус некротичної кільцевої плямистості кісточкових (ВНКП), вірус карликовості сливи (ВКС), вірус мозаїки резухи (ВМР), вірус скручування листа черешні (ВСЛЧ), вірус чорної кільцевої плямистості томату (ВЧКТ), вірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ), вірус латентної кільцевої плямистості суниці (ВЛКПС), вірус хлоротичної плямистості листа яблуні (ВХПЛЯ), вірус зіркоподібної мозаїки петунії (ВЗМП) та вірус шарки сливи (ВШС).

Висновки до 5-го розділу

З'ясовано, що на сьогодні схема сертифікації садивного матеріалу вишні та черешні потребує уточнень і доповнень, зокрема в частині, що визначає перелік вірусів, на які необхідно запровадити тестування.

6. ВПЛИВ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ

6.1. Оцінка сортопідщепних комбінуваних у розсаднику на фоні вірусного інфікування

Сумісність компонентів щеплення значно залежить від низки факторів (фізіологічних і біохімічних реакцій, температури повітря під час щеплення, методу щеплення тощо), іноді навіть близькоспоріднені види можуть бути несумісними. З огляду на це виникає потреба оцінки сумісності перед щепленням конкретної підщепи та сорту [145, 203, 271]. Згідно з попередніми дослідженнями в рослин виду *Prunus* несумісність є проблемою для вишні, мигдалю та абрикоса [199].

Несумісність може спостерігатися також на фоні інфікування вірусними патогенами. А оскільки деякі підщепи характеризуються толерантністю до інфікування, це може згодом призвести до накопичення патогенів у садивному матеріалі та їх поширення. В Україні про несумісність сортопідщепних компонентів вишні та черешні повідомляла низка авторів [20, 21, 26, 53].

Зважаючи на зазначене, нами проведено дослідження щодо сумісності сортів вишні та черешні ІС НААН на фоні інфікування вірусами родини *Parvivirus*, які є найпоширенішими патогенами кісточкових в Україні [45]. Роботу проводили з ізолятами, молекулярні характеристики яких розкрито в розділі 4. Явище несумісності вивчали на підщепах ВСЛ-2, ЛЦ-52 та ВЦ-13, із сортами вишні Ксенія, інфікованими ВНКП, Богуславка — ВКС, і сортом черешні Ніжність — з одночасним інфікуванням ВНКП + ВКС. Паралельно для негативного контролю використовували вільні від вірусних патогенів зразки тих самих сортів.

Через три тижні після проведення окулірування почали спостерігати перші ознаки несумісності. Вони проявлялися у вигляді камедетечі на місці щеплення, а також різної інтенсивності антоціанового забарвлення листків

підщепи. Найбільш інтенсивне забарвлення спостерігали на підщепі ВСЛ-2 у комбінаціях з усіма сортами, трохи менше — на ЛЦ-52 (табл. 6.1).

Таблиця 6.1 — Прояв несумісності сортопідщепних комбінувань вишні та черешні в першому полі розсадника, % (2020—2021 рр.)

Сорт Підщепи	Ніжність (ВКС + ВНКП)		Богуславка (ВКС)		Ксенія (ВНКП)	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
<i>Камедетеча</i>						
ВСЛ-2	100	0	90	0	100	0
ЛЦ-52	96,6	0	93,3	0	90	0
ВЦ-13	0	0	0	0	0	0
НІР₀₅ = 0,37						
<i>Антоціанове забарвлення листків</i>						
ВСЛ-2	100	0	83,3	0	100	0
ЛЦ-52	90	0	86,6	0	100	0
ВЦ-13	0	0	0	0	0	0
НІР₀₅ = 0,38						

Камедетечу як одну з ознак несумісності спостерігали в 90—100 % рослин, залежно від підщепи та сорту, але її інтенсивність була майже однаковою в усіх комбінаціях (рис. 6.1). Водночас на контрольних зразках не фіксували жодного прояву описаних симптомів. Камедетечу вважають одним із симптомів надчутливості підщеп до вірусної інфекції [200]. Зазвичай, як пишуть попередні дослідники, запливання вічок на підщепі ВСЛ-2 спостерігається в 70—80 % [14]. Згідно з літературними джерелами, ці підщепи гіперчутливі до вірусних патогенів роду *Parvivirus* [22, 98, 293]. Це можна пояснити тим, що підщепи, у яких однією з батьківських форм є вишня степова (*Cerasus fruticosa*), мають генетичну чутливість до інфікування [26]. У нашому випадку — це підщепи ВСЛ-2 та ЛЦ-52. Деякі науковці [46] зауважують, що в підщеп ЛЦ-52 та ВСЛ-2 є пороговий ефект впливу вірусу на життєздатність цих рослин, оскільки під час фітовірусологічного моніторингу виявилось, що цей тип підщеп все-таки інфікується ВКС і ВНКП.

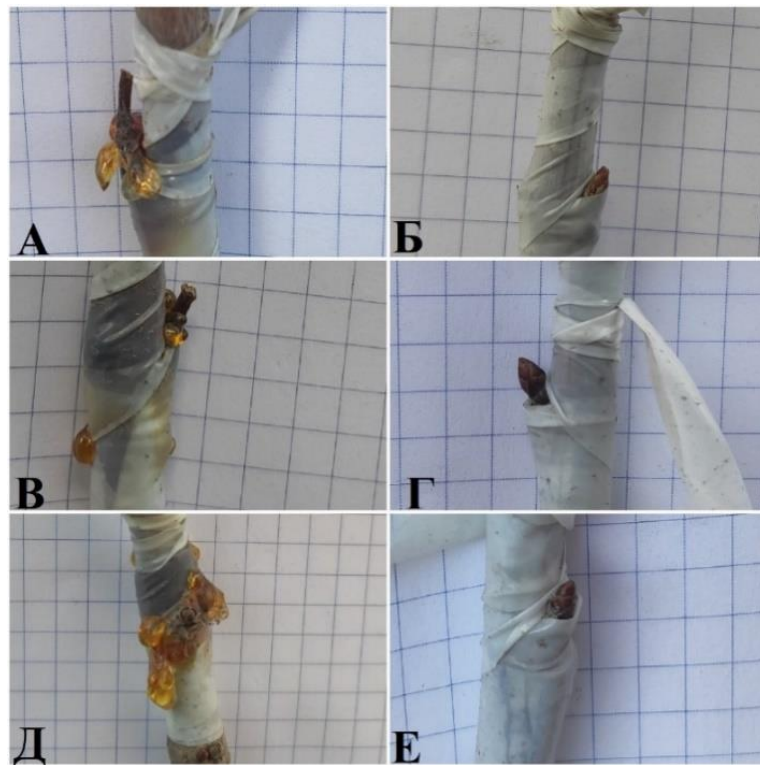


Рисунок 6.1 — Прояв несумісності компонентів щеплення сортів вишні та черешні з підщепою ВСЛ-2 (А — сорт Ніжність (інфіковані рослини ВКС + ВНКП), Б — сорт Ніжність (здорові рослини); В — сорт Богуславка (інфіковані рослини ВКС), Г — сорт Богуславка (здорові рослини); Д — сорт Ксенія (інфіковані рослини ВНКП), Е — сорт Ксенія (здорові рослини))

На відміну від попередньої ознаки, антоціанове забарвлення листків більш виражене в підщепи ВСЛ-2 (рис. 6.2), водночас на зразках ЛЦ-52 інтенсивність почервоніння була слабшою. Загалом цю ознаку спостерігали у 83,3—100 % рослин. У деяких джерелах описане пожовтіння й побуріння листкової пластинки як основний симптом інфікування ВНКП [57]. Попередні дослідження [21] вказують, що почервоніння листків — основний прояв несумісності компонентів щеплення, може бути й у другому полі розсадника. Таке явище спостерігали в сортопідщепних комбінуваннях сортів вишні Підбільська та Любська на Л-2 та ВСЛ-2, а сорту Тургенівка — на В-2-230 і В-5-88. Проте цю несумісність не пов'язували з вірусним інфікуванням.

Підщепа ВЦ-13 виявилася толерантною до інфікування. Жодних ознак несумісності в усіх перелічених комбінуваннях не виявлено (рис. 6.3).



Рисунок 6.2 — Реакція різних типів підщеп на інфікування ВНКП (А, В — ВСЛ-2 і ЛЦ-52 заокуліровані інфікованим матеріалом; Б, Г — контрольні рослини ВСЛ-2 і ЛЦ-52 заокуліровані вільним від вірусів матеріалом)



Рисунок 6.3 — Підщепа ВЦ-13 із сортом Богуславка (А — інфікована рослина, Б — контроль)

Окрім вишні, явище вірусіндукованої несумісності сорту й підщепи також фіксували у винограді під впливом вірусу скручування листя виноградної лози (*GLRaV-1, 2*) [111, 275]. У яблуні несумісність спостерігали за впливу вірусу кільцевої плямистості томатів (*TmRSV*) [71], цитрусових — при інфікуванні *Citrus tatter leaf virus* (CTLV) [207], а на рослинах горіха — при інфікуванні ВСЛЧ [105].

Під час осіннього огляду рослин у першому полі розсадника на предмет приживлюваності виявлено, що цей показник досить низький у чутливих до вірусної інфекції підщеп (табл. 6.2). На підщепі ВСЛ-2 приживлюваність сорту Ніжність і Ксенія виявилася нульовою, а в сорті Богуславка — лише 6,6 %. Однак під час весняної ревізії збереження вічок сорту Богуславка становило 0 %, натомість приживлюваність у контрольних неінфікованих рослинах — 90 %. На ЛЦ-52 у комбінації із сортом Ніжність приживлюваність в осінній період становила 3,3 %, тоді як з іншими сортами — 0 %. Навесні збереження окулянтів на цій підщепі не спостерігали, окрім контрольних рослин. Найкращі показники фіксували на підщепі ВЦ-13 з осінньою приживлюваністю 73,3 % — Ніжність, 83,3 % — Богуславка, 90 % — Ксенія. Після перезимівлі збережено 50 % вічок у комбінації із сортом Ніжність і 76,6 % — із сортами Богуславка та Ксенія.

Таблиця 6.2 — Вплив вірусної інфекції на збереження вічок вишні та черешні при ревізіях, % (2020—2021 рр.)

Сорт Підщепа	Ніжність		Богуславка		Ксенія	
	Здорові рослини, (к.)	Інфіковані рослини (ВКС + ВНКП)	Здорові рослини, (к.)	Інфіковані рослини (ВКС)	Здорові рослини, (к.)	Інфіковані рослини (ВНКП)
Осінь приживлюваність вічок						
ВСЛ-2	100	0	90	6,6	90	0
ЛЦ-52	100	3,3	80	0	90	0
ВЦ-13	90	73,3	90	83,3	90	90
НІР₀₅ = 0,60						
Весняна приживлюваність вічок						
ВСЛ-2	90	0	90	0	90	0
ЛЦ-52	90	0	70	0	90	0
ВЦ-13	90	50	90	76,6	90	76,6

Таку гіперчутливість ВСЛ-2 та ЛЦ-52 можна вважати значною перевагою, адже, незважаючи на загибель рослин на ранній стадії, вона дає змогу виявити інфіковані клони сортів вишні та черешні, а також уникнути майбутніх утрат у плодоносному насадженні.

Сорти вишні Богуславка, Ксенія та черешня Ніжність створені в ІС НААН [10, 11, 54]. Вони перспективні в Україні завдяки своїм високим смаковим якостям, універсальному використанню та стійкості до грибкових хвороб. Тому важливо утримувати ці сорти у безвірусному стані для подальшого розмноження на різних типах підщеп.

Отже, сумісність залежить від генетичної природи підщепи та її взаємодії з вірусом.

6.2. Динаміка росту саджанців вишні та черешні в другому полі розсадника

Оскільки підщепи ВСЛ-2 і ЛЦ-52 проявили гіперчутливість до інфікування, яка призвела до загибелі вічок інфікованих варіантів, спостереження за подальшим ростом і розвитком саджанців ми здійснювали лише на рослинах, окулірованих на ВЦ-13.

Розвиток окулянтів почали спостерігати ще на початку першої декади травня, але в багатьох досліджуваних варіантах більшість бруньок почали рости у другій декаді. Тому перші заміри робили 13 травня, коли мінімальний приріст становив 3 см, а максимальний — 9 см.

На ростові процеси рослин максимально впливав вірус НКП. Від початку спостережень за приростами ми спостерігали більш рівномірний ріст вільних від вірусів окулянтів, тоді як інфіковані бруньки довше залишалися у стані спокою. Станом на 13 травня відмінність між інфікованими й здоровими

рослинами становила близько 33 % (рис. 6.4). Як бачимо з динаміки приростів, хворі саджанці суттєво відставали в рості. Різниця між інфікованими рослинами та контролем становила від 13 до 46,5 % у різні періоди росту. Уповільнення ростових процесів почали спостерігати в другій декаді серпня.

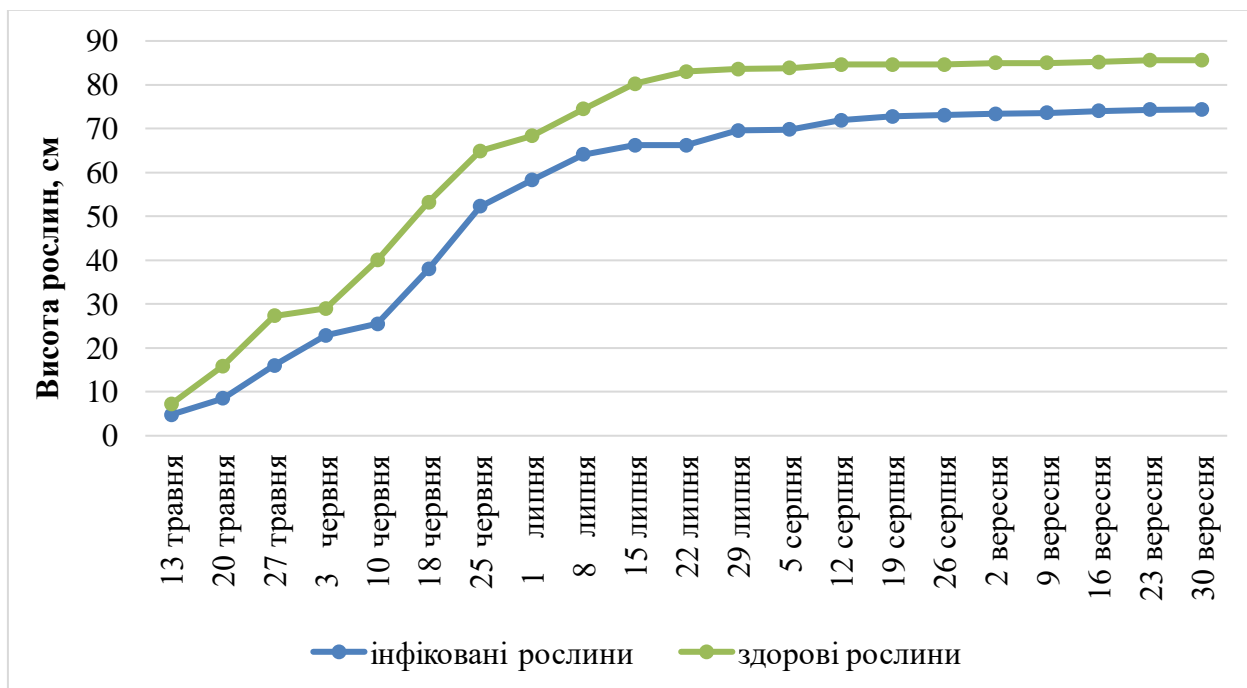


Рисунок 6.4 — Динаміка росту саджанців вишні сорту Ксенія на підщепі ВЦ-13 при інфікуванні ВНКП, см (2020—2021 рр.)

Проведені в Болгарії дослідження із впливу ВНКП на ростові процеси сортопідщепних комбінуваних черешні з підщепою *P. mahaleb* [82] виявили, що наприкінці вегетації саджанці помітно відрізнялися за висотою. Найбільш виражено це спостерігали на рослинах сорту Козерська, де інфіковані саджанці були меншими на 32,5 %, якщо порівнювати зі здоровим контролем. Меншу різницю відзначали на сортах Ван і Дрогана жовта — 12,4 та 9,7 % відповідно, тоді як сорти Ламберт і Стефанія відставали в рості лише на 2,3 та 1,9 %.

У нашому дослідженні, на відміну від ВНКП, ВКС значно менше впливав на ростові процеси рослин у другому полі розсадника (рис. 6.5). Хоча є дослідження, які вказують, що значне відставання в рості спричиняє саме ВКС, а не ВНКП. Загалом під впливом ВКС відмічають зниження висоти

рослин черешні на 38—42 % [66]. Ще одні дослідження вказують на те, що ВКС знижував висоту саджанців черешні від 2 до 16,9 % [82].

За нашими результатами, на початку відростання вегетативних бруньок інфіковані рослини були меншими на 16 %, якщо порівнювати з контролем, однак під час вегетації ситуація змінилася, і значного відставання в приростах не спостерігалось. Загалом, під час проведення обліків різниця між варіантами становила від 1,8 до 21,9 %. Станом на 30 вересня висота інфікованих рослин сягала 102,5 см, водночас рослини з контрольної групи були вищими на 3,1 %.

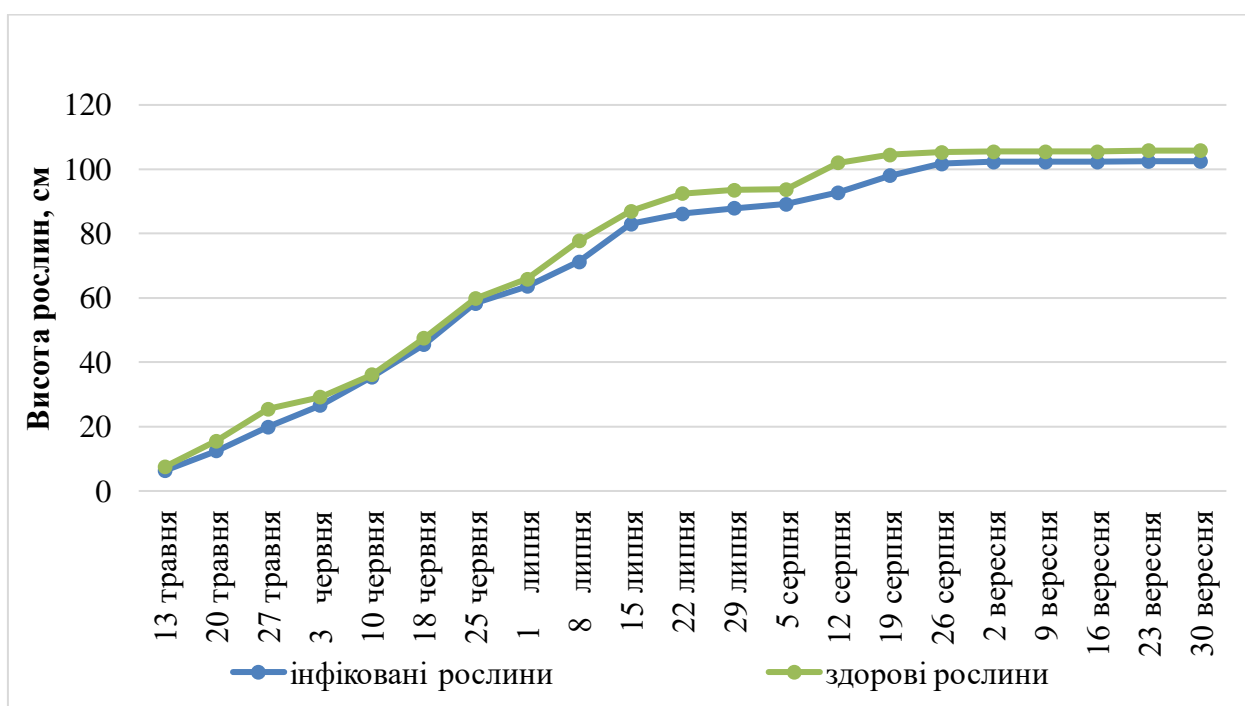


Рисунок 6.5 — Динаміка росту саджанців вишні сорту Богуславка на підщепі ВЦ-13 при інфікуванні ВКС, см (2020—2021 рр.)

Такий незначний вплив ВКС на ростові процеси очевидно зумовлений впливом підщепи на сорт, адже відомо, що вишня більше піддається негативному впливу вірусу, ніж черешня [66].

У разі одночасного інфікування кількома вірусами їхня взаємодія може проявлятися у вигляді синергізму або інтерференції. Як відомо, синергічний ефект двох вірусів посилює негативний вплив на ріст дерев і призводить до зниження урожайності. За таких умов рівень прояву залежить від ізолятів

патогенів, які взаємодіють. Особливістю взаємодії ВКС і ВНКП при комплексному інфікуванні є інтерференція. Її суть полягає в тому, що ВНКП здатен зменшувати концентрацію ВКС у 17 разів, залежно від комбінації компонентів щеплення рослин. Це явище вивчали на прикладі рослин персика. Водночас наявність ВКС не впливає на концентрацію РНК ВНКП [286].

У нашому випадку в інфікованих (ВКС + ВНКП) і здорових рослинах відзначали майже однакову динаміку росту аж до другої декади червня (рис. 6.6). Після чого інфіковані рослини почали відставати в рості. Висота саджанців на кінець вегетації була меншою на 36,2 %, якщо порівнювати зі здоровим контролем.

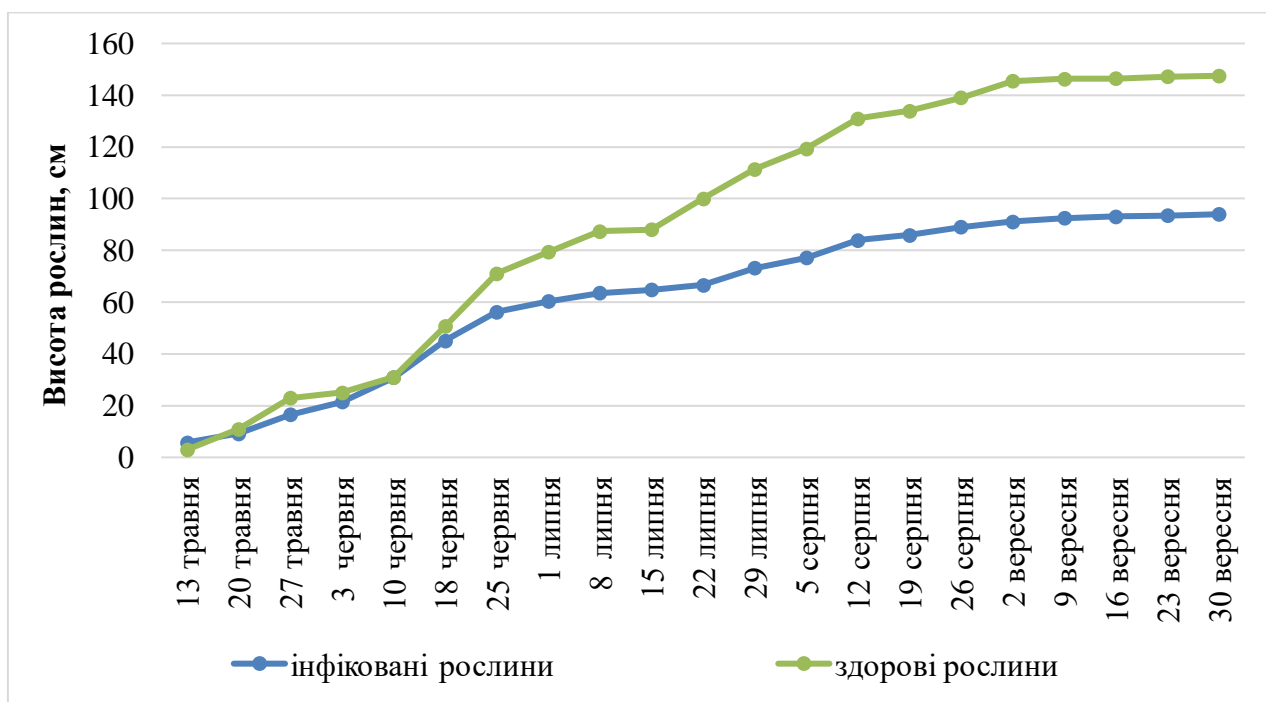


Рисунок 6.6 — Динаміка росту саджанців черешні сорту Ніжність на підщепі ВЦ-13 при інфікуванні ВКС і ВНКП, см (2020—2021 рр.)

Дослідження впливу коінфікування (ВКС + ВНКП) рослин черешні різних сортів на підщепі *Prunus mahaleb* вказують на зниження висоти саджанців від 2,3 до 38,3 % [82].

Як бачимо, вірусне інфікування може по-різному впливати на ріст і розвиток молодих рослин у розсаднику. Очевидно, такий вплив зумовлюється

додатковою взаємодією підщепи із сортами. У нашому випадку моноінфікування ВНКП і комплекс ВНКП + ВКС більше впливали на рослини, а ВКС майже не уповільнював ростові процеси. Таке приховане вірусоносійство може спричиняти проблеми в насадженнях, адже інфіковані дерева є джерелом поширення вірусу, а також призвести до зниження урожайності та стійкості до хвороб надалі.

6.3. Вплив вірусної інфекції на вміст зелених пігментів у листках вишні та черешні

Як уже відомо, вірусна інфекція здатна впливати не лише на стійкість рослин до абіотичних факторів, товарну якість плодів, строк експлуатації насаджень, а й на зміну структури фотосинтетичного апарату рослини. Найбільш поширеним симптомом вірусного інфікування є хлороз на листові, що відображає змінену пігментацію та структурні зміни хлоропластів. Вірусний вплив на структури, функції хлоропластів зазвичай призводить до зменшення фотосинтетичної активності. Останнім часом з'являється дедалі більше повідомлень, що вплив вірусу здатний інгібувати фотосинтез рослини-господаря [102, 146, 153, 197, 269].

Негативний вплив вірусної інфекції на вміст і функціональність зелених пігментів фіксували в рослинах картоплі [5], перцю [15], кукурудзи [16], пшениці [28], чорної смородини та малини [42], тютюну [215, 300], у рослині *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi* [338], а також у рослинах родини *Solanaceae* [50].

Зважаючи на зазначене, нами було вирішено провести дослідження щодо впливу вірусних патогенів на вміст зелених пігментів у саджанцях вишні та черешні. Через загибель рослин, окулірованих на чутливих підщепах, подальше дослідження проводили на саджанцях у таких комбінуваннях: ВЦ-13 / Ніжність (ВКС + ВНКП), ВЦ-13 / Богуславка (ВКС), ВЦ-13 / Ксенія (ВНКП).

У результаті вимірювання спостерігали тенденцію зниження вмісту хлорофілу при інфікуванні рослин вишні та черешні ВКС і ВНКП (табл. 6.3). Зазвичай вміст хлорофілу *a* в листові приблизно втричі більший від хлорофілу *b* [30]. Отримані результати свідчать про зниження хлорофілу *a* в інфікованих рослинах. Варто зазначити, що під час відбору зразків для аналізу хлорофлу на листках інфікованих рослин не було. Загалом у процесі аналізу вмісту хлорофілу *a* найбільшу різницю з негативним контролем спостерігали в сорті Ксенія (ВНКП) — 38,4 %, тоді як у сортів Богуславка (ВКС) і Ніжність (ВКС + ВНКП) це зменшення становило 22,5 і 20,9 % відповідно. Натомість більш вираженим зниженням характеризувалися показники хлорофілу *b*. В інфікованих зразках Ніжності та Богуславки цей показник зменшився на 31 %, а в Ксенії — 43,9 %.

Таблиця 6.3 — Вміст зелених пігментів у листках сортів вишні та черешні, мг/г (середнє за 2020—2021 рр.)

Сортопідщепне комбінування	Хлорофіли					
	<i>a</i>		<i>b</i>		<i>a + b</i>	
	Здорові рослини, (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини, (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини, (к.)	Інфіковані рослини
Ксенія / ВЦ-13 (ВНКП)	1,51	0,93	0,41	0,23	1,92	1,16
Богуславка / ВЦ-13 (ВКС)	1,51	1,17	0,38	0,26	1,89	1,43
Ніжність / ВЦ-13 (ВКС+ВНКП)	1,77	1,40	0,47	0,32	2,24	1,72
НІР₀₅	0,22		0,08		0,27	

Вміст хлорофілів *a + b* зменшився на 23,2—39,6 % переважно в інфікованих рослинах. Найбільшу різницю між інфікованим і здоровим варіантом спостерігали в сорті вишні Ксенія з ВНКП — 39,6 %, водночас найменшу — у сорті Ніжність (23,2 %).

Наші результати узгоджуються з дослідженнями, проведеними на культурі малини — вірус жовтої плямистості малини знижував показники суми хлорофілів на 22,7—30,2 %; а також смородини — під впливом вірусу

махровості смородини зниження вмісту хлорофілів $a + b$ відбувалося на 23,4—27,6 % [42]. М-вірус картоплі найменше вплинув на фотосинтетичний апарат рослин (картоплі) — при інфікуванні ним сума хлорофілів була нижчою на 12 % від негативного контролю [5], а взаємодія вірусів огіркової мозаїки і *Henbane mosaic virus* (HeMV) здатна знижувати вміст хлорофілу b у рослинах дурману звичайного на 33 % [304].

Як бачимо, найменше на вміст зелених пігментів впливало комплексне інфікування. Можливо, такі результати отримані через інтерференційну взаємодію цих двох патогенів, про що вже згадувалося в попередньому підрозділі. Також на пригнічення одного вірусу іншим впливає часовий порядок інфікування рослини й період інфікування [202], адже під час візуального обстеження насаджень (підрозділ 3.1.1) саме в сорті Ніжність були більше виражені симптоми інфікування. Можливо, це пов'язано з шоковою фазою на початку інфікування, коли симптоми проявляються більшою мірою [9].

6.4 Дослідження залежності індукції флуоресценції хлорофілу саджанців вишні та черешні від вірусної інфекції

Одним із методів отримання інформації про стан рослин є індукція флуоресценції хлорофілу (ІФХ). Сутність цього методу в тому, що під час опромінення листка синім світлом молекули хлорофілу починають випромінювати світло в червоній ділянці спектра. Інтенсивність випромінювання залежить від стану рослини.

Основна ідея цього методу полягає в тому, що хлорофіл у фотосинтетичних мембранах є природним датчиком стану клітин рослин. З порушенням стану фотосинтетичних мембран під впливом зовнішнього фактора починаються зміни оптичних властивостей хлорофілу, які є джерелом інформації для експрес-діагностики стану клітин рослин [1, 41, 43].

Зважаючи на це, ми вивчили вплив вірусної інфекції на функціональний стан саджанців вишні шляхом аналізу параметрів флуоресценції хлорофілу. Методом індукції флуоресценції хлорофілу листків встановлено, що в саджанцях із вірусною інфекцією, якщо порівнювати з безвірусними, флуоресценція хлорофілу зростає в усьому часовому діапазоні реєстрації індукційних змін (табл. 6.4). Водночас виявлено збільшення інтенсивності фонові флуоресценції F_0 в інфікованих саджанцях сорту Богуславка на підщепі ВЦ-13 на 20 %, сорту Ксенія — на 15 %, а сорту Ніжність — на 46 %. На нашу думку, це зумовлено зростанням кількості неактивного хлорофілу, який не передає енергію збудження реакційним центрам. Водночас підвищення рівня стаціонарної флуоресценції хлорофілу F_t у саджанцях вищезазначених сортів на 16, 27 і 43 % відповідно свідчить про блокування перебігу фотосинтетичних процесів у хлоропластах листків.

Таблиця 6.4 — Середні значення параметрів ІФХ (2020—2021 рр.)

Варіант	F_0	F_{pL}	F_{max1}	F_{max2}	F_t	K_{pl}	K_i	RFD
ВЦ-13 Богуславка, інфіковані рослини (ВКС)	288	400	864	768	272	0,19	0,67	1,82
ВЦ-13 Богуславка, здорові рослини (к.)	240	344	888	780	240	0,16	0,73	2,25
ВЦ-13 Ксенія, інфіковані рослини (ВНКП)	272	432	1008	960	304	0,22	0,73	2,16
ВЦ-13 Ксенія, здорові рослини (к.)	236	340	860	768	244	0,17	0,73	2,15
ВЦ-13 Ніжність, інфіковані рослини (ВКС + ВНКП)	416	560	896	784	320	0,30	0,54	1,45
ВЦ-13 Ніжність, здорові рослини (к.)	284	392	796	748	272	0,21	0,64	1,75

Підвищення показників F_{pL} в інфікованих саджанцях сортів Ксенія і Ніжність зумовлено, на нашу думку, вищою шкодочинністю вірусів на цих сортах. У саджанців сорту Богуславка ці показники не дуже змінилися на інфікованому фоні.

Низка авторів [6, 19, 55] рекомендують для визначення наявності вірусної інфекції в дослідних рослинах як тестовий показник для ранньої діагностики використовувати коефіцієнт плато $K_{pl} = (F_{pl} - F_0) : (F_p - F_0)$, зважаючи на те, що значення $K_{pl} \geq 0,4—0,5$ свідчить про наявність інфекції. Однак у наших дослідженнях цей показник у заражених саджанцях коливався за сортами в межах 0,19—0,3, що не підтверджує думку авторів, однак на 14—29 % вище від контрольних варіантів.

Величина RFD, коефіцієнт ефективності темнових фотохімічних процесів (індекс спаду флуоресценції), дуже чутлива до зовнішніх дій і відома як альтернативна кількісна характеристика фотосинтезу [1]. Максимальне значення RFD свідчить про оптимальну потенційну активність фотосинтетичного апарату рослин, а зменшення значень RFD — про зниження потенційної активності.

У нашому досліді найкращу потенційну активність фотосинтетичного апарату мали безвірусні саджанці сортів Ніжність і Богуславка, а в інфікованих і вільних від вірусів саджанців сорту Ксенія цей показник був практично однаковий.

6.5. Вплив вірусної інфекції на морозостійкість рослин

Низька зимова температура та весняні заморозки — одні із найважливіших абіотичних чинників, здатних впливати на урожайність плодкових культур [226]. Вишня вважається морозостійкою культурою. У умовах України надземна частина цієї рослини може витримувати зниження температури до -36 °C, а бруньки — до $-28—35$ °C. Проте бактеріальні й вірусні хвороби здатні знижувати стійкість рослини до несприятливих погодних умов [17, 65].

З огляду на це ми проводили дослідження щодо визначення морозостійкості генеративних бруньок вишні в умовах вірусного захворювання. Для вивчення цього питання обрали два сорти: Ксенія з

інфікуванням ВНКП і Богуславка — з ВКС, як негативний контроль використовували ті самі сорти, вільні від патогенів. Пагони відбирали з дерев, вирощених на насіннєвій підщепі вишня магалєбська.

Пошкодження генеративних органів рослин низькими температурами зазвичай призводить до внутрішніх і зовнішніх морфологічних аномалій, які негативно впливають на нормальний розвиток плоду або навіть спричиняють обпадання зав'язі. Пошкодження бруньок низькими температурами може проявитися у вигляді фасціацій тичинок, за таких умов квітка і далі росте й розвивається, але такий плід зазвичай обпадає [272].

Аналізуючи отримані нами результати, можемо стверджувати, що в інфікованих зразків спостерігали найвищий ступінь пошкодження низькими температурами (табл. 6.5).

Таблиця 6.5 — Ступінь підмерзання генеративних бруньок вишні, бали (2020—2021 рр.)

Варіант	Температура, °С	Ступінь пошкодження бруньки	
		Здорові рослини (к)	Інфіковані рослини
Ксенія	4	1,3 ± 0,354	1,8 ± 0,354
	-25	1,8 ± 0,000	3,5 ± 0,707
	-30	3,5 ± 0,707	4,5 ± 0,707
Богуславка	4	1 ± 0,000	1,9 ± 0,141
	-25	1,7 ± 0,212	4,5 ± 0,707
	-30	2,2 ± 0,495	4,5 ± 0,707

Порівнюючи результати зразків без проморожування за температури 4 °С, можемо зауважити, що інфіковані рослини мали вищий бал пошкодження, ніж їхні контролі, на 38,4 % (Ксенія, ВНКП) і 90 % (Богуславка, ВКС). Значні пошкодження тканин фіксували при проморожуванні зразків за температури -25 °С: у сорту Ксенія цей показник оцінили в 3,5 бала, що на 94,4 % більше, ніж у здорового зразка, а в сорту Богуславка — 4,5 бала (рис. 6.7), що відрізнялося від неінфікованого контролю на 62,2 %.

У зразках обох сортів спостерігали однаковий бал (4,5) підмерзання зі зниженням температури до -30 °С. Проте їхні негативні контролі по-різному

реагували на такі умови: у Ксенії пошкодження оцінили в 3,5 бала, у Богуславки — 2,2 бала.

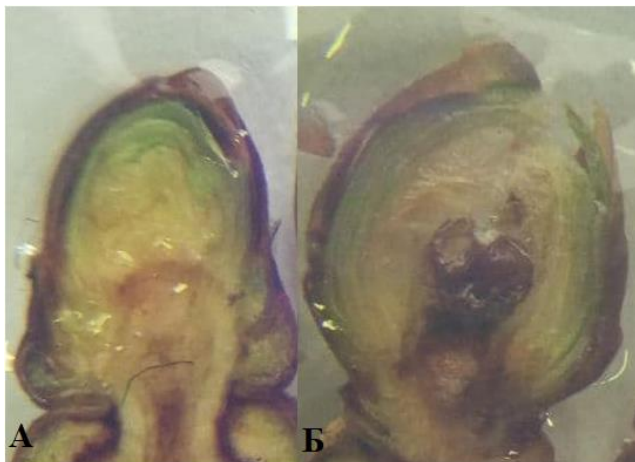


Рисунок 6.7 — Пошкодження генеративних бруньок вишні сорту Богуславка за температури -25°C (А — контроль, Б — інфікована рослина)

У деяких літературних джерелах описують незначне пошкодження генеративних бруньок вишні — 1—1,6 бала, за температури -25°C [32], що є близьким до наших даних.

Отже, результати, які ми отримали під час проморожування неінфікованих зразків, загалом підтверджують, що вишня здатна витримувати низькі температури за умови відсутності інфікування вірусними хворобами.

6.6. Вплив вірусної інфекції на якість однорічних саджанців вишні та черешні

У дисертаційному дослідженні вивчено вплив ВКС і ВНКП, а також одночасного інфікування ними на окремі агробіологічні показники однорічних саджанців вишні та черешні.

Листок — один із головних асиміляційних органів плодової рослини, його формування залежить від комплексу чинників. Тому площа листкової пластинки є одним із індикаторів стану рослини [36]. Наші результати свідчать про те, що вірусні патогени безпосередньо впливають на розмір пластинки

листка. У дослідженнях ми спостерігали тенденцію до зменшення площі листової поверхні, залежно від патогену (табл. 6.6). В інфікованих рослинах цей показник був менший від контролю на 7,6—31 %. Найбільше на площу листової пластинки впливав ВНКП, інфіковані листки зменшувалися на 31 %, під дією ВКС — на 10,3 %, тоді як коінфікування найменше вплинуло на цей показник — 7,6 %. Схожі результати отримали інші вчені під час вивчення впливу вірусу жовтої карликовості ячменю (BYDV) у посівах вівса, де в інфікованих рослин також спостерігали зменшення листової пластинки [260].

У варіантах сортів з інфікуванням ВКС питома поверхнева щільність листків (ППЩЛ) виявилася вищою, аніж у рослинах негативного контролю. Так, у сорті Ніжність спостерігали вищі на 39,9 % показники, а в сорті Богуславка фіксували незначне збільшення ППЩЛ інфікованих зразків (5,5 %). Щільність листової поверхні рослин з інфікуванням ВНКП, навпаки, була менша за їхній негативний контроль на 27,4 %.

Вважаємо, що збільшення ППЩЛ у інфікованих рослин відбувається через лігніфікацію клітин — як реакцію на інфікування. Лігнін виконує одну із захисних функцій: зміцнює рослинний організм, підвищує опірність до дії мікроорганізмів, відіграє роль захисного матеріалу від відмерлих клітин рослини. Проте він здатен знижувати проникність клітинних стінок для води [31].

Особливо часто таке явище спостерігали при одночасному інфікуванні рослини двома патогенами [202]. Однак у нашому випадку це не підтвердилося, адже саме в інфікованих сортозразках Ніжності вміст води в листках виявився меншим на 20 %, ніж у здорового контролю. Водночас у сортів Богуславка та Ксенія вміст води у зразках з інфікуванням був більшим на 1,4 та 5,7 % відповідно.

Отже, у нашому випадку не завжди вміст води у клітинах залежав від збільшення ППЩЛ, тому це питання потребує подальшого вивчення.

Таблиця 6.6 — Біометричні показники листків сортів вишні та черешні (2020—2021 рр.)

Сортопідщепна комбінація	Площа листкової пластинки, см ²		ППЦД, мг/см ²		Оводненість, %	
	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини
Богуславка / ВЦ-13	71,7	64,3	7,03	7,42	71,1	72,1
Ніжність / ВЦ-13	68,1	62,9	5,86	8,20	72,7	58,0
Ксенія / ВЦ-13	78,5	54,1	11,33	8,20	59,7	63,1
НІР₀₅	4,83		4,61		19,30	

Окрім впливу на загальний стан рослин, патогени також негативно подіяли на певні біометричні показники вирощеного садивного матеріалу. У більшості випадків спостерігали негативний вплив на ріст рослин (табл. 6.7).

Таблиця 6.7 — Вплив вірусів на ріст саджанців (2020—2021 рр.)

Сорт	Середній діаметр штамба, мм		Середня висота саджанців, см	
	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини
Ніжність	16	13	147,5	94
Богуславка	15	13	105,8	102,5
Ксенія	13	13	85,6	74,4
НІР₀₅	0,23		18	

Найбільший вплив патогенів спостерігали при одночасному інфікуванні ВКС і ВНКП (сорт Ніжність). Діаметр штамба інфікованих рослин був меншим на 18,8 %, якщо порівнювати з контролем. Негативний вплив комплексного інфікування на вегетативний ріст саджанців зауважували й інші автори, у їхніх дослідженнях діаметр прищепи зменшився на 21,4—25,3 %, водночас при інфікуванні лише ВНКП — на 24,7 % [82].

У нашому випадку ВНКП не вплинув на діаметр штамба саджанців, натомість висота досліджуваних рослин зменшилася на 13 %. Інфікування ВКС (Богуславка) найменше впливало на висоту рослин — 3 %, та зменшення діаметра штамба — 13 %. Значна різниця між нашими й результатами інших вчених може пояснюватися впливом підщепи. Оскільки в попередніх дослідженнях використовували насіннєві підщепи, можемо припустити, що на

таких саджанцях більшою мірою проявляється відставання в рості й розвитку під впливом вірусних патогенів.

Вплив патогенів на вегетативний ріст і подальший розвиток рослин негативно позначився на виході саджанців товарного сорту (табл. 6.8).

Таблиця 6.8 — Вихід садивного матеріалу вишні та черешні за умови вірусного інфікування, схема садіння 1,20 × 0,15 м, 55,5 тис. шт/га, (2020—2021 рр.)

Сорт	Здорові рослини (к.)			Інфіковані рослини		
	Всього	В т.ч. стандартних		Всього	В т.ч. стандартних	
		1 сорту	2 сорту		1 сорту	2 сорту
Ніжність	49,95	31,477	9,240	11,1	2,22	2,22
Богуславка	49,95	24,975	0	8,88	2,22	2,22
Ксенія	49,95	12,937	12,937	26,64	6,66	4,528

Згідно з ДСТУ 4938:2008 «Саджанці плодових культур. Технічні умови» лише 20—25 % інфікованого садивного матеріалу можна зарахувати до першого і 17—25 % до другого товарних сортів. Водночас у контрольних варіантах цей показник становив 18,5—63 %. Також зменшується загальний вихід саджанців: при використанні інфікованого матеріалу для окулірування цей показник становить 8,88 тис. шт./га для сорту Богуславка, 11,1 тис. шт./га та 26,64 тис. шт./га для сортів Ніжність і Ксенія відповідно. Натомість використання вільного від вірусів матеріалу забезпечує загальний вихід саджанців 49,95 тис. шт./га.

Висновки до 6-го розділу

1. Описано типові симптоми вірусної несумісності (камедетеча, зміна забарвлення листя), спричиненої ВКС і ВНКП на чутливих клонових підщепах ВСЛ-2 і ЛЦ-52.

2. Установлено, що 100 % камедетечі не проявляється на підщепі ВСЛ-2 при використанні інфікованого матеріалу ВНКП та 90 % — при

інфікуванні ВКС. На підщепі ЛЦ-52 ВНКП спричинив від 90 до 96,6 % камедетечі, а ВКС — 93,3 %.

3. Виявлено, що досліджувані віруси призводять до загибелі окулянтів від 50 (ВЦ-13) до 100 % (ВСЛ-2, ЛЦ-52).

4. Установлено, що вміст зелених пігментів під впливом ВКС і ВНКП зменшується від 20,9 до 43,9 %.

5. Показано залежність індукції флуоресценції хлорофілу саджанців вишні від вірусної інфекції.

6. Визначено, що під дією ВКС і ВНКП генеративні бруньки за низьких температур пошкоджуються більше — 28,6—94,4 %, якщо порівнювати з неінфікованими варіантами.

7. Виявлено, що моноінфікування, а також одночасна взаємодія ВКС і ВНКП зменшує площу листової пластинки на 7,6—31 %, висоту саджанців — на 3—36,3 %, діаметр штамба — на 13—19 %, залежно від сорту.

8. Установлено, що використання інфікованого садивного матеріалу для вирощування саджанців зменшує вихід рослин товарних сортів.

7. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИРОЩУВАННЯ САДЖАНЦІВ ВИШНІ ТА ЧЕРЕШНІ НА ФОНІ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Сучасні інтенсивні технології садівництва передбачають використання садивного матеріалу на клонових підщепах, що більш ефективні, якщо порівнювати їх із насіннєвими. Вони покращують господарсько-біологічні характеристики сорту: знижують ріст дерев, прискорюють плодоношення, підвищують урожайність тощо. Проте лімітним фактором отримання якісного садивного матеріалу, а згодом і нормального плодоношення є вірусіндукована несумісність. Через це явище рослини гинуть ще в першому та другому полях розсадника. Часто трапляється і прихована несумісність, тоді саджанець потрапляє в плодоносний сад, де його урожайність зменшується або ж дерево гине, що завдає економічних збитків у господарствах.

Вірусні хвороби плодових дерев становлять потенційну небезпеку, яка може завдати збитків виробникам плодів, а також виробникам садивного матеріалу. Тим часом споживачі страждатимуть від збільшення вартості й зменшення кількості свіжої продукції на ринку.

В Україні виробництво саджанців регламентується ДСТУ 4938.2008 «Саджанці плодових культур. Технічні умови», у якому чітко зазначені біометричні показники рослин першого та другого сортів. На основі наших досліджень можемо стверджувати, що під впливом вірусних патогенів якість і вихід садивного матеріалу значно зменшується. Тому економічну ефективність ми розраховали щодо вирощування садивного матеріалу вишні та черешні в умовах вірусної інфекції.

Під час розрахунків технологічних операцій щодо вирощування садивного матеріалу використовували технологічні карти, розроблені ІС НААН. Для досліджу обрали сорти вишні Ксенія (ВНКП), Богуславка (ВКС) та сорт черешні Ніжність (ВКС + ВНКП) у комбінуваннях із клоновою підщепою ВЦ-13. Контрольним варіантом були ті самі сортопідщепні комбінування, вільні від вірусної інфекції.

Одним із основних критеріїв оцінки економічної ефективності вирощування саджанців є вихід стандартних рослин з 1 га. Згідно з проведеними розрахунками (табл. 7.1) цей показник при інфікуванні вірусами нижчий за контрольні варіанти на 11 % у сорті Ніжність, на 18 і 43 % у сортах Богуславка та Ксенія відповідно. Так само недоотримання саджанців вплинуло на виробничу собівартість вирощеного матеріалу та зниження рівня рентабельності. Найбільш збитковими виявилися варіанти сорту Ніжність (ВКС + ВНКП) та Богуславка (ВКС). Виробнича собівартість такого матеріалу (1000 шт.) сягала 172,32 тис. грн, тоді як у контрольних варіантах — 19,41 тис. грн та 31,21 тис. грн відповідно. Рівень рентабельності в контрольних варіантах сягав 89—206,5 %, а за умови інфікування — -18,2—68,3 %.

Таблиця 7.1 — Економічна ефективність вирощування саджанців вишні та черешні

	Контроль			Дослід		
	Ніжність	Богуславка	Ксенія	Ніжність (ВКС + ВНКП)	Богуславка (ВКС)	Ксенія (ВНКП)
Вихід стандартних саджанців з 1 га, тис. шт.	40,717	24,975	25,874	4,44	4,44	11,188
в тому числі 1 сорт	31,477	24,975	12,937	2,220	2,220	6,660
2 сорт	9,24	0	12,937	2,220	2,220	4,528
Недоотримані саджанці з 1 га (порівнюючи з контролем), тис. шт.	-	-	-	36,277	20,535	14,686
Виробничі витрати на 1 га, тис. грн	790,5	779,5	780,1	765,1	765,1	769,8
в т. ч. витрати на вирощування	762,0	762,0	762,0	762,0	762,0	762,0
витрати на викопування	28,5	17,5	18,1	3,1	3,1	7,8
Виробнича собівартість 1000 шт. саджанців, тис. грн	19,41	31,21	30,15	172,32	172,32	68,81
Повна собівартість 1000 шт. саджанців, тис. грн	21,36	34,33	33,17	189,55	189,55	75,69
Ціна реалізації саджанців 1 сорту, грн / шт.	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0
Ціна реалізації саджанців 2 сорту, грн / шт	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0

<i>Продовження таблиці 7.1</i>						
Виручка від реалізації, тис. грн	2665,4	1748,3	1552,4	266,4	266,4	692,6
Прибуток (збиток) на 1 га, тис. грн	1795,8	890,8	694,3	-575,2	-575,2	-154,2
Рівень рентабельності (збитковості), %	206,5	103,9	80,9	-68,3	-68,3	-18,2

Вирощування саджанців на цих клонових підщепах може бути високорентабельним за умови використання сертифікованого матеріалу. Наші розрахунки показали, що найбільш рентабельним є вирощування садивного матеріалу, вільного від патогенів. Отримані результати свідчать про позитивний ефект використання перевіреного на віруси садивного матеріалу.

Висновки до 7-го розділу

Обраховано, що для стабільного отримання прибутку під час вирощування й реалізації садивного матеріалу необхідно використовувати лише сертифікований матеріал.

ВИСНОВКИ

Проведено обстеження маточних насаджень і визначено рівень поширення вірусних патогенів у рослинному матеріалі сортів вишні, черешні та типів їхніх підщеп. Визначено оптимальні строки проведення серологічної діагностики ВКС і ВНКП. Здійснено філогенетичний аналіз ізолятів ВКС, ВНКП і ВШС. Проаналізовано сучасний стан схеми сертифікації садивного матеріалу вишні та черешні в Україні. Вивчено вплив вірусних патогенів на рослини в розсаднику. Отримані результати описано у висновках:

1. Уперше проведено фітовірусологічний моніторинг маточних насаджень вишні, черешні та типів їхніх підщеп на наявність 11 небезпечних вірусних патогенів. Уперше на досліджуваних культурах в Україні ідентифіковано ВМЯ, ВМР, ВЧКТ, ВКПМ, ВЛКПС, ВЗМП. Частота моноінфікування цими патогенами становить від 0,7 до 9 %.

2. Визначено якісний склад вірусних патогенів у насадженнях вишні та черешні, встановлено, що інфікованість маточників коливається від 13 до 33 % залежно від типу культури.

3. Показано рівень одночасного інфікування двома і більше вірусними патогенами, що становить від 7,4 до 9,7 %. За цих умов у комбінуваннях частота ВНКП варіює від 30 до 75 %.

4. Виділено вільні від вірусів рослини-кандидати у вихідні клони 14 сортів черешні, 12 сортів вишні й 4 типів підщеп для подальшої перевірки на наявність вірусних патогенів методом ЗТ-ПЛР і розмноження згідно зі стандартними схемами сертифікації садивного матеріалу.

5. Установлено, що оптимальним терміном проведення серологічного тестування рослин вишні на наявність ВКС і ВНКП є весняні місяці: квітень і травень із використанням листків. Плоди є ненадійним джерелом тканини для тестування. В осінні місяці можна отримати хибно негативний результат, отже, діагностику рослин вишні не рекомендуємо

проводити в цей період. У зимовий період достовірним є використання камбіальних тканин для проведення діагностики.

6. На основі аналізу нуклеотидної послідовності фрагмента гена покривного білка ВНКП встановлено, що в Україні циркулюють ізоляти, які належать до двох груп: PV-96 і PV-32. Кластеризація ізолятів ВНКП підтверджує наявність трьох груп, які не залежать від рослини-господаря чи географічного походження. Встановлено нуклеотидні заміни, що впливають на кластеризацію ізолятів.

7. Продемонстровано, що при філогенетичному аналізі ізолятів ВКС, на основі нуклеотидної послідовності фрагмента гена покривного білка, вітчизняні ізоляти ідентичні на 99,6 %. Висока ідентичність українських ізолятів ВКС і відстань до відомих ізолятів (85,9—95,3 %) може свідчити про існування окремої географічної групи.

8. Уперше виділено ізоляти ВШС із типу підщепи вишня магалебська. Встановлено їх належність до штаму D, що може призвести до поширення вірусу на інші кісточкові культури.

9. Запропоновано внести зміни до чинних ДСТУ 4791:2007 і ДСТУ 4792:2007 та розширити панель патогенів для тестування рослинного матеріалу вишні, черешні та їхніх підщеп, зважаючи на ідентифіковані віруси, які циркулюють на території України.

10. Вивчено вплив вірусних інфекцій ВКС, ВНКП та їхнього комплексу на ріст і розвиток саджанців вишні та черешні в комбінуваннях із різними підщепами. Встановлено негативний вплив патогенів на приживлюваність окулянтів, ріст саджанців, вміст зелених пігментів, морозостійкість і якість саджанців.

11. Встановлено, що використання інфікованого матеріалу під час вирощування саджанців призводить до недоотримання прибутку від 154,2 до 575,2 тис. грн на 1 га.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для закладання промислових насаджень рекомендуємо використовувати такі сорти від виробництв:

- ІС НААН (с. Новосілки), сорти: Альфа, Встреча, Василіса, Валерій Чкалов, Кордія; клонові підщепи ВСЛ-2.
- ДП «ДГ Бахмутської ДСР ІС НААН» (с. Ягідне), сорти: Донецька красавиця, Донецький угольок, Шалунья; клонові підщепи Колт.
- ДП «ДГ «Мелітопольське» Мелітопольської ДСС ім. М. Ф. Сидоренка ІС НААН» (м. Мелітополь), сорти: Мелітопольська чорна, Анонс, Сказка, Крупноплідна, Встреча, Солідарність, Возрожденіє; насінневі підщепи вишня магалєбська.

2. Діагностику рослинного матеріалу рекомендуємо проводити навесні (квітень, травень), використовуючи як зразки для відбору молоді листки, а в зимові місяці — камбіальні тканини.

3. Для точного встановлення вірусологічного статусу рослин вишні, черешні та типів їхніх підщеп рекомендуємо проводити діагностику на 11 вірусних патогенів, які були ідентифіковані на території України.

4. Рекомендуємо дотримуватися фітосанітарних правил під час проведення агротехнічних заходів; вчасно проводити візуальну й лабораторну діагностику на предмет інфікування рослин патогенами; видаляти хворі дерева задля унеможливлення поширення вірусів у насадженнях.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонова Г. В., Ковирьова О. В., Лаврентьев В. М. Дослідження залежності індукції флуоресценції хлорофілу від температури та розташування сенсора на рослині. *Комп'ютерні засоби, мережі та системи*. 2015. № 14. С. 90-100
2. Бгашев В. А., Солонкин А. В., Никольская О. Меры по оздоровлению косточковых культур в НВНИИСХ. *Пермский аграрный вестник*. 2017. № 1 (17). С. 25–31.
3. Бойченко Г., Карамушка В. І., Тищенко О. В., Мохнач Р. Ю. Екологічні загрози для біорізноманіття в Києві від змін клімату. *Доповіді Національної академії наук України*. 2017. № 12. С. 102–111.
4. Бублик М. О., Патица Т. І., Китаєв О. І., Макарова Д. Г., Кривошопка В. А., Гончарук Ю. Д. Лабораторні та польові методи визначення морозостійкості плодкових порід і культур. Київ : Ін-т садівництва НААН, 2013. 26 с
5. Будзанівська І. Г., Бова Т. О., Кучерявенко О. О., Пиріг О. В., Дмитрук О. О. Особливості розвитку вірусної інфекції, спричиненої *potato virus m*, на рослинах картоплі за дії мікробних препаратів. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2014. № 20. С. 60–65.
6. Василенко В. І., Китаєв О.І. Особливості функціонування листкового апарату дерев вишні. *Вісник аграрної науки*. 2014. № 3. С. 40–44.
7. Васюта С. О. Вірусні хвороби кісточкових культур та методи їх діагностики. *Наукові доповіді НАУ*. 2008. № 2 (10). С. 42-49.
8. Васюта С. О., Рябий В. Я. Особливості використання деяких клонових підщеп кісточкових культур для вирощування черешні (*Cerasus avium* Moench.). *Садівництво*. 2017. № 72. С. 65–72.
9. Вердеревская Т. Д. Маринеску В. Г. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда. Кишинев: Штиница, 1985. 313 с.

10. Вишня Богуславка. 2021. URL : [ВИШНЯ БОГУСЛАВКА \(sad-institut.com.ua\)](http://sad-institut.com.ua)
11. Вишня Ксенія. URL: Вишня Ксенія, сорт, плоди, урожайність (sad-institut.com.ua)
12. Господарик А. В., Удовиченко К. М., Поліщук В. Діагностика вірусів плодових культур в умовах України. *Наукові записки НУКМА. Біологія та екологія*. 2005. № 43. С. 51–53.
13. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2021 рік. Київ, 2021. 523 с.
14. Дрозд О.О. Підщепи черешні. *Новини садівництва*. 2011. №2. С. 4-5
15. Дьячкова О. О. Фізіологічні реакції перцю (*Capsicum annuum L.*) на вірусну реакцію: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 03.00.12. Київ, 2003. 17 с.
16. Ефремова Л. А. Влияние селективного света на морфогенез и гормональный баланс кукурузы, инфицированной мозаичным вирусом карликовости: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.05. Томск, 2003. 11 с.
17. Зимостійкість вишні. 2021. URL : <https://agrotimes.ua/article/zimostijkist-vishni/>
18. Какарека Н. Н., Козловская З. Н., Волков Ю. Г., Плешакова Т. И., Сапоцкий М. В., Щелканов М. Ю. Неповирусы (Picornavirales, Secoviridae, Nерovirus) на Юге дальнего востока: результаты многолетнего мониторинга. *Экология микроорганизмов*. 2017. № 4. С. 105–119. DOI: <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2017-4-105-119>
19. Кирик Н. Н., Тарануха Ю. Н., Тарануха Н. П., Китаев О. І., Скрыга В. А., Артеменко Д. М. Диагностика вирусной инфекции смородины черной и малины методом индукции флуоресценции хлорофилла листков. *Вісник аграрної науки*. 2011. № 10. С. 26–28.
20. Кіщак О. А. Вишня. *Дім, сад, город*. 2018. С. 64.

21. Кіщак О. А. Підщепи інтенсивної вишні. *Садівництво по-українськи*. 2015. С. 42-47.
22. Кіщак О. А., Кіщак Ю. П. Перспективи використання підщеп кісточкових плодових культур серії KRYMSK у промислових насадженнях України. *Садівництво*. 2016. Вип. 71. С. 43-50.
23. Кондратенко П. В., Бублик О. М. Методика проведення польових досліджень з плодовими культурами. Київ: Аграрна наука, 1996. 96 с.
24. Кухарчик Н. В. Вирусные и фитоплазменные болезни плодовых и ягодных культур в Беларуси. Минск: Беларуская навука, 2012. 209 с.
25. Львов Д. К., Щелканов М. Ю. Сековирусы (*Secoviridae*). *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. Москва: Медицинское информационное агентство, 2013. С. 249–255.
26. Меженський В. М., Брусенцов В. П. Надчутливість клонових підщеп вишні та черешні до вірусної інфекції. *Садівництво*. 2006. Вип. 59. С. 177–181.
27. Методика економічної та енергетичної оцінки типів плодоягідних насаджень, помологічних сортів і результатів і технологічних досліджень у садівництві / за ред. О.М. Шестопаля. Київ, 2002. 133 с.
28. Міщенко Л. Т. Смугаста мозаїка пшениці (*Wheat streak mosaic virus*) в природних умовах і в трансформованому середовищі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук: 03.00.06. Київ, 2004. 40 с.
29. Мойсейченко В. Ф., Трифонова М. Ф., Заверюха А. Х., Ещенко В. Е. Основы научных исследований в агрономии. Москва: Колос, 1996. 335 с.
30. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. Київ: Либідь, 2005. 807 с.
31. Овруцька І. І. Уявлення про лігніфікацію клітинних стінок. *Укр. ботан. журн.* 2007. Вип. 64 (5). С. 720-729.
32. Ожерельева З. Е., Ляхова А. В. Изучение морозостойкости вишни в период зимних оттепелей методом искусственного промораживания.

Современное садоводство – Contemporary horticulture. 2019. №4. С. 57-64. DOI: <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10406>

33. Павлова С. В., Стахурська О. В. Штамове різноманіття вірусу шарки сливи в Одеській області. *Карантин і захист рослин*. 2017. № 7/9. С. 9–11.

34. Павлюк Л. В., Ряба І. А., Удовиченко К. М., Тряпціна Н. В., Бублик М. О. Фітовірусологічний стан маточних насаджень вишні та черешні в Україні. *Вісник аграрної науки*. 2019. №7 (796). С. 20 – 26. DOI: <https://doi.org/20.31073/agrovisnyk201907-3>

35. Площі, валові збори та урожайність сільськогосподарських культур за їх видами та по регіонах у 2020 році (остаточні дані). Державна служба статистики України. URL : http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2020/sg/pvzu/pvzu2020_xl.zip

36. Полунина А. В., Майборода В. П., Селезнев А.Е. Оценка методов определения площади листьев саженцев яблони. *Вісник Уманського національного університету садівництва*. 2018. №2. С. 80-82.

37. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений. Київ: Наукова думка, 1976. С. 192–218.

38. Про затвердження Переліку регульованих шкідливих організмів: Мінагрополітики України; Наказ, Перелік від 29.11.2006. № 716. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1300-06>

39. Про насіння і садивний матеріал: Закон України від 26.12.2002 р. № 411-IV. *Відомості Верховної Ради України*. 2003. № 13. Ст. 92. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/411-15>

40. Ратушняк Л. К. Поширення та діагностика вірусу шарки сливи на півдні України: дис... канд. біол. наук: 06.01.11. Київ, 2004. 152 с.

41. Рубин А. Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге. *Соросовский образовательный журнал*. 2000. № 4. С. 7–13.

42. Таранухо Ю. М. Вплив вірусної інфекції на вміст хлорофілів у листках смородини чорної та малини. *Науковий вісник Національного*

університету біоресурсів і природокористування України. 2012. Вип. 176. С. 276-279.

43. Тихонов А. Н. Трансформация энергии в хлоропластах – энергообразующих органеллах растительной клетки. *Соросовский образовательный журнал*. 1996. № 4. С. 24 – 32.

44. Тряпціна Н. В. Біотехнологічні основи отримання садивного матеріалу кісточкових (*Prunus* spp.) та ягідних (*Ribes* spp., *Rubus* spp., *Fragaria x ananassa*) культур в Україні: дис. ... д-ра. с.-г. наук : 03.00.20. Київ, 2016. 390 с.

45. Тряпціна Н. В. Регіональні особливості поширення двох іларвірусів у насадженнях кісточкових культур України. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2014. № 11. С. 132–145.

46. Тряпціна Н. В., Васюта С. О. Оцінка клонових підщеп вишнево-черешневої групи за інфікованістю вірусами плодових культур. *Вісник аграрної науки*. 2010. № 10. С. 22-24.

47. Тряпціна Н. В., Васюта С. О. Регіональні особливості поширення неповірусу скручування листя черешні в насадженнях вишні та черешні. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2010. № 12. С. 130–139.

48. Тряпціна Н. В., Медведєва Т. В., Шевчук Н. В. Методи експрес діагностики та основного тестування кісточкових культур на наявність прихованої вірусної інфекції: науково-методичні рекомендації. Київ, 2015. 43 с.

49. Тряпціна Н. В., Ярещенко О. М., Медведєва Т. В., Удовиченко К. М., Лушпіган О. П., Супрун К. І. Віруси, що домінують в насадженнях кущових ягідних культур. *Садівництво*. 2013. № 67. С. 193–203.

50. Улинець В. З. Вплив вірусної інфекції на спектральні характеристики фотосинтетичного апарату рослин родини *Solanaceae*: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 03.00.06. Київ, 2002. 22 с.

51. Упадышев М. Т., Метлицкая К. В., Петрова А. Д. Распространенность вирусных болезней плодовых и ягодных культур. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2017. № 44. С. 5–16.
52. Фатьянов В. И. Берегитесь вирусов. URL: <https://garden.wikireading.ru/7844>
53. Цвільов М.М. Оцінка вегетативно розмножуваних підщеп вишні в першому полі розсадника в умовах північно-східного Лісостепу України. *Науковий вісник Національного аграрного університету*. 2009. Вип. 133. С. 219-222.
54. Черешня Ніжність. 2021. URL: [Черешня Ніжність, сорт, плоди, урожайність \(sad-institut.com.ua\)](http://sad-institut.com.ua)
55. Чернюк С. О., Бойко А. Л., Корнєєв Д. Ю., Маменко П. М. Вплив вірусу смугастої мозаїки пшениці на параметри індукованої флюоресценції рослин *Triticum aestivum*. *Биополимеры и клетка*. 1999. Т. 15. № 5. С. 445-448
56. Юсько Л. С., Чумак В. О., Снігур Г. О. Попелиці – потенційні вектори вірусу шарки сливи в Закарпатті. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2008. № 24. С. 96–99.
57. 7 common cherry tree diseases and how to treat them. 2021. URL: [7 Common Cherry Tree Diseases and How to Treat Them - Lawnstarter](https://www.lawnstarter.com/blog/7-common-cherry-tree-diseases-and-how-to-treat-them/)
58. Adams M. J., Candresse T., Hammond J., Kreuze J.F., Martelli G.P., Namba M.N., Ryu K.H., Saldarelli P., Yoshikawa N. Family *Betaflexiviridae*. In: King A.M.Q., Adams M. J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (Eds) *Virus taxonomy – ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. San Diego: Academic Press, 2012. P. 920–941.
59. Albreehtova L., Chod J., Zimandl B. Identification of tomato bushy stunt virus in leaves of cherry trees suffering from detrimental canker. *Phytopathol. Z.* 1975. Vol. 82. P. 25–34.
60. Albreehtova L., Polak J., Kudela V. Occurrence of tomato bushy stunt virus in *Prunus* sp. in Czechoslovakia. *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hungaricae*. 1980. Vol. 15. P. 319–322.

61. Allen W. R., Davidson T. R., Briscoe M. R. Properties of a strain of strawberry latent ringspot virus isolated from sweet cherry growing in Ontario. *Phytopathology*. 1970. Vol. 60. P. 1262–1265. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-60-1262>.
62. Allen W. R., Davidson T. R. Tomato bushy stunt virus from *Prunus avium* L. I. Field studies and virus characterization. *Canadian Journal of Botany*. 1967. Vol. 45, No. 12. P. 2375–2383. DOI: <https://doi.org/10.1139/b67-251>
63. Al-Rwahnih M., Myrta A., Abou-Ghanem N., Di Terlizzi B., Savino V. Viruses and viroids of stone fruits in Jordan. *Bulletin OCEP/CPPO Bulletin*. 2001. Vol. 31. P. 95–98.
64. Amari K., Burgos L., Pallas V., Sanchez-Pina M. A. Vertical transmission of Prunus necrotic ringspot virus: hitch-hiking from gametes to seedling. *Journal of General Virology*. 2009. Vol. 90 (7). P. 1767–1774. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.009647-0>
65. Amari K., Burgos L., Pallás V., Sánchez-Pina M. A. Prunus necrotic ringspot virus early invasion and its effects on apricot pollen grains performance. *Phytopathology*. 2007. Vol. 97. P. 892–899.
66. Andersone D., Wustenberghs H., Cook N. C., Keulemans J. Effect of infection by viruses on vegetative and reproductive growth of sweet cherry on Damil and Inmil rootstocks. *Horticultural Science*. 2002. Vol. 29 (3). P. 99-104. DOI: <https://doi.org/10.17221/4471-HORTSCI>
67. Ansel-McKinney P., Gehrke L. RNA determinants of a specific RNA-coat protein peptide interaction in Alfalfa mosaic virus: conservation of a homologous features in Ilarvirus RNAs. *Journal of Molecular Biology*. 1998. Vol. 278. P. 767–785. DOI: <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.1656>
68. Aparicio F., Pallás V. Molecular variability analysis of the RNA 3 of fifteen isolates of Prunus necrotic ringspot virus sheds light on the minimal requirements for the synthesis of the subgenomic RNA. *Virus Genes*. 2002. Vol. 25. P. 75–84. DOI: <http://doi.org/10.1023/a:1020126309692>

69. Aparicio F., Sánchez-Navarro J. A., Pallás V. In vitro and in vivo mapping of the Prunus necrotic ringspot virus coat protein C-terminal dimerization domain by bimolecular fluorescence complementation. *Journal of General Virology*. 2006. Vol. 87. P. 1745–1750. DOI: <http://doi.org/10.1099/vir.0.81696-0>
70. Aparicio F., Sanchez-Pina M. A., Sanchez-Navarro J. A., Pallas V. Location of Prunus necrotic ringspot ilarvirus within pollen grains of infected nectarine trees: evidence from RT-PCR, dot-blot and in situ hybridization. *European Journal of Plant Pathology*. 1999. Vol. 105. P. 623–627.
71. Apple (*Malus* spp.)-Virus Diseases. URL: Apple (Malus spp.)-Virus Diseases | Pacific Northwest Pest Management Handbooks (pnwhandbooks.org)
72. Arabis mosaic nepovirus. EPPO Global Database. URL: https://gd.eppo.int/download/doc/28_datasheet_ARMV00.pdf
73. Arli-Sokmen M. A., Yilmaz N., Mennan H., Sevik M. A. Natural weed hosts of Apple mosaic virus in hazelnut orchards in Turkey. *Journal of Plant Pathology*. 2005. Vol. 87. P. 239–242.
74. Bachman E. J., Scott S. W., Xin G., Vance V. B. The complete nucleotide sequence of Prune Dwarf Iilarvirus RNA 3: implications for coat protein activation of genome replication in Iilarviruses. *Virology*. 1994. Vol. 201 (1). P. 127–131. <http://doi.org/10.1006/viro.1994.1272>
75. Bandte M., Büttner C. A review of an important virus of deciduous trees – Cherry leaf roll virus: occurrence, transmission and diagnosis. *Pflanzenschutzberichte*. 2001. Vol. 59, No 2. P. 1–19.
76. Bandte M., Eschevarria-Laza H. J., Paschek U., Ulrichs C., Pestemer W., Schwarz D., Büttner C. Transmission of plant viruses by water. In: Fischer G., Magnitskiy S., Flórez L. E., Miranda D., Medina A. (Eds.). *Sociedades Columbiana de Ciencias Horticolas*. In: *Proceedings of the 2nd Columbian Congress for Horticulture*, Bogota, Columbia, 12–14 Sept. 2007. P. 31–43.
77. Barba M., Hadidi A., Candresse T., Cambra, M. Plum pox virus. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann, W. (Eds.). *Virus and Virus-like*

Disease of Pome and Stone Fruits. St. Paul, Minnesota: APS Press, 2011. P. 185–197.

78. Blattny C. Destructive canker, a virus disease of cherries. *Sbornik Ceskoslovenske Akademie Zemedelskyeh Ved. Rada C. Rostlinna Vyroba*. 1962. Vol. 8. P. 577–588.

79. Bodin M., Glasa M., Verger D., Costes E., Dosba F. Distribution of the sour cherry isolate of Plum pox virus in infected *Prunus* rootstocks. *J. Phytopathol.* 2003. Vol. 151. P. 625–630. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.0931-1785.2003.00777.x>

80. Boeglin M., Quiot J. B., Labonne G. Risk assessment of contamination of cherry trees by Plum pox virus in France. *Acta horticultrae*. 2004. Vol. 657. P. 221–224. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.657.32>

81. Bol J. F. Replication of alfamo- and ilarviruses: role of the coat protein. *Annual Review of Phytopathology*. 2005. Vol. 43. P. 39–62. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.101804.120505>

82. Borisova A. Effect of infection by ilarviruses on vegetative growth of sweet cherry in nursery and young trees. *Scientific Papers. Series B. Horticulture*. 2018. Vol. 62. P. 17-20.

83. Boulila M. Molecular characterization of an almond isolate of Prune dwarf virus in Tunisia: putative recombination breakpoints in the partial sequences of the coat protein-encoding gene in isolates from different geographic origin. *Journal of Genetics*. 2009. Vol. 48. P. 411–421.

84. Brown D. F., Murrant A. F., Trudgill D. L. Differences between isolates of the English serotype of tomato black ring virus in their transmissibility by an English population of *Longidorus attenuatus* (Nematoda: Dorylaimoidea). *Revue Nematologie*. 1989. Vol. 12. P. 51–56.

85. Brown D. J., Halbrendt J. M., Robbins R. T., Vrain T. C. Transmission of Nepoviruses by Xiphinema americanum-group Nematodes. *J. Nematol.* 1993. Vol. 25, No. 3. P. 349–354.

86. Brunt A. A., Crabtree K., Dallwitz M. J., Gibbs A. J., Watson L. Nepoviruses: *Comoviridae*; Tomato black ring nepovirus. *Plant viruses online: descriptions and lists from the VIDE database (version 16th)*. 1997.
87. Bujarski J., Figlerowicz M., Gallitelli D., Roossinck M. J., Scott S. W. Family *Bromoviridae*. In: *Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2012. P. 965–976.
88. Cadman C. H. Studies on the etiology and mode of spread of Scottish Raspberry leaf curl disease. *Journal of Horticultural Science*. 1956. Vol. 31. P. 111–118.
89. Çağlayan K., Ulubas-Serce C., Gazel M., Varveri C. Prune dwarf virus. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. (Eds.). *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2011. P. 199–205.
90. Cambra M., Capote N., Myrta A., Llacer G. Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. *Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin*. 2006. Vol. 36. P. 202–204. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2006.01027.x>
91. Candresse T., Svanella-Dumas L., Gentit P., Caglayan K., Cevik B. First report of the presence of Plum pox virus Rec strain in Turkey. *Plant Dis*. 2007. Vol. 91. P. 331.
92. Capote N., Cambra M., Botella P., Gorris M., Martinez M., Lopez-Quilez A., Cambra M. Detection, characterization, epidemiology and eradication of Plum pox virus Marcus type in Spain. *J. Plant Pathol*. 2010. Vol. 92. P. 619–628.
93. Card S. D., Pearson M. N., Clover G. R. G. Plant pathogens transmitted by pollen. *Australas Plant Pathol*. 2007. Vol. 36. P. 455–461.
94. Carnation ringspot virus. 2021. URL: [Carnation ringspot virus \(cabi.org\)](http://cabi.org)

95. Certification scheme for cherry: Standard of European and Mediterranean Plant Protection Organization No. PM 4/29 (1). *EPPO Bulletin*. 2000. Vol. 31. P. 447–462.

96. Cervera M. T., Riechmann J. L., Martín M. T., García J. A. 3'-Terminal sequence of the plum pox virus PS and o⁶ isolates: evidence for RNA recombination within the potyvirus group. *J. Gen. Virol.* 1993. Vol. 74. P. 329–334.

97. Çevik B., Yardimci N., Çulal-Kiliç H. Detection of viruses infecting stone fruits in western Mediterranean region of Turkey. *Plant Pathology Journal*. 2011. Vol. 27. P. 44–52. DOI: <https://doi.org/10.5423/PPJ.2011.27.1.044>

98. Cherry (Prunus spp.)-Prunus Necrotic Ringspot. 2021. URL: <https://pnwhandbooks.org/plantdisease/host-disease/cherry-prunus-spp-prunus-necrotic-ringspot>

99. Chirkov S., Ivanov P., Sheveleva A., Zakubanskiy A., Osipov G. New highly divergent Plum pox virus isolates infecting sour cherry in Russia. *Virology*. 2017. Vol. 502. P. 56–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.12.016>

100. Chirkov S., Sheveleva A., Ivanov P., Zakubanskiy A. Analysis of genetic diversity of Russian sour cherry Plum pox virus isolates provides evidence of a new strain. *Plant Disease*. 2018. Vol. 102. P. 569–75. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-17-1104-RE>

101. Choueiri E., Abou Ghanem-Sabanadzovic N., El Zammar S., Jreijiri F. Viruses of stone fruit trees in Lebanon. In: Myrta A., Di Terlizzi B., Savino V. (Eds.). *Virus and virus-like diseases of stone fruits, with particular reference to the Mediterranean region*. Bari: CIHEAM, 2003. p. 25-27.

102. Christov I., Stefanov D., Velinov T., Goltsev V., Georgieva K., Abracheva P., Genovab Y., Christov N. The symptomless leaf infection with grapevine leafroll associated virus 3 in grown in vitro plants as a simple model system for investigation of viral effects on photosynthesis. *J. Plant Physiol.* 2007. Vol. 164 (9). P. 1124–1133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.016>

103. Clark M. F., Adams A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of*

General Virology. 1977. Vol. 34 (3). P. 475–483. DOI:<https://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475>

104. Cochran L. C., Hutchins L. M. A severe ring spot virosis on peach. *Phytopathology*. 1941. Vol. 31. P. 860.

105. Compatibility / Incompatibility. URL: [Compatibility \(cornell.edu\)](http://Compatibility.cornell.edu)

106. Cooper J. I., Massalski P. R., Edwards M. L. Cherry leaf roll virus in the female gametophyte and seed of birch and its relevance to vertical transmission. *Ann Appl Biol*. 1984. Vol. 105. P. 55–64.

107. Crescenzi A., d'Aquino L., Comes S., Nuzzaci M., Piazzolla P., Boscia D., Hadidi A. Characterization of the sweet cherry isolate of plum pox potyvirus. *Plant Dis*. 1997. Vol. 81. P. 711–714. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.7.711>

108. Copley R. Viruses causing rasp leaf and similar disorders of sweet cherry. *Annals of Applied Biology*. 1961. Vol. 49. P. 530–534.

109. Crosslin J. M., Eastwell K. C., Davitt C. M., Abad J. A. First report of seedborne Cherry leaf roll virus in wild potato, *Solanum acaule*, from South America. *Plant Dis*. 2010. Vol. 94. P. 782. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-6-0782C>

110. Csihon Á., Bicskei D. K., Dremák P., Gonda I. Performance of sweet cherry cultivars grafted on Colt rootstock. *International Journal of Horticultural Science*. 2018. Vol. 24 (1-2). P. 7–10. DOI: <https://doi.org/10.31421/IJHS/24/1-2./1540>

111. Cui Z.-H., Agüero C. B., Wang Q.-C., Walker M. A. Validation of micrografting to identify incompatible interactions of rootstocks with virus-infected scions of Cabernet Franc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2019 Vol. 25 (3). P. 1-8. DOI:<https://doi.org/10.1111/ajgw.12385>

112. Cui L., Ge Y., Qi X., Xu G., Li H., Zhao K., Wu B., Shi Z., Guo X., Hu L., You Q., Zhang L.-H., Freiberg A. N., Yu X., Wang H., Zhou M., Tang Y.-W. Detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus by reverse

transcription–crosspriming amplification coupled with vertical flow visualization. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012. Vol. 50. P. 3881–3885.

113. Dallot S., Glasa M., Jevremovic D., Kamenova I., Paunovic S., Labonne G. Mediterranean and central-eastern European countries host viruses of two different clades of plum pox virus strain M. *Arch. Virol.* 2011. Vol. 156. P. 539–542.

114. Damsteegt V. D., Scorza R., Stone A. L., Schneider W. L., Webb K., Demuth M., Gildow F. E. Prunus host range of Plum pox virus (PPV) in the United States by aphid and graft inoculation. *Plant Dis.* 2007. Vol. 91. P. 18–23.

115. Dehkordi A. N., Babaeian N., Karimpour S., Martínez-Gómez P., Rubio M., Bagheri N. Sharka (Plum pox virus): a forgotten disease in Iran. *International Journal of Horticultural Science and Technology*. 2017. Vol. 4, No. 2. P. 183-191. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhst.2017.241714.205>

116. Delano J., Varga, A., Sanderson D. Genetic diversity of *Plum pox virus*: strains, disease and related challenges for control. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2013. Vol. 35 (4). P. 431–441. DOI: <https://doi.org/10.1080/07060661.2013.828100>

117. Desvignes J. C., Boyé, R. Different diseases caused by the chlorotic leaf spot virus on the fruit trees. *Acta Horticulturae*. 1989. Vol. 235. P. 31–38. DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.1989.235.3>

118. Dogra K., Kour K., Kumar R., Bakshi P., Kumar V. Graft-Incompatibility in Horticultural Crops. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2018. Vol. 7 (2). P. 1805–1820. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.218>

119. Dosba F., Maison P., Lansac M., Massonie G. Experimental transmission of plum pox virus (PPV) to *Prunus mahaleb* and *Prunus avium*. *J. Phytopathology*. 1987. Vol. 120. P. 199–204.

120. Dullemans A. M., Botermans M., de Kock M. J. D., de Krom C. E., van der Lee T. A. J., Roenhorst J. W., Stulemeijer I. J. E., Verbeek M., Westenberg M., van der Vlugt R. A. A. Creation of a new genus in the

family Secoviridae substantiated by sequence variation of newly identified strawberry latent ringspot virus isolates. *Archives of Virology*. 2020. Vol. 165. P.21–31.

121. Dzhuvinov V., Bozhkova S., Milusheva V., Gercheva S. Investigation of Plum Pox Virus in Bulgaria for the past 70 years. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2007. Vol. 13. P. 265-272.

122. Ebel R., Schnabel A., Reustle G. M., Krczal G., Wetzel T. Complete nucleotide sequence of an isolate of the nepovirus Raspberry ringspot virus from grapevine. *Virus Research*. 2003. Vol. 97. P. 141–144.

123. Elena S. F. Evolutionary constraints on emergence of plant RNA viruses. In: *Recent Advances in Plant Virology*. Norfolk: Caister Academic Press; 2011. P. 283 – 300.

124. Faggioli F., Ferretti L., Pasquini G., Barba M. Detection of Strawberry latent ring spot virus in leaves of olive trees in Italy using a one-step RT-PCR. *Journal of Phytopathology*. 2002. Vol. 150. P. 636–639. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2002.00810.x>

125. Fang R., Li X., Hu L., You Q., Li J., Wu J., Xu P., Zhong H., Luo Y., Mei J., Gao Q. Cross-priming amplification for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens. *Journal of Clinical Microbiolog.* 2009. Vol. 47. P. 845–847. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01528-08>

126. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985. Vol. 39. P. 783–791. DOI: <https://doi.org/10.2307/2408678>

127. Fiore N., Zamorano A. First report of Cherry green ring mottle virus and Cherry necrotic rusty mottle virus in sweet cherry (*Prunus avium*) in Chile and South America. *Plant Disease*. 2013. Vol. 97. P. 1122. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-13-0010-PDN>

128. Fonseca F., Neto J. D., Martins V., Nolasco G. Genomic variability of Prune dwarf virus as affected by agricultural practice. *Archives of Virology*. 2005. Vol. 150. P. 1607–1616.

129. Fuchs E., Gruentzig M., Bassei, A. K. Der serologische Nachweis mechanisch übertragbarer Viren des Kern- und Steinobstes. *Nachrichtenbl. Pflanzenschutzdienst DDR*. 1988. Vol. 42. P. 208-211.
130. Fulton R. W. Prune dwarf virus. *CMI/AAB Descriptive Plant Viruses*. 1970. Vol. 3. P. 23–25.
131. García A., Glasa M., Cambra M., Candresse T. Plum pox virus and sharka: a model potyvirus and a major disease. *Molecular plant pathology*. 2014. Vol. 15 (3). P 226–241.
132. Gentit P., Foissac X., Svanella-Dumas L., Peypelut M., Macquaire G., Candresse T. Molecular characterization of foveaviruses associated with the cherry necrotic mottle leaf disease and complete sequencing of an European isolate of cherry green ring mottle virus. *Arch. Virol*. 2002. Vol. 147. P. 1033–1042.
133. Glasa M., Bertinova E., Kudela O., Šubr Z. Biological and molecular characterization of Prunus necrotic ringspot virus isolates and possible approaches to their phylogenetic typing. *Annals of Applied Biology*. 2002. Vol. 140. P. 279–283.
134. Glasa M., Candresse T. Partial sequence analysis of an atypical Turkish isolate provides further information on the evolutionary history of Plum pox virus (PPV). *Virus Res*. 2005. Vol. 108. P. 199–206.
135. Glasa M., Candresse T., The SharCo Consortium. A large scale study of Plum pox virus genetic diversity and of its geographical distribution. In: *22nd International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops*, Rome, Book of Abstracts, 2012. P. 38.
136. Glasa M., Malinowski T., Predajna L., Pupola, N., Dekena D., Michalczuk L., Candresse T. Sequence variability, recombination analysis, and specific detection of the W strain of Plum pox virus. *Phytopathology*. 2011. Vol. 101. P. 980–985.
137. Glasa M., Palkovics L., Komínek P., Labonne G., Pittnerova S., Kudela O., Candresse, T. and Šubr, Z. Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of Plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *J. Gen. Virol*. 2004. №85. P. 2671–2681.

138. Glasa M., Prikhodko Y., Predajna L., Nagyová A., Shneyder Y., Zhivaeva T., Šubr Z., Cambra M., Candresse T. Characterization of sour cherry isolates of plum pox virus from the Volga Basin in Russia reveals a new cherry strain of the virus. *Phytopathology*. 2013. №103. P. 972–979.
139. Glasa M., Svanella L., Candresse, T. The complete nucleotide sequence of the Plum pox virus El Amar isolate. *Arch. Virol.* 2006. Vol. 151. P. 1679–1682.
140. Glasa M., Benediková D., Predajňa L. First report of little cherry virus-1 in Slovakia. *Journal of Plant Pathology*. 2015. Vol. 97 (3). P. 541–551. DOI: <http://doi.org/10.4454/JPP.V97I3.006>
141. Gospodaryk A., Moroèko-Bièevska I., Pûpola N., Kâle A. Occurrence of stone fruit viruses in plum orchards in Latvia. *Proceedings of the Latvian academy of sciences*. 2013. Vol. 2. P. 116–123.
142. Grimová L., Winkowska L., Konrady W., Ryšán P. Apple mosaic virus. *Phytopathologia Mediterranea*. 2016. Vol. 55 (1). P. 1–19 DOI: https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-16295
143. Grimová L., Winkowska L., Ryšánek P., Svoboda P. Petrzik K. Reflects the coat protein variability of Apple mosaic virus host preference. *Virus Genes*. 2013. Vol. 47. P. 119–125.
144. Gruentzig M., Fuchs E., Kratkova J., Kegler H., Kleinhempel H., Richter I. On the causal agent of detrimental canker of sweet and mazzard cherry in the east Germany. *Arch. Phytopathol. Pfl.* 1989. Vol. 25. P. 203–207.
145. Guan W., Zhao X., Hassell R., Thies J. Defense mechanisms involved in disease resistance of grafted vegetables. *HortScience*. 2012. Vol. 47. P. 164–170. DOI: <https://doi.org/10.21273/hortsci.47.2.164>
146. Guo D.-P., Guo Y.-P., Zhao J.-P., Liu H., Peng Y., Wang Q.-M. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsatsai*) after turnip mosaic virus infection. *Plant Sci*. 2005. Vol. 168. P. 57–63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.019>

147. Guo W., Zheng W., Wang M., Li X., Ma Y., Dai H. Genome sequences of three apple chlorotic leaf spot virus isolates from hawthorns in China. *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11 (8). DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0161099>
148. Hammond R. Prunus necrotic ring spot virus. In: *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. St. Paul, Minnesota: APS Press, 2011. P. 207–213.
149. Hammond R. W. Phylogeny isolates of Prunus necrotic ringspot virus from the ilarvirus ringtest and identification of group-specific features. *Archives of Virology* 2003. Vol. 148. P. 1195–1210.
150. Hansen A., Yorston J. New virus in cherries. *British Columbia Orchardist*. 1975. Vol. 15. P. 10–11.
151. Harper S. J., Delmiglio C., Ward L. I., Clover G. R. G. Detection of Tomato black ring virus by realtime one-step RT-PCR. *Journal of Virological Methods*. 2011. Vol. 171, No. 1. P. 190–194.
152. Harrison B. D., Mowat P., Taylor C. E. Transmission of a strain of tomato black ring virus by *Longidorus elongatus* (Nematoda). *Virology*. 1961. Vol. 14, No 4. P. 480–485.
153. Herbers K., Takahata Y., Melzer M., Mock H. P., Hajirezaei M., Sonnewald U. Regulation of carbohydrate partitioning during the interaction of potato virus Y with tobacco. *Mol. Plant Pathol.* 2000. №1. P. 51–59. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2000.00007.x>
154. Herrera G., Madariaga M. Presence and incidence of grapevine viruses in the central zone of Chile. *Agricultura Tecnica*. 2001. Vol. 61. P. 393–400.
155. Hollings M., Stone O. M. Serological and Immunoelectrophoretic relationships among viruses in Tombus-virus group. *Ann. Appl. Biol.* 1975. Vol. 80. P. 37–48.
156. Holmes E. C. The evolution and emergence of RNA viruses. In: Harvey P. H., May R. M. (Eds.). *Oxford Series in Ecology and Evolution*. Oxford: Oxford University Press; 2009. 416 p.

157. Honjo M. N., Emura N., Kawagoe T., Sugisaka J., Kamitani M., Nagano A. J., Kudoh H. Seasonality of interactions between a plant virus and its host during persistent infection in a natural environment. *The ISME Journal*. 2020. Vol. 14. P. 506–518. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0519-4>
158. Huff D. E., Davis R. F., Myers R. F. *Longidorus breviannulatus* as a vector for brome mosaic virus. *J. Nematol.* 1987. Vol. 19, No 1. P. 143–146.
159. Hull R. Matthews' Plant Virology, 4th ed. New York: Academic Press, 2002. 1029 p.
160. Huo Y. Y., Li G. F., Qiu Y. H., Li W. M., Zhang Y. J. Rapid detection of prunus necrotic ringspot virus by reverse transcription-cross-priming amplification coupled with nucleic acid test strip cassette. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16536-6>
161. Ipach U., Altmayer B., Eichhorn K. Detection of arabis mosaic virus using the polymerase chain reaction (PCR). *Vitis*. 1992. Vol. 31. P. 213–219.
162. Isogai M., Aoyagi J., Nakagawa M., Kubodera Y., Satoh K., Katoh T., Inamori M., Yamashita K., Yoshikawa N. Molecular detection of five cherry viruses from sweet cherry trees in Japan. *Journal of General Plant Pathology*. 2004. Vol. 70. P. 288–291.
163. James D., Thompson D. Hosts and symptoms of Plum pox virus: ornamental and wild Prunus species. *EPPO Bull.* 2006. №36. P. 222–224.
164. James D., Varga A. Nucleotide sequence analysis of Plum pox virus isolate W3174: evidence of a new strain. *Virus Res.* 2005. Vol. 110. P. 143–150.
165. Jänes H., Pae A. 2004. Evaluation of nine sweet cherry clonal rootstocks and one seedling rootstock. *Agronomy research*. Vol. 2 (1). P. 23–27.
166. Jarrar S., Myrta A., Di Terlizzi B., Savino V. Viruses of stone fruits in Palestine. *Acta Horticulturae*. 2001. Vol. 550. P. 245–248. DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.550.34>
167. Jaspars E. M. J. Interaction of Alfalfa mosaic virus nucleic acid and protein. In: *Molecular plant virology*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1985. P. 155–221.

168. Jelkmann W. Cherry Detrimental Canker In: *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. St. Paul, MN: APS Press, 2011a. P. 111–114.
169. Jelkmann W., Rott M., Uyemoto J. K. Cherry green ring mottle virus. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. (Eds.). *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2011b. P. 115–117.
170. Jelkmann W., Sanderson D., Berwarth C., James D. First detection and complete genome characterization of a Cherry (C) strain isolate of plum pox virus from sour cherry (*Prunus cerasus*) in Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2018. Vol. 125 (3). P. 267–272. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-018-0155-7>
171. Jeong J., Ju H., Noh J. A review of detection methods for the plant viruses. *Research in Plant Disease*. 2014. Vol. 20. P. 173–181.
172. Jones A. T., McElroy F. D., Brown D. J. F. Tests for transmission of cherry leaf roll virus using Longidorus, Paralongidorus and Xiphinema nematodes. *Ann Appl Biol*. 1981. Vol. 99. P. 143–150.
173. Jordovic M. The effects of sources of infection on the epidemiology of plum pox disease. *Tagungsber*. 1968. Vol. 97. P. 301–308.
174. Kalashyan J. A., Bilkej N. D., Verderevskaya T. D., Rubina E.V. Plum pox virus on sour cherry in Moldova. *EPPO Bull*. 1994. Vol. 24. P. 645–649. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1994.tb01078.x>.
175. Kamenova I., Borisova A., Popov A. Incidence and genetic diversity of Prune dwarf virus in sweet and sour cherry in Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2019. Vol. 33 (1). P. 980–987. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1637278>
176. Kaya K., Gazel M., Ulubaş Serçe Ç., Elçi E., Can Cengiz F., Cambra M., Çağlayan, K. Potential vectors of Plum pox virus in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Entomologia Generalis*. 2014. Vol. 35 (2), 137–150. DOI: <http://doi.org/10.1127/0171-8177/2014/0019>

177. Kegler G. Kontzog H. G. 1990. Non-vectorred transmission of plant viruses. In: *Proceedings of the First Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors*. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, 1990. P. 159–162.
178. Kegler G., Schimanski H. Investigations on the spread and seed transmissibility of tomato bushy stunt virus in pome and stone fruit in the GDR. *Arch. Phytopathol Pfl.* 1982. Vol. 18. P. 105–109.
179. Kerlan C., Dunez J. Différenciation biologique et sérologique des souches du virus de la sharka. *Ann. Phytopathol.* 1979. Vol. 11. P. 241–250.
180. Kinoti W. M., Constable F. E., Nancarrow N., Plummer K. M., Rodoni, B. Analysis of intra-host genetic diversity of Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) using amplicon next generation sequencing. *PLOS ONE*. 2017. Vol. 12 (6), DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0179284>
181. Koenig R., Kunze L. Identification of Tombusvirus Isolates from Cherry in Southern Germany as Petunia Asteroid Mosaic Virus. *Journal of Phytopathology*. 1982. Vol. 103 (4). P. 361–368.
182. Koenig R., Lesemann D. E. Plant viruses in German rivers and lakes. *Phytopathology*. 1985. Vol. 112. P. 105–116.
183. Kolber M., Nemeth M., Krizabi L., Szemes M., Kiss-Toth E. Detectability of Prunus necrotic ringspot and Plum pox virus by RT-PCR, ELISA and indexing on woody indicators. *Acta Hortic.* 1998. Vol. 472. P. 243–248.
184. Komínek P., Svoboda P., N. Aboughanem. Improved detection of arabis mosaic virus in grapevine and hop plants. *Acta Virologica*. 2003. Vol. 47 (3). P. 199–200.
185. Komorowska B., Ciecelińska M. First report of cherry virus and little cherry virus-1 in Poland. *Plant Disease*. 2004. Vol. 88. P. 909. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.8.909C>
186. Kondratenko P., Udovichenko V. Plum pox virus (PPV) in Ukraine. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2006. Vol. 36 (2). P. 217.

187. Kong H., Ranalli T., Lemieux B. New isothermal molecular diagnostic platforms. *IVD Technol.* 2007. Vol. 13. P. 35–43.
188. Koziel E., Bujarski J., Otulak K. Molecular biology of prune dwarf virus — a lesser known member of the bromoviridae but a vital component in the dynamic virus–host cell interaction network. *International Journal of Molecular Sciences.* 2017. Vol.18 (12). P. 2733. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms18122733>
189. Koziel E., Otulak-Koziel K., Bujarski J. Ultrastructural Analysis of Prune Dwarf Virus Intercellular Transport and Pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences.* 2018. Vol. 19. P. 2570. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19092570>
190. Kulshrestha S., Hallan V., Raikhy G., Ram R., Zaidi A. A. Strawberry latent ringspot virus infecting roses in India. *Plant disease.* 2004. Vol. 88, No. 1. P. 86.
191. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution.* 2018. Vol. 35. P. 1547–1549. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
192. Kunze L. Prune dwarf virus. In: Smith I. M., Dunez J., Lelliot R. A., Philips D. H., Archer S. A. (Eds.). *European hand-book of plant diseases.* Oxford (UK): Blackwell Scientific Publications, 1988. P. 15–17.
193. Kunze L., Krause C., Koenig R. Appearance of a viral twig necrosis on sweet cherry detrimental canker in southern West Germany. *Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzdienstes.* 1983. Vol. 35. P. 17–21.
194. Kutsenko O., Budzanivska I., Shevchenko O. Genetic diversity of Plum pox virus in Ukraine. *Biopolymers and Cell.* 2019. Vol. 35. P. 476–485.
195. Kuzmitskaya P., Titok V., Anoshenko B., Urbanovich O. Molecular variability of Apple chlorotic leaf spot virus isolated in Belarus. *Environmental and Experimental Biology.* 2016. Vol. 14. P. 121–126.
196. Kuznetsova A. P., Soltani G. A., Tyshchenko E. L., Drygina A. I. Study of scion-rootstock combinations and root plants of sakura under the conditions of

damp subtropics of Russia. *Bull. of the State Nikit. Botan. Gard.* 2019. Vol. 130. P. 79–85.

197. Kyseláková H., Prokopová J., Nauš J., Novák O., Navrátil M., Šafářová, D., Spundová M., Ilík P. Photosynthetic alterations of pea leaves infected systemically by pea enation mosaic virus: a coordinated decrease in efficiencies of CO₂ assimilation and photosystem II photochemistry. *Plant Physiol. Biochem.* 2011. №49. P. 1279–1289. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.08.006>

198. Laín S., Riechmann J. L., García, J. A. The complete nucleotide sequence of plum pox potyvirus RNA. *Virus Res.* 1989. Vol. 13. P. 157–172.

199. Lang G. A., Ophardt D. Intensive crop regulation strategies in sweet cherries. *Acta Horticulturae.* 2000. Vol. 514. Vol. 227–234.

200. Lang G., Howell W., Mink G. Cherry Rootstock. Virus Research Update. *Good Fruit Grower.* 1996. Vol.47 (10). P. 22-27.

201. Lang G.A. Precocious, dwarfing, and productive – how will new cherry rootstocks impact the sweet cherry industry? *Hort Technology.* 2000. Vol. 10. P. 719–725. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.10.4.719>

202. Le May C., Potage G., Andrivon D., Tivoli B., Outreman Y. Plant disease complex: antagonism and synergism between pathogens of the ascochyta blight complex on pea. *Journal of Phytopathology.* 2009. Vol. 157. P. 715-721. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01546.x>

203. Lee J. M., Kubota C., Tsao S. J., Bie Z., Echevarria P. H., Morra L. Current status of vegetable grafting: diffusion, grafting techniques, automation. *Sci. Hortic.* 2010. Vol. 127. P. 93–105. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.08.003>

204. Lee S. Y., Yea M. C., Back C. G., Choi K. S., Kang I. K., Lee S. H., Jung H. Y. Survey of Cherry necrotic rusty mottle virus and Cherry green ring mottle virus incidence in Korea by Duplex RT-PCR. *Plant Pathology Journal.* 2014. Vol. 30. P. 445–449.

205. Levy L., Damsteegt V., Scorza R., Kolber, M. Plum Pox Potyvirus Disease of Stone Fruits. *APSnet Features*. 2000. DOI: <https://dx.doi.org/10.1094/APSnetFeature-2000-0300>
206. Lievens B., Grauwet T. J. M. A., Cammue B. P. A., Thomma B. P. H. J. Recent developments in diagnostics of plant pathogens: a review. *Recent Res. Dev. Microbiol.* 2005. Vol. 9. P. 57–79.
207. Lin C.-Y., Chang L., Lin Y.-H., Cheng H.-J., Wu M.-L., Hung T.-H. Biological and molecular characterization of Citrus tatter leaf virus in Taiwan. *Plant Pathology*. 2017. Vol. 67 (4). DOI:<https://doi.org/10.1111/ppa.12806>
208. Lister R. M. Strawberry latent ringspot: a new nematode-borne virus. *Ann. Appl. Biol.* 1964. Vol. 54. P. 167–176.
209. Little cherry virus – datasheet. CABI: Invasive Species Compendium. 2019. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/16072>
210. Llácer G. Hosts and symptoms of Plum pox virus: herbaceous hosts. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2006. Vol. 36 (2). P. 227–228.
211. Lommel S. A., Martelli G. P., Rubino L., Russo M. *Tombusviridae*. In: Fauquet C. M., Mayo M. A., Maniloff I., Desselberger U., Ball L. A. (Eds.). *Virus Taxonomy - Eighth Report on the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2005. P. 907–936.
212. Lopez M. M., Llop P., Olmos A., Marco-Noales E., Cambra M., Bertolini E. Are molecular tools solving the challenges posed by detection of plant pathogenic bacteria and viruses? *Curr. Issues Mol. Biol.* 2008. Vol. 11. P. 13–45.
213. Lowery T. D., Vickers P. M., Bittner L. A., Stobbs, L. W., Footitt, R. G. Aphid Transmission of the Ontario Isolate of Plum Pox Virus. *Journal of Economic Entomology*. 2015. Vol. 108 (5). P. 2168–2173. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/tov172>
214. Ma Y. X., Li J. J., Li G. F., Zhu S. F. First Report of Cherry mottle leaf virus Infecting Cherry in China. *Plant Dis*. 2014. Vol. 98 (8). P. 1161. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-14-0058-PDN>.

215. Ma Y., Zhou T., Hong Y., Fan Z., Li H. Decreased level of ferredoxin I in tobacco mosaic virus-infected tobacco is associated with development of the mosaic symptom. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2008. Vol. 72. P. 39–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.004>
216. Maas F. M., Balkhoven-Baart J., Van Der Steeg P. A. H. Evaluation of Krymsk-5 (VSL-2) and Krymsk-6 (LC-52) as rootstocks for sweet cherry ‘Kordia’. *Acta Horticulturae*. 2014. Vol. 1058. P. 531–536. DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2014.1058.66>
217. Maiss E., Timpe U., Briske A., Jelkmann W., Casper R., Himmler G., Mattanovich D., Katinger H. W. D. The complete nucleotide sequence of plum pox virus RNA. *J. Gen. Virol.* 1989. Vol. 70. P. 513–524.
218. Mandić B., Matic’ S., Al Rwahnih M., Jelkmannand W., Myrta A. Viruses of sweet and sour cherry in Serbia. *J. of Plant Pathology*. 2007. Vol. 89. P. 103–108. DOI: <https://doi.org/10.4454/jpp.v89i1.729>
219. Marbot S. Development of real-time RT-PCR assay for detection of Prunus necrotic ringspot virus in fruit trees. *Plant Disease*. 2003. Vol. 87. P. 1344–1348.
220. Martin R. R., Tzanetakis I. E., Barnes J. E., Elmhirst J. F. First report of Strawberry latent ringspot virus in strawberry in USA and Canada. *Plant Dis.* 2004. Vol. 88. P. 575.
221. Massalski P. R., Cooper J. I. The location of virus-like particles in the male gametophyte of birch, walnut, cherry naturally infected with CLRV and its relevance to vertical transmission of the virus. *Plant Pathol.* 1984. Vol. 33. P. 255–262.
222. Massart S., Brostaux Y., Barbarossa L., César V., Cieslinska M., Dutrecq O., Fonseca F., Guillem R., Laviña A., Olmos A., Steyer S., Wetzel T., Kummert J., Jijakli M. H. Inter-laboratory evaluation of a duplex RT-PCR method using crude extracts for the simultaneous detection of Prune dwarf virus and Prunus necrotic ringspot virus. *European Journal of Plant Pathology*. 2008. Vol. 122. P. 539–547. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9322-1>

223. Matic S., Al-Rwahnih M., Myrta A. Diversity of Plum pox virus isolates in Bosnia and Herzegovina. *Plant Pathol.* 2006. Vol. 55. P. 11–17.
224. Matic S., Elmaghraby I., Law V., Varga A., Reed C., Myrta A., James D. Serological and molecular characterization of isolates of Plum pox virus strain El Amar to better understand its diversity, evolution, and unique geographical distribution. *J. Plant Pathol.* 2011. Vol. 93. P. 303–310.
225. Matić S., Rwahnih M., Myrta A., Đurić G. Viruses of stone fruits in Bosnia and Herzegovina. *Acta horticultrae.* 2008. Vol. 781. P. 71–74.
226. Matzneller P., Götz K.-P., Chmielewski F.-M. Spring frost vulnerability of sweet cherries under controlled conditions. *International Journal of Biometeorology.* 2015. Vol. 60(1). P. 123–130. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1010-1>
227. Mavrodieva V., James D., Williams K., Negi S., Varga A., Mock R., Levy L. Molecular analysis of a Plum pox virus W isolate in plum germplasm hand carried into the USA from the Ukraine shows a close relationship to a Latvian isolate. *Plant Dis.* 2013. Vol. 97. P. 44–52.
228. Mayo M.A. Changes to virus taxonomy 2004. *Arch. Virol.* 2005. Vol. 150. P. 189–198.
229. McCartney A. H., Foster S. J., Fraaige B. A., Ward E. Molecular diagnostics for fungal plant pathogens. *Pest Manag. Sci.* 2003. Vol. 59. P. 129–142.
230. McElroy F. D., Brown D. J., Boag B. The virus-vector and damage potential, morphometrics and distribution of *Paralongidorus maximus*. *J. Nematol.* 1977. Vol. 9, No 2. P. 122–130.
231. Mekuria T., Druffel K., J. Susaimuthu, K. Eastwell Complete nucleotide sequence of a strain of cherry mottle leaf virus associated with peach wart disease in peach. *Archives of Virology.* 2013. Vol. 158. P. 2201–2203.
232. Menzel W., Jelkmann W., Maiss E. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control. *Journal of Virological Methods.* 2002. Vol. 99 (1-2). P. 81–92. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(01\)00381-0](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(01)00381-0)

233. Millusheva S., Rankova Z. Plum pox virus detection in weed species under field conditions. *Acta Horticulturae*. 2002. Vol. 577. P. 283–287.
234. Milusheva S. A., Borisova A. Z. The Incidence of Prunus Necrotic Ringspot and Prune Dwarf Viruses in Prunus Species in South Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2005. Vol. 19 (sup1). P. 42–45. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2005.10817260>
235. Mink G. I. Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids. *Annu. Rev. Phytopathol.* 1993. Vol. 31. P. 375–402.
236. Murrant A. F. Arabis mosaic virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*. 1970. No. 16. 4 p.
237. Myrta A., Boscia D., Potere O., Kolber M., Nemeth M., Di Terlizzi B., Cambra M., Savino V. Existence of two serological subclusters of Plum pox virus, strain M. *Eur. J. Plant Pathol.* 2001. Vol. 107. P. 845–848.
238. Myrta A., Di Terlizzi B., Savino V., Martelli G.P. Virus diseases affecting the Mediterranean stone fruit industry: a decade of surveys. In: Myrta A., Di Terlizzi B., Savino V. (Eds.). Virus and virus-like diseases of stone fruits, with particular reference to the Mediterranean region. *Options Mediterranee, Series B: Studies and Research*. 2003. Vol. 45. P. 15-23.
239. Myrta A., Savino V. Virus and virus-like diseases of cherry in the Mediterranean region. *Acta Horticulturae*. 2008. Vol. 795. P. 891–896. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.795.144>
240. Myrta A., Varga A., James D. The complete genome sequence of an El Amar isolate of plum pox virus (PPV) and its phylogenetic relationship to other PPV strains. *Arch. Virol.* 2006. Vol. 151. P. 1189–1198.
241. Nemchinov L., Crescenzi A., Hadidi A., Piazzolla P., Verderevskaya T. Present status of the new cherry subgroup of plum pox virus (PPV-C). In: Hadidi A., Khetarpal R. K., Kogazenawa H. (Eds.). *Plant Virus Disease Control*. St. Paul, MN: APS Press, 1998. P. 629–638.
242. Nemchinov L., Hadidi A., Candresse T., Foster J. A., Verderevskaya T. Sensitive detection of Apple chlorotic leaf spot virus from infected apple or peach

tissue using RT-PCR, IC-RT-PCR, or multiplex IC-RT-PCR. *Acta Hortic.* 1995. Vol. 386. 51–62.

243. Nemchinov L., Hadidi A., Maiss E., Cambra M., Candresse T., Damsteegt V. Sour cherry strain of plum pox potyvirus (PPV): Molecular and serological evidence for a new subgroup of PPV strains. *Phytopathology.* 1996. Vol. 86. P. 1215–1221.

244. Nemeth, M. Virus, Mycoplasma and Rickettsia diseases of fruit trees. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht, 1986. P. 463–479.

245. Oliver J. E., Freer J., Andersen R. L., Cox K. D., Robinson T. L., Fuchs M. Genetic diversity of *Prunus* necrotic ringspot virus isolates within a cherry orchard in New York. *Plant Disease.* 2009. Vol. 93. P 599–606.

246. Öztürk Y., Çevik B. Genetic diversity in the coat protein genes of prune dwarf virus isolates from sweet cherry growing in Turkey. *Plant Pathology Journal.* 2015. №31. P. 41–49. DOI: <https://doi.org/10.5423/ppj.oa.07.2014.0063>

247. Pagán I. The diversity, evolution and epidemiology of plant viruses: A phylogenetic view. *Infection, Genetics and Evolution.* 2018. Vol. 65. P. 187–199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.07.033>

248. Palkovics L., Burgyán J., Balázs E. Comparative sequence analysis of four complete primary structures of plum pox virus strains. *Virus Genes.* 1993. Vol. 7. P. 339–347.

249. Pallas V., Aparicio F., Herranz M. C., Amari K., Sanchez-Pina M. A., Myrta A., Sanchez-Navarro J. A. Ilarviruses of *Prunus* spp.: a continued concern for fruit trees. *Phytopathology.* 2012. Vol. 102. P. 1108–1120. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-12-0023-RVW>

250. Palmisano F., Boscia D., Minafra A., Myrta A., Candresse, T. An atypical Albanian isolate of Plum pox virus could be the progenitor of the Marcus strain. *22nd International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops: Book of Abstracts, Rome, June 3–8 2012. Rome, 2012. P. 33.*

251. Pasquini G., Faggioli F., Pilotti M., Lumia V., Barba M. Characterization of apple chlorotic leaf spot virus isolates from Italy. *Acta horticultrae*. 1998. Vol. 472. P. 195-202. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1998.472.20>
252. Paunovic S., Pasquini G., Barba M. 2011. Apple mosaic virus in Stone Fruits. *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits* / edited by Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelk-mann W. Minnesota, 2011. P. 91-95.
253. Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *Agronomy Research*. 2021. №19. DOI: <https://doi.org/10.15159/ar.20.238>
254. Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Determining the optimal season for detection of prune dwarf virus and prunus necrotic ringspot virus in sour cherry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2020. №4. P. 94 – 100. DOI: <https://doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2020.2585-8246.094-100>
255. Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Variability of some isolates of Prunus necrotic ringspot virus and Prune dwarf virus infecting sour and sweet cherry in Ukraine. *Acta agriculturae Slovenica*. 2021. №117 (1). DOI: <https://doi.org/10.14720/aas.2021.117.1.1844>
256. Peach wart disease – datasheet. CABI: Invasive Species Compendium. 2019. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/39232>
257. Pelet F. Small fruit viruses. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*. 1989. Vol. 21. 113–116.
258. Perez-Sanchez R. P., Corts R. M., Gomez-Sanchez M. Sour and duke cherry viruses in South-West Europe. *Phytopathologia Mediterranea*. 2017. Vol. 56. P. 62–69. DOI: https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-15326
259. Perez-Sanchez R. P., Corts R. M., Benavides P. G., Gómez-Sánchez M. A. Main viruses in sweet cherry plantations of Central-Western Spain. *Scientia Agricola*. 2015. Vol. 72 (1). P. 83–86. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0140>

260. Persson T., Eckersten H., Kvarnheden A., Yuen J. Modelling influence of virus infection on leaf area and radiation use in oats under controlled climatic conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science*. 2007. Vol. 57(1). P. 10–22. DOI: <http://doi.org/10.1080/09064710500487895>
261. Pethybridge S. J., Wilson C. R., Hay F. S., Leggett G. W., Sherriff L. J.. Mechanical transmission of Apple mosaic virus in Australian hop (*Humulus lupulus*) gardens. *Annals of Applied Biology*. 2002. Vol. 141. P. 77–85.
262. Petrzik K., Lenz O. Apple mosaic virus in pome fruits. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. (Eds.). *Viruses and virus-like diseases of pome and stone fruits*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 2011. P. 25–28.
263. Pfeilstetter E., Zinkernagel Y., Kunze L. Occurrence of petunia asteroid mosaic virus (PAMV) and carnation Italian ringspot (CIRV) viruses in cherry orchards in northern Bavaria. *Acta Hortic*. 1992. Vol. 309. P. 345–352.
264. Posnette A. F, Cropley R., Swait A. A. J. The incidence of virus diseases in English sweet cherry orchards and their effect on yield. *Ann Appl Biol*. 1968. Vol. 61. P. 351–360.
265. Posnette A.F., Cropley R. Leafroll: a virus disease of cherry. *Report of East Malling Research Station for 1954*. 1955. P. 126–127.
266. Pospieszny H., Borodynko N., Jończyk M. First report of Tomato black ring virus (TBRV) in the natural infection of *Sambucus nigra* in Poland. *Journal of Plant Protection Research*. 2004. №44. P. 373–376.
267. Predajňa L., Sihelská N., Benediková D., Šoltys K., Candresse T., Glasa M. Molecular characterization of Prune dwarf virus cherry isolates from Slovakia shows their substantial variability and reveals recombination events in PDV RNA3. *European Journal of Plant Pathology*. 2017. Vol. 147. P. 877–885. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10658-016-1055-y>
268. Prune dwarf virus (cherry ring mottle) – datasheet. CABI: Invasive Species Compendium. 2020. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/42402>

269. Rahoutei J., García-Luque I., Barón M. Inhibition of photosynthesis by viral infection: effect on PSII structure and function. *Physiol. Plant.* 2000 Vol. 110. P. 286–292 DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.110220.x>
270. Rakhshandehroo F., Zamani Zadeh H., Modarresi A., Hajmansoor S. Occurrence of Prunus necrotic ringspot virus and Arabis mosaic virus on rose in Iran. *Plant Disease.* 2006. Vol. 90. P. 975–975.
271. Rasool A., Mansoor S., Bhat K. M., Hassan G. I., Baba T. R., Alyemini M. N., Alsahli A. A., El-Serehy H. A., Paray B. A., Ahmad P. Mechanisms underlying graft union formation and rootstock scion interaction in horticultural plants. *Front. Plant Sci.* 2020. Vol. 11. P. 1-19. DOI:<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.590847>.
272. Rodrigo J. Spring frost in deciduous fruit trees—morphological damage and flower hardiness. *Sci Hortic.* 2000. Vol. 85. P.155–173.
273. Roossinck M. J., Bujarski J., Ding S. W., Hajimarad R., Hanada K., Scott S., Tousignant M. *Bromoviridae*. In: Fauquet C. M., Mayo M. A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L. A. (Eds.). *Virus Taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2005. P. 1049–1058.
274. Rouag N., Guechi A., Matic S., Myrta A. Viruses and viroids of stone fruits in Algeria. *Journal of Plant Pathology.* 2008. Vol. 90. P. 393–395. DOI: <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v90i2.680>
275. Rowhani A., Uyemoto J. K., Golino D. A. Viruses Involved in Graft Incompatibility and Decline. *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* /edited by Meng B., Martelli G. P., Golino D. A., Fuchs M. Cham, 2017. P. 289-302. DOI:https://doi.org/10.1007/978-3-319-57706-7_13
276. RSPM 18 Guidelines for Phytosanitary Action Following Detection of Plum Pox Virus. URL: https://nappo.org/download_file/view/163/473
277. Rüdell M. Grapevine damage induced by particular virus-vector combinations. *Phytopathologia Mediterranea.* 1985. Vol. 24. P. 183–185.

278. Šafářová D., Faure C., Candresse T., Navrátil M., Nečas T., Marais A. First report of little cherry virus 1 infecting apricot in the Czech Republic. *Plant Disease*. 2016. Vol. 101, No 5. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1289-PDN>
279. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 1987. Vol. 4. P. 406-425. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
280. Sala-Rejczak K., Paduch-Cichal E. Molecular variability of the coat protein gene of Prunus necrotic ringspot virus isolates. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 2013. Vol. 12 (2). P. 35–42.
281. Salem N., Mansour A., Musa A. A., Nsour A. A. Seasonal variation of Prunus necrotic ringspot virus concentration in almond, peach, and plum cultivars. *Phytopathologia Mediterranea*. 2003. Vol. 42. P. 155–160. DOI: https://doi.org/10.1460/Phytopathol_Mediterr-1708
282. Sanfacon H., Iwanami T., Karasev A. V., van der Vlugt R., Wellink J., Wetzel T., Yoshikawa N. Family *Secoviridae*. In: *Virus Taxonomy. Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Elsevier Science, 2011. P. 881–899.
283. Schellenberger P., Andret-Link P., SchmittKeichinger C., Bergdoll M., Marmonier A., Vigne E., Lemaire O., Fuchs M., Demangeat G., Ritzenthaler C. A stretch of 11 amino acids in the betaB-betaC loop of the coat protein of grapevine fanleaf virus is essential for transmission by the nematode *Xiphinema index*. 2010. *J. Virol.* Vol. 84, No 16. P. 7924–7933.
284. Schellenberger P., Sauter C., Lorber B., Bron P., Trapani S., Bergdoll M., Ritzenthaler C. Structural Insights into Viral Determinants of Nematode Mediated Grapevine fanleaf virus Transmission. *PLoS Pathogens*. 2011. Vol. 7 (5). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002034>
285. Scott S. W., Bowman-Vance V., Bachman E. J. The use of nucleic acid probes for the detection of prunus necrotic ringspot virus and prune dwarf virus. *Acta Horticulturae*. 1992. Vol. 309. P. 79–84.

286. Scott S. W., Zimmerman M. T., Yilmaz S., Zehr E. I., Bachman E. The interaction between prunus necrotic ringspot virus and prune dwarf virus in peach stunt disease. *Acta Horticulturae*. 2001. Vol. (550). P. 229–236. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.550.32> (2001).
287. Scott S. W., Zimmerman M. T., Ge X., MacKenzie D. J. The coat proteins and putative movement proteins of isolates of Prunus necrotic ringspot virus from different host species and geographic origins are extensively conserved. *European Journal of Plant Pathology*. 1998. Vol. 104. P. 155–161. DOI: <http://doi.org/10.1023/a:1008668129926>
288. Seo J., Kwak H., Kim M., Choi H. First Report of Carnation Italian ringspot virus in *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* in Korea. *Plant disease*. 2015. Vol. 99 (10). P. 1451–145. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0267-PDN>
289. Sheveleva A., Ivanov P., Prihodko Y., James D., Chirkov S. Occurrence and genetic diversity of Winona-like Plum pox virus isolates in Russia. *Plant Dis*. 2012. Vol. 96. P. 1135–1142.
290. Smith K. M. Tomato black-ring: a new virus disease. *Parasitology*. 1946. Vol. 37. P. 126–130.
291. Smith I. M., Dunez J., Phillips D. H. et al. European handbook of plant diseases. Oxford (UK): Blackwell Scientific, 1988. 583 p.
292. Šneideris D., Staniulis J. Phylogenetic analysis of Lithuanian tomato black ring virus isolates. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2014. Vol. 101 (2). P. 193–198. DOI: <https://doi.org/10.13080/z-a.2014.101.025>
293. So many rootstock choices. Proper management is essential with new, productive rootstocks. 2021. URL: [So many rootstock choices | Good Fruit Grower](#)
294. Sokhandan-Bashir N., Kashiha Z., Koolivand D., Eini O. Detection and phylogenetic analysis of Prunus necrotic ringspot virus isolates from stone fruits in Iran. *Journal of Plant Pathology*. 2017. Vol. 99 (3). P. 717–723. DOI: <http://doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3986>

295. Spiegel S., Scott S. W., Bowman-Vance V., Tam Y., Galiakparov N. N., Rosner A. Improved detection of prunus necrotic ringspot virus by the polymerase chain reaction. *European Journal of Plant Pathology*. 1996. Vol. 102. P. 681–685.
296. Su Z. D., Shi C. Y., Huang J., Shen G. M., Li J., Wang S. Q., Fan C. Establishment and application of cross-priming isothermal amplification coupled with lateral flow dipstick (CPA-LFD) for rapid and specific detection of red-spotted grouper nervous necrosis virus. *Virology Journal*. 2015. Vol. 12 (1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0374-5>
297. Šubr Z., Glasa M. Plum pox virus variability detected by the advanced analytical methods. *Acta Virologica*. 2008. Vol. 52. P. 75–90.
298. Šubr Z., Glasa M. Unfolding the secrets of Plum pox virus: From epidemiology to genomics. *Acta Virologica*. 2013. Vol. 57. P. 217–228.
299. Suchá J., Svobodová L. Incidence of Prune dwarf virus and Prunus necrotic ring spot virus in orchards of sweet and sour cherry in the Czech Republic — Short communication. *Horticultural Science*. 2010. Vol. 37. P. 118–120. DOI: <https://doi.org/10.17221/74/2009-HORTSCI>
300. Sun X., Li Y., Shi M., Zhang N., Wu G., Li T. In vitro binding and bimolecular fluorescence complementation assays suggest an interaction between tomato mosaic virus coat protein and tobacco chloroplast ferredoxin I. *Arch. Virol.* 2013. Vol. 158. P. 2611–2615. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1778-4>
301. Susic D. D., Ford R. E., Tosic M. T. Handbook of plant virus diseases. Boca Raton, FL: CRC Press, 1999. 584 p.
302. Svoboda J., Polak J. Relative concentration of Apple mosaic virus coat protein in different parts of apple tree. *Horticultural Science*. 2010. Vol. 37. P. 22–26. DOI: <https://doi.org/10.17221/39/2009-HORTSCI>
303. Tahzima R., Foucart Y., Peusens G., Beliën T., Massart S., De Jonghe K. First Report of Little cherry virus 1 affecting European Plum (*Prunus domestica*) in Belgium. *Plant disease*. 2017. Vol. 101, No 8. P. 845. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-17-0074-PDN>

304. Takács A., Horváth J., Gáborjányi R., Kazinczi G., Mikulás J. Hosts and non-hosts in plant virology and the effects of plant viruses on host plants. 2021. URL: https://www.researchgate.net/publication/285210433_Hosts_and_non-hosts_in_plant_virology_and_the_effects_of_plant_viruses_on_host_plants. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-411584-2.00005-6>
305. Takahashi T., Sugawara T., Yamatsuta T. et al. Analysis of the spatial distribution of identical and two distinct virus populations differently labeled with cyan and yellow fluorescent proteins in coinfecting plants. *Phytopathology*. 2007. Vol. 97. P. 1200–1206.
306. Takeshita M., Shigemune N., Kikuhara K. et al. Spatial analysis for exclusive interactions between subgroups I and II of Cucumber mosaic virus in cowpea. *Virology*. 2004. Vol. 328. P. 45–51.
307. Tang J., Ward L., Clover G. The Diversity of Strawberry latent ringspot virus in New Zealand. *Plant disease*. 2013. Vol. 97. P. 662–667.
308. Teycheney P. Y., Tavert G., Delbos R., Ravelonandro M., Dunez, J. The complete nucleotide sequence of plum pox virus RNA (strain D). *Nucleic Acids Res*. 1989. Vol. 17. P. 10115–10116. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/17.23.10115>
309. Thompson D., Varga A., De Costa H., Birch C., Glasa M., James D. First report of Plum pox virus recombinant strain on *Prunus* spp. in Canada. *Plant Dis*. 2009. Vol. 93 (6). P. 674. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-6-0674A>
310. Thompson J. R., Dasgupta I., Fuchs M., Iwanami T., Karasev A. V., Petrzik K., Sanfaçon H., Tzanetakis I., Van der Vlugt R., Wetzler T., Yoshikawa N., Lefkowitz E. J., Davison A. J., Siddell S. G., Simmonds P., Adams M. J., Smith D. B., Orton R. J., Knowles N. J. ICTV virus taxonomy profile: *Secoviridae*. *J Gen Virol*. 2017. Vol. 98. P. 529–531.
311. Thompson J. R., Kamath N., Perry K. L. An Evolutionary Analysis of the *Secoviridae* Family of Viruses. *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106305>

312. Topchiiska, M. Sweet and sour cherries – natural hosts of plum pox (sharka) virus. *Proc. Middle Eur. Meet. on Plum Pox '96*. Budapest, 1997. P. 91–93.
313. Tzanetakis I. E., Postman J. D., Gergerich R. C., Martin R. R. A virus between families: nucleotide sequence and evolution of Strawberry latent ringspot virus. *Virus Research*. 2006. Vol. 121. P. 199–204.
314. Ulubas-Serçe C., Candresse T., Svanella-Dumas L., Krizbai L., Gazel M., Çag˘layan K. Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Res*. 2009a. Vol. 142. P 121–126.
315. Ulubas-Serçe Ç., Ertunç F., ÖZtürk A. Identification and genomic variability of Prune dwarf virus variants infecting stone fruit in Turkey. *Journal of Phytopathology*. Vol. 157. 2009b. P. 298–305. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01486.x>
316. Umer M., Liu J., You H., Xu C., Dong K., Luo N., Kong L., Li X., Hong N., Wang G., Fan X., Kotta-Loizou J., Xu W. Genomic, Morphological and Biological Traits of the Viruses Infecting Major Fruit Trees. *Viruses*. 2019. Vol. 11. P. 515. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11060515>
317. Uyemoto J. K., Luhc C. F., Asai W., Beede R., Beutel J. A., Fenton R. Incidence of ilarviruses in young peach trees in California. *Plant Disease*. 1989. Vol. 73. P. 217–220.
318. Vaškova D., Pertzik K., Spak J. Molecular variability of the capsid protein of the Prinune dwarf virus. *European Journal of Plant Pathology*. 2000. Vol. 106. P. 573–580.
319. Veerakone S., Liefting L. W., Lebas B. S. M., Ward L. First report of Cherry leaf roll virus in *Hydrangea macrophylla*. *Plant Dis*. 2012. Vol. 96. P. 463.
320. Wang F. X., Yuan D. Y., Jin Y. N., Hu L., Sun Z. Y., He Q., Zhao S. H., Zhan S. B., Wen Y. J. Reverse Transcription Cross-Priming Amplification–Nucleic Acid Test Strip for Rapid Detection of Porcine Epidemic Diarrhea Virus. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep24702>

321. Wang L. P., Hong N., Wang G. P., Michelutti R., Zhang B. L. First report of Cherry green ring mottle virus in plum (*Prunus domestica*) in North America. *Plant Disease*. 2009. Vol. 93. P. 1073. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-10-1073A>
322. Wang S, Gergerich R. C., Wickizer S. L., Kim K. S. Localization of transmissible and nontransmissible viruses in the vector nematode *Xiphinema americanum*. *Phytopathology*. 2002. Vol. 92. P. 646–653.
323. Wetzel T., Candresse T., Ravelonandro M., Delbos R. P., Mazyad H., Aboul-Ata A. E., Dunez, J. Nucleotide sequence of the 3' terminal region of the RNA of the El Amar strain of plum pox potyvirus. *J. Gen. Virol.* 1991a. Vol. 72. P. 1741 – 1746.
324. Wetzel T., Candresse T., Ravelonandro M., Dunez J. A polymerase chain reaction assay adapted to Plum pox potyvirus detection. *Journal of Virological Methods*. 1991b. Vol. 33. P. 355–365.
325. Wetzel T., Ebel R., Moury B., Le Gall O., Endisch S., Reustle G. M., Krczal G. Sequence analysis of grapevine isolates of Raspberry ringspot nepovirus. *Archives of Virology*. 2006. Vol. 151. P. 599–606.
326. Wetzel T., Krczal G. Molecular biology of Raspberry ringspot nepovirus. In: *Plant Viruses*. Global Science Books. 2007. P. 45–51.
327. Woo E. N. Y., Clover G. R. G., Pearson M. N. First report of Cherry leaf roll virus (CLRV) in *Malus domestica*. *Australasian Plant Dis. Notes*. 2012. № 7. P. 151–156. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13314-012-0072-8>
328. Wylie S. J., Adams M., Chalam C., Kreuze J., López-Moya J. J., Ohshima K., Praveen S., Rabenstein F., Stenger D., Wang A., Zerbini F. M. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Potyviridae*. *Journal of General Virology*. 2017. Vol. 98. P. 352–354. DOI: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000740>
329. Xu G., Hu L., Zong H., Wang H., Yusa S., Weiss T., Romaniuk P. J., Pickerill S., You Q. Cross priming amplification: mechanism and optimization for isothermal DNA amplification. *Sci Rep*. 2011. Vol. 2. P. 246. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep00246>

330. Yamashita K., Fukui Y. Cherry leaf roll virus RNA1, 3' end. Direct submission to GenBank. 2004.
331. Yoshikawa N., Takahashi T. Properties of RNAs and proteins of Apple stem grooving and Apple chlorotic leaf spot viruses. *J. Gen. Virol.* 1998. Vol. 88. P. 2611–2618.
332. Youssef A. S., Shalaby A. A., Mazyad H. M., Hadidi A. Detection and identification of Prune dwarf virus and Plum pox virus by standard and multiplex RT-PCR probe capture hybridization (RT-PCR-ELISA). *J. Plant Pathol.* 2002. Vol. 84. P. 113–119.
333. Youssef S. A., Shalaby A. A. Single-Step Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (m-RT-PCR) for Simultaneous Detection of Five RNA Viruses Affecting Stone Fruit Trees. *International Journal of Virology.* 2009. Vol. 5. P. 100–108.
334. Youssef S. A., Shalaby A. A. Plum pox virus (PPV) in Egypt. *EPPO Bull.* 2006. Vol. 36. P. 208. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2006.00955.x>
335. Yulong Z., Xia Z., Hongwei Z., Wei L., Wenjie Z., Xitai H. Rapid and sensitive detection of *Enterobacter sakazakii* by cross-priming amplification combined with immuno-blotting analysis. *Molecular and Cellular Probes.* 2010. Vol. 24 (6). P. 396–400. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2010.09.001>
336. Zawadzka B. The influence of virus and mycoplasma diseases on frost damage of apple trees. *Acta Horticulturae.* 1989. Vol. 235. P. 59–67. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1989.235.7>
337. Zhang J., Tian Q., Zhu S., Zhao W., Liu F. Rapid on-site detection of *Acidovorax citrulli* by cross-priming amplification. *Molecular and Cellular Probes.* 2012. Vol. 26 (4). P. 175–176. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2012.03.010>
338. Zhao J., Zhang X., Hong Y., Liu Y. Chloroplast in plant-virus interaction. *Frontiers in Microbiology.* 2016. № 7. P. 1-20. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01565>

339. Zhou J. F., Wang G. P., Kuang R. F., Wang L. P., Hong N. First report of Cherry green ring mottle virus on cherry and peach grown in China. *Plant Disease*. 2011. Vol. 95. P. 1319.

340. Zong X., Wang W., Wei H., Wang J., Chen X., Xu L., Zhu D., Tan Y., Liu Q. Rapid detection of Prunus necrotic ringspot virus using magnetic nanoparticle-assisted reverse transcription loopmediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods*. 2014. Vol. 208. P. 85–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.07.033>

341. Zotto A. D., Nome S. F., Rienzo J. A. D., Docampo D. M. Fluctuations of prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) at various phenological stages in peach cultivars. *Plant Disease*. 1999. Vol. 83 (11). P. 1055–1057. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis.1999.83.11.1055>

ДОДАТКИ

Додаток А

Територіальний розподів вірусних патогенів

Область відбору зразків	Патогени присутні в регіоні											Рівень інф. зразків у регіоні, %
	ВНКП	ВКС	ВШС	ВЧКТ	ВМЯ	ВЛКПС	ВКПМ	ВХПЛЯ	ВЗМП	ВМР	ВСЛЧ	
Дніпропетровська	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Донецька	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	34,8
Закарпатська	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	20
Запорізька	+	+	-	-	+	+	+		+	+		31,1
Івано-Франківська	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	11,1
Київська	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	26,9
Тернопільська	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50*
Харківська	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	22,2
Херсонська	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Черкаська	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* вибірка становила менше 7 зразків

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1 Павлюк Л. В., Ряба І. А., Удовиченко К. М., Тряпціна Н. В., Бублик М. О. Фітовірусологічний стан маточних насаджень вишні та черешні в Україні. *Вісник аграрної науки*. 2019. №7 (796). С. 20 – 26. DOI: <https://doi.org/20.31073/agrovisnyk201907-3>

Статті у періодичному науковому виданні іншої держави,
яка входить до Організації економічного співробітництва та
розвитку та/або Європейського Союзу:

2 Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Determining the optimal season for detection of prune dwarf virus and prunus necrotic ringspot virus in sour cherry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2020. №4. P. 94 – 100. DOI: <https://doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2020.2585-8246.094-100>

3 Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *Agronomy Research*. 2021. №19. DOI: <https://doi.org/10.15159/ar.20.238>

4 Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Variability of some isolates of Prunus necrotic ringspot virus and Prune dwarf virus infecting sour and sweet cherry in Ukraine. *Acta agriculturae Slovenica*. 2021. №117 (1). DOI: <https://doi.org/10.14720/aas.2021.117.1.1844>

Тези наукових доповідей:

5 Павлюк Л. В., Удовиченко К. М., Тряпціна Н. В. Контроль поширення вірусних інфекцій в насадженнях вишні та черешні. *Біотехнологія: звершення та надії*: збірник тез VII Міжнародної науково-прагматичної конференції 29 листопада 2018 р. Київ 2018. С. 76 – 78.

6 **Павлюк Л. В.,** Удовиченко К. М., Ряба І. А. Характеристика українського ізоляту вірусу некротичної кільцевої плямистості кісточкових. *Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур: збірник тез VIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів 24 квітня 2020 р. Миронівка 2020. С. 74.*

7 **Pavliuk L.,** Udovychenko K, Riaba I. Occurrence of plum pox virus in cherry orchards in Ukraine. *Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology: collection of abstracts II Scientific and practical Conference of young researchers 23-26 November 2020. Kyiv 2020. P. 27.*

8 **Pavliuk L.,** Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *12 th International Conference on Biosystems Engineering 2021: Book of Abstracts. 5-7 May 2021. Tartu, Estonia. P.87.*