

ІНСТИТУТ САДІВНИЦТВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

РЯБА ІРИНА АНАТОЛІЇВНА

634.75/.76:632.38

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ВІРУСІВ МАЛИНИ Й ОЖИНИ ТА ЇХ ПОШИРЕННЯ В
ПОЛІССІ ТА ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ**

Спеціальність **203 Садівництво, плодовоовочівництво та виноградарство**
Галузь знань **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



І. А. Ряба

Науковий керівник: **Удовиченко Катерина Миколаївна,**
кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

Київ – 2025

Анотація

Ряба І. А. Молекулярно-біологічна характеристика вірусів малини й ожини та їх поширення в Поліссі та Лісостепу України.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 203 «Садівництво, плодоовочівництво та виноградарство». Галузь знань 20 – Аграрні науки та продовольство. — Інститут садівництва НААН, Київ, 2025.

У дисертаційній роботі досліджено вірусні патогени малини й ожини. Встановлено рівень інфікованості насаджень та поширення патогенів в Поліссі та Лісостепу України, проаналізовано молекулярно-біологічні особливості місцевих ізолятів. Досліджено ефективність використання антивірусних препаратів для оздоровлення рослин малини від вірусів в умовах *in vitro*. Визначено вплив вірусів на функціональний стан і продуктивність сортів малини.

Малина й ожина — важливі ягідні культури в Україні, значущі для внутрішнього ринку та експорту. Продуктивність цих рослин залежить від фітосанітарного стану, зокрема — від наявності вірусів. У світі описано понад 20 вірусів, що вражають рід *Rubus*, 14 з яких рекомендовані до контролю стандартом ОЕРР/ЕРРО РМ(4) 10(1), розробленому Європейською і Середземноморською організацією захисту рослин (ЄОЗР). Поширення вірусів природними переносниками або через інфікований садивний матеріал є однією з головних загроз галузі. В Україні проблема вірусів залишається недостатньо вивченою, а фітовірусологічний контроль не є системним. Дослідження таких аспектів, як поширення, біологічні та молекулярні особливості вірусів, що інфікують рід *Rubus*, а також їхній вплив на продуктивність є актуальним як у науковому, так і прикладному значеннях — зокрема, для підвищення продуктивності промислових насаджень та розробки ефективних методів контролю патогенів.

Новизна досліджень полягає в тому, що нами проведено скринінг поширення 14 вірусів і фітоплазми в насадженнях малини й ожини. Уперше в

насадженнях ожини ідентифіковано вірус кущистої карликовості малини (RBDV), а в насадженнях малини – вірус хлорозу жилок малини (RVCV). Проаналізовано молекулярно-генетичні характеристики ізолятів RBDV, виділених з рослин малини й ожини. Встановлено, що ізоляти RBDV належать до S групи, представники якої не здатні інфікувати сорти, стійкість яких зумовлена геном Bu. Проаналізовано та встановлено ефективність застосування антивірусних комплексних препаратів ацикловір, озельтамівір та римантадин для елімінації вірусу RBDV. Досліджено вплив RBDV на продуктивність сортів малини та проведено економічну оцінку їхнього вирощування.

Практичне значення отриманих результатів полягало у відборі вільних від вірусів клонів для розмноження, внесенні пропозицій щодо зміни стандартів сертифікації садивного матеріалу, а також у розумінні негативного впливу вірусів на урожайність і якість плодів малини.

Рослинний матеріал відібраний у маточних і промислових насадженнях 10 областей України, які входять до природних зон Полісся та Лісостепу. У процесі дослідження встановлено наявність 7 вірусів і фітоплазми. Загальний рівень інфікованості дослідженого матеріалу становив 26,5 %. При цьому рівень зараженості зразків малини був вищим — 28,4 %, а у зразків ожини він склав 16,7 %. Серед виявлених патогенів переважав RBDV (у 18,2 % зразків). RLBV діагностовано у 8,3 % зразків малини, хоча на сьогодні він не входить до переліку обов'язкових для тестування згідно зі стандартом ЄОЗР. 7,9 % зразків інфіковано карантинним патогеном групи A2 – вірусом мозаїки резухи (ArMV). Найбільший відсоток ураження рослинного матеріалу вірусами зафіксовано у Вінницькій – 59,3 % та Київській областях — 54 %.

Виділено клони 18 сортів малини та 5 – ожини, вільні від вірусів та придатні для подальшого розмноження і створення промислових насаджень.

Після скринінгових досліджень та аналізу нормативних документів виявлено потребу внесення змін до стандартів із сертифікації малини й ожини, зокрема ДСТУ 4720:2007 «Саджанці малини і ожини. Технічні умови», ДСТУ 7185:2010 «Культури плодові та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного

статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур» та стандарту EPPO PM 4/10. Зокрема, ДСТУ 4720:2007 не наводить конкретний перелік вірусів для обов'язкового тестування та потребує гармонізації з іншими стандартами. Наголошено на доцільності внесення RLBV до цього переліку через активне поширення та негативний вплив на якість і врожайність малини.

Для з'ясування молекулярно-генетичних характеристик ізолятів RBDV і RLBV, виділених з рослин малини й ожини, здійснено сиквенування фрагментів капсидного білку. Отримані нуклеотидні послідовності депоновано у глобальний генетичний банк GenBank NCBI з наданням відповідних реєстраційних номерів.

Проведений філогенетичний аналіз українських ізолятів RBDV показав їхню ідентичність в середньому 98,96 % – за амінокислотними послідовностями та 98 % – за нуклеотидними. В ізолятів з Харківської (431UA), Київської (UA1) і Вінницької (177UA) областей виявлено найвищу гомологію послідовностей між собою та їхню високу схожість із європейськими ізолятами (95,5 – 100 %). Ізолят ожини з Житомирської області (KB-UA) виявився генетично віддаленішим від малинових ізолятів і ідентичний з ізолятом з Казахстану, що свідчить про його відмінність.

Ізоляти RLBV з Київської та Вінницької областей мали лише 95,6 % ідентичності нуклеотидних послідовностей між собою. Найбільшу спорідненість з UA178-RLBV мали ізоляти з Сербії (99 %). Ізолят UA117-RLBV був менш схожий з іншими. Їхня висока варіабельність вказує на ймовірне нещодавнє потрапляння вірусу в Україну з різних географічних регіонів.

Для вивчення ефективності антивірусних препаратів для елімінації RBDV методом хемотерапії в умовах *in vitro* використовували сорт малини Персея. Досліджували вплив 4 препаратів: рибавірин, ацикловір, озельтамівір і римантадин, кожен з них використовували у трьох концентраціях.

Оцінка фітотоксичності віроцидів на рослини, виявила найбільш виражений негативний вплив рибавірину. Спостерігали блідо-жовте забарвлення верхівок пагонів і загибель частини рослин – від 6,3 % до 40 %, залежно від концентрації препарату. Рибавірин також пригнічував ріст мікропагонів, знижуючи їх висоту

до 70 % у порівнянні з контролем. Озельтамівір у деяких концентраціях, навпаки, стимулював ріст, підвищуючи цей показник до 106,4 % від контрольного значення. Результати тестування методом ІФА показали успішну елімінацію вірусу завдяки додаванню ацикловіру до поживного середовища. Найвищу частку оздоровлених рослин (42,8 %) зафіксовано при концентрації 60 мг/л, а при 40 мг/л — 14,3 %. Озельтамівір також виявив певну ефективність: при 80 мг/л 14,3 % рослин були вільні від RBDV.

Вплив RBDV на функціональний стан і продуктивність рослин малини вивчали на інфікованих і здорових рослинах сортів Брусвяна, Зугана та Джоан Джей. Дослідження показали, що RBDV знижує водоутримувальну здатність листків малини на 27,8–35,6 %, водночас водний дефіцит у заражених рослин збільшувався на 66 %. У інфікованих рослин всіх трьох сортів суха маса на одиницю площі листка була на середньому рівні (0,47–0,55 г/дм²), що дещо нижче від контрольних значень (0,50–0,59 г/дм²).

Встановлено негативний вплив RBDV на функціонування фотосинтетичного апарату рослин. Аналіз вмісту зелених пігментів показав зниження хлорофілу *a* в інфікованих рослин сорту Джоан Джей – на 30,1 %, тоді як у Зугана і Брусвяна вміст хлорофілу *a* падав відповідно на 23,2 % та 18,1 %. Вміст хлорофілу *b* зменшувався на 22,1–27,2 %. Методом визначення індукції флуоресценції хлорофілу листків виявлено, що інфіковані RBDV рослини мали підвищення флуоресценції хлорофілу протягом усього періоду реєстрації її індукційних змін.

За даними проведених досліджень щодо висоти пагонів, ми виявили в інфікованих рослин незначне їхнє зниження – на 14 % у порівнянні з контрольними. Найбільше зменшення кількості плодоносних пагонів у хворих рослин зафіксовано в сорту Зугана – на 23,3 %. RBDV призводив до значного зниження урожайності у всіх трьох сортів: у Джоан Джей — на 62,2 %, у Зугани та Брусвяни — на 61,8 % і 58,6 % відповідно.

Погіршення якості плодів малини внаслідок інфікування вірусом призвело до того, що лише 14,0–17,6 % відповідали вимогам першого товарного сорту

згідно з ДСТУ 7179:2010, і, тоді як основна частина врожаю була придатна тільки для технічної переробки. З урожаю, отриманого з уражених рослин сорту Джоан Джей, не зафіксовано плодів, які належали б до першого товарного сорту. Серед інфікованих рослин сорту Брусвяна переважала продукція, придатна виключно для перероблення, що становило 79,7 %.

У інфікованих рослин відзначали значне зменшення кількості кістянок у плодах, так, у сорту Брусвяна кількість кістянок знизилася на 61,3 %, у Зугани – на 52,2 %, у Джоан Джей – на 50,6 %. Кількість плодів зменшилася у інфікованих рослин сорту Джоан Джей – на 16,3 %, в яких і фіксували найбільше зниження маси ягоди— на 46,1 %.

Дослідження показали, що інфікування RBDV спричиняє зміни в біохімічному складі плодів малини. Зниження рівня аскорбінової кислоти на 7,7–9,6 % відзначали у рослин з вірусною інфекцією всіх сортів, тоді як статистично значуще зниження рівня загального цукру на 11,8 % відмічено лише у сорту Брусвяна. Водночас у цьому ж сорті рівень титрованих кислот збільшувався на 50 %, порівняно зі здоровими. Рівень антоціанів у плодах рослин, які інфіковані RBDV, істотно збільшився у сортів Зугана та Брусвяна – на 60,4 % і 53,7 % відповідно. Аналіз економічної ефективності вирощування малини демонстрував падіння рентабельності при культивуванні інфікованого садивного матеріалу. Для сортів Брусвяна та Зугана цей показник варіював в межах 11,2–11,9 %, тоді як вирощування рослин Джоан Джей виявлено збитковим – 3,7 %.

Отже, оцінено фітовірусологічний стан насаджень малини й ожини в Поліссі та Лісостепу України для того, щоб запобігти подальшому поширенню вірусів. Особливу практичну цінність має виділення здорових клонів, які надалі можуть служити садивним матеріалом. Визначено ефективність використання методу хемотерапії в культурі *in vitro* для оздоровлення рослин малини, інфікованих вірусом. Доведено негативний вплив вірусної інфекції на функціональний стан та продуктивність сортів малини.

Ключові слова: *Rubus*, віруси, ІФА, ЗТ-ПЛР, філогенетичний аналіз, оздоровлення, посухостійкість, хлорофіл, урожайність

Abstract

Riaba I. A. Molecular and biological characterization of raspberry and blackberry viruses and their occurrence in Polissya and Forest-Steppe of Ukraine.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 203 “Horticulture, Vegetable Growing, and Viticulture”. Field of Knowledge 20 – Agricultural Sciences and Food. — Institute of Horticulture, NAAS, Kyiv, 2025.

The dissertation addresses the study of viral pathogens infecting raspberry and blackberry. The incidence of infection in plantations and the occurrence of viruses across Polissya and Forest-Steppe of Ukraine were determined, and the molecular and biological characteristics of local isolates were analysed. The efficiency of antiviral agents for elimination of viruses from raspberry plants under *in vitro* conditions was evaluated. The impact of viruses on the functional state and productivity of raspberry cultivars was determined.

Raspberry and blackberry represent important berry crops in Ukraine, playing a significant role in both domestic consumption and export. Their productivity is strongly dependent on phytosanitary status, in particular on viral infections. Globally, more than 20 viruses affecting the genus *Rubus* have been described, of which 14 are recommended for testing and control according to the OEPP/EPPO PM(4) 10(1) certification standard developed by the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Virus transmission through natural vectors or infected planting material constitutes a major threat to the industry. In Ukraine, the problem of viral diseases remains insufficiently studied, and phytovirological monitoring has not yet been implemented on a systematic basis. Research into the distribution, biological and molecular properties of *Rubus*-infecting viruses, as well as their effect on crop productivity, are therefore highly relevant both scientifically and practically — particularly for improving the productivity of commercial plantations and developing effective virus management strategies.

The novelty of the research lies in the extended monitoring of the distribution of 14 viruses and phytoplasma in raspberry and blackberry plantations. For the first time, Raspberry bushy dwarf virus (RBDV) was identified in blackberry plantations, and Raspberry vein chlorosis virus (RVCV) was detected in raspberry plantations. Molecular and genetic characterisation of RBDV isolates obtained from raspberry and blackberry plants was carried out. It was established that the RBDV isolates belong to the S group, whose representatives are unable to infect cultivars with resistance governed by the *Bu* gene. The effectiveness of applying antiviral agents — acyclovir, oseltamivir, and rimantadine — for the elimination of RBDV was analysed and evaluated. The impact of RBDV on the productivity of raspberry cultivars was studied and an economic assessment of their cultivation was carried out.

The practical significance of the results lies in the selection of virus-free clones for propagation, the formulation of proposals for revising certification standards for planting material, and the evaluation of the adverse impact of viral infections on the yield and fruit quality of raspberry cultivars.

Plant material was collected in 10 regions of Ukraine from nursery plantations and commercial orchards. The study revealed the presence of 7 viruses and a phytoplasma. The overall incidence of infection in the analysed material was 26.5%. The prevalence of viral infections was higher in raspberry samples (28.4%) compared to blackberry samples (16.7%). Among the identified pathogens, Raspberry bushy dwarf virus (RBDV) was predominant (detected in 18.2% of samples). Raspberry leaf blotch virus (RLBV) was identified in 8.3% of raspberry samples, although it is not currently included in the list of pathogens mandatory for testing according to the EPPO certification standard. In addition, 7.9% of samples were infected with the quarantine pathogen Arabis mosaic virus (ArMV, A2 quarantine group). The highest incidence of viral infection was recorded in Vinnytsia (59.3%) and Kyiv (54%) regions.

Clones of 18 raspberry cultivars and 5 blackberry cultivars free from viral infections were selected, suitable for further propagation and establishment of commercial plantations.

Based on monitoring studies and analysis of regulatory documents, the need for amendments to raspberry and blackberry certification standards was identified, in particular: SSU DSTU 4720:2007 “Raspberry and Blackberry Planting Material. Technical Specifications”, SSU DSTU 7185:2010 “Fruit and Berry Crops. Methods for Determining the Phytovirological Status of Planting Material of Berry Shrubs” and EPPO PM 4/10 “Certification scheme for *Rubus*”.

Specifically, SSU DSTU 4720:2007 does not provide a clear list of viruses for mandatory testing and requires harmonization with other standards. It was emphasized that RLBV should be included in this list due to its active spread and detrimental impact on raspberry yield and fruit quality.

To determine the molecular and genetic characteristics of RBDV and RLBV isolates obtained from raspberry and blackberry plants, sequencing of coat protein gene fragments was performed. The nucleotide sequences obtained were deposited in the NCBI GenBank database and assigned accession numbers.

Phylogenetic analysis of Ukrainian RBDV isolates revealed an average sequence identity of 98.96% at the amino acid level and 98% at the nucleotide level. The isolates from Kharkiv (431UA), Kyiv (UA1), and Vinnytsia (177UA) regions showed the highest sequence homology among themselves and high similarity to European isolates (95.5–100%). The blackberry isolate from Zhytomyr region (KB-UA) was genetically more distant from the raspberry isolates and identical to an isolate from Kazakhstan, indicating its distinct origin.

RLBV isolates from Kyiv and Vinnytsia regions exhibited only 95.6% nucleotide sequence identity between them. The closest relationship to UA178-RLBV was observed with isolates from Serbia (99%), whereas the UA117-RLBV isolate was less similar to the others. The high variability of these isolates suggests a probable recent introduction of the virus into Ukraine from different geographic regions.

To evaluate the efficacy of antiviral compounds for RBDV elimination via chemotherapy under in vitro conditions, the raspberry cultivar Perseia was used. The effects of four compounds were tested: ribavirin, acyclovir, oseltamivir, and rimantadine, each applied at three different concentrations.

Assessment of the phytotoxicity of the antiviral agents on plants revealed the most pronounced negative effect of ribavirin. Pale yellowing of shoot tips and explants death were observed, ranging from 6.3% to 40% depending on the compound concentration. Ribavirin also inhibited the growth of microshoots, reducing their height by up to 70% compared to the control. In contrast, oseltamivir at certain concentrations stimulated growth, increasing shoot height to 106.4% relative to the control.

ELISA confirmed effective elimination of RBDV following the application of acyclovir. The highest proportion of virus free plants (42.8%) was recorded at a concentration of 60 mg/L, while at 40 mg/L it was 14.3%. Oseltamivir also showed some efficacy: at 80 mg/L, 14.3% of plants were free of RBDV.

The impact of RBDV on the physiological status and productivity of raspberry plants was studied on infected and healthy plants of the cultivars Brusviana, Sugana, and Joan J. The results showed that RBDV reduced leaf water-holding capacity by 27.8–35.6%, while water deficit in infected plants increased by 66%. In infected plants of all three cultivars, leaf dry mass per unit area averaged 0.47–0.55 g/dm², slightly lower than the control values (0.5–0.59 g/dm²).

RBDV had a negative effect on the functioning of the photosynthetic apparatus. Analysis of green pigment content revealed a decrease in chlorophyll *a* in infected Joan J plants by 30.1%, while in Sugana and Brusviana it decreased by 23.2% and 18.1%, respectively. Chlorophyll *b* content decreased by 22.1–27.2%. Chlorophyll fluorescence induction measurements of leaves indicated that RBDV-infected plants exhibited elevated chlorophyll fluorescence throughout the entire recording period of its induction changes.

Measurements of shoot height showed a slight reduction in infected plants, by 14% compared to controls. The greatest decrease in the number of fruiting shoots was observed in the Sugana cultivar, with a 23.3% reduction. RBDV caused a substantial decline in yield for all three cultivars: 62.2% in Joan J, 61.8% in Sugana, and 58.6% in Brusviana.

Fruit quality of raspberry was also adversely affected by virus infection. Only 14–17.6% of fruits met the first commercial grade according to SSU DSTU 7179:2010,

while the majority of the harvest was suitable only for processing. No first-grade fruits were recorded from the harvest of infected Joan J plants. In infected Brusviana plants, 79.7% of the yield consisted exclusively of fruits suitable for processing.

A significant reduction in the number of drupelets per fruit was observed in infected plants: in the Brusviana cultivar, drupelet number decreased by 61.3%, in Sugana by 52.2%, and in Joan J by 50.6%. The total number of fruits also declined in infected Joan J plants by 16.3%, which additionally exhibited the greatest reduction in berry weight — 46.1%.

The study revealed that RBDV infection alters the biochemical composition of raspberry fruits. A decrease in ascorbic acid content by 7.7–9.6% was observed in all infected cultivars, while a statistically significant reduction in total sugar content by 11.8% was recorded only in the Brusviana cultivar. In the same cultivar, titratable acid content increased by 50% compared to healthy plants. Anthocyanin levels were substantially elevated in infected Sugana and Brusviana plants, by 60.4% and 53.7%, respectively.

Economic analysis of raspberry cultivation demonstrated a decline in profitability when using infected planting material. For Brusviana and Sugana cultivars, profitability ranged from 11.2% to 11.9%, whereas Joan J exhibited a negative profitability of – 3.7%.

Thus, the phytovirological status of raspberry and blackberry plantations in the Polissya and Forest-Steppe regions of Ukraine was assessed to prevent the further spread of viruses. Of particular practical value is the selection of healthy clones, which can subsequently serve as planting material. The effectiveness of chemotherapy in *in vitro* culture for the sanitation of raspberry plants infected with viruses was determined. The negative impact of viral infection on the functional state and productivity of raspberry cultivars was demonstrated.

Keywords: *Rubus*, viruses, ELISA, RT-PCR, phylogenetic analysis, virus elimination, drought tolerance, chlorophyll, yield

ЗМІСТ

Вступ.....	119
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕНІВ, ЯКІ ІНФІКУЮТЬ МАЛИНУ Й ОЖИНУ	264
1.1. Поширення вірусів малини й ожини у світі та Україні.....	264
1.2. Віруси, які передаються нематодами	29
1.3. Віруси, які переносяться попелицями.....	333
1.4. Вірус скручування листя черешні, Cherry leaf roll virus (CLRV).....	37
1.5. Вірус огіркової мозаїки, Cucumber mosaic virus (CMV)	37
1.6. Фітоплазми, Candidatus Phytoplasma	38
1.7. Вірус кущистої карликовості малини, Raspberry bushy dwarf virus (RBDV)	39
9	
1.8. Вірус плямистості листя малини, Raspberry leaf blotch virus (RLBV).....	433
1.9. Методи діагностики патогенів малини й ожини	45
1.10. Методи оздоровлення рослинного матеріалу та їх ефективність.....	48
РОЗДІЛ 2. УМОВИ, ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	512
2.1. Місце проведення та об'єкти досліджень	52
2.2. Методи досліджень	52
2.2.1. Лабораторно-польові методи дослідження.....	52
2.2.2. Елімінація вірусів малини в культурі <i>in vitro</i>	55
2.2.3. Вплив вірусної інфекції на функціональний стан рослин малини	58
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ РОЗДІЛ 3. ФІТОВІРУСОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ НАСАДЖЕНЬ МАЛИНИ Й ОЖИНИ	64

3.1. Візуальне обстеження насаджень <i>Rubus</i> spp. на наявність ознак вірусної інфекції.....	64
3.2. Діагностика вірусів методом імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції	68
3.3. Інфікованість сортів малини й ожини	755
3.4. Удосконалення схеми сертифікації садивного матеріалу малини й ожини .	78
РОЗДІЛ 4. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА УКРАЇНСЬКИХ ІЗОЛЯТІВ RBDV ТА RLBV	83
4.1. Філогенетичний аналіз виділених ізолятів Raspberry bushy dwarf virus	83
4.2. Філогенетичний аналіз виділених ізолятів Raspberry leaf blotch virus	900
РОЗДІЛ 5. ОЗДОРОВЛЕННЯ МАЛИНИ ВІД ВІРУСІВ В УМОВАХ КУЛЬТУРИ <i>IN VITRO</i>	98
РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН РОСЛИН МАЛИНИ.....	109
6.1. Вплив інфікування вірусами на посухостійкість рослин малини.....	109
6.2. Вплив вірусної інфекції на вміст зелених пігментів у листках малини	Error!
Bookmark not defined.	6
6.3. Індукція флуоресценції хлорофілу рослин малини під впливом вірусної інфекції	Error! Bookmark not defined.
6.4. Вплив вірусної інфекції на врожайність, фізичні властивості та біохімічний склад плодів малини	119
РОЗДІЛ 7. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИРОЩУВАННЯ МАЛИНИ В УМОВАХ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ.....	130
ВИСНОВКИ	1367
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	139

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **Ряба І.А.**, Павлюк Л.В., Удовиченко К.М., Тряпідина Н.В. Відбір безвірусних клонів у маточних насадженнях малини (*Rubus idaeus*) та ожини (*Rubus caesius*). *Садівництво*. 2019. Вип. 74. С. 153–160.
<https://doi.org/10.35205/0558-1125-2019-74-153-160>

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 70 %)

2. **Ряба І.А.**, Удовиченко К.М. Вплив вірусу кущистої карликовості малини на посухостійкість рослин малини. *Садівництво*. – 2024. Вип. 79. С. 139–144.
DOI: <https://doi.org/10.35205/0558-1125-2024-79-139-144>

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 80 %)

3. **Riaba I.**, Udovychenko K. Impact of raspberry bushy dwarf virus on yield and fruit quality of three red raspberry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2025. Vol. 9 (1). P. 23–31. DOI: <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2025.0003>

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 70 %)

4. **Ряба І.А.**, Барабаш Л.О., Удовиченко К.М. Економічне оцінювання вирощування малини за умов інфікування raspberry bushy dwarf virus. *Bulletin of Agricultural Science*. 2025. Том 103. №5. С. 33–39. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202505-04>

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 70 %)

2. Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Ряба І. А.**, Удовиченко К. М., Павлюк Л. В. Філогенетичний аналіз українських ізолятів вірусу кущистої карликовості малини (RBDV). Матеріали II міжнародної науково-практичної конференції «Новітні агротехнології» 3 червня 2021 р. м. Київ. С.32.

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 80 %)

2. **Riaba I.**, Pavliuk L., Udovychenko K. Incidence and genetic diversity of Raspberry leaf blotch virus isolates in Ukraine. Conference: “CzechoSlovak Virology Conference February 15-16, 2024”. At: Czech University of Life Sciences, Praha, Czech Republic. P.40. (Poster).

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 70 %)

3. **Riaba I.**, Udovychenko K. Impact of Raspberry bushy dwarf virus on fruit quality of three red raspberry cultivars. The 13th International Conference “YOUNG SCIENTISTS FOR ADVANCE OF AGRICULTURE AGRISCI” November 26, 2024. At: Lithuanian Academy of Sciences, Vilnius, Lithuania. P. 21.

(проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка та написання статті; частка участі — 80 %)

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

- зт-ПЛР – зворотно-транскрипційна полімеразна ланцюгова реакція
- ІФА – імуноферментний аналіз
- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
- РНК – рибонуклеїнова кислота
- TBRV – Вірус чорної кільцевої плямистості томату (Tomato black ringspot virus)
- CMV – Вірус огіркової мозаїки (Cucumber mosaic virus)
- RYNV – Вірус жовтої сітчастості малини (Rubus yellow net virus)
- RMV – Вірус крапчастості малини (Raspberry mottle virus)
- BRNV – Вірус некрозу чорної малини (Black raspberry necrosis virus)
- RBDV – Вірус куцистої карликовості малини (Raspberry bushy dwarf virus)
- RLBV – Вірус плямистості листя малини (Raspberry leaf blotch virus)
- CLRV – Вірус скручування листя черешні (Cherry leaf ringspot virus)
- RpRSV – Вірус кільцевої плямистості малини (Raspberry ringspot virus)
- RVCV – Вірус хлорозу жилок малини (Raspberry vein chlorosis virus)
- ArMV – Вірус мозаїки резухи (Arabis mosaic virus)
- SLRSV – Вірус латентної кільцевої плямистості суниці (Strawberry latent ringspot virus)
- ToRSV – Вірус кільцевої плямистості томатів (Tomato ringspot nepovirus)
- PNRSV – Вірус некротичної кільцевої плямистості черешні (Prunus necrotic ringspot virus)
- PPV – Вірус шарки сливи (Plum pox virus)
- ACLSV – Вірус хлоротичної плямистості листя яблуні (Apple chlorotic leaf spot virus)
- CP – coat protein (покривний білок)
- MP – movement protein (білок руху)
- NP – nucleoprotein (нуклеокапсидний білок)
- MEGA – molecular evolutionary genetics analysis
- nt – нуклеотидна послідовність
- aa – амінокислотна послідовність

п.н. – пара нуклеотидів

MS – поживне середовище Murashige&Skoog

СРР – сухі розчинні речовини

ТК – титровані кислоти

к. – контроль

Вступ

Малина (*Rubus idaeus* L.) є однією з провідних ягідних кущових культур в Україні. На 2023 рік за даними FAO та ЄБРР площа її промислових насаджень в Україні становила 4,6 тис. га, а обсяг виробництва – 33,5 тис. т. Найбільшими світовими виробниками малини були Мексика (128,8 тис. т) і Сербія (120,1 т). Серед інших важливих виробників — США, Іспанія і Польща. Таким чином Україна посідає 6 місце у світовому рейтингу виробників ягід малини з середньою врожайністю культури до 7,5 т/га. [99].

На відміну від малини, ожина (*Rubus fruticosus* L.) в Україні залишається нішевою культурою та менш поширена, ніж у багатьох інших країнах. Водночас останніми роками в Україні простежується зростання інтересу до ожини – як серед аматорів, так і на промисловому рівні. Загальна площа її насаджень становить до 200 га. Основні площі малинових та ожинових насаджень зосереджені в Київській і Дніпропетровській областях (по 500 га), Вінницькій, Черкаській і Харківській областях (по 300 га). В останні роки простежується тенденція збільшення площ, зайнятих під ці культури, що зумовлює зростання попиту на якісний садивний матеріал.

Виробництво садивного матеріалу пов'язане з низкою питань і проблем. Зокрема, традиційні методи вегетативного розмноження малини, такі як живцювання, відсадки чи використання кореневих пагонів, є трудомісткими, потребують сприятливих погодних умов, значних площ і тривалого часу, а також можуть мати обмежену ефективність. У зв'язку з цим, культура *in vitro* та мікроклональне розмноження рослин є важливим етапом у виробництві здорового та однорідного садивного матеріалу малини й ожини. Такі біотехнологічні методи забезпечують фітосанітарну чистоту, збереження і швидке тиражування цінних генотипів і створення безвірусного вихідного садивного матеріалу.

Виділення й розмноження безвірусних клонів малини й ожини з метою отримання достатньої кількості здорового садивного матеріалу – непросте

завдання, оскільки вірусні патогени здатні колонізувати насадження *Rubus* spp., широким спектром механізмів передачі [204]. Станом на сьогодні ідентифіковано щонайменше 23 віруси з різних родів і родин, які уражують представників цього роду [298, 171]. Вони істотно відрізняються за географією поширення, патогенністю та впливом на урожайність. Не всі вони є об'єктами уваги під час промислового виробництва, однак деякі (зокрема вірус кільцевої плямистості малини, вірус куцистої карликовості малини й ін.) набули значного розповсюдження, спричиняють серйозні захворювання, знижують продуктивність і можуть призводити до загибелі рослин, тому є однією з основних причин обмеження ефективності вирощування малини й ожини.

Відсутність сертифікованого садивного матеріалу, а також ризик випадкового поширення нових вірусів через інфіковані материнські рослини, становлять потенційну загрозу виникнення епіфітотій як на місцевому, так і на регіональному й міжнародному рівнях [105].

Контроль вірусних захворювань ускладнюється тим, що багато з них поширюються природними переносниками (комахами, нематодами або грибами), що сприяє їх стрімкому розповсюдженню після появи в насадженнях. Таким чином, використання вільного від вірусів садивного матеріалу має вирішальне значення для контролю та розробки стратегій захисту від хвороб. Необхідним є також вивчення молекулярних характеристик локальних ізолятів вірусів для оптимізації технологій їх детекції.

Попри значну кількість наукових і практичних напрацювань щодо вірусів зазначених ягідних культур, питання поширення та шкідливості патогенів *Rubus* spp. залишаються актуальними й потребують подальших досліджень.

Актуальність дослідження. Для успішного функціонування схем сертифікації садивного матеріалу плодових і ягідних культур важливе розуміння наявності, поширення й характеристики вірусних патогенів на території України. За умов активного зростання виробництва малини й ожини, занепокоєння викликає поширення вірусів, що інфікують рослини цих культур, чому сприяє

неконтрольований обмін садивним матеріалом сумнівної якості між країнами, а подекуди й між континентами.

З огляду на короткий термін експлуатації промислових плантацій і сталу високу потребу в садивному матеріалі, важливим є його якісний контроль. Проте в Україні він часто потрапляє у виробництво без належної фітовірусологічної перевірки, що зумовлює поширення вірусів і фітоплазм, і, як наслідок, призводить до істотних втрат урожаю у плодоносних насадженнях.

У цьому контексті особливої уваги набуває питання контролю фітовірусологічного стану рослин, що використовують для тиражування садивного матеріалу, особливо коли мова йде про високі категорії (вихідні та базові клони). В Україні сертифікація та фітовірусологічний контроль садивного матеріалу малини й ожини регламентується із 2010 року відповідно до ДСТУ 7185:2010 «Культури плодові та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур» [15], в якому враховано вимоги стандарту Європейської та Середземноморської організацій захисту рослин щодо вирощування сертифікованого садивного матеріалу *Rubus* spp. Standard PM 4/10 [234]. Згідно з цими стандартами, садивний матеріал *Rubus* spp. має бути протестований на наявність 14 вірусів і однієї фітоплазми.

Нині на території України виявлено віруси, які раніше не діагностували, що свідчить про зростаючий ризик вірусної інфекції в результаті міжнародного обігу садивним матеріалом. Зокрема, набуває значення вивчення вірусу плямистості листя малини (Raspberry leaf blotch virus, рід *Emaravirus*), вперше ідентифікованого у Великій Британії у 2012 році [205], а згодом виявленого і в Україні [252]. Це перший емаравірус, зафіксований на малині на території країни.

З огляду на зростаючу економічну роль малини в Україні та активне нарощування її експорту, питання вірусологічного статусу цієї культури стає особливо актуальним. Тому проведення досліджень щодо поширення, молекулярно-генетичних характеристик вірусів малини й ожини, а також оцінки

їх впливу на окремі сорти є вкрай важливим з погляду як науки, так і виробництва.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу над дисертаційним дослідженням виконували в 2019–2025 роках у відділі вірусології, оздоровлення та розмноження плодових і ягідних культур Інституту садівництва НААН. Дисертація є складовою частиною наукових програм за темами: 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 дослідження – вивчити видовий склад і поширення вірусів малини й ожини в Україні та дослідити молекулярно-біологічні властивості виділених ізолятів. Для виконання мети визначено такі *завдання*:

1. Провести скринінгові дослідження насаджень рослин роду *Rubus* spp., відібрати візуально здорові та рослини із симптомами, характерними для інфікування вірусами та фітоплазмами.
2. Провести діагностику зразків малини й ожини на наявність вірусів й фітоплазм методами ІФА та ПЛР.
3. Вивчити генетичне різноманіття виділених ізолятів RBDV і RLBV.
4. Оцінити ефективність віроцидів різного походження для елімінації RBDV в умовах культури *in vitro*.
5. Удосконалити підходи до сертифікації садивного матеріалу малини й ожини в Україні.
6. Дослідити вплив RBDV на функціональний стан і продуктивність рослин малини й ожини.
7. Провести економічне оцінювання шкідливості RBDV у насадженнях малини й ожини.

Об'єкт дослідження – сорти малини й ожини та віруси, що їх уражують.

Предмет дослідження – поширення вірусів малини й ожини, молекулярно-біологічні характеристики виявлених вірусних ізолятів, фізіолого-біохімічні зміни у рослин-господарів під впливом інфекції, а також ефективність застосування антивірусних препаратів для оздоровлення рослин в умовах *in vitro*.

Методи дослідження. Теоретична й методологічна основа проведених досліджень ґрунтується на використанні як спеціальних, так і загальноприйнятих методів і підходів. У науковій роботі застосовували такі методи: лабораторні (імуноферментний аналіз, полімеразно-ланцюгова реакція в модифікаціях, електрофорез в агарозному гелі, сиквенування фрагментів нуклеїнової кислоти методом Сенгера; біоінформатичні (філогенетичний та рекомбінаційний аналізи); лабораторно-польові (візуальний огляд, оцінка посухостійкості, фізіологічних параметрів рослин, біохімічного складу плодів); статистичні.

Наукова новизна. Уперше в Україні:

- встановлено рівень поширення вірусів і фітоплазми серед перевірених насаджень малини й ожини під час скринінгових досліджень;
- отримано молекулярно-генетичні характеристики українських ізолятів вірусів RBDV виділених з рослин малини й ожини;
- досліджено антивірусну активність комплексних препаратів ацикловір, озельтамівір, римантадин і показано високу ефективність їхньої дії на елімінацію RBDV;
- проведено вивчення впливу вірусної інфекції на продуктивність сортів малини вітчизняної селекції та сортів, придатних до поширення в Україні;
- оцінено економічну ефективність вирощування малини на фоні вірусної інфекції.

Практичне значення одержаних результатів

- відібрано вільні від вірусів клони малини й ожини, що рекомендовано для подальшого розмноження і закладання насаджень різних типів;
- до міжнародної бази даних GenBank внесено нуклеотидні послідовності гена білка оболонки вірусів RBDV і RLBV, ідентифікованих у дослідження. Отримані дані можуть бути використані для філогенетичного аналізу з метою

порівняння ізолятів, що циркулюють як у Поліссі та Лісостепу України, так і в інших країнах;

- сформовано рекомендації щодо оптимізації процесу сертифікації садивного матеріалу малини й ожини. Запропоновано внести зміни до ДСТУ 7185:2010 «Культури плодові та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур» і ДСТУ 4720:2007 «Саджанці малини і ожини. Технічні умови», шляхом гармонізації та розширення панелі вірусів, що підлягають тестуванню;

- показано негативний вплив вірусів на урожайність та якість окремих сортів малини.

Особистий науковий внесок здобувача. Дисертаційне дослідження виконано здобувачем у повному обсязі самостійно. У рамках роботи проведено детальний аналіз вітчизняної та міжнародної наукової літератури, забезпечено систематизацію зібраного емпіричного та теоретичного матеріалу. Виконано широкий комплекс польових і лабораторних експериментів, отримані результати узагальнено, опрацьовано за допомогою статистичних методів і представлені в узгодженій формі. На основі проведених досліджень сформульовано науково обґрунтовані висновки та розроблено прикладні рекомендації. У процесі підготовки наукових публікацій авторка реалізувала свій вагомий внесок, який оцінюється в межах 70–80 %.

Апробація результатів. Основні результати дисертаційної роботи представлено на засіданнях вченої ради ІС НААН України з 2022-го по 2025 рр. та обговорено на наступних міжнародних конференціях:

- II Міжнародній науково-практичній конференції «Новітні агротехнології», яка відбулася 3 червня 2021 р. в м. Київ. — «Філогенетичний аналіз українських ізолятів вірусу кущистої карликовості малини (RBDV)»;
- Міжнародній науковій конференції: «Чехо-словацька конференція з вірусології», яка відбулася 15-16 лютого 2024 р. в Чеському університеті природничих наук в м. Прага, Чеська Республіка. — «Поширення та

генетичне різноманіття ізолятів Вірусу плямистості листя малини на території України»;

- XIII Міжнародній конференції молодих вчених: «Молоді вчені за розвиток сільського господарства AGRISCI», яка відбулася 26 листопада 2024 р. в Академії наук Литви у м. Вільнюс, Литва. – «Вплив вірусу кущистої карликовості малини на якість плодів трьох сортів червоної малини».

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових праць, у тому числі три статті у фахових вітчизняних виданнях та одну – в зарубіжному виданні.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису об'єктів і методів досліджень, 5 розділів експериментальної частини, узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури, рекомендацій виробництву та додатка. Роботу викладено на 178 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 22 таблицями та 27 рисунками. Список використаних літературних джерел складається зі 330 найменувань, із них 294 латиницею.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕНІВ, ЯКІ ІНФІКУЮТЬ МАЛИНУ Й ОЖИНУ

1.1. Поширення вірусів малини й ожини у світі та Україні

Продуктивність та якість малини й ожини значною мірою залежать від фітосанітарного стану насаджень. На сьогодні відомо, що рослини малини й ожини інфікують принаймні 23 віруси, що належать до різних родин [121]. Raspberry bushy dwarf virus (RBDV), Apple mosaic (ApMV), Arabis mosaic (ArMV), Cherry leaf roll (CLRV), Strawberry latent ringspot (SLRSV), Sowbane mosaic (SoMV), Impatiens necrotic spot (INSV), Beet pseudo yellows (BPYV) розповсюджені у всьому світі, зокрема в Європі.

У Північній Америці, де насадження малини й ожини займають великі площі, присутні також віруси, які не зареєстровані в Європі: Blackberry virus E (BVE), Blackberry virus S (B1VS), Blackberry virus Y (BVY), Blackberry yellow-vein associated (BYVaV), Cherry rasp leaf (CRLV), Grapevine Syrah virus 1 (GSyV-1), Raspberry latent (RpLV), Raspberry leaf curl (RpLCV) та Rubus canadensis virus 1 (RuCV-1) [191].

Однак, за стандартом PM 4/10(2), розробленим Європейською організацією захисту рослин (ЄОЗР), яка створює міжнародні стратегії щодо запобігання поширення хвороб рослин, економічно важливими є лише 14 (*табл. 1.1*). Раніше проведений фітовірусологічний скринінг насаджень малини на території України засвідчив присутність таких неповірусів, як-от: Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV), Tomato black ring virus (TBRV), RBDV, ArMV, SLRSV, CLRV [30, 34], які входять до переліку стандарту PM 4/10(2) (*табл. 1.1*).

ApMV, який може інфікувати малину й ожину, в Україні ідентифіковано в насадженнях зерняткових, кісточкових та ягідних культур [4, 34]. Проте немає інформації щодо його поширення в насадженнях малини й ожини на території України, як і щодо більшості вірусних патогенів.

**Перелік вірусів та інших збудників захворювань малини й ожини,
згідно стандарту ЄОЗР**

№	Українська назва	Міжнародна назва	Родина	Рід
1.	Неповірус кільцевої плямистості малини (ВКПМ)	Raspberry ringspot nepovirus (RpRSV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>
2.	Вірус мозаїки резухи (ВМР)	Arabis mosaic nepovirus (ArMV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>
3.	Вірус мозаїки яблуні (ВМЯ)	Apple mosaic virus (AMV)	<i>Bromoviridae</i>	<i>Ilarvirus</i>
4.	Вірус кільцевої латентної плямистості суниці (ВЛКПС)	Strawberry latent ringspot nepovirus (SLRSV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Stralarivirus</i>
5.	Вірус чорної кільчастості томатів (ВЧКТ)	Tomato black ring nepovirus (TBRV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>
6.	Неповірус скручування листя черешні (ВСЛЧ)	Cherry leaf roll virus (CLRV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>
7.	Вірус огіркової мозаїки (ВОМ)	Cucumber mosaic cucumovirus (CMV)	<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>
8.	Вірус кільцевої плямистості томатів (ВКПТ)	Tomato ringspot nepovirus (ToRSV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>
9.	Вірус жовтої сітчастості малини (ВЖСМ)	Rubus yellow net virus (RYNV)	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>
10.	Вірус крапчастості листя малини (ВКЛМ)	Raspberry leaf mottle virus (RLMV)	<i>Closteroviridae</i>	<i>Closterovirus</i>
11.	Вірус хлорозу жилок малини (ВХЖМ)	Raspberry vein chlorosis virus (RVCV)	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Rhabdovirus</i>
12.	Вірус кущистої карликовості малини (ВККМ)	Raspberry bushy dwarf virus (RBDV)	Не визначено	<i>Idaeovirus</i>
13.	Вірус некрозу чорної малини (ВНЧМ)	Black raspberry necrosis virus (BRNV)	<i>Secoviridae</i>	<i>Sadwavirus</i>
14.	Вірус плямистості листя малини (ВПЛМ)	Raspberry leaf blotch virus (RLBV)	<i>Fimoviridae</i>	<i>Emaravirus</i>
15.	Фітоплазма карликовості малини (ФКМ)	Rubus stunt phytoplasma	Не визначено	Не визначено

Отже, як відомо з попередніх досліджень Таранухо та Тряпичиної, не всі патогени, рекомендовані для тестування досліджено, та їхній скринінг в насадженнях на території України не проводили [30, 34]. Зокрема, раніше для

детекції вірусів застосовували біологічне тестування та проводили електронно-мікроскопічний аналіз і серологічний метод імуноферментного аналізу (ІФА) [30]. Нині, діагностику значної частини з них – Raspberry vein chlorosis virus (RVCV), Rubus yellow net virus (RYNV), Raspberry leaf mottle virus (RLMV), Black raspberry necrosis virus (BRNV) проводять за допомогою молекулярного методу полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР), оскільки до цих вірусів ще не розроблені діагностичні набори ІФА.

Віруси різняться за морфологією віріонів, структурою генома (РНК чи ДНК), кількістю фрагментів і довжиною генетичного ланцюга [298].

Після проникнення в клітину, віруси спричиняють гіпертрофію ядер, інвагінацію ядерних оболонок, а також порушення структури хлоропластів і мітохондрій. Рівень активації захисних реакцій клітини під час вірусного інфікування прямо корелює зі стійкістю рослини й патогенністю вірусів і їхніх штамів [41].

Вірусні інфекції можуть мати як латентний перебіг, без видимих проявів, так і тяжкий, що призводить до ураження листків, пагонів, зниження урожайності, аж до загибелі рослини [51, 315]. Особливо небезпечними є змішані інфекції – вони частіше супроводжуються тяжкими симптомами і призводять до значних економічних збитків. Розвиток хвороб залежить від багатьох чинників: патогенності збудника, сортових особливостей, часу інфікування, віку рослин, погодних умов, технологій вирощування тощо [191].

Розсипчастість ягід малини (*Rubus idaeus* L.), поширена в таких Тихоокеанських країнах, як США і Канада, часто спричинена RBDV. Його вже давно відносять до одного зі збудників захворювання разом із нещодавно ідентифікованими вірусами: RLBV і RLV. Виявлено, що рослини сорту Мікер, інфіковані трьома вірусами або різною їх комбінацією, демонстрували найбільш суттєве зниження росту пагонів і цілісності плодів [192].

Зміни в навколишньому середовищі, такі як підвищення температури або коливання кількості опадів, а також інтродукція рослин з інших географічних зон або нові сорти можуть сприяти виникненню нових або раніше не виявлених

хвороб. Прикладом є нещодавнє зростання поширеності хвороби малинової плямистості листя, спричиненої вірусом RLBV.

Віруси, що вражають малину й ожину, можуть передаватися різними способами. Основними механізмами передачі є вектори-переносники (нематоди, кліщі, попелиці тощо) або є наслідком механічних пошкоджень, чи розмноження інфікованих рослин. Поширення вірусних патогенів у насадженнях може відбуватися вертикально і горизонтально. Вертикальна передача, коли нащадки успадковують вірус через насіння, пилок або вегетативно від інфікованої материнської рослини. Горизонтальна передача здійснюється між особинами одного покоління за допомогою нематод, безхребетних переносників або через механічне щеплення [170].

Розуміння складної взаємодії між рослинами-господарями, вірусними патогенами, переносниками й агроекосистемами дає змогу розробити ефективніші стратегії мінімізації збитків, завданих вірусами малини й ожини. Такі стратегії мають передбачати використання сортів, стійких до вірусів та/або їхніх переносників [119].

Отже, важливо правильно ідентифікувати й охарактеризувати віруси, що спричиняють вірусні захворювання в промислових насадженнях малини в Україні та за її межами. Це дасть змогу зібрати інформацію про генетичне різноманіття штамів і їх філогенетичні зв'язки, що, зі свого боку, сприятиме розробці й удосконаленню діагностичних інструментів для ефективного тестування. Знання цих аспектів відкриє можливість виявляти нові або покращені джерела стійкості до вірусів у генетичних ресурсах видів *Rubus*.

1.2. Віруси, які передаються нематодами

Дана група вірусів, що уражують малину й ожину, належать до родини *Secoviridae*. 4 з них (ArMV, RpRSV, TBRV, ToRSV) належать до роду *Nepovirus*, підродини *Comovirinae*, і один (SLRSV) до роду *Stralarivirus* [272].

Представники родини *Secoviridae* мають ікосаедричні частки діаметром від 25 до 30 нм та одно- або двосегментований (PHK1 і PHK2) лінійний геном із

позитивним одонитковим РНК (+ssRNA) загальною довжиною від 9 до 13,7 Кб [310].

Геном неповірусів складається з двох фрагментів одноланцюгової (ss) (+) РНК, що кодує один поліпротеїн [78].

Патогени вражають плодові, ягідні та овочеві культури, такі як малина, помідори, картопля, кабачки та інші культури, а також низку диких видів рослин [40].

Взаємодія між вірусом і нематодами, як правило, специфічна. Детермінанту вірусного геному, яка відіграє важливу роль у забезпеченні такої специфічності, пов'язують з геном покривного білка вірусу. Один з неповірусів найчастіше може переноситися одним-двома видами нематод. Але перенесення нематодами – не єдиний шлях передачі неповірусів. Практично по всіх 4, крім AgMV, підтверджено здатність більш чи менш ефективно передаватися як вертикально, так і горизонтально. На просторові характеристики розповсюдження неповірусів у насадженнях впливають типи їх трансмісії. Характерними є два типи: спорадичний та осередковий. Саме другий тип свідчить про наявність нематод. Вони пересуваються зі швидкістю лише кілька сантиметрів на рік, тому осередки інфікованих рослин утворюються досить повільно. Цей процес можуть прискорювати іригація, збільшення пористості і механічне пересування ґрунтів, наприклад, при обробці міжрядь у насадженнях [286, 318]. Віруси, що передаються нематодами, мають широкий спектр господарів і можуть завдати значних втрат на щорічних посівах і багаторічних насадженнях [62, 185, 215], особливо якщо вони присутні у комплексних інфекціях з іншими патогенами. Багато з цих вірусів досить варіабельні на рівні нуклеотидів, можливо, в результаті їхньої адаптації до багатьох видів рослин-господарів [140]. Таке генетичне різноманіття робить діагностику на основі RT-PCR складним завданням, оскільки олігонуклеотидні праймери можуть виявляти не всі штами.

Використання бромистого метилу та інших фумігантів для знезараження ґрунту зменшує поширення вірусів, що передаються нематодами, на суниці.

Проте такі обробки менш ефективні для культур роду *Rubus*, поля яких експлуатуються протягом багатьох років. Навіть після ефективної фумігації ґрунту частина нематод виживає нижче за глибину проникнення фумігантів, і вже через два-п'ять років на цих полях знову фіксують значну кількість інфікованих рослин. Водночас обмеження на використання бромистого метилу й інших хімічних фумігантів може в майбутньому спричинити значне поширення вірусів у насадженнях малини й ожини [290]. Попри наявність даних про зареєстрованих переносників нематод, їхня роль усе ще недостатньо вивчена через їхнє середовище проживання й малі розміри, що ускладнює виявлення [195].

Заходи захисту від поширення включають використання безвірусного рослинного матеріалу, хімічний захист від переносників, вирощування стійких сортів малини на насадженнях. Однак, з огляду на здатність вірусів до мутацій, навіть вирощування стійких сортів потребує скринінгу збудників. У Великобританії успішно використовують сорти малини, стійкі до неповірусів, хоча в окремих регіонах уже зафіксовано штами вірусів, які здатні долати цю стійкість [119].

Вірус кільцевої плямистості малини, *Raspberry ringspot nepovirus* (RpRSV) належить до підгрупи А роду *Nepovirus* [87]. Генوم вірусу був повністю секвенований з ізоляту винограду [92], РНК-1 кодує білки, пов'язані з реплікацією, а РНК-2 – капсидний білок масою 54 кДа.

Вперше вірус описали на рослинах роду *Rubus* spp., але він також здатний інфікувати широке коло таких господарів як суниця, вишня, виноград, нарцис, хміль, бузина та ін.

Симптоми зараження залежать від штаму вірусу, сорту рослини та умов навколишнього середовища. У малини можна спостерігати хлороз жилок, мозаїчність, кільцеву плямистість або скручування листків. На молодих листках утворюються великі яскраво-жовті плями, на сформованому листку в середині пагона розвивається хлоротичний малюнок у вигляді смуг і витягнутих кілець. Інфікування RpRSV є летальним для рослин деяких сортів малини, зокрема у

сорту Норфолк Джінт можливе відмирання пагонів узимку та загибель рослин протягом 2-3 років після появи перших симптомів. У інших сортів симптоми можуть бути відсутніми, але рослини все одно мають знижену життєздатність і врожайність. Вірус передається нематодами роду *Longidorus*, які живляться корінням рослин. Відомо кілька штамів RpRSV, найважливіші з них: шотландський, англійський і Ллойд Джордж [319]. Переносником шотландського штаму є *L. elongatus*, а англійського – *L. macrosoma*. Відомо також, що ізоляти RpRSV, які інфікували виноград, переважно поширювались за допомогою *Paralongidorus maximus* [318]. Крім того, поширення також може відбуватися через інфіковане насіння або механічним способом.

RpRSV на сьогодні належить до списку A1 карантинних організмів, відсутніх в Україні №716, від 29.11.2006 зі змінами від 16.07.2019. [24]. Хоча дані досліджень науковців ІС НААН свідчать про присутність вірусу на території України в насадженнях малини й персика [34].

Вірус мозаїки резухи, *Arabis mosaic nepovirus* (ArMV) належить до підгрупи А роду *Nepovirus* [57]. Повна нуклеотидна послідовність ArMV підтверджує його тісний зв'язок з вірусом віялоподібного листа виноградної лози (GFLV) – іншим представником підгрупи А [103, 320].

Уперше цей неповірус 1944 року описали К.М. Smith і R. Markham на *Arabis hirsute*. Він уражує майже 100 видів рослин, що належать до близько 30 родин, спричиняючи значні втрати [225]. Вірус мозаїки резухи виявлено на малині (*Rubus idaeus* L.), вишні (*Prunus cerasus* L.), винограді (*Vitis vinifera* L.), хмелі (*Humulus lupulus*), ревені (*Rheum rhabarbarum*) [128, 160].

ArMV особливо небезпечний для культури суниці й малини, оскільки спричиняє загибель рослин чутливих сортів. У малини вірус викликає жовту карликовість. На розвинених листках деяких кущів, поряд із пожовтінням, спостерігається крапчастість. Існують джерела генетичної стійкості до ArMV у деяких сортів малини [290].

Вірус здатний поширюватися через насіння [159] і передається з насінням інфікованих рослин на 10–100 %. Основний шлях трансмісії — за допомогою

нематод (у природних умовах переважно *Xiphinema diversicaudatum*), які можуть зберігати вірулеформність до 15 місяців [318]. Однорічна ротація культур недостатня для повного знищення вірусу. Згідно із Законом України «Про карантин рослин» від 30.06.1993 № 3348-XII, ArMV включено до списку А-2 карантинних організмів обмежено поширених в Україні [24].

Вірус латентної кільцевої плямистості суниці, Strawberry latent ringspot virus (SLRSV). SLRSV на сьогодні віднесено до родини *Secoviridae*, роду *Stralarivirus* [272]. Філогенетичний аналіз РНК-залежної РНК-полімерази й гелікази свідчить про тісний зв'язок SLRSV з вірусом латентної кулястості яблуні й вірусом рашпилевидності вишні, які належать до роду *Cheravirus* [302]. Водночас аналіз послідовності гена білка оболонки підтверджує належність SLRSV до роду *Stralarivirus* [89].

На відміну від неповірусів, які кодують один капсидний білок, представники роду *Stralarivirus* мають два таких білки. РНК-1 кодує вірусні неструктурні білки, а РНК-2 — поліпротеїн, який обробляється з вивільненням двох білків оболонки: CP і MP [89, 97].

Уперше патоген описав на малині 1964 року Лістер [176]. Вірус має понад 125 видів однодольних і дводольних рослин-господарів, що належать до 27 родин. Його виявлено в Північній Америці на суниці, декоративній м'яті [195, 250], а також на низці інших рослин-господарів по всьому світі [38]. Симптоми вірусу на ожині й малині виявляються у вигляді хлорозу листків і пригнічення росту кущів.

Основний шлях трансмісії, як і у вищезгаданого вірусу, — через нематод *Xiphinema diversicaudatum* [226]. SLRSV також здатний передаватися через пилок і насіння, тому селекціонери, добираючи батьківські форми, мають перевіряти їх на відсутність цього вірусу [191].

SLRSV часто трапляється в поєднанні з ArMV у країнах Європи [56].

1.3. Віруси, які переносяться попелицями

Віруси, що можуть переноситися попелицями умовно можна розділити на:

- а) персистентні (наприклад, вірус хлорозу жилок малини);
- б) напівперсистентні (наприклад, вірус крапчастості малини);
- в) неперсистентні (наприклад, вірус огіркової мозаїки).

Персистентні віруси проникають у кровоносну систему попелиць, зберігаються в гемолімфі й можуть передаватися протягом днів [110]. Передача вірусу відбувається відразу після живлення інфікованою рослиною, проте наразі немає підтверджень, що такі взаємодії впливають на поведінку попелиць [153, 209]. Після живлення на здоровій рослині попелиці втрачають здатність переносити вірус – від кількох годин до кількох діб.

Неперсистентні віруси, як-от вірус мозаїки цвітної капусти (CaMV), зберігаються в слині переносника без проникнення до передньої кишки. Проте перенесення за допомогою цих векторів не персистентне: попелиця відіграє роль резервуара для патогену лише протягом обмеженого часу — від кількох секунд [153] до 4 годин [149]. Напівперсистентні віруси можуть досягати передньої кишки попелиць, накопичуючись у слинному каналі, і передаватися наступній рослині [251, 305].

Віруси виявляють в усіх культивованих видах *Rubus*, проте найбільшої шкоди вони завдають чорній малині, у якої спостерігається некротичне відмирання верхівок пагонів, утворення пухирців і плямистість листків. Інфіковані рослини малини можуть проявляти легку плямистість або залишатися безсимптомними [290]. Комплекс із двох-чотирьох вірусів спричиняє особливо важкі прояви хвороби в насадженнях малини, етіологію яких вивчено недостатньо.

Amphorophora idaei – велика малинова попелиця з родини *Aphididae*, є основним переносником вірусів і поширена в країнах Європи (особливо у Великій Британії). У регіонах, де виробництво малини становить 416 тис. т на рік, *A. idaei* є основним вектором найвідоміших вірусів і здатна передавати деякі з них усього за дві хвилини. Відомо, що цей вид попелиць подолав генетичну стійкість багатьох сортів малини, а більшість інсектицидів більше не є

ефективними проти *A. idaei*. Як наслідок, нині відбувається неконтрольоване поширення вірусних захворювань [175].

У Північній Америці попелиця *Amphorophora agathonica* (Hottes) переносить два віруси — BRNV і RYNV. У Європі також зафіксовано передачу цих вірусів через вектор *A. idaei* (Börner) [62].

Вірус некрозу чорної малини, Black raspberry necrosis virus (BRNV) поки що не класифікував Міжнародний комітет таксономії вірусів (ICTV) BRNV до жодної родини чи роду, однак філогенетичний аналіз дає підстави зарахувати його до роду *Sadwavirus* [115].

Очищені частинки мають ізометричну форму, діаметром приблизно 28 нм. У градієнтах щільності сахарози вірус осідає у вигляді двох компонентів: одного приблизно 50 S (ймовірно, без нуклеїнових кислот (НК) та іншого – 130 S, який є інфекційним [77].

Назва вірусу пов'язана з характерним ефектом, який викликає на верхівках пагонів рослин чорної малини. У більшості поширених сортів симптоми зовні малопомітні, що ускладнює візуальну ранню діагностику захворювання. Однак, присутність цього патогену в рослині зрештою призводить до зниження її життєздатності й урожайності. Уже після одного вегетаційного періоду інфікування BRNV чутливих сортів, таких як Моллінг Джевел, може сягати 75 % [290]. При моноінфекції у малини (*R. idaeus* та *R. idaeus* var. *strigosus*) та гібридах *Rubus* він не викликає жодних симптомів або легку хлоротичну плямистість.

Він є одним з вірусів, які переносить попелиця на нові насадження малини [77].

Вірус крапчастості малини, Raspberry leaf mottle virus (RLMV) є нещодавно схарактеризованим представником роду *Closterovirus* родини *Closteroviridae* [204, 301]. РНК-віруси загалом відомі генетичною різноманітністю навіть на видовому рівні, що пов'язано з частими розбіжними рекомбінаціями між послідовностями РНК-полімераз. Особливо це характерно

для вірусів з великими геномами, зокрема кластеровірусів, які, за даними досліджень, мають різноманітніший геном до 3' кінця [44].

RLMV уражає малину та ожину [300]. Також уражає рослини роду *Ribes* [50].

Патоген напівперсистентно передає велика малинова попелиця *Amphorophora agathonica* (Hottes). RLMV поширений у комерційних насадженнях сорту Мікер у штаті Вашингтон [256].

Вірус хлорозу жилок малини, Raspberry vein chlorosis virus (RVCV) належить до родини *Rhabdoviridae*.

Вірус містить кілька віріонів кулеподібної форми (діаметр — 70–80 нм, довжина — 500 нм), які складаються з оболонки й нуклеокапсида. Капсид обгорнутий, витягнутої форми зі спіральною симетрією. Геном не сегментований і містить одну молекулу лінійної одноланцюгової РНК. Віріони накопичуються в ядрі клітини, а також містяться в цитоплазмі й перинуклеарному просторі [229].

Уперше описаний 1952 року в Європі [62], RVCV є високо спеціалізованим вірусом, що уражує лише сорти малини із червоним забарвленням плодів. Рослини роду *Rubus* spp. демонструють різний рівень чутливості до цього вірусу. Ознаки хвороби проявляються на одно- й дворічних пагонах у вигляді пожовтіння ділянок листкових пластинок поблизу дрібних жилок і жовтої сітчастості. У разі сильного інфікування спостерігається повний хлороз листків. Хворі рослини відстають у рості, плодоносні гілочки набувають жовтого кольору. Ягоди стають недорозвиненими, сухими й однобокими [191, 298]. Вірус також виявлено на суниці.

Його персистентним способом передають попелиці загону напівкрилих родини *Aphididae*, зокрема вид *Aphis idaei* [207, 229].

RVCV поширений на території країн — членів ЄОЗР, а також виявлений у Канаді й Новій Зеландії [141].

1.4. Вірус скручування листя черешні, Cherry leaf roll virus (CLRV) є встановленим видом у підгрупі С роду *Nepovirus* [272]. CLRV має біпартитний геном, що складається з двох позитивно орієнтованих молекул ssRNA. Кожна молекула РНК окремо оточується капсидом правильної геометричної форми з діаметром 28 нм. РНК-1 і РНК-2 мають структурну організацію, типову для цього роду, і складаються відповідно з 7905 та 6511 нуклеотидів [91].

CLRV вперше описали на вишні в Англії [249]. CLRV має широкий природний та експериментальний спектр господарів, інфікуючи представників понад 36 родин [261, 311]. Пізніше встановили, що вірус спричиняє скручування листків, а також його діагностували в інших видах, зокрема бузині, оливках, малині, ревені, горіху волоському й кількох декоративних кущових рослинах [61, 322].

CLRV виділений із сорту Hort16A рослини *Actinidia chinensis*, де на ліанах спостерігалися некротичні симптоми на листках і пошкодження стебел. Ізолят вірусу JN371141 був дуже схожий на ізолят з малини [148] і зарахований до групи С [261]. Для рослин малини характерні симптоми інфікування CLRV: пожовтіння листя, його закручування й деформація форми, що також супроводжується зниженням якості ягід і може негативно впливати на врожайність [148]. Захворювання, спричинене CLRV, становило загрозу для рослин ківі через викликані симптоми й стрімке поширення вірусу [54].

Доведено, що CLRV поширюється через насіння, пилок і щеплення [322].

Вірус зареєстрований у Північній Америці, Чилі, Перу, Європі, Китаї, Японії, Австралії та Новій Зеландії [322]. В Україні його також діагностували на кісточкових [244], горіху волоському [90], бузині чорній [219].

1.5. Вірус огіркової мозаїки, Cucumber mosaic virus (CMV) належить до роду *Cuscutovirus*, родини *Bromoviridae*.

Віріони вірусу мають просту будову з ікосаедричним типом симетрії ($T = 3$) і діаметром до 29 нм. Містять 3-геномні РНК: РНК-1 (~3350 нуклеотидів), РНК-2 (~3,05 нуклеотидів), РНК-3 (~2200 нуклеотидів), а також одну субгеномну (+)

РНК. Кожна молекула РНК упакована в окрему білкову оболонку, унаслідок чого зрілий вірус складається з трьох сферичних вірусних часточок [59].

Патоген інфікує до 1200 видів рослин з понад 100 родин, серед яких є економічно важливі культурні й сільськогосподарські рослини. Окремі сорти малини проявляють ознаки хлоротичної плямистості, тоді як у Ллойд Джордж спостерігалася блідо-зелена плямистість листків без помітного впливу на плодоношення рослин [118]. Також виявляли дрібні листки з виразною хлоротичною плямистістю та симптомами хлоротичної кільцевидної плямистості.

Передача CMV через насіння характерна для понад 19 видів рослин [58, 101, 172].

На території України вірус огіркової мозаїки детектується в насадженнях сільськогосподарських культур з 1970 року [221]. У Полтавській області його зареєстровано також на рослинах ехінацеї [218].

1.6. Фітоплазми, *Candidatus Phytoplasma* – це безклітинні бактерії, що займають проміжне положення між бактеріями і вірусами та належать до класу *Mollicutes* [127].

Фітоплазми, що належать до 16Sr-груп, мають по дві копії оперона рРНК, кожна з яких складається з гена 16S рРНК, внутрішнього транскрибованого спейсера (ITS) і гена 23Sr RNA [173, 246]. Lee et al., запропонували першу комплексну схему класифікації фітоплазми на основі аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (RFLP) 16S рДНК, ампліфікованої ПЛР [168]. На сьогодні відомо 90 підгруп 16S рДНК. Ідентифіковані додаткові молекулярні маркери (рибосомний білковий геу (*rp*) [168], ген *tuf* [189], ген *sec Y* [43], гени *sec A* та *cpn 60*) забезпечують значно кращу роздільну здатність під час розмежування видів та екологічних штамів фітоплазм [122].

Вони є патогенами багатьох видів рослин у всьому світі. Пізніше фітоплазми ідентифіковано в представників роду *Rubus* (*Candidatus Phytoplasma rubi*) [49, 73]. Окрім того, фітоплазми трапляються й на дикій ожині [307].

У представників роду *Rubus*, зокрема малини (*Rubus idaeus*) та ожини (*Rubus* subgenus), фітоплазми спричиняють захворювання — *Rubus stunt*. Симптомами є затримка росту, утворення «відьминих мітел», філодії, дрібне листя, короткі міжвузля, збільшення чашолистків, проліферація квіток, а також деформація плодів.

Основним переносником фітоплазм в Європі є цикадка *Macropsis fuscula* Zett. Цей векторний вид добре прижився також у західній частині Північної Америки, зокрема в західній Канаді [186]. Фітоплазми мають широке географічне поширення, проте, за наявними даними, виявлені поки що лише в Європі, Пакистані й Туреччині. Це зумовлено регулюванням імпорту садивного матеріалу видів *Rubus* у Канаді й США (за винятком насіння). Патоген також поширюється вегетативним розмноженням рослин.

Оскільки латентний період фітоплазм може тривати до одного року, а рослини роду *Rubus* зазвичай розмножуються вегетативно, існує високий ризик поширення інфекції через садивний матеріал [174]. Швидке поширення фітоплазм у насадженнях малини й ожини може спричинити епіфітотії та значні економічні збитки. Хворі рослини часто гинуть або утворюють дрібні ягоди, що призводить до зниження врожайності [264].

1.7. Вірус кущистої карликовості малини, Raspberry bushy dwarf virus (RBDV)

RBDV належить до виду *Idaeovirus rubi*, який є одним з двох представників роду *Idaeovirus* [184, 279]. Цей рід поки не зарахований до конкретної родини, але має декілька спільних характеристик з вірусами родини *Mayoviridae* [143]. Але у 2017 р. James & Phelan [131] дослідили, що віруси RBDV, PrLBaV та BCLCaV тісно пов'язані між собою філогенетично. Вони мають схожу організацію геному, що експресують подібні білки майже однакових розмірів, а їхні 3' кінцеві послідовності нуклеотидів (nt) утворюють типові стовбурові петлі й закінчуються на 3' кінці (С) хвостом. Це підтверджує класифікацію всіх трьох вірусів до роду *Idaeovirus*.

Геном вірусу сегментований, двопартитний і складається з трьох лінійних послідовностей, позитивної одноланцюгової РНК [228].

Вірусні частинки RBDV мають діаметр 33 нм, квазіізотричної форми, проте на електронних мікрофотографіях негативно забарвлених препаратів вони мають плескатий вигляд [47]. Ці частинки на 76 % складаються з білка, а решту 24 % становлять нуклеїнові кислоти. Віріони RBDV покриті білковою оболонкою, молекулярна маса якої становить 30 509 Da і містить три типи геномної РНК з масами: (10-6 Da) 2,0 (РНК-1), 0,8 (РНК-2) та 0,3 (РНК-3) [228].

РНК-1 (5449 нуклеотидів) кодує великий білок з молекулярною масою 190 кДа, який, імовірно, є вірусною РНК-репліказою [232]. Припускають, що білок 12 кДа може кодуватися в короткій відкритій рамці зчитування (ORF — open reading frame). РНК-2 кодує білок руху (MP), що полегшує проникнення вірусу до клітин. П'яту частину RBDV РНК-2 (2231 нуклеотид) кодує білок масою 39 кДа, у той час як третя частина РНК-2 кодує покривний білок (CP) масою 30 кДа. РНК-3 (946 нуклеотидів) отримують з третьої частини РНК-2 і, ймовірно, є субгеномною РНК для синтезу покривного білка [232, 329].

Уперше симптоми хвороби, яку може спричиняти цей вірус, виявлено й ідентифіковано в США [63]. Відомо, що RBDV здатний уражати малину, ожину, виноград і черешню [64, 191, 197], а на *Rubus* spp. він виявлений у всіх регіонах їх культивування: Європі, Азії, Новій Зеландії, Північній і Південній Америці, Південній Африці [46, 79, 130, 197, 258, 306].

Уражуючи насадження культивованих видів *Rubus*, цей патоген спричиняє появу хлорозу — від легкого до яскраво-жовтого забарвлення, некрозів, деформованих і розсипчастих плодів, а також зниження продуктивності рослин. Ознакою захворювання також може бути утворення великої кількості тонких, слабкорозвинених пагонів [145].

Розсипчасті плоди — одна з найхарактерніших ознак інфікування цим вірусом. Їх поява зумовлена порушенням процесу формування кістянок, кількість яких значно зменшується (від 70 до 10–12 штук) [293]. Саме

деформовані плоди можуть спричиняти зниження урожайності до 50–60 %, навіть якщо загальна кількість кістянок не змінюється [192].

Особлива небезпека цього вірусу полягає в його здатності передаватися через пилок і насіння від інфікованої рослини до здорової [227], що ускладнює контроль за його поширенням у насадженнях культивованих сортів малини. встановлено, що майже 77 % сіянців, вирощених із насіння інфікованої малини, також були заражені RBDV [145]. На сьогодні з'ясовано, що життєздатність пилку, інфікованого цим вірусом, досить висока, хоча вірус впливає на швидкість росту пилкових трубок під час запилення [289].

Поширення RBDV можна стримувати культивуванням сортів з геном стійкості до S-ізолятів (Bu). Однак лише деякі нові сорти фактично містять цей ген. У Європі (Англія, Шотландія), Північній Америці (США, Канада) і Новій Зеландії проводять дослідження з метою отримання толерантних до RBDV сортів, зокрема Корере, Мотуека, Селвін, Тадмор та інших [116, 292].

На сьогодні відомо про декілька груп ізолятів RBDV: S (найчисленніша група), RB (ізоляти, що можуть інфікувати гібриди й сорти, стійкі до S-ізолятів) та B (виявлені й ідентифіковані лише на *R. occidentalis*) [145].

Сорти малини різняться за способом плодоношення. У частини з них плоди формуються лише на дворічних приростах, тоді як ремонтантні сорти здатні плодоносити на пагонах як першого, так і другого року. Є свідчення, що ремонтантні сорти частіше уражуються RBDV [291]. Наукові спостереження підтверджують цю закономірність: встановлено вірогідну різницю в поширенні RBDV та RLV серед сортів з різними типами плодоношення. Вищий рівень поширення цих вірусів серед ремонтантних сортів пов'язаний з додатковим щорічним етапом цвітіння й запилення, а також з ослабленням рослин унаслідок повторного плодоношення [34].

З метою зменшення поширення вірусу в нових насадженнях, розташованих поблизу інфікованих, рекомендовано висаджувати кущі стійких сортів малини: Вілламетт, Гайда, Нутка, Чілкотін [133]. Утім, на сьогодні відомо про появу штамів RBDV, здатних долати резистентність. Дослідження показали, що через

5 – 6 років після першої появи RBDV у насадженнях чутливого сорту малини Мікер інфікованими можуть стати всі рослини (*рис. 1.1*) [193]. Цей сорт найпоширеніший у культивуванні на північному заході Тихоокеанського регіону [192].



Рис. 1.1. Розсипчасті ягоди та хлороз на листках ожини сорту Мікер, уражених RBDV [293]

Природні ізоляти RBDV, виділені із малини в Європі та Північній Америці, мають ідентичні серологічні характеристики. Дослідники припускали, що поява В-ізолятів може бути зумовлена поширенням вірусу пилом з насаджень малини [227]. Для з'ясування цього питання Ward et al. [316] застосували метод сегрегаційного масового аналізу з використанням RAPD-маркерів. Характерні для стійких генотипів фрагменти (BC002-900, BC296-425, BC615-600) були секвеновані. На основі отриманих послідовностей створено CAPS-маркери, з яких найтісніший зв'язок з резистентністю показав маркер BC615_553_Alu I, однак він був відсутній в інших стійких сортах. Згодом послідовність цього маркера вирівняли з секвенованим геномом суниці, і один з виявлених генів-кандидатів виявився гомологом N-гена тютюну, який контролює стійкість до вірусу тютюнової мозаїки.

У результаті запропоновано маркер *raspN_gene_1202*, що ампліфікувався в стійких сортах малини Нутка, Гайда і Вілламет і в 96,7 % випадків пов'язаний зі стійкістю до RBDV, на відміну від сприйнятливого сорту WSU1499 [316].

1.8. Вірус плямистості листя малини, *Raspberry leaf blotch virus* (RLBV)

Організація геному RLBV і схожість нуклеотидних послідовностей свідчать про його належність до виду *Emaravirus idaeobati*, що є представником роду *Emaravirus* родини *Fimoviridae* [279]. Геном RLBV сегментований, багатокomпонентний, завдовжки 17410 нт, складається з 8 лінійних фрагментів антисенсової РНК [181]. РНК-1 (7,1 кб) кодує ймовірну РНК-залежну РНК-полімеразу, РНК-2 (2,1 кб) — два глікопротеїни, РНК-3 (1,4 кб) — нуклеокапсидний білок (NP), РНК-4 (1,7 кб) — білок руху. Фрагменти РНК-5 — РНК-8 кодують кілька білків, функції яких наразі залишаються невизначеними.

Вірус поширений у Європі. Після його детекції в Шотландії, Англії та Сербії проведені масштабні дослідження, у результаті яких RLBV ідентифіковано в зібраних зразках малини на рослинах із симптомами плямистості [205]. Згодом вірус виявили в інших європейських країнах з розвиненим виробництвом малини, таких як Боснія і Герцеговина, Болгарія, Фінляндія, Чорногорія, Польща, Сербія, Словаччина, Чеська Республіка, Норвегія, Фінляндія, Україна та Казахстан [53, 75, 81, 138, 154, 158, 198, 330].

Цей вірус асоціюється з давно відомою хворобою малини, пов'язаною із плямистістю листя (RLBD) [144, 205]. RLBV уражає малину (*R. idaeus*), тауберрі (*R. fruticosus* x *R. idaeus*) і *R. odoratus* [53, 88]. Також повідомлялося про інфікування дикорослої малини [154]. Основним переносником вірусу є бруньковий кліщ *Phyllocoptes gracilis* з родини *Eriophyidae* [144] (рис. 1.2). Його популяції можуть живитися ягодами малини, що призводить до передчасного дозрівання окремих кістянок і деформації плодів, які втрачають товарний вигляд і значно знижують урожайність [108].

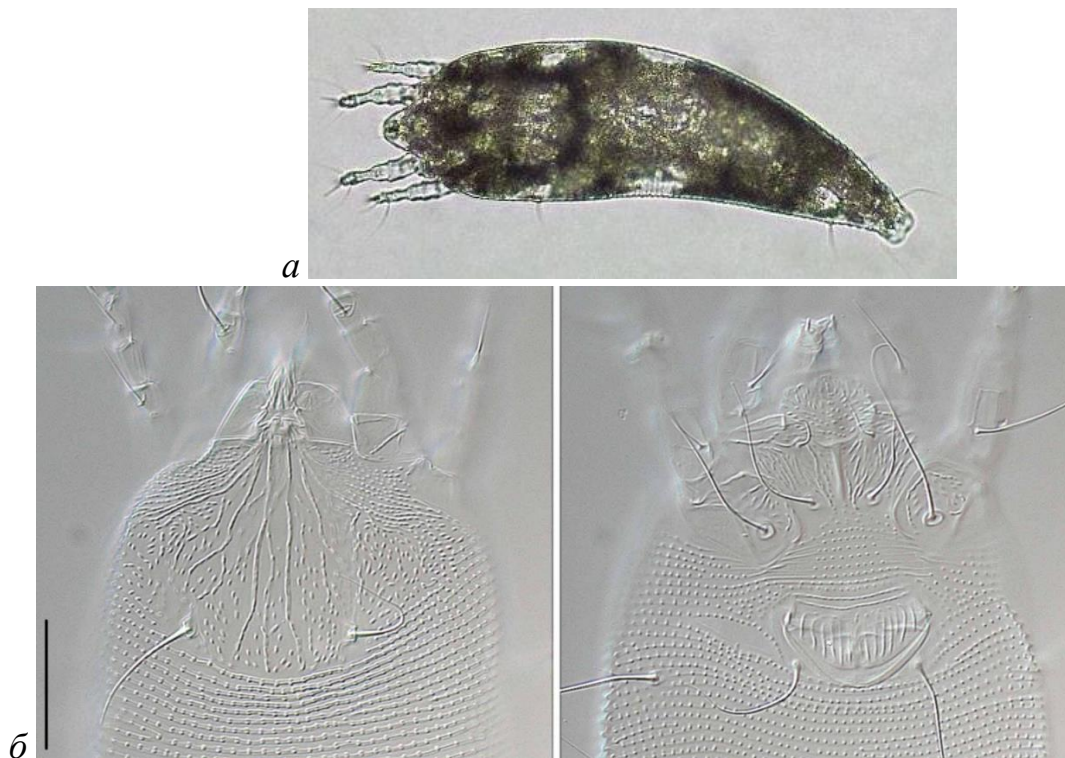


Рис. 1.2. – Цифрові мікрофотографії *а* – вигляд кліща; *б* – продорзальний щиток та коксігенітальна область статевозрілої самки кліща (*Phyllocoptes gracilis*) [255]

RLBV викликає скручування і викривлення країв листків, хлоротичні плями на листках, зниження росту рослин через ураження апікальної частини пагона та погіршення якості плодів (рис. 1.3) [205]. Водночас ураження вірусом спричиняє погіршення якості плодів, впливаючи на їх хімічний склад. Зокрема, існують дані про підвищений вміст поліфенолів у плодах *R. idaeus* [137].



Рис. 1.3. — Симптоми хвороби плямистості листя малини [242]

Схожі симптоми плямистості листя спостерігали в Нідерландах, Німеччині, Франції та Норвегії. Цікаво, що на сході Фінляндії ще 2011 року помічали хлоротичну плямистість на рослинах малини сорту Глен Емпл, які культивували в пластикових тунелях. Пізніше підтверджено наявність RLBV у всіх досліджених рослин із симптомами жовтої плямистості листя, але не діагностовано вірус у жодної безсимптомної рослини сортів Глен Емпл і Полка. Це свідчить про те, що ураження цим вірусом рослин у пластикових тунелях набагато вище, ніж у відкритому ґрунті, імовірно, через сприятливіші умови для переносника вірусу. Ці результати уточнюють етіологію хвороби плямистості малини у Фінляндії та підкреслюють потребу перевіряти посадковий матеріал малини на RLBV для ефективнішого контролю захворювання [53].

Симптоми плямистості листя, карликовості рослин і розсіпчастості плодів малини спостерігали в насадженнях України ще понад 30 років тому. Проте до недавнього часу проводили переважно скринінгові дослідження з використанням серологічних методів для виявлення вірусів малини, включених до стандарту EPPO PM 4/10 (2) [34]. Перший випадок інфікування малини RLBV в Україні виявлено лише 2021 року [252].

1.9. Методи діагностики патогенів малини й ожини

Симптоми вірусної інфекції в рослин малини й ожини залежать від сорту, тривалості інфекції, пори року та багатьох інших факторів. Інфіковані рослини часто не виявляють симптомів протягом сезону. Навесні наступного року можуть з'являтися хлоротичні плями або пожовтіння жилок листя. Хронічні симптоми передбачають затримку розвитку листків й підвищену частку деформованих плодів. Польові дослідження не мають великої цінності, якщо візуальні спостереження не доповнюються механічними інокуляціями на трав'янисті індикаторні рослини або високоспецифічними серологічними й молекулярними тестами [274]. Це пов'язано з тим, що симптоми, схожі на вірусну інфекцію, можуть також бути спричинені грибними й бактеріальними

хворобами, дефіцитом елементів живлення, механічними пошкодженнями рослини комахами чи впливом низьких температур.

На сьогодні для ідентифікації вірусів застосовують серологічні, молекулярно-генетичні методи та їх модифікації [125, 134].

Серологічні методи (ІФА)

Імуноферментний аналіз (ІФА, ELISA) широко використовуються для виявлення вірусів малини й ожини завдяки своїй відносній простоті, чутливості та придатності для аналізу великої кількості зразків. Метод базується на взаємодії антигену (вірусного білка) з відповідним антитілом. З точки зору діагностичного застосування, чутливість ELISA значно нижча, ніж у молекулярних методів (наприклад, RT-PCR), що обмежує її ефективність при латентних інфекціях або на ранніх стадіях зараження, коли концентрація вірусу у тканинах недостатня для детекції. Крім того, ефективність аналізу залежить від вибору типу зразка (лиски, пагін, коріння), стадії вегетації, а також виду та фізіологічного стану рослини. Фенольні сполуки та інші компоненти рослинної матриці можуть несприятливо впливати на реакцію, спричиняючи фонове забарвлення або інгібування зв'язування антитіл.

Незважаючи на ці обмеження, ELISA залишається важливим інструментом для сертифікації садивного матеріалу, скринінгових досліджень у розсадниках і фітосанітарного контролю завдяки доступності, відносно низькій вартості та можливості одночасного обстеження великої кількості зразків. Цей метод є особливо актуальним для виявлення добре вивчених вірусів, для яких створено стандартизовані комерційні тест-системи [151].

Молекулярні методи

Для встановлення таксономічного статусу й епідеміології певного вірусу, необхідно використовувати молекулярні методи [166]. Одним із ключових молекулярних методів є ПЛР, яка дозволяє збільшити кількість певних фрагментів ДНК або РНК [151].

Порівняльна характеристика вірусних геномів і вірусоспецифічних білків дає змогу оцінити генетичну варіабельність вірусів. Важливим етапом у

дослідженні молекулярної структури геномів РНК-вірусів стало використання ферментів зворотної транскриптази — РНК-залежної ДНК-полімерази. Цей фермент забезпечує синтез кДНК на основі мРНК або будь-якої іншої РНК вірусу [188].

ПЛР у реальному часі (Real-Time RT-PCR) дедалі частіше застосовується для виявлення та кількісного визначення вірусів рослин. Вона стала методом вибору для дослідження синергетичних взаємодій між вірусами завдяки високій чутливості й відтворюваності [178, 235]. До переваг цієї методики належать скорочений час діагностики (особливо для РНК-вірусів, які потребують етапу зворотної транскрипції), покращена специфічність, проведення реакції в закритій пробірці, що знижує ризик забруднення, а також висока пропускна здатність.

Метод TaqMan® RT-PCR у реальному часі зарекомендував себе як ефективний і потужний інструмент для діагностики різноманітних вірусів, що підтверджується численними науковими дослідженнями [96, 182, 223, 236, 265]. Цей метод ґрунтується на принципах ПЛР, але передбачає використання передової хімії флуоресцентного виявлення, що значно підвищує точність діагностики. Технологія TaqMan® (ABI) використовує нуклеазну активність Taq ДНК-полімерази для розщеплення спеціально сконструйованого зонда, який містить репортерний флуоресцентний барвник (наприклад, FAM) на 5' кінці й гасник (наприклад, TAMRA) на 3' кінці. Поки зонд неушкоджений, флуоресценція репортера блокується гасником. Під час ампліфікації Taq ДНК-полімераза розщеплює зонд, що приводить до вивільнення барвників і посилення флуоресценції. Це дає змогу відстежувати кількість ампліфікованого продукту в режимі реального часу. Такий підхід забезпечує кілька переваг методу, якщо порівнювати зі стандартною ПЛР: не потребує електрофорезу, значно знижує ризик контамінації, забезпечує можливість кількісного визначення ДНК. Успішно розроблено два TaqMan-тести для виявлення RBDV і RLMV на малині, які дали змогу виявити різні ізоляти вірусів [257].

1.10. Методи оздоровлення рослинного матеріалу та їх ефективність

Здоровий садивний матеріал є ключовим елементом для успішного виробництва, оскільки інфіковані рослини можуть спричинити значні втрати врожаю. Тому отримання безвірусного садивного матеріалу є необхідною умовою для забезпечення високої продуктивності. Метод культури меристем *in vitro* забезпечує вихід здорового матеріалу навіть з інфікованих рослин. Цей метод адаптовано для багатьох сортів малини і його успішно використовують для ерадикації вірусів RpRSV, ArMV, RVCV та інших вірусів [48, 164]. Культивування меристем розміром 0,5–1,0 мм спочатку вважали ефективним, але нові діагностичні методи показали, що потрібні експланти до 0,1–0,2 мм [70].

Наступним, не менш популярним методом є термотерапія. Ще у 1950-х роках виявили, що високі температури знижують титри вірусів у рослинах [152]. Термотерапію та культуру *in vitro* часто застосовують для елімінації патогенів, але мають обмеження через толерантність окремих видів рослин до теплового стресу [69, 238, 284, 312].

Останніми роками розроблено нові комбіновані методи елімінації вірусів. Наприклад, метод, що поєднує термотерапію та культуру апікальних меристем, показав обнадійливі результати. Водночас нові дослідження виявили, що інші методи, такі як кріотерапія, малоефективні для очищення садивного матеріалу від вірусів [312].

RBDV уражає листкові примордії та меристематичні тканини рослин [164, 167]. Один з методів елімінації вірусу поєднує термотерапію з кріотерапією, забезпечуючи 20–36 % регенерації оброблених апексів [3]. Також застосовують хемотерапію з використанням рибавіріну й інших компонентів, але жоден з препаратів не гарантує повного оздоровлення рослин [231, 254]. Крім того, висока токсичність деяких речовин може зашкодити рослинам [48, 167], тому проблема усунення RBDV залишається актуальною.

Для підвищення ефективності ерадикації вірусів застосовують низку інших підходів. Зокрема, під час хемотерапії використовують противірусні препарати, відомі з медичної практики, для пригнічення розмноження вірусів у тканинах

рослин шляхом додавання до культурального середовища (рибавірин, аміксин, азацитидин, зидовудин та ін.). Ефективність цього підходу можуть пояснювати як прямим впливом препаратів на віруси, так і зміною чутливості клітин-господарів до інфекції.

Одним з найпоширеніших підходів є введення інгібіторів вірусів у живильні середовища, призначені для культивування апікальних меристем. Концентрація препаратів залежить від їхнього типу, виду й генотипу рослин, а також вірусу, який треба знищити, і може сягати 100 мг/л.

Ацикловір (9-(2-гідроксиметил)гуанін, 1971) є аналогом нуклеозиду, який інгібує синтез ДНК після включення в ланцюг ДНК. Однак його ефективність і вибірковість залежать від вірусу, оскільки він фосфорилується вірусоспецифічним ферментом для створення його активної форми [187].

Озельтамівір ((3R , 4R ,5S) -4-ацетамідо-5-аміно-3-(1-етилпропокси)-1-циклогексан-1-карбонова кислота)), OSTV, 1997) є інгібітор нейрамінідази. Препарат пригнічує вивільнення віріонів з інфікованих клітин [210]. Його активною формою є карбоксилат озельтамівіру, ефективність якого є високоселективною щодо вірусу грипу. Також доведено, що використання його в комбінованому лікуванні з рибавірином є ефективним щодо вірусів на картоплі [45] і виноградній лозі (*V. vinifera* L.) [114].

Рибавірин, відкритий у 1972 році, є противірусним засобом широкого спектру дії, активним проти багатьох РНК- та ДНК-вірусів. Він діє через кілька механізмів, залежно від типу вірусу [241]. Рибавірин є аналогом гуанозину, який блокує біосинтез гуанозин 5'-монофосфату (GMP), що знижує рівень гуанозин-5'-трифосфату (GTP) у клітинах до 90%. Це гальмує реплікацію вірусів, оскільки і клітини-господарі, і віруси потребують GTP для реплікації, але вірус більш чутливий до цього впливу. Після проникнення в клітину рибавірин перетворюється на активні форми, які зв'язуються з РНК-полімеразою, що знижує реплікацію вірусу або викликає утворення дефектних вірусних частинок. Він також може викликати мутації, які призводять до загибелі вірусу.

Римантадину гідрохлорид, альфа-метилове похідне амантадину (альфа-метил-1-адамантан метиламіну гідрохлорид), є більш активним, ніж амантадин, проти вірусів грипу А (*in vitro* та на лабораторних тваринах). Римантадин — це циклічний амін, який використовується для лікування вірусу грипу А, відкритий у 1963 році [117]. Механізм дії цього препарату полягає в інгібуванні видалення РНК вірусу в інфікованих клітинах і, таким чином, ефективного запобігання реплікації вірусу. Показано, що при застосуванні римантадину проти вірусу гепатиту А збільшується кількість лізосом і підвищуються шанси їх злиття з аутофагосомами [275].

Ефективність таких методів детально описано в дослідженнях Guta et al., та Milošević et al., [113, 216]. Зокрема, рибавірин забезпечує найефективнішу елімінацію вірусів у деяких видах роду *Prunus*, *Malus* і *Rubus*, якщо порівнювати з іншими противірусними засобами [254, 309]. Водночас хемотерапія має істотний недолік — фітотоксичний вплив на рослини *in vitro*, що може проявлятися низкою симптомів. Найчастіше повідомляли про зниження регенерації рослин, пригнічення росту пагонів і коренів, гіпергідратацію, аномальну морфологію (некроз, хлороз, зміна кольору зелених частин, особливо листків) і карликовість [187]. Аномальний ріст рослин ускладнює виробництво вільних від вірусів [288]. Тривалість експозиції також відіграє роль у виникненні фітотоксичності [124, 202, 231, 288]. Однак останні дослідження вказують на можливість зниження токсичного впливу на рослини [187].

Згідно з літературними джерелами, нині детально описано найпоширеніші вірусні захворювання, які уражають рослини малини й ожини в різних регіонах світу.

Висновки до розділу 1

1. Рослини малини й ожини можуть бути інфікованими вірусними патогенами на всіх етапах росту та розвитку. На сьогодні відомо 23 види вірусів, що уражують ці культури, серед яких 14 вважаються найбільш небезпечними для європейського регіону, їх вивчення є актуальним і важливим також для України.

2. Віруси малини й ожини можуть передаватися через векторів-переносників — кліщів, попелиць, нематод, а також механічно та під час вегетативного розмноження, тому контроль за їх поширенням має велике значення.

3. Інфіковані рослини можуть виявляти кільцеву або мозаїчну плямистість, карликовість, пожовтіння жилок і міжжилкового простору, викривлення країв листків, а також порушення формування кістянок у плодах. Різноманіття симптомів вірусних інфекцій малини й ожини ускладнює їх ідентифікацію без спеціальних методів діагностики.

4. Для виявлення вірусів малини й ожини застосовують різні методи діагностики: серологічні, молекулярно-генетичні, електронну мікроскопію тощо. Найбільш ефективними є сучасні молекулярні методи завдяки високій чутливості та специфічності.

5. У разі виявлення вірусних інфекцій малини й ожини критично важливим є використання методів оздоровлення, адаптованих до конкретного генотипу рослини та типу вірусу. До основних методів оздоровлення належать: хемотерапія, термотерапія, кріотерапія та метод культури меристем.

РОЗДІЛ 2. УМОВИ, ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Місце проведення та об'єкти досліджень

Дослідження проводили у 2019–2025 роках на базі Інституту садівництва НААН України у відділі вірусології, оздоровлення та розмноження плодових і ягідних культур.

Відбір рослинного матеріалу малини й ожини здійснювали в насадженнях господарств різних форм власності. Для аналізу відбирали як зразки без видимих ознак захворювання з підтвердженою сортовою ідентичністю, так і рослини з невизначеною симптоматикою. Загалом зібрано зразки з 19 насаджень, розташованих у 10 областях України: Житомирській, Львівській, Київській, Вінницькій, Волинській, Черкаській, Чернігівській, Чернівецькій, Харківській та Хмельницькій.

Об'єктом дослідження є сорти малини й ожини та віруси, що їх уражують.

Загалом протестовано зразки 24 сортів культивованої малини (Аватар, Брусвяна, Брусилівська, Брусилівський стандарт, БП 1, Василюк, Глен Емпл, Геракл, Джоан Джей, Жовтий гігант, Зева, Зугана, Імара, Космічна, Квелі, Маравіла, Октавія, Осіння, Персея, Полка, Примара, Саня, Феномен, Хімбо-топ) і 8 сортів ожини (Насолода, Блек Сатін, Лох-тей, Чачанська Бестрна, Карака Блек, Натчез, Навахо, Оушито).

Предметом дослідження є поширення вірусів малини й ожини, молекулярно-біологічні характеристики виявлених вірусних ізолятів.

2.2. Методи досліджень

2.2.1. Лабораторно-польові методи дослідження

Візуальний огляд і відбір зразків

Візуальний огляд насаджень рослин роду *Rubus* на наявність симптомів вірусної інфекції проводили у весняно-літній період (під час розпускання листків, цвітіння та формуванні ягід) відповідно до загальноприйнятих методик

[34]. Для ідентифікації патогенів із використанням лабораторних методів (ІФА, ЗТ-ПЛР) зразки відбирали з різних ярусів куща, використовуючи основу базальної частини листкової пластинки. Матеріал герметично пакували в поліетиленові пакети, маркували й зберігали в холодильній камері за температури 4 °С до проведення аналізу.

Метод імуноферментного аналізу (ІФА)

Після відбору зразків детекцію вірусів проводили за допомогою класичного методу ІФА. Для досліджень використовували комерційні тест-системи виробництва Loewe Biochemica GmbH (Німеччина) і Bioreba AG (Швейцарія) згідно з рекомендаціями виробників [76]. У процесі аналізу застосовували стандартні позитивні й негативні контролі відповідних виробників (Loewe, Bioreba).

Серед вірусів, що інфікують малину й ожину та можуть бути виявлені методом ІФА, виокремлюють такі: RpRSV, ArMV, AMV, SLRSV, TBRV, CLRV, CMV, ToRSV, RBDV.

Результати ІФА реєстрували за допомогою мікропланшетного фотометра ImmunoChem-2100 Microplate Reader (USA) на довжині хвилі 405 нм (A405 нм). Зразок вважали позитивним (інфікованим), якщо значення A405 нм перевищувало показник негативного контролю у 2,5 рази.

Виділення тотальної нуклеїнової кислоти з рослинного матеріалу

Виділення НК здійснювали за допомогою комерційного набору Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, Литва) відповідно до рекомендацій виробника з наступними модифікаціями:

- рослинний зразок масою 90 мг гомогенізували в ступці з Lysis solution, що входить до набору;
- суспензію інкубували протягом 9 хвилин за температури 65 °С у термостаті TDB-120 dry block;
- центрифугували гомогенат на швидкості 12 000 об/хв впродовж 6 хвилин на кожному наступному етапі виділення НК.
-

Отриману НК зберігали в пластикових пробірках у морозильній камері за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до подальшого використання.

Контроль якості виділеної тотальної РНК і ДНК проводили за допомогою спектрофотометра Denovix MS-11 на довжині хвилі A260, а також оцінювали рівень забруднення препаратів полісахаридами (A260 / A230) і білками (A260 / A280).

Проведення реакції зворотної транскрипції для одержання кДНК

Реакцію зворотної транскрипції проводили з використанням комерційного набору First Strand cDNA Synthesis (New England Biolabs (NEB), США), відповідно до протоколу виробника.

Ідентифікація патогенів методом полімеразної ланцюгової реакції

Для постановки реакції використовували комерційний набір New England Biolabs (США) відповідно до інструкції виробника з незначними модифікаціями. Реакційну суміш об'ємом 15 мкл готували з таких компонентів: 10X ThermoPol Reaction Buffer – 1,5 мкл; dNTPs – 0,3 мкл (10 мМ); прямий праймер — 0,8 мкл (10 мкМ); зворотний праймер — 0,8 мкл (10 мкМ); Tag DNA Polymerase — 0,1 мкл; Nuclease-Free Water — 9,5 мкл; кДНК — 2 мкл.

Ампліфікацію проводили в термостаті Eppendorf Mastercycler Personal (Eppendorf AG, Germany) для виявлення RLBV, BRNV, RLMV, RYNV, RVCV та фітоплазми з такими параметрами: $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ — 15 хвилин, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ — 2 хвилини, 40 циклів ампліфікації ($95\text{ }^{\circ}\text{C}$ — 20 секунд, $52\ldots 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (температура для відповідної пари праймерів) — 30 секунд, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ — 15 секунд), $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ — 5 хвилин (*табл. 2.1*).

Послідовності праймерів використаних для діагностики кожного з тестованих вірусів наведено у *таблиці 2.1*.

Для контролю ампліфікації РНК використовували внутрішній контроль з праймерами nad5-f/nad5-r з очікуваним розміром фрагмента 181 bp [211].

**Праймери для проведення PCR та RT-PCR, що використовували в роботі
для діагностики патогенів, які інфікують *Rubus* spp.**

Назва патогену	Назва праймеру	Сиквенс (5'-3')	Розмір фрагменту (п.н.)	Температура відпаду (°C)	Цитування (першоджерело)
Black raspberry necrosis virus	Primer 1-F	ATGCTGAGCCACTTG	417	55	[115]
	Primer 1-R	TGA CAATGTCTTGGAAGCCAC			
Rubus yellow net virus	RYN1 F	TCCAAAACCTCCCAGACCTAA AAC	350	55	[147]
	RYN1 R	ATAATCGCAAAAGGCAAGCCAC			
Raspberry mottle virus	CPh F	CGAAACTTYTACGGGGAAC	452	55	[301]
	CPh R	CCTTTGAAYTCTTTAACATCGT			
Raspberry vein chlorosis	1527 F	GGGAACTAAACCCACCCCT	499	60	[206]
	1528 R	AGGGTCCACCCTTTCTGTCT			
Raspberry leaf blotch virus	1287 F	ATCCAGTAGTGAACCTCC	570	56	[205]
	1095 R	CACCATCAGGAACTTGTAATG TTT			
Phytoplasma	P1	AAGAGTTTGATCCTGGCTCAG GATT	1800	55	[82]
	P7	CGTCCTTCATCGGCTCTT			[278]
	R16F2	GAAACGACTGCTAAGACTGG	1200	53	[111]
	R16R2	GACGGGCGGTGTGTACAAACC CCG			

Примітка. Праймери: f – прямий (forward), r – зворотний (reverse)

Розділення продуктів ампліфікації

Продукти ампліфікації аналізували за допомогою електрофорезу в 1,8 %-ному агарозному гелі з додаванням 0,5 мкг/мл бромистого етидію у трис-боратному буфері (TBE) в електрофоретичній камері MSCHOICEST 20multiSUB. Як маркер молекулярної ваги використовували маркери DNALadder 1kb plus (Thermo Fisher Scientific) або ДНК-маркер 100 kb+1,5kb+3kb (SibEnzyme). Після завершення електрофорезу агарозний гель переглядали за допомогою УФ-трансліюмінатора. Позитивним результатом вважали за

наявності чітко виражених смужок на гелі, які за розміром відповідали очікуваному ампліфікованому розміру фрагментів для відповідного вірусу.

Секвенування й філогенетичний аналіз нуклеотидних послідовностей

Отримані амплікони виділених ізолятів секвенували методом Сенгера. Послідовності гена CP (RBDV) і гена NP (RLBV) порівнювали з наявними в базі GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) за допомогою програмного забезпечення BLAST 2.10.0. (Basic Local Aligment Search Tool).

Відсоток попарної подібності нуклеотидних і амінокислотних послідовностей візуалізували як кольорові блоки з використанням програмного пакета Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDT v1.2) [222]. Нуклеотидні послідовності вирівнювали за допомогою алгоритмів CLUSTALW або MUSCLE 10 [165], вбудованих у програму MEGA10 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, version 10). Філогенетичне дерево будували в програмному забезпеченні MEGA10 методом приєднання найближчих сусідів (Neighbor-Joining, NJ) [270] з використанням двопараметричної моделі Кімури [155]. Статистичну значущість отриманих результатів розраховували за допомогою бутстреп-аналізу з 1000 реплікацій [100]. Можливі рекомбінаційні події оцінювали за допомогою RDP4 [190] і вважали достовірними, якщо їх виявляла більшість використаних алгоритмів.

2.2.2. Елімінація вірусів малини в культурі *in vitro*

Рослинний матеріал відбирали під час набубнявіння бруньок і активного росту пагонів. На етапі введення в культуру перед ізоляцією експлантів пагони розрізали на сегменти з бруньками. Дезінфекцію рослинного матеріалу проводили в 5–10% розчині гіпохлориту натрію (NaClO) з експозицією 3-5 хвилин, після чого чотириразово промивали стерильною дистильованою водою.

Усі маніпуляції з ізоляції експлантів виконували стерильними інструментами (пінцет, скальпель тощо) в умовах ламінарного боксу. Ізольовані експланти й вегетативні бруньки висаджували в пробірки з поживним середовищем. На етапі введення в культуру застосовували модифіковане

живильне середовище Мурасіге – Скуга (MS) з додаванням вітамінів та фітогормонів з рінем рН – 5,7 [230].

Кількість пагонів (> 10 мм) на ініціальний експлант підраховували через місяць культивування. Проведено потрібну кількість пасажів для розмноження рослин з метою експерименту. Загальну кількість отриманих рослин підраховували через півтора місяця культивування. Усі середовища стерилізували автоклавуванням за температури 1200 °С і тиску 1 атм протягом 20 хвилин. Мікропагони культивували під час 16-годинного світлового дня з інтенсивністю освітлення 2000–2500 лк за температури 23...25 °С і вологості повітря 50–60 %.

Метод хемотерапії

Для елімінації RBDV за використання методу хемотерапії додавали у середовище для культивування малини антивірусні препарати з кількома варіантами концентрації (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Варіанти концентрацій антивірусних препаратів, що використовували в хемотерапії

Варіанти	Антивірусні препарати та їх концентрації, мг/л			
	ацикловір	озельтамівір	Рибавірин	римантадин
В 1	20	40	20	20
В 2	40	60	40	40
В 3	60	80	60	60

Як контрольний варіант вирощували рослини на поживному середовищі без додавання препаратів. Кожен варіант включав по 5 рослин у трьох повторностях.

Противірусні препарати вносили за допомогою стерильних фільтрів з діаметром пор 0,22 мкм у середовище MS після автоклавування. Мікропагони рослин культивували на середовищі MS з препаратами протягом 4 тижнів.

Оцінку впливу антивірусних препаратів проводили через 30 діб культивування, враховували стан рослин, фіксували коефіцієнт розмноження і висоту пагонів. Коефіцієнт розмноження вираховували за формулою: $K_p = a/b$, де a – кількість новоутворених пагонів; b – кількість пагонів висаджених для розмноження.

Потім апікальні меристеми рослин пересаджували на свіже середовище без віроцидів. Через 30 діб ці рослини тестували на наявність вірусів за допомогою методу ІФА. Оцінку відносної зміни концентрації покривного білка вірусу вираховували за формулою: $OD_{зр.}/OD_{к.} \times 100 \%$, де $OD_{зр.}$ – оптична густина досліджуваного зразка; $OD_{к.}$ – оптична густина контролю (рослини, культивовані без віроцидів).

2.2.3. Вплив вірусної інфекції на функціональний стан рослин малини

Дослідження проводили у комерційних насадженнях малини розташованих в Київській області. У роботі використовували три сорти малини – Брусвяна, Зугана й Джоан Джей. Морфо-фізіологічні показники розвитку пагонів, листків, фізичні властивості й біохімічний склад ягід вивчали за умов інфікування вірусом RBDV. Контролем слугували рослини тих самих сортів, вільні від вірусів.

Дослід проводили у трьох повтореннях по 7 рослин сортів Брусвяна та Зугана у кожному варіанті та 6 рослин – сорту Джоан Джей. Розміщення кущів у насадженнях рандомізоване. Схема посадки: $1,5 \times 0,7$ м. Рік закладання плантації: 2018.

Схема досліду:

В 1 – сорт Брусвяна, інфікований RBDV;

В 2 – сорт Зугана, інфікований RBDV;

В 3 – сорт Джоан Джей, інфікований RBDV.

Оцінювання проводили за низкою методів і показників:

- візуальне обстеження рослин, інфікованих вірусами;

- вимірювання біометричних показників розвитку плодоносних пагонів (висота й кількість), листків (площа листової пластинки), ягід (кількість на плодовій гілочці, маса, кількість кістянок);

- комплексна оцінка рослин з використанням морфофізіологічних показників: визначення посухостійкості (водоутримувальна здатність і водний дефіцит), питома поверхнева щільність листка (ППЩЛ), а також вміст хлорофілів a і b ;

- оцінювання функціонального стану рослин (фотосинтетичного апарату);

- комплексна оцінка біохімічного складу плодів.

Усі дослідження проводили згідно з «Методикою проведення польових досліджень з плодовими культурами» [13].

Водний режим рослин оцінювали лабораторно-польовим методом, який передбачає визначення водного дефіциту й водоутримувальної здатності листків малини. Для аналізу брали як вільні від вірусів (контроль), так і інфіковані RBDV рослини, вирощені за однакових умов.

Водоутримувальну здатність визначали методом в'янення. Відбирали по 10 листків від трьох інфікованих і трьох здорових рослин. Відразу після відбору листки із черешками занурювали місцем зрізу в розплавлений парафін, щоб запобігти втраті води через зріз. Далі зважували в динаміці (через дві, 4, 6 та 24 години). Зменшення маси відображало рівень втрати води внаслідок випаровування протягом кожного інтервалу часу. Отримані результати виражали у відсотках у співвідношенні до початкового вмісту води в зразках.

Для визначення водного дефіциту відбирали листки (по три-п'ять штук з трьох рослин з дворазовою повторністю), оновлювали зрізи черешків, зважували й поміщали в колбу з водою для насичення на 24 години. Після насичення черешки промокали фільтрувальним папером і повторно зважували. Водний дефіцит (у відсотках від загального вмісту води в стані повного насичення) визначали повторним зважуванням листків і води до й після повного насичення водою.

В умовах вірусного інфікування насаджень малини досліджували вміст пігментів у рослинах. Зразки для аналізу відбирали з одного боку куща на однаковій висоті. Площу листової пластинки визначали методом висічок. Кількісний вміст хлорофілів — спектрофотометрично у спиртових екстрактах листків за допомогою спектрофотометра ULAB 102UV (Китай), фіксуючи коефіцієнти абсорбції розчину пігментів при довжинах хвиль 665 і 649 нм [5]. Для виділення пігментів з листків малини використовували 96 % етанол. Концентрацію хлорофілів a і b (мг/л) у сумарній витяжці розраховували за формулами Вернона й Вінтерманса де Мотс:

$$C_{\text{хл.}a} = 13,70 \times A_{665} - 5,76 \times A_{649},$$

$$C_{\text{хл.}b} = 25,80 \times A_{649} - 7,60 \times A_{665},$$

де A_{665} — оптична густина розчину за довжини хвилі 665 нм; A_{649} — оптична густина розчину за довжини хвилі 649 нм.

Сумарний вміст хлорофілів a і b в розчині ($C_{\text{хл.}a} + C_{\text{хл.}b}$) визначали в мг/л. Після встановлення концентрації обчислювали кількісний вміст пігментів (X , мг/г) за формулою:

$$X = V \times C \times 100 / (m \times 1000 \times (100 - W)),$$

де V — об'єм витяжки, мл; C — концентрація пігменту, мг/л; m — маса наважки сировини, г; W — втрата маси під час висушування сировини, %.

Для діагностики функціонального стану рослин (фотосинтетичного апарату) використовували комплекс параметрів індукції флуоресценції хлорофілу, що вимірювали за допомогою приладу «Флоратест» [19]. У кожному варіанті відбирали по 5 листків з 5 рослин, а показники флуоресценції фіксували в трьох точках на кожному листку. Під час збудження флуоресценції в синій ділянці спектра (465 нм) реєстрували криву повільної індукції флуоресценції хлорофілу.

Основні показники:

F_0 — початкове значення флуоресценції після ввімкнення освітлення;

F_{pL} — рівень її під час тимчасового уповільнення зростання її сигналу (плато);

$F_{\max 1}$ — максимальне значення флуоресценції;

$F_{\max 2}$ — другий її максимум;

F_t — стаціонарний рівень флуоресценції через 1,5–3 хвилини 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 ремісією в тому самому спектральному діапазоні, що й флуоресценція хлорофілу листка. Інтенсивність збуджувального світла для приладу «Флоратест» становила 50–60 Вт/м² [11].

Фізичні властивості плодів

Для оцінки врожайності, ягоди збирали у стадії оптимальної стиглості із 7 кущів сорту Брусвяна, 7 — Зугана, 6 — Джоан Джей, інфікованих RBDV, і такої самої кількості рослин, вільних від RBDV. Урожай підраховували й зважували за датами збору, після чого обчислювали середню врожайність із куща. Масу плодів вимірювали на цифрових вагах. Залежно від показників якості плоди класифікували за двома товарними сортами: першим (не менше 2,5 г) і другим (не менше 2,2 г), а також зараховували до категорії плодів для технічного перероблення відповідно до вимог ДСТУ 7179:2010 [17]. Ягоди малини товарних сортів мали бути здоровими, свіжими, цілими, одномірними, без зайвої вологи, без стороннього запаху й присмаку.

Хімічні властивості плодів

Хімічний склад плодів (сухі розчинні речовини, титровані кислоти, цукри, вітамін С, фенольні сполуки) визначали, згідно методики оцінки плодово-ягідної продукції [14]. Вміст сухих розчинних речовин у плодах визначали в невеликій пробі ягідного соку за допомогою цифрового рефрактометра brix при 20 °С. Титровані кислоти — способом титрування за допомогою розчину 0.1 N NaOH. Результати виражали в грамах (г) еквіваленту лимонної кислоти на 100 г сирової маси. Для оцінки загального вмісту цукрів використовували

спектрофотометричний метод з розчином Фелінга. Поглинання вимірювали на довжині хвилі 640 нм за допомогою спектрофотометра ULAB 102UV. Кількість вітаміну С в плодах – титруванням фарбою Тільманса. рН плодів вимірювали за допомогою рН-метра (Mettler Toledo, Швейцарія). Вміст фенольних сполук у плодах та проаналізовано за допомогою спектрофотометричного методу з реактивом Фоліна-Деніса. Вміст фенолів виражали в міліграмах еквівалентів галової кислоти (ЕГК) у 100 г ЛВ.

Вміст антоціанів оцінювали за рН-диференціальним методом. Антоціани екстрагували підкисленим етанолом (70 % етанол з 0,1% HCl) і фільтрували. Екстракти розводили у двох буферних системах: 0,025 М розчині хлориду калію (KCl, рН 1,0) та 0,4 М розчині ацетату натрію ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, рН 4,5). Поглинання вимірювали на довжині хвиль 520 нм і 700 нм за допомогою спектрофотометра ULAB 102UV у кюветах з довжиною хвилі 1 см. Вміст антоціанів розраховували й виражали в міліграмах ціанідин-3-глюкозиду на 100 г сирої маси [106].

Статистичне опрацювання результатів

Опрацювання даних і статистичний аналіз проводили відповідно до загальноприйнятих методів із застосуванням спеціалізованого програмного забезпечення, зокрема «Microsoft Office Excel» [14]. Експериментальні результати подано у форматі середнього значення ($\bar{X}$) разом із стандартною похибкою середнього ($M \pm m$) та однофакторного дисперсійного аналізу, що забезпечує їх репрезентативність. Економічну ефективність вирощування досліджуваної культури в умовах вірусної інфекції визначали згідно з чинними методиками [20].

Рівень інфікованості обчислювали за формулою:

$$F_{ik} = N_{ik} / N_k \times 100,$$

де N_k — загальна кількість зразків, що проходили тестування; N_{ik} — кількість зразків, інфікованих i -м вірусом у насадженнях k .

Достовірність результатів оцінювали із застосуванням довірчого інтервалу.

Статистичний аналіз якісних показників містив розрахунки таких характеристик: частка наявності ознаки ($p = n / N$), частка відсутності ознаки ($q = 1 - p$), варіація якісного показника ($s = \sqrt{p \times q}$), коефіцієнт варіації ($Vp = 100 (S / S_{\max})$), похибка частки вибірки ($Sp = \sqrt{p \times q / N}$).

Для інтервальної оцінки використовували формулу: $p = \pm 2Sp$ на рівні довірчого інтервалу $P0.95$. Тут N позначає загальний обсяг вибірки, а n — кількість об'єктів з наявною ознакою.

Висновки до розділу 2

1. З метою досягнення поставленої мети та вирішення визначених завдань, розроблено програму та структуру експерименту, які відповідають загальноприйнятим польовим, лабораторним і статистичним методикам дослідження. Це забезпечило отримання обґрунтованих і достовірних результатів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

РОЗДІЛ 3. ФІТОВІРУСОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ НАСАДЖЕНЬ

МАЛИНИ Й ОЖИНИ

3.1. Візуальне обстеження насаджень *Rubus* spp. на наявність ознак вірусної інфекції

Вірусні захворювання є одним з основних чинників, що впливають на розвиток та продуктивність рослин роду *Rubus*. Їх наявність може зумовлювати суттєві економічні втрати, знижуючи врожайність і якість плодів. Першим кроком у виявленні і запобіганні поширення вірусів є щорічне візуальне обстеження насаджень на наявність ознак інфікування.

Як відомо, вірусні інфекції можуть проявлятися на рослинах у вигляді різноманітних симптомів: мозаїчна і кільцева плямистість, зміна забарвлення листків (пожовтіння жилок і міжжилкового простору), порушення формування кістянок на плодах, карликовість, відмирання пагонів тощо. Усі ці симптоми характерні для різних видів вірусів, що здатні інфікувати рослини роду *Rubus*. Наприклад, RBDV та RLBV, спричиняють деформацію листової пластинки, хлорози, пригнічення росту й зменшення об'єму та маси плодів, що призводить до зниження урожайності і, як наслідок, матеріальних збитків для господарств. З метою виявлення візуальних проявів інфікування вірусами й фітоплазмами нами проведено огляд рослин малини й ожини в насадженнях різних областей України. Найчастіше спостерігали симптоми, пов'язані із формуванням розсіпчастої недорозвиненої ягоди, крапчастістю, плямистістю і скручуванням листків, карликовістю й загущенням пагонів. Крім того, на деяких обстежених ділянках виявили хлоротичну плямистість листків і жилковий хлороз листків (рис. 3.1-3.4).



Рис. 3.1. Деформовані й розсіпчасті ягоди малини сорту Квелі й ожини сорту Лох-тей

Джерело: сформовано автором



*Рис. 3.2. Симптоми пожовтіння жилок і плямистість на листках рослин роду *Rubus**

Джерело: сформовано автором



Рис. 3.3. Рослина з ознаками загущеного росту й формування недорозвинених пагонів (ліворуч) і нормально розвинена рослина ожини (праворуч)

Джерело: сформовано автором



Рис. 3.4. Симптоми розсипчастості плодів і недорозвиненості кістянок у сорту Полка

Джерело: сформовано автором

Додатково рослини обстежували на наявність шкідників, які могли спричинити появу симптомів, схожих до ознак вірусного інфікування. У багатьох зразках з характерною плямистістю й крапчастістю листків виявлено інфестацію павутинним (*Tetranychus urticae*) та ожиновим (*Phyllocoptes gracilis*) кліщами (рис. 3.5, 3.6). Саме останній є одним з основних переносників RLBV [205].



а

б

Рис. 3.5. Кліщі *Tetranychus urticae* (а) та *Phyllocoptes gracilis* (б) на внутрішній стороні листової пластини рослини малини

Джерело: сформовано автором



Рис. 3.6. Симптоми плямистості листя малини сорту Жовтий гігант, інфікованого RLBV

Джерело: сформовано автором

Отже, візуальна діагностика є важливим етапом первинного обстеження, та дає можливість виявити типові симптоми для інфікування вірусними патогенами та фітоплазмами, що негативно впливають на ріст і врожайність рослин. Однак, візуальна діагностика не забезпечує достовірного визначення етіології захворювання, адже схожі симптоми можуть бути спричинені як вірусними інфекціями, так і дією шкідників чи абіотичних чинників. До того ж, згідно з

літературними даними, віруси нерідко перебувають у рослинах у латентній формі, без видимих проявів. У зв'язку з цим для точної ідентифікації збудників необхідне застосування лабораторних методів, зокрема серологічних (ІФА) і молекулярно-генетичних (ПЛР), які дозволяють виявити вірусну інфекцію навіть за відсутності симптомів.

3.2. Діагностика вірусів методом імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції

Після проведеного первинного візуального обстеження було відібрано рослини малини й ожини без зовнішніх ознак захворювання, так і з симптомами вірусної інфекції та кліщової інфестації. Діагностику зразків проводили методами ІФА й ЗТ-ПЛР на наявність вірусів і фітоплазми відповідно до рекомендованого переліку патогенів стандартом ДСТУ 7185:2010 «Культури плодів та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу куштових ягідних культур» [15]. Крім того, з огляду на значну інфестацію зразків кліщами, додано тестування на наявність RLBV.

Частину вірусів, для яких доступні комерційні тестові системи для діагностики методом ІФА, аналізували саме цим методом. Ще 6 патогенів — RLBV, RVCV, RYNV, BRNV, RLMV і фітоплазму недорозвиненості малини — тестували за допомогою ЗТ-ПЛР або ПЛР з використанням праймерів, специфічних до різних фрагментів геномів відповідного збудника (*табл. 2.1*). У результаті проведеної серологічної та молекулярної діагностики визначено кількісний і якісний склад вірусних патогенів у рослинному матеріалі. Загалом проаналізовано 264 зразки: 222 — малини, 42 — ожини.

Загальний рівень інфікованості дослідженого рослинного матеріалу вірусами становив 26,5 %. Інфікованість сортозразків малини мала вищий показник і становила 28,4 %, а рівень інфікованості ожини — 16,7 % (*рис. 3.7*).

Доволі високі показники свідчать про порушення умов утримання насаджень. Це сприяє підвищенню рівня інфікування насаджень й активному поширенню вірусних патогенів, зокрема через садивний матеріал. Відомо, що

найтяжчі наслідки спостерігаються в разі інфікування листків у ранньовесняний період. Крім того, до складу насаджень природного походження зазвичай входять супутні види рослин, які можуть слугувати резервуарами для збереження вірусів [34].

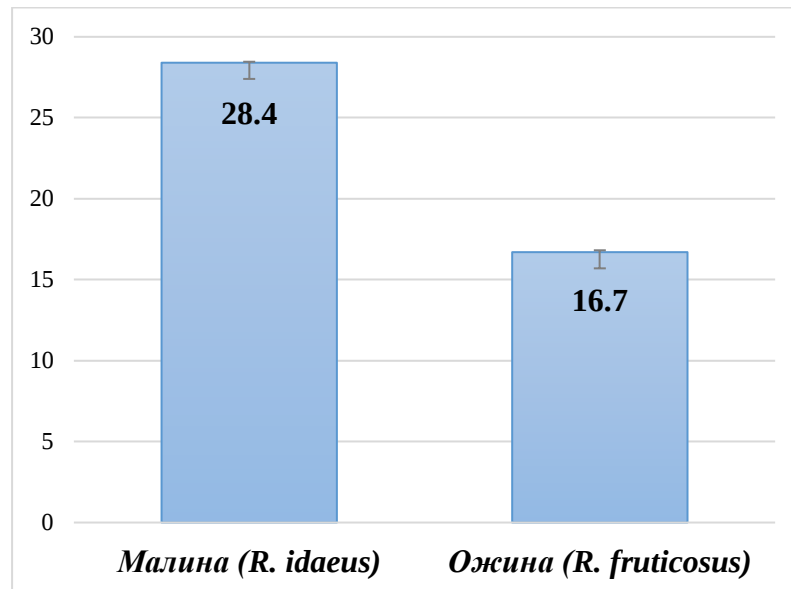


Рис. 3.7. Рівень інфікованості тестованих сортозразків малини й ожини, % (2019–2024 роки)

Загалом з 15 досліджуваних нами підтверджено присутність 7 вірусів (RBDV, ArMV, RLBV, RVCV, SLRSV, RpRSV, CLRV) і фітоплазми.

RBDV виявився найпоширенішим серед протестованого рослинного матеріалу малини й ожини (18,2 %) за роки проведених досліджень (рис. 3.8). Варто зазначити, що в ході нашого дослідження вперше в Україні виявлено RBDV в рослинах ожини. Про інфікування RBDV ожини та малино-ожинових гібридів повідомляв Martin et al. [192]. Відомо, що даний патоген діагностували у 21 % перевірених зразків ожини у Чехії [307].

У 14 % інфікованих RBDV рослин не спостерігали симптомів під час візуального обстеження, що свідчить про латентний перебіг захворювання. Значні рівні інфікованості RBDV спостерігали в насадженнях малини також і в інших країнах: 35 % зразків уражено в Латвії, 22 % — у Шотландії, 28 % — у Казахстані, 12 % — у Фінляндії [68, 157, 254, 296]. Крім того, цей вірус виявлено

у 22 % зразків винограду в Словенії [199]. Високі показники інфікованості, ймовірно, зумовлені складністю контролю поширення вірусу. Окрім передачі з інфікованим садивним матеріалом, RBDV активно поширюється пилком, що значно ускладнює фітосанітарні заходи.

Хоча комплексні інфекції за участі RBDV є поширеним явищем у рослинах роду *Rubus* [191], у нашому дослідженні їх не було зафіксовано. Це відрізняється від даних нещодавніх досліджень у Чеській Республіці, де в одному зразку одночасно виявлено три віруси – BRNV, RYNV та RBDV. Крім того, рівень коінфекції RYNV і RBDV там становив 24 % від загальної кількості інфікованих зразків [307].

Детекцію RLBV з роду *Emaravirus* проводили за допомогою методу ЗТ-ПЛР. Для діагностики використовували праймери 1287-F/1095-R, до ділянки RNA3, що кодує частину гена капсидного білка. В інфікованих зразках отримували фрагмент очікуваного розміру близько 570 п.н. (рис. 3.9. а). RLBV підтверджено у 8,3 % зразків. З урахуванням результатів попередніх досліджень щодо виявлення й поширення RLBV в країнах Європи, зокрема у 93 % зразків малини у Фінляндії, 68,7 % у Сербії та 30 % у Боснії і Герцеговині [81, 88, 138], своєчасна діагностика цього вірусу в Україні є вкрай важливою.

У ході дослідження ми також виявили інфікування AgMV, який належить до переліку карантинних патогенів групи А-2, обмежено поширених в Україні. AgMV виявлено у 7,9 % зразків, при чому інфіковані зразки виявляли лише у малини. Для порівняння, у Чилі цей вірус діагностували у 65 % зразків малини залежно від регіону [208]. В попередніх публікаціях науковці ІС НААН повідомляли, що патоген фіксували на території нашої держави окрім малини, також і на агрусі [34].

Рівень присутності RpRSV у тестованому матеріалі становив 4,6 %, тоді як у сусідній Румунії цей показник для малини сягав 24,6 % [129], що перевищує результати наших досліджень у п'ять разів.

SLRSV рідко траплявся в насадженнях малини й ожини (3 %). Це суттєво відрізняється від результатів попередніх обстежень, за якими рівень

інфікованості сягав значних 41,9 % [34]. Просторове поширення вірусу на досліджуваних ділянках могло бути як спорадичним, так і агрегованим, що свідчить про участь у процесі інфікування як природних, так і штучних механізмів. Схожий результат отримано під час тестування сортозразків в Італії, де SLRSV виявляли лише зрідка й переважно на рослинах без симптомів [247].

CLRV теж мало поширений серед досліджуваних культур (2,9 %). Відомо, що цей вірус неодноразово діагностували в Україні на інших культурах, які він може інфікувати, зокрема на черешні [244], горіху волоському [90], бузині чорній [219].

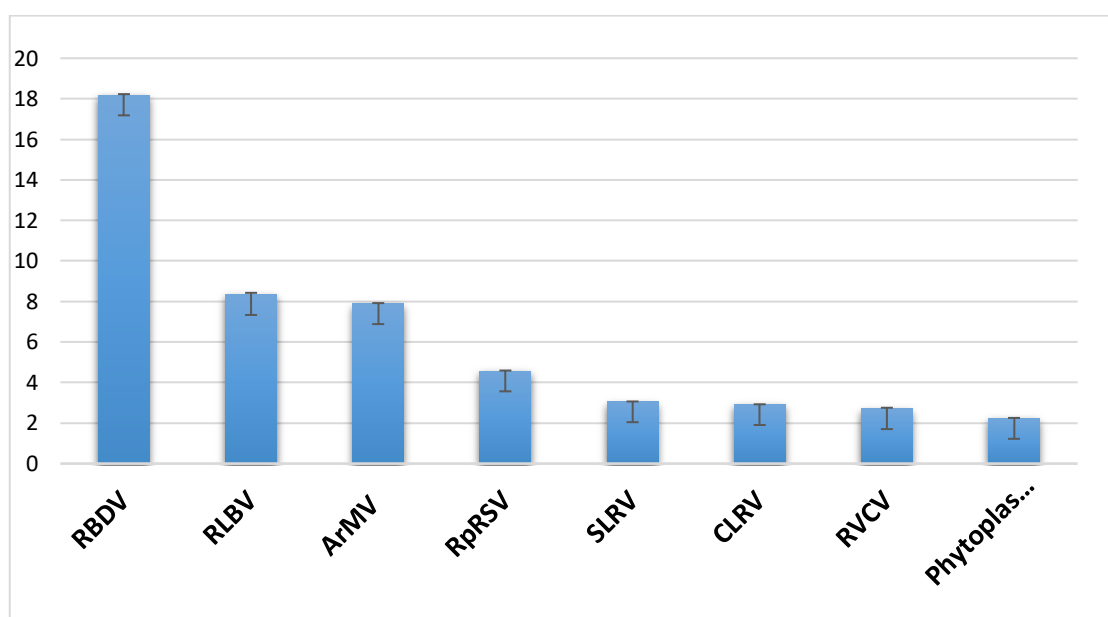


Рис. 3.8. Рівень інфікованості вірусами рослинного матеріалу малини й ожини, % (2019–2024 роки)

Уперше в Україні нами виявлено та ідентифіковано за допомогою ЗТ-ПЛР RVCV у зразках малини (рис. 3.9. б) з родини *Rhabdoviridae*, який переносять попелиці (2,7 %). Відомо, що вірус виявляли у Північній та Східній Європі на малині [191, 206], також були випадки інфікування суниці [62]. Його наявність у перевірених насадженнях може свідчити як про недотримання належної обробки проти переносників, так і про можливу інтродукцію з імпортованим садивним матеріалом.

Ще один, не менш значущий патоген, фітоплазма, яка часто асоційована з карликовістю малини. Патоген було виявлено у 2,2 % перевірених зразків малини й ожини. Оскільки основні шляхи передачі через цикадок або вегетативне розмноження уражених рослин, фітоплазми можуть швидко поширюватися в насадженнях, досягаючи рівня епіфітотії та завдаючи суттєвих економічних збитків [308]. Фітоплазмові хвороби рослин роду *Rubus* трапляються як у диких, так і в культивованих видів на території Європи. Зокрема, у Польщі було виявлено інфікування малини фітоплазмами '*Candidatus Phytoplasma asteris*' та *X disease phytoplasma*, а в Чехії — '*Candidatus Phytoplasma rubi*' [73, 102].

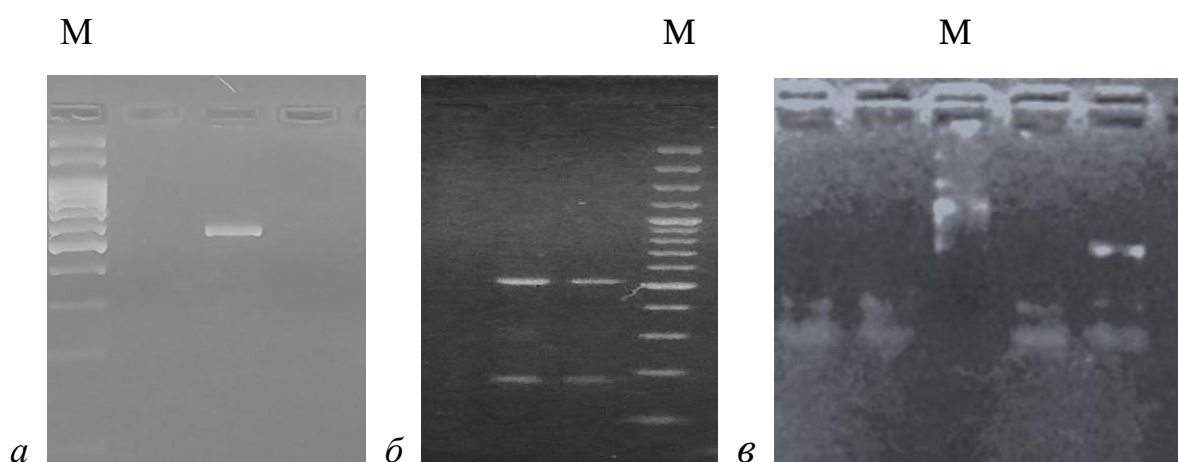


Рис. 3.9. Електрофореграми продуктів ЗТ-ПЛР з праймерами: а – до гена NP RLBV (розмір фрагмента — 570 п.н); б – до гена CP RVCV (460 п.н.); в – до гена CP RBDV (520 п.н.); М – маркер молекулярної маси SM 0321 (Thermo Scientific).

Джерело: сформовано автором

Територіальне поширення вірусних патогенів малини й ожини в Україні

Окрім важливості розуміння рівня інфікованості рослинного матеріалу, не менш суттєвим є знання географії поширення вірусних патогенів. По-перше, це дає змогу своєчасно виявляти й локалізувати осередки інфекції, що допомагає запобігти їх поширенню на нові території та зменшити економічні збитки. По-друге, інформація про поширення вірусів дає можливість розробити ефективні стратегії управління рослинними захворюваннями, зокрема у виборі стійких

сортів і застосуванні заходів боротьби. Крім того, знання географії поширення вірусів допомагає оптимізувати моніторинг і здійснювати профілактичні заходи на рівні регіонів.

В таблиці 3.1 наведено рівні інфікування вірусами малини й ожини в різних регіонах України, що дає змогу оцінити поширеність певних вірусних патогенів у кожній області.

Таблиця 3.1

**Поширення вірусних патогенів в насадженнях малини й ожини в
Поліссі та Лісостепу України (2019–2024 роки)**

Область відбору зразків	Патогени								
	RBDV	ArMV	RpRSV	CLRV	SLRsV	RLBV	RVCV	Фітоплазми	Рівень інфікованості зразків, %
Вінницька	+	+	+	-	-	+	-	+	59,3 ±0,13
Волинська	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Житомирська	+	+	+	-	-	-	+	-	26,3 ±0,14
Київська	+	+	+	+	+	+	-	-	54 ±0,09
Львівська	-	+	+	-	-	-	-	-	40 ±0,31
Харківська	+	-	-	-	-	-	-	-	25 ±0,25
Хмельницька	+	-	-	-	-	-	-	-	25 ±0,31
Черкаська	-	-	-	+	-	-	-	-	10,5 ±0,14
Чернівецька	+	-	-	-	-	-	-	-	10 ±0,19
Чернігівська	-	-	-	-	-	-	-	-	0

За результатами досліджень, RBDV виявлено в 6 областях України: Чернівецькій, Харківській, Хмельницькій, Київській, Вінницькій і Житомирській, що свідчить про його широке поширення (рис. 3.10). Найвищий рівень інфікування цим вірусом спостерігали на досліджених ділянках Київської та Вінницької областей — 42,8 % і 43,7 %, відповідно, від загальної кількості проаналізованих зразків. Такі високі показники, імовірно, пов'язані зі швидким поширенням RBDV через пилок, який є основним шляхом передавання цього вірусу.

Крім цього, у Вінницькій області було зафіксовано значне поширення ArMV і RpRSV на однаковому рівні (по 13,6 %). Водночас RLBV та фітоплазму діагностовано в деяких зразках малини з насаджень двох областей — Київської та Вінницької. У Київській області також зафіксовано присутність ArMV, SLRSV, CLRV. Останній виявлено ще в насадженнях Черкаської області.

Значно кращий фітовірусологічний стан спостерігали в Житомирській області. Тут ідентифікували 4 патогени — RBDV, ArMV, RpRSV з рівнем поширення до 7 %, а також RVCV.

У Харківській, Хмельницькій і Чернівецькій областях зафіксовано лише незначне поширення RBDV, тоді як у зразках Львівської області цей вірус не діагностовано. Натомість у регіоні зафіксовано ArMV та RpRSV.

У рослинному матеріалі з насаджень малини у Волинській і Чернігівській областях вірусів не виявлено.



Рис. 3.10. Поширення RBDV по областях України

Джерело: сформовано автором

Отримані результати засвідчують важливість комплексного скринінгу насаджень, зокрема контролю за вірусами та можливими переносниками інфекцій.

3.3. Інфікованість сортів малини й ожини

У межах цього дослідження перевірено 29 сортів малини й 9 сортів ожини. Найвищий рівень інфікованості зафіксовано в зразках сортів малини Персея (100 %) і БП 1 (66,7 %) (табл. 3.2). Персея – ранній сорт, зареєстрований 2007 року, запатентований Інститутом садівництва НААН (селекціонер — О. Лушпіган) [16]. Сорт рекомендовано для вирощування в трьох зонах України (Степ, Лісостеп і Полісся). Оскільки насадження цього сорту досліджено лише на одній локації, такий високий рівень інфікування, ймовірно, зумовлений інтенсивним поширенням RBDV за допомогою пилку й тривалим терміном експлуатації насадження. Сорт БП 1 створений в Італії 2014 року, однак завдяки

високим смаковим якість набув популярності в українському ягідництві. Цілком можливо, імпорт в Україну садивного матеріалу та його розмноження здійснювали без урахування санітарних вимог, що на даний час призвело до високого рівня інфікування цього сорту.

Серед інших сортів малини Брусвяна, Полка й Космічна виявилися інфікованими понад 40 %, а у рослин сортів Октавія, Василюк й Зугана показники становили 25,0–37,5 %. Те саме можна сказати й про сорти ожини Карака Блек – 30 %, Чачанська Бестра – 28,6 %.

Оскільки зазначені сорти внесено до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, їх перевірка на наявність патогенів залишається актуальною.

Таблиця 3.2

**Інфікованість найпоширеніших в Україні сортів малини й ожини
(2019—2024 роки)**

Культура	Сорт	Рівень інфікованості, %
Малина	БП 1	66,7
	Брусвяна	44
	Василюк	36,4
	Джоан Джей	55,6
	Зугана	25
	Космічна	41,7
	Октавія	37,5
	Персея	100
	Полка	42,9
Ожина	Карака-Блек	30
	Чачанська Бестра	28,6

Інфікування спостерігали як серед літніх, так і ремонтантних сортів малини (табл. 3.3). Ремонтантні сорти популярні в комерційних насадженнях в Україні, хоча й мають більше ризиків зараження через інфікований пилок унаслідок тривалішого періоду цвітіння.

Вищий рівень інфікованості RBDV зафіксовано у ремонтантних сортів малини (25,6 %), порівняно з 13 % – у літніх, що підтверджує вищі ризики інфікування ремонтантної малини цим вірусом. Водночас встановлено, що літні сорти більшою мірою були заражені ArMV – 17 %, тоді як у ремонтантних сортах рівень інфікування становив 9,3 %. Віруси RVCV та RLBV діагностували лише у ремонтантній малині із поширенням 5,4 % та 8,3 %, відповідно. Незначний відсоток поширення виявлено для SLRSV та RpRSV у обох типах сортів.

Таблиця 3.3

**Поширення вірусів у насадженнях ремонтантних і літніх сортів
малини (2019—2024 роки)**

Патоген	Поширення окремих вірусів, %	
	Сорти	
	Літні	Ремонтантні
RBDV	13	25,6
RpRSV	10,9	4,5
CLRV	6,5	2,9
ArMV	17	9,3
SLRSV	2,3	0,7
RVCV	-	5,4
RLBV	-	8,3

Сорти БП 1, Глен Емпл, Джоан Джей, Зугана, Октавія, Полка, Хімбо-топ, протестовані за роки досліджень, користуються попитом у вирощуванні не лише в Україні, а й широко використовуються в насадженнях малини й ожини в Європі [324], саме тому фітовірусологічний стан насаджень досліджуваних культур потребує посиленого контролю. Попри високу інфікованість окремих сортів, нам вдалося виділити здорові рослини-кандидати для материнських рослин (табл. 3.4).

**Колекція вільних від вірусів клонів сортів малини й ожини
(2019–2024 роки)**

Культура	Сорт
Малина	БП 1, Саня, Рафцакю, Брусилівська, Брусилівський стандарт, Маравіла, Феномен, Полка, Зугана, Брусвяна, Джоан Джей, Глен Емпл, Василюк, Хімбо-топ, Октавія, Космічна, Благородна, Примара
Ожина	Насолода, Карака Блек, Блек Сатін, Чачанська Бестрна, Оушито

Отже, у межах дослідження здійснено відбір рослин роду *Rubus* spp. з характерними симптомами вірусної інфекції. За допомогою методів ІФА й ПЛР підтверджено наявність 7 актуальних для Європи вірусів і фітоплазми, що інфікують малину й ожину. Виявлено представників таких родів, як *Nepovirus* (CLRV, ArMV, RpRSV), *Stralarivirus* (SLRSV), *Emaravirus* (RLBV), *Idaeovirus* (RBDV) та *Rhabdovirus* (RVCV) у зразках з досліджуваних областей України.

Поширення вірусних захворювань малини в агроценозах України зумовлює потребу в ретельному захисті й систематичному фітовірусологічному контролі садивного матеріалу, що передбачає регулярний скринінг симптомів захворювань та ідентифікацію їхніх збудників з використанням сучасних лабораторних методів і діагностики.

3.4. Удосконалення схеми сертифікації садивного матеріалу малини й ожини

На сьогодні основні вимоги до садивного матеріалу в Україні визначено Законом «Про насіння і садивний матеріал» [25] та відповідними державними стандартами. Ці нормативні документи передбачають обов'язкове тестування садивного матеріалу на наявність основних шкідливих патогенів.

Детальний аналіз видового складу небезпечних вірусів, які циркулюють в Поліссі та Лісостепу України вкрай важливий та є основою вдосконалення схем сертифікації садивного матеріалу малини й ожини. Такі дослідження допомагають не лише підвищити ефективність сертифікації, а й забезпечити вищий рівень захисту рослин.

У результаті наших досліджень в обстежених зонах України ідентифіковано 7 вірусних патогенів і фітоплазму малини й ожини, тестування на які передбачено європейським стандартом РМ 4/10(1) [234]. Крім того, виявлено вірус RLBV (Raspberry leaf blotch virus), який наразі не входить до чинних схем сертифікації ні в Європі, ні в Україні.

Варто зазначити, що згідно з ДСТУ 7185:2010 «Культури плодові та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур» передбачено тестування садивного матеріалу на 14 вірусів і фітоплазми, що відповідає вимогам стандарту ЕРРО. Водночас у ДСТУ 4720:2007 «Саджанці малини і ожини. Технічні умови» на сьогодні відсутній перелік вірусних патогенів (*табл. 3.5*) [7]. Таким чином, ДСТУ 4720:2007 потребує уточнень і доопрацювання для уніфікації умов, що висувають до сертифікованого садивного матеріалу малини й ожини.

Зважаючи на результати проведених нами досліджень та дані інших авторів сьогодні постає питання регулювання поширення вірусу RLBV. Цей вірус є відносно новим і ще недостатньо дослідженим патогеном малини, який останнім часом привертає увагу також європейських дослідників у зв'язку з його поширенням та асоціацією зі зниженням якості рослин. Хоча повний спектр симптомів і довгострокових наслідків RLBV ще вивчають, дослідження показали його асоціацію з хлорозами, світло-зеленою плямистістю, пожовтінням листків, скручуванням та деформацією країв листків [136]. Незнання про наявність вірусу в насадженнях малини до моменту виявлення сприяли його локальному поширенню [135]. Пізніше дослідження виявили, що RLBV негативно впливає на врожайність малини, знижуючи вагу (на 9–27,5 %) та розмір плодів (на 4–14,9 %), а також підвищує рівень фенолів у плодах [137]. Малина (*Rubus idaeus*) і

ожино-малина (тайбері або *Rubus hybrids*) є основними відомими на сьогодні рослинами-господарями RLBV, тоді як єдиним переносником до 2024 року вважали ериофідного кліща *P. gracilis*. Однак нещодавно з'явилося повідомлення, що переносником RLBV також може бути павутинний кліщ, що означає, що *Tetranychids* (*Tetranychus urticae* Koch) з родини Tetranychidae також можуть сприяти поширенню RLBV [299]. Обидва види кліщів поширені на території України [1, 252], причому павутинний може вражати значно ширше коло господарів, зокрема всі ягідні культури, а в останні роки займає першість в Україні у поширенні і шкідливості для сільськогосподарських культур [23, 36].

Беручи до уваги підтверджене значне поширення RLBV в Україні, його потенційну шкідливість, асоціацію з якісними втратами врожаю, а також наявність ефективних методів виявлення, вважаємо доцільним включити цей вірус до національних схем сертифікації садивного матеріалу.

За даними Державної служби статистики, площа насаджень малини в Україні становить до 5 тис. га, що займає приблизно чверть усіх площ ягідників. Такий масштаб вирощування вказує на широкий ареал потенційного поширення RLBV і потребує офіційного фітосанітарного регулювання шляхом включення цього патогену до вимог сертифікації.

Слід зазначити, що останній перегляд національних стандартів у галузі сертифікації садивного матеріалу ягідних культур проводили у 2010 році, тоді як чинне законодавство передбачає їх оновлення щонайменше раз на 5 років. У зв'язку з цим є об'єктивна необхідність у ревізії ДСТУ 4720:2007 з урахуванням сучасного фітовірусологічного стану, зокрема шляхом актуалізації переліку патогенів, обов'язкових до діагностики під час сертифікації садивного матеріалу малини й ожини, а також доповнення переліку патогенів в обох ДСТУ вірусом RLBV.

Співставлення переліку вірусів малини у європейському та українському стандартах із результатами скринінгу в Україні

№	Міжнародна назва патогену	ОЕПП/EPPO PM 4/10(1)	ДСТУ 7185:2010	Патогени, виявлені в Поліссі та Лісостепу України
1.	Raspberry ringspot nepovirus	+	+	+
2.	Arabis mosaic nepovirus	+	+	+
3.	Apple mosaic virus	+	+	-
4.	Strawberry latent ringspot nepovirus	+	+	+
5.	Tomato black ring nepovirus	+	+	-
6.	Cherry leaf roll nepovirus	+	+	+
7.	Cucumber mosaic cucumovirus	+	+	-
8.	Tomato ringspot nepovirus	-	-	-
9.	Rubus yellow net virus	+	+	-
10.	Raspberry leaf mottle virus	+	+	-
11.	Raspberry vein chlorosis virus	+	+	+
12.	Raspberry bushy dwarf virus	+	+	+
13.	Black raspberry necrosis virus	+	+	-
14.	Rubus stunt phytoplasma	+	+	+
15.	Raspberry leaf blotch virus	-	-	+

Висновки до розділу 3

1. Візуальне обстеження насаджень малини й ожини виявило симптоми плямистості, хлорозу і здрібнення листя, карликовості і розсипчастості ягід.
2. Встановлено поширення 7 вірусів і фітоплазми, які інфікують малину й ожину в Поліссі та Лісостепу України.
3. Вперше на території України виявлено інфікування ожини RBDV, малини – RVCV і фітоплазмою.

4. Загальний рівень інфікованості тестованого матеріалу малини й ожини становив 26,5 %. Спостерігали значну варіабельність поширення вірусних патогенів в регіонах України. Найбільш поширеним вірусом виявився RBDV, який домінує у Вінницькій (43,7 %) та Київській (42,8 %) областях. Високий рівень інфікування RBDV пояснюється ефективним передаванням через пилок.
5. Встановлено вищі ризики поширення патогенів серед ремонтантних сортів малини, особливо RBDV (25,6 %).
6. Виділено чисті клони 18 сортів малини, 5 — ожини. Для закладання промислових насаджень необхідна перевірка їх на відсутність патогенів методом ЗТ-ПЛР.
7. Законодавство й стандарти України вимагають тестування сертифікованого садивного матеріалу на основні патогени, водночас ДСТУ 4720:2007 потребує перегляду та гармонізації з ДСТУ 7185:2010 і чинним стандартом ОЕРР/ЕРРО РМ 4/10(1).
8. З огляду на негативний вплив RLBV на врожайність малини, легкість його поширення кліщами та наявність на території України, включення цього вірусу до сертифікаційних схем є важливим для забезпечення фітосанітарної безпеки.

Дані описані в цьому розділі опубліковані автором в наступних друкованих працях:

Ряба І.А., Павлюк Л.В., Удовиченко К.М., Тряпідина Н.В. Відбір безвірусних клонів у маточних насадженнях малини (*Rubus idaeus*) та ожини (*Rubus caesius*). *Садівництво*. 2019. Вип. 74. С. 153–160.
<https://doi.org/10.35205/0558-1125-2019-74-153-160>

РОЗДІЛ 4. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА УКРАЇНСЬКИХ ІЗОЛЯТІВ RBDV ТА RLbv

4.1. Філогенетичний аналіз виділених ізолятів Raspberry bushy dwarf virus

Філогенетичний аналіз — це метод біологічної систематики, який дає змогу встановлювати еволюційні зв'язки між досліджуваними об'єктами на основі порівняння нуклеотидних або амінокислотних послідовностей. Завдяки цьому методу можна простежити напрямок та послідовність еволюційних змін, з'ясувати походження вірусів, їхню штамову приналежність, а також потенційно прогнозувати подальші генетичні варіації.

За допомогою методу ІФА нами виявлено зразки малини й ожини, інфіковані RBDV. Для підтвердження результатів ІФА й подальших досліджень проведено ЗТ-ПЛР із застосуванням праймерів до ділянки U1-F/L3-R RNA3, що кодує частину гена капсидного білка (CP). В інфікованих зразках ампліфікували продукт розміром близько 520 п.н. [156].

Для подальшого вивчення філогенетичних зв'язків між ізолятами RBDV було відібрано чотири зразки рослин малини: 177UA, 431UA, 87UA і UA1. А також один ізолят KB-UA, виділений з ожини (табл. 4.1).

Таблиця 4.1.

Перелік ізолятів RBDV, виділених із малини й ожини

№	Сорт малини, ожини	Місце відбору	Ізолят	
			Назва ізоляту	Ас. No в NCBI GenBank
1.	Полка	Харківська обл.	431UA	MW457595
2.	Персея	Київська обл.	UA1	MW457594
3.	Геракл	Чернівецька обл.	87UA	OR086926
4.	Джоан Джей	Вінницька обл.	177UA	OR086927
5.	Карака Блек	Житомирська обл.	KB-UA	PV460640

Українські ізоляти RBDV демонстрували високий рівень гомології нуклеотидних (nt) та амінокислотних (aa) послідовностей з варіацією від 98,28 до 99,78 % і від 98,7 до 100 % відповідно. Середній рівень схожості досліджуваних нами ізолятів становив 98,96 % (aa) і 98 % (nt). Ізоляти із Харківської (431UA), Київської (UA1) і Вінницької (177UA) областей мали найбільшу схожість між собою як за нуклеотидними, так і за амінокислотними послідовностями (*табл. 4.2*). UA1 демонструє 99,57 % нуклеотидної та 100 % амінокислотної ідентичності з 431UA, що свідчить про їхнє ймовірне спільне географічне походження й низьку варіабельність ділянки генома CP. Зразок KB-UA, виділений з ожини в Житомирській області, має найнижчі показники схожості серед усіх ізолятів: нуклеотидна ідентичність коливається від 95,72 до 96,19 %, амінокислотна — від 98,05 до 98,70 %. Ці значення свідчать про значні генетичні відмінності, якщо порівнювати з 431UA та UA1.

Таблиця 4.2

**Ідентичність нуклеотидних та амінокислотних послідовностей
українських ізолятів RBDV, %**

Ізолят	177UA		431UA		UA1		87UA	
	Нт, %	Ак, %	Нт, %	Ак, %	Нт, %	Ак, %	Нт, %	Ак, %
431UA	99,78	99,35	-	-	-	-		
UA1	99,57	100	99,78	100	-	-		
87UA	98,28	98,7	98,47	99,35	98,28	99,35		
KB-UA	96,19	98,7	95,95	98,05	95,72	98,05	95,73	98,7

Виявлено кілька позицій, у яких відбулися заміни амінокислот. Найвіддаленішим серед малинових ізолятів виявився 87UA (Чернівецька область), у якого відбулася заміна serine (S) → asparagine (N) у позиції 30 під час порівняння амінокислотних послідовностей з іншими українськими ізолятами (*рис. 4.1*). Також несинонімічні нуклеотидні заміни призвели до змін в амінокислотній послідовності капсидного білка ізоляту 177UA, де відбулася

заміна valin (V) → isoleucine (I) у позиції 86. Загалом ця ділянка геному демонструє високу консервативність серед досліджуваних ізолятів.

У KB-UA виявлено кілька замін: serine (S) → asparagine (N) у позиції 7 — так само як і в малинового 87UA; serine (S) → glycine (G) — 22; а також заміну valin (V) → isoleucine (I) у позиції 64.

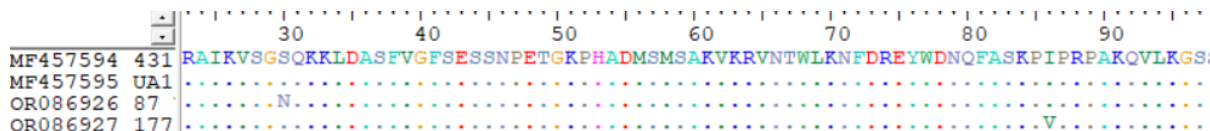


Рис. 4.1. Амінокислотні послідовності та їх заміни в українських ізолятах нуклеокапсидного фрагмента RBDV

Джерело: сформовано автором

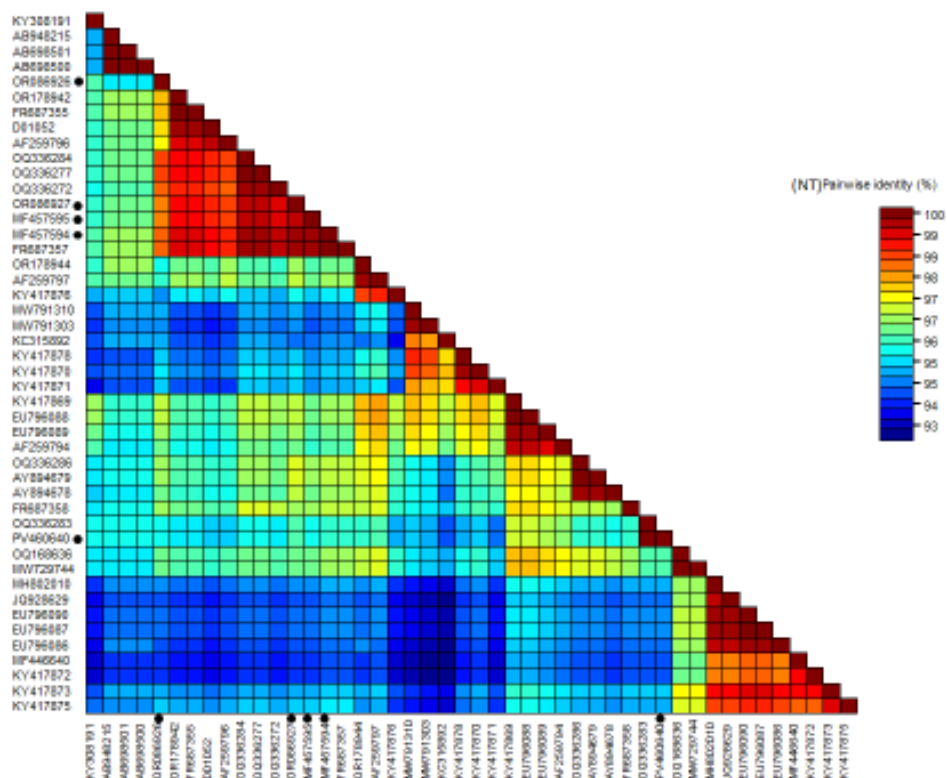
На наступному етапі проведено вирівнювання послідовностей українських ізолятів RBDV із 42 доступними в базі даних GenBank (додаток А). Як зовнішню групу використано найвіддаленіший ізолят RBDV, виділений з *R. multibracteatus* (DQ120126) у Китаї [66]. Це дає змогу краще простежити еволюційні зміни в геномі RBDV.

Згідно з науковими джерелами, ізоляти вірусу з досить високим рівнем схожості послідовностей (понад 95 %) зараховують до одного виду вірусу або штаму [37].

Серед використаних для аналізу ізолятів RBDV рівень ідентичності коливався від 82,3 до 100 % для нуклеотидних і від 86,9 до 100 % для амінокислотних послідовностей. Середній рівень варіабельності всіх досліджуваних ізолятів становив 95,45 % (nt) і 96,8 % (aa) (рис.4.2).

Дендрограма (рис. 4.3) демонструє поділ ізолятів на два основні кластери. До першого кластера увійшли ізоляти з Канади, Еквадору, Фінляндії, Великої Британії, Угорщини, Казахстану, Словенії, Туреччини й України. Ці ізоляти походять з широкого кола рослин-господарів: малини, ожини, винограду й вишні. Рівень ідентичності нуклеотидних послідовностей цього кластера коливався від 85,1 до 100 %, амінокислотних – від 94 до 100 %. Гомологія

нуклеотидних послідовностей ізолятів становила в середньому 94,9 %, амінокислотних – 96,7 %. Зважаючи на 100 % гомології українського ізоляту KB_UA з казахським KZSelection1, за філогенетичними зв'язками їх зараховано до першого кластера, де вони чітко виділяються в межах окремого субкластера.



a

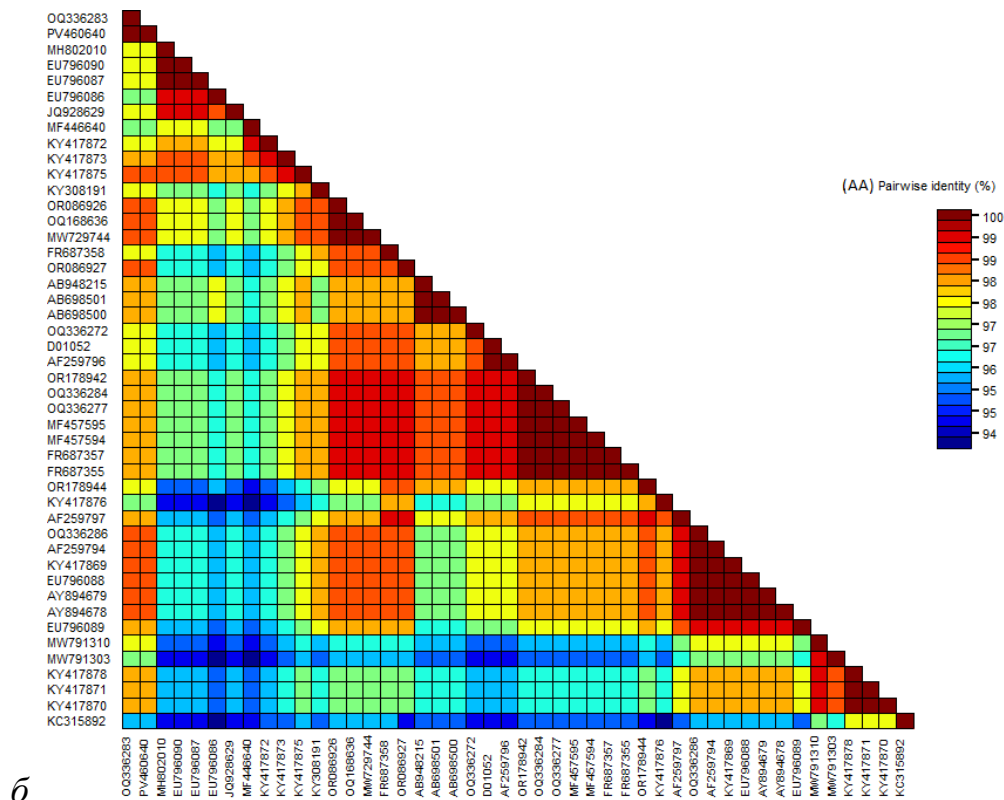


Рис. 4.2. Попарне порівняння послідовностей СР: а – нуклеотидних (nt) та б – амінокислотних (aa) для 46 ізолятів RBDV (5 ізолятів з нашого дослідження та 41 — з бази даних NCBI). Матриці створено за допомогою програми SDT v1.2. Кольорове позначення відображає рівень попарної ідентичності нуклеотидів і білків між відповідними ізолятами. Українські ізоляти позначено чорними крапками.

Джерело: сформовано автором

Українські ізоляти, виділені із малини, увійшли до другого кластера разом з ізолятами з Білорусі, Швеції, Японії, Великої Британії та Казахстану. Усі вони мали спільних рослин-господарів, що належать до *R. idaeus* spp. Рівень ідентичності нуклеотидних послідовностей цього кластера коливався в діапазоні 95,5–100 %, амінокислотних — 98–100 %. Середня варіабельність нуклеотидних послідовностей цих ізолятів становила 98 %, амінокислотних — 99,1 %. Українські ізоляти виявилися найбільш близькими з ізолятами з Білорусії. Наприклад, 431UA мав повну (100 %) ідентичність за нуклеотидною та амінокислотною послідовностями гена покривного білка з ізолятом BY22, а

ізолят 177UA, розміщений у цій самій кладі, був ідентичний з BY22 на 99,8 % (nt) та 100 % (aa) (рис. 4.3). Ізолят 87UA, найвіддаленіший серед українських малинових ізолятів, найбільш близький до казахського KZMol3 (nt — 98,7 %, aa — 100 %).

Загалом ізоляти з Казахстану (KZSelection2-8, KZMol3, KZ3-4), які увійшли до цього ж кластера, продемонстрували високу схожість з українськими — 98,7–99,8 % для нуклеотидів і 98,7–100 % для амінокислот. Ізоляти з Японії (*R. idaeus*) виявили дещо нижчий рівень ідентичності щодо українських: до 96 % (nt) та 98,7 % (aa).

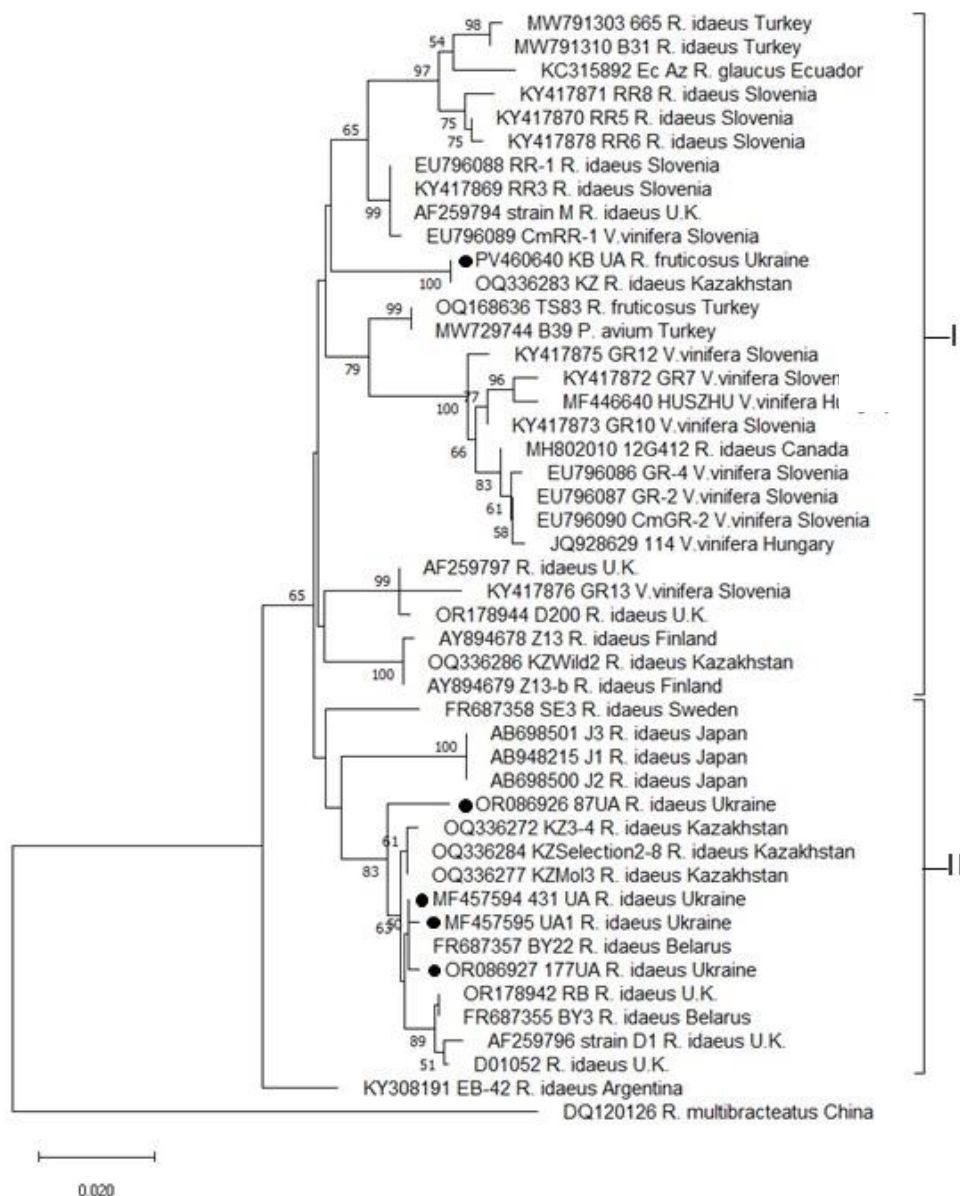


Рис. 4.3. Філогенетичне дерево 47 ізолятів RBDV, побудоване на основі послідовностей фрагментів гена СР з використанням алгоритму Neighbour-Joining у програмі MEGA10. Проведено бутстреп-аналіз із 1000 реплікаціями (показано значення бутстрепу >50). Послідовності, отримані в межах цього дослідження, позначено чорними крапками.

Джерело: сформовано автором

За біологічними властивостями українські ізоляти RBDV, ймовірно, належать до S-групи. Вони утворюють спільну групу з ізолятом D200 (OR178944) з Великої Британії, демонструючи рівень ідентичності 95,8–96,7 % (nt) і 97,4–98,7 % (aa). Представники цієї групи не здатні інфікувати сорти,

стійкість яких зумовлює ген *Bi* [116]. Під час дослідження рекомбінацій між ізолятами RBDV не виявлено.

Отже, варіабельність геному RBDV переважно залежала від типу рослини-господаря, а не її географічного походження, що підтверджує результати попередніх досліджень [130, 199, 306]. Низька мінливість ізолятів RBDV у межах одного господаря, ймовірно, пов'язана з високим рівнем спеціалізації, способом культивування малини (розмноження вегетативним шляхом), активним переміщенням садивного матеріалу й перенесенням вірусу пилом. Водночас відсутність перезапилення між різними видами *Rubus* обмежує ці процеси [146]. Високу ідентичність українських і білоруських ізолятів, ймовірно, зумовлює як географічна близькість, так і можливість перенесення інфікованого пилку між насадженнями. Також може бути спричинена інтенсивним обміном садивним матеріалом між країнами. Найбільшими постачальниками садивного матеріалу малини в Україну є Англія, Італія та Польща [6]. Водночас через те, що в NCBI немає даних про послідовності гена капсидного білка польських та італійських ізолятів, простежити філогенетичні зв'язки з ізолятами з цих країн неможливо, хоча відомо, що вірус поширений на цих територіях [95].

4.2. Філогенетичний аналіз виділених ізолятів Raspberry leaf blotch virus

Для подальшого вивчення філогенетичних зв'язків відібрано два ізоляти RLBV, які виділили із сорту жовтої малини Жовтий гігант у Київській області (117UA-RLBV) і сорту червоної малини Октавія у Вінницькій області (178UA-RLBV). Обидва зразки демонстрували симптоми плямистості листя, а також були інфестовані ериофідним кліщем *Phyllocoptes gracilis*. Фрагменти ампліфікації ізолятів секвеновано й депоновано до міжнародної наукової бази даних GenBank з присвоєнням відповідних номерів (табл 4.3).

Перелік ізолятів RLBV, виділених із малини

№	Сорт малини	Місце відбору	Ізолят	
			Назва	Ас.No в NCBI GenBank
1.	Октавія	Вінницька обл.	UA 178- RLBV	OR086929
2.	Жовтий гігант	Київська обл.	UA 117- RLBV	OR086928

Отримані послідовності ізолятів RLBV мали розмір 532 нуклеотида, які відповідають ділянці з 799 по 1330 нт RNA3.

Рівень ідентичності нуклеотидних послідовностей виділених нами ізолятів склав 95,57 %, розбіжності при цьому спостерігали за 22 нуклеотидами. Амінокислотні послідовності мали практично такий же рівень ідентичності – 95,8 %. Вирівнювання амінокислотних послідовностей ділянки гену NP ізолятів RLBV виявили їх відмінності у ізолятів UA178 і UA117 у 7 позиціях: glycine (G) → serine (S) (17); threonine (T) → asparagine (N) (44); serine (S) → asparagine (N) (78); phenylalanine (F) → asparagine (N) (79); isoleucine (I) → valin (V) (142); valin (V) → isoleucine (I) (144 і 159), що свідчить про досить високий рівень варіабельності та наявність несинонімічних замін у кодонах (рис. 4.4).

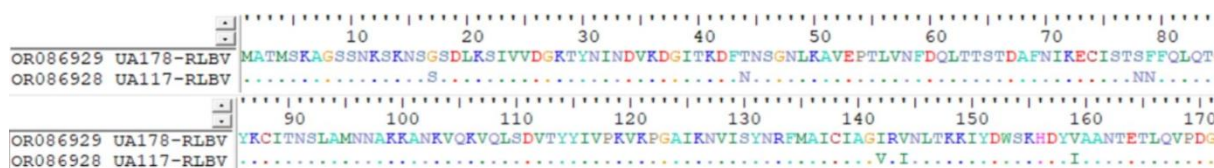


Рис. 4.4. Амінокислотні послідовності та їх заміни в українських ізолятів нуклеокапсидного фрагменту RLBV

Джерело: сформовано автором

На наступному етапі дослідження відібрано відомі ізоляти RLBV із зареєстрованих у GenBank з метою порівняння послідовностей і встановлення філогенетичних зв'язків. За результатами BLAST-аналізу виявлено 86 послідовностей, які повністю або частково відповідали досліджуваній ділянці

РНК3 ізолятів RLBV. Для подальшого аналізу відібрали 23 послідовності, що демонстрували найвищий рівень перекриття з нашими ізолятами й походили з різних географічних регіонів (табл. 4.4). Як зовнішню групу використовували найбільш споріднений з RLBV ізолят — Jujube yellow mottle-associated virus із Китаю (рис. 4.6).

Усі досліджувані ізоляти утворили два основні кластери на побудованому філогенетичному дереві (рис. 4.6). Три українські ізоляти увійшли до кластера I разом з деякими фінськими, сербськими й словацьким ізолятами. Але якщо ізоляти UA178-RLBV та UA-RLBV-1 [252] демонстрували тісний зв'язок з іншими європейськими ізолятами, то UA117-RLBV утворював окрему гілку в межах цього кластера. Рівень ідентичності в межах кластера I коливався від 93,9 до 99,8 % (nt) та від 94,8 до 100 % (aa). Середній рівень ідентичності для цього кластера становив 98,5 % (nt) і 98,3 % (aa) (рис. 4.5).

До другого кластера увійшли ізоляти RLBV з Великої Британії, Франції та Фінляндії, які демонстрували високий рівень схожості між собою — 95,8–100 % (nt) і 94,5–100 % (aa). Середній рівень варіабельності нуклеотидних послідовностей цих ізолятів становив 97,4 %, амінокислотних — 97,1 %.

Щоб визначити рівень варіабельності, ізоляти в нашому дослідженні порівняли з єдиним відомим на сьогодні українським ізолятом UA-RLBV-1. Він продемонстрував 98,2 % нуклеотидної ідентичності з UA178-RLBV і 95,1 % — з UA117-RLBV.

**Ідентичність нуклеотидної та амінокислотної послідовностей гену
капсидного білка досліджуваних українських ізолятів RLBV зі світовими
ізолятами з Генбанку, %**

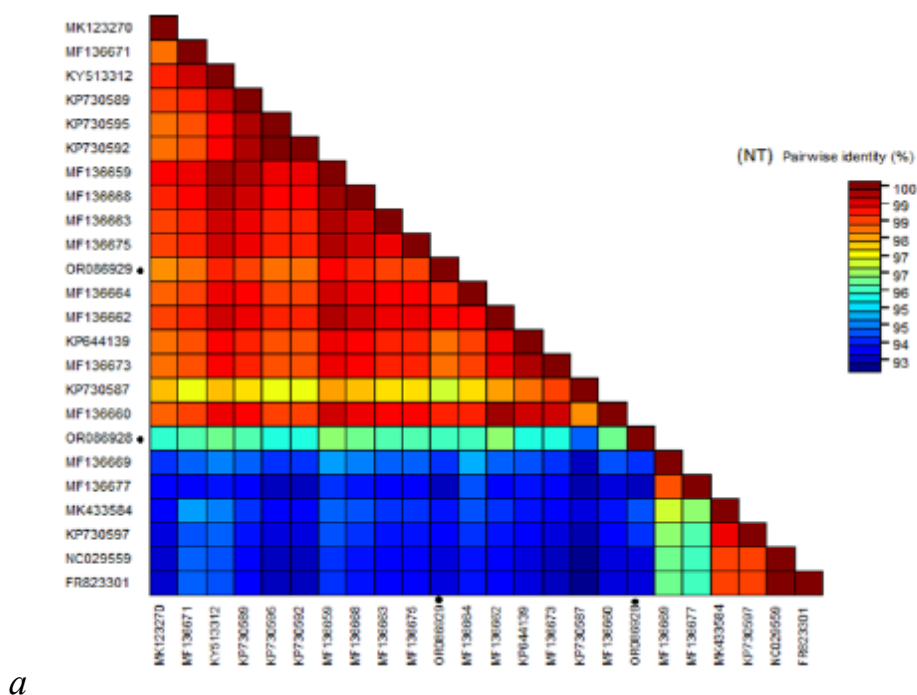
Реєстраційний номер послідовності	Назва ізоляту	Рослина- господар	Країна походжен ня	Ідентичність, %			
				UA178-RLBV		UA117-RLBV	
				nt, %	aa, %	nt, %	aa, %
OR086929	UA178-RLBV	<i>R. idaeus</i>	Україна	-	-	-	-
OR086928	UA117-RLBV	<i>R. idaeus</i>	Україна	95.57	95.82	-	-
MF136659	RS-RLBV-2	<i>R. idaeus</i>	Сербія	99.02	100.00	96.19	95.82
MF136662	RS-RLBV-9	<i>R. idaeus</i>	Сербія	99.02	99.41	96.19	95.21
MF136663	RS-RLBV-14	<i>R. idaeus</i>	Сербія	98.82	100.00	95.95	95.8
MF136668	RS-RLBV-61	<i>R. idaeus</i>	Сербія	98.82	100.00	95.99	95.82
MF136660	RS-RLBV-4	<i>R. idaeus</i>	Сербія	98.82	98.82	95.98	94.80
KY513312	SK-RLBV-1	<i>R. idaeus</i>	Словаччи на	98.82	100.00	95.98	95.82
KP730589	Met-2	Дика малина	Фінляндія	98.63	99.41	95.78	95.21
MF136675	RS-RLBV-132	<i>R. idaeus</i>	Сербія	98.62	99.41	95.77	95.21
KP644139	vvF-19	Дика малина	Фінляндія	98.42	98.82	95.55	94.56
MF136673	RS-RLBV-85	<i>R. idaeus</i>	Сербія	98.22	98.82	95.35	94.59
MF136671	RS-RLBV-76	<i>R. idaeus</i>	Сербія	98.22	99.41	95.77	95.21
KP730595	ROI-1	Дика малина	Фінляндія	98.23	98.23	95.36	94.59
KP730592	Pur-4	<i>R. idaeus</i>	Фінляндія	98.23	98.23	95.36	94.80
MK123270	UA-RLBV-1	<i>R. idaeus</i>	Україна	97.98	98.19	95.45	95.09
KP730587	Ala-1	<i>R. idaeus</i>	Фінляндія	96.81	98.23	93.86	93.97
MF136669	RS-RLBV-72	<i>R. idaeus</i>	Сербія	93.44	97.63	93.42	95.82
MK433584	FR38	<i>R. idaeus</i>	Франція	93.18	97.03	93.60	95.21
KP730597	Rop-123	<i>R. idaeus</i>	Фінляндія	92.97	96.43	93.39	94.59
MF136677	RS-RLBV-138	<i>R. idaeus</i>	Сербія	92.79	95.80	92.77	93.94
NC029559	UK	<i>R. idaeus</i>	Великобр итанія	92.76	95.82	92.74	93.97
FR823301	UK	<i>R. idaeus</i>	Великобр итанія	92.76	95.82	92.74	93.97

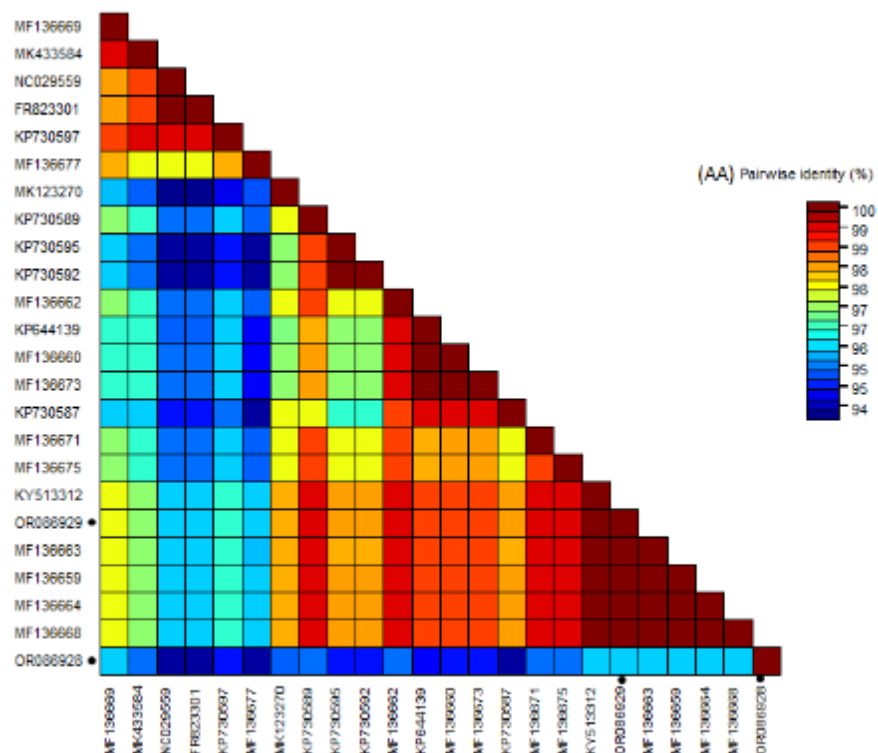
За нуклеотидною послідовністю фрагменту RNA-3 український ізолят UA178-RLBV мав найвищу ідентичність (99 %) з ізолятами із Сербії (RS-RLBV-

2, RS-RLBV-2, RS-RLBV-24, RS-RLBV-64), але амінокислотні послідовності цих ізолятів ідентичні на 100 % (рис. 4.5). Також 100 % аміноподібність ізолят мав зі словацьким SK-RLBV-1, хоча і були відмінності в нуклеотидах (98,8 %).

Інший досліджуваний нами ізолят UA117-RLBV мав значно нижчу ідентичність з європейськими ізолятами у порівнянні з UA178-RLBV. Найвищий відсоток схожості, як і UA178-RLBV, спостерігали також з ізолятами із Сербії (RS-RLBV-72, RS-RLBV-61) та словацьким SK-RLBV-1 – 93,4–96 % – для нуклеотидних та 95,8 % – для амінокислотних послідовностей.

Таким чином, генетична варіабельність ізолятів RLBV є значно вищою у порівнянні з ізолятами RBDV. На основі цих результатів можна зробити висновок про значну генетичну різноманітність між ізолятами RLBV, що походять з різних географічних областей.





б

Рис. 4.5. Попарне порівняння послідовностей NP: а – нуклеотидних (nt) та б – амінокислотних (aa) 24 ізолятів RLBV (2 ізоляти з нашого дослідження й 22 — з NCBI). Матриці сформовано за допомогою програми SDTv1.2. Кольорове позначення відображає попарну ідентичність нуклеотидів і білків між відповідними ізолятами. Українські ізоляти позначено чорними крапками.

Джерело: сформовано автором

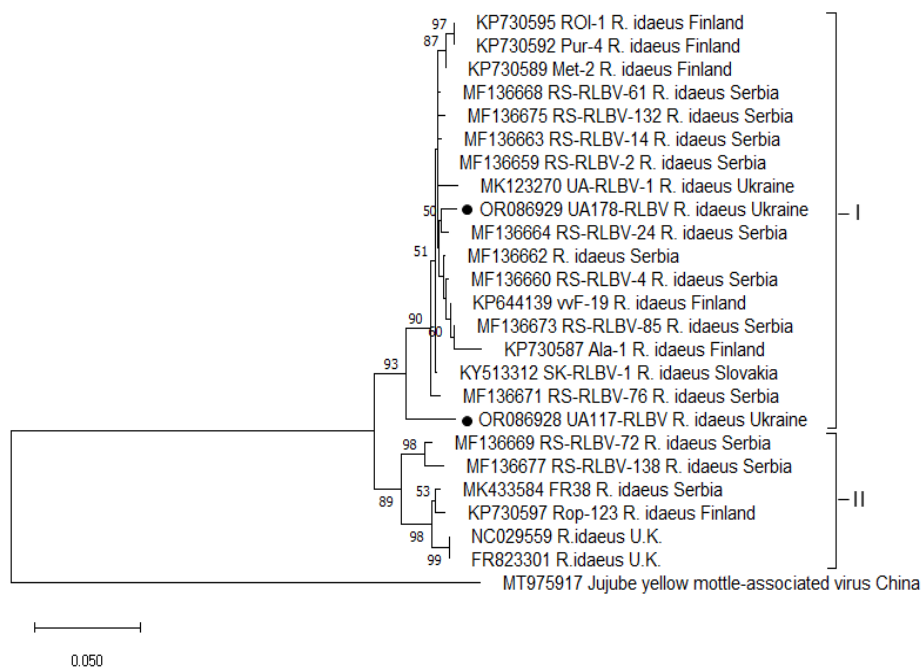


Рис. 4.6. Філогенетичне дерево 25 ізолятів RLBV, побудоване на основі послідовностей фрагментів гена NP з використанням алгоритму Neighbour-Joining у програмі MEGA10. Проведено бутстреп-аналіз 1000 реплікацій (показано значення бутстрепу >50). Послідовності, отримані в межах дослідження, позначено чорними крапками.

Джерело: сформовано автором

Рекомбінаційний аналіз за допомогою програми RDP4 виявив рекомбінаційну подію трьома методами (Maxchi, 3Seq, SiScan $p < 0,05$) із залученнями як major parent ізолята з Фінляндії — Pur-4, а також українського ізолята UA178-RLBV як minor parent. Ізолят UA-RLBV-1, імовірно, утворився в результаті рекомбінації з точками розриву в позиціях нуклеотидів 855 і 1,283 РНКЗ. Рекомбінації в популяції RLBV можуть призводити до високого рівня генетичного різноманіття. Рекомбінації також пов'язані з адаптацією до нових господарів, виникненням нових вірусів і підвищенням вірулентності.

Зважаючи на порівняно високу варіабельність ізолятів RLBV в Україні, можна припустити ймовірну нещодавню інтродукцію цього патогену з кількох різних географічних регіонів до місцевих агроценозів. Значну генетичну

мінливість спостерігали в популяціях RLBV, що циркулювали в культивованих і диких рослинах малини у Фінляндії та Сербії [88, 138]. Натомість у Боснії і Герцеговині відзначали високу гомогенність ізолятів RLBV [81].

Поширення вірусних хвороб малини в агроценозах України зумовлює потребу ретельного захисту насаджень і постійного фітовірусологічного контролю садивного матеріалу. Важливим заходом є своєчасне виявлення вірусів з використанням сучасних лабораторних методів діагностики.

Висновки до розділу 4

1. Охарактеризовано фрагменти гена CP 5 українських ізолятів RBDV виділених з малини й ожини. Фрагменти, розміром 466 п.н., продемонстрували високий рівень гомології між собою (98,28–99,78 % для нуклеотидних і 98,7–100 % для амінокислотних послідовностей) серед українських ізолятів, виділених із малини й ожини.

2. Українські ізоляти RBDV виділені з малини (177UA, UA1, 431UA, 87UA) показали тісний еволюційний зв'язок між собою та з європейськими ізолятами RBDV.

3. Виявлено, що український ізолят з ожини (KB-UA) був філогенетично віддаленішим від українських ізолятів малини і утворив окрему гілку разом з ізолятом з Казахстану, що свідчить про можливу циркуляцію окремої лінії RBDV серед ожини в Центральній і Східній Євразії.

4. Українські ізоляти RLBV виділені з малини мали лише 95,57 % ідентичності нуклеотидних послідовностей і демонстрували високу варіабельність амінокислотних послідовностей.

5. Найбільшу спорідненість з українським ізолятом UA178-RLBV продемонстрували ізоляти із Сербії, з якими він мав 99 % ідентичності послідовностей. Тоді як ізолят UA117-RLBV характеризувався нижчим рівнем ідентичності 93-96 % — із сербськими й словацькими ізолятами.

РОЗДІЛ 5. ОЗДОРОВЛЕННЯ МАЛИНИ ВІД ВІРУСІВ В УМОВАХ КУЛЬТУРИ *IN VITRO*

Технології отримання оздоровленого садивного матеріалу для різних видів культурних рослин базуються на інтегрованому використанні таких методів, як відбір безвірусних зразків, культивування апікальних меристем, а також термо- та хемотерапія. Зокрема, хемотерапія є одним із сучасних і ефективних підходів до елімінації вірусів, який часто поєднують з мікроклональним розмноженням для підвищення ефективності оздоровлення.

Довга історія досліджень елімінації вірусів рослин все ще не дає універсального, надійного та швидкого рішення для оздоровлення ягідних культур від вірусних патогенів. Ефективність кожного з підходів значною мірою залежить як від виду рослини, так і від особливостей вірусу. Терапевтичні методи, ефективні для одних патогенів або рослин, можуть бути недостатньо дієвими для інших. Особливо складним є оздоровлення рослин із комбінованою інфекцією кількома вірусами [74, 243, 263].

Одним із найпроблемніших вірусів у цьому контексті є RBDV, який важко піддається терапії через його здатність проникати та реплікуватися в примордіях листків і меристематичних тканинах, за винятком найменш диференційованих клітин апікального купола. Тому метод культури апікальних меристем не дає очікуваного результату [314].

Ми вивчали можливість елімінації RBDV методом хемотерапії в умовах *in vitro* на прикладі сорту малини Персея, оскільки під час попередніх досліджень не вдалося виявити жодну рослину цього сорту вільну від вірусів (рис. 5.1). Отримання вільних від вірусів клонів сорту Персея є надзвичайно важливим та актуальним завданням для збереження його в колекції генетичних ресурсів та використання для виробництва безвірусного садивного матеріалу.



Рис. 5.1. Культивування рослин сорту Персея в умовах культури *in vitro*
Джерело: сформовано автором

Для дослідження ефективності оздоровлення малини, інфікованої вірусом RBDV, обрані 4 антивірусні препарати: рибавірин, ацикловір, озельтамівір і римантадин.

Рибавірин є одним із найбільш широко вивчених препаратів для елімінації вірусів рослин в умовах культури *in vitro*. Завдяки передбачуваним механізмам противірусної активності [109], його вважають дієвою сполукою [124]. Ефективність рибавіріну підтверджено для широкого спектра культур, включаючи плодові та ягідні рослини. Наприклад, успішно отримано вільні від plum pox virus (PPV) рослини сливи [241], а також продемонстровано ефективність рибавіріну при ураженні вірусами SMYEV, ToRSV та ArMV на суниці [281]. Крім того, позитивні результати отримані при елімінації apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV) з рослин роду *Prunus* [72]. В Україні й раніше науковці Інституту садівництва відзначали позитивну дію препарату на елімінацію RBDV з рослин малини, хоча використані низькі концентрації рибавіріну не дозволили отримати вільні від віруса рослини [35].

Ацикловір, озельтамівір і римантадин включені в дослідження на основі обнадійливих результатів, опублікованих у нещодавніх роботах. Так, ацикловір продемонстрував ефективність при елімінації *Dahlia mosaic virus* (DMV) у

жоржин [233]. У випадку плодових культур позитивну дію ацикловіру й римантадину виявлено при оздоровленні персика від вірусів *prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) та PPV відповідно [163]. Озельтамівір, у свою чергу, показав ефективність до Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV) у винограду [113].

Таким чином, експериментально підтверджена дія цих противірусних препаратів проти широкого спектру вірусів у різних культурах дає підстави припускати їх потенційну ефективність і проти RBDV на малині.

Оцінка фітотоксичності антивірусних препаратів є важливим етапом при впровадженні їх у протоколи оздоровлення рослин в умовах *in vitro*, оскільки деякі віроциди, ефективні проти вірусів, можуть водночас негативно впливати на життєздатність, ріст і морфогенез рослинних експлантів [126, 282]. Тому визначення безпечних концентрацій препаратів, які не пригнічують ріст і розвиток рослин, є критичним для досягнення успішного оздоровлення без шкоди для фізіологічного стану культури.

У таблиці 5.1 наведено результати оцінки впливу випробуваних антивірусних препаратів – ацикловіру, озельтамівіру, рибавіріну та римантадину – на ріст мікропагонів малини сорту Персея в умовах *in vitro*. Ріст оцінювали за показником висоти мікропагонів, вираженої у відсотках відносно контролю, прийнятого за 100 %.

Додавання ацикловіру у всіх концентраціях (варіанти 1–3) зумовлювало зменшення висоти мікропагонів, яка коливалась у межах 78,9–82,9 % від контролю, що свідчить про фітотоксичний ефект цього препарату. У випадку озельтамівіру, навпаки, висота мікропагонів не лише не знижувалась, але у деяких варіантах навіть перевищувала контрольні значення (до 106,4 %), що вказує на відсутність фітотоксичності цього препарату при використаних концентраціях.

Рибавірін виявив дозозалежний інгібуючий вплив на ріст мікропагонів: при максимальній концентрації висота становила лише 70,07 %, тоді як при мінімальній – 99,63 %, що підтверджується статистично достовірною різницею

між варіантами. Показник кореляції ($r=0,568$) також підтверджує наявність помітного прямого зв'язку між зростанням концентрації рибавіріну та зниженням росту пагонів. Крім того, на середовищі з рибавірином спостерігали появу блідо-жовтого забарвлення верхівок пагонів фактично у всіх рослин. Більше того, не всі рослини виявилися придатними до подальшого культивування, оскільки, залежно від використаних концентрацій рибавіріну (20 – 60 мг/л), загибель становила від 6,3 до 40 % (рис. 5.2).

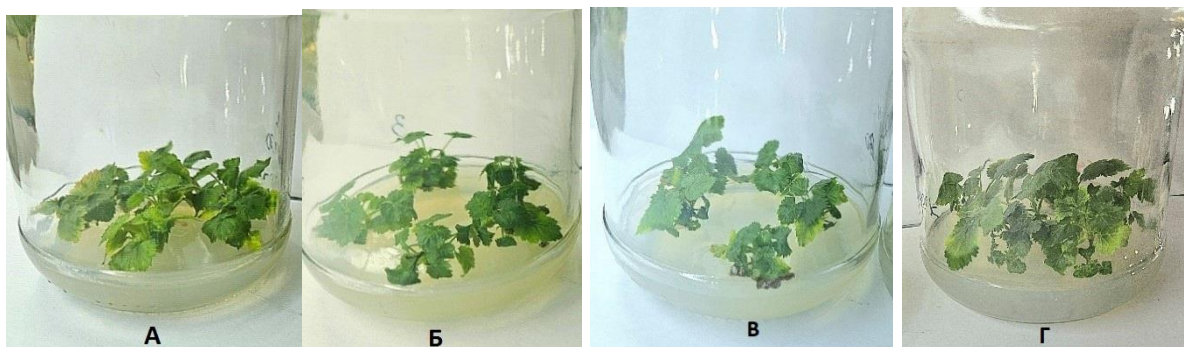


Рис. 5.2. Стан рослин малини сорту Персея при культивуванні протягом 30 діб на середовищі MS під впливом концентрації рибавіріну порівняно з контрольними рослинами (без препарату): А – 20 мг/л; Б – 40 мг/л; В – 60 мг/л; Г – контроль

Джерело: сформовано автором

Римантадин, як і озельтамівір, не спричиняв суттєвих змін у висоті пагонів (показники в межах 88,97–90,92 %), а кореляційний аналіз ($r=0,002$) вказує на відсутність залежності між концентрацією препарату та ростом рослин.

Загалом відзначено фітотоксичний вплив всіх антивірусних препаратів на ріст пагонів, культивованих на поживному середовищі MS. Найменший негативний вплив на ріст *in vitro* експлантів малини характерний для озельтамівіру та римантадину. Для ацикловіру й особливо рибавіріну, спостерігали значну тенденцію до пригнічення росту мікропагонів зі зростанням концентрації препарату у середовищі (табл. 5.1).

**Вплив антивірусних препаратів на висоту мікропагонів *in vitro*
малини сорту Персея (%) відносно контролю (100%)**

Варіант концентрації	Ацикловір	Озельтамівір	Рибавірин	Римантадин
1	82,9 ±7,9 a	106,4 ±9,4 a	99,6 ±3,25 a	89,0 ±3,4 a
2	78,9 ±5,9 a	104,0 ±7,5 a	83,6 ±6,2 a,b	90,9 ±5,6 a
3	82,4 ±5,5 a	96,5 ±8,5 a	70,1 ±7,3 b	89,1 ±4,4 a
Коеф. кореляції (r)	0,012	0,179	0,568	0,002

Примітка: дані наведено як середнє значення ± SE. У таблиці різними літерами також відображено статистичну різницю між варіантами

Вплив досліджуваних віроцидів на розвиток рослин оцінювали за показником коефіцієнта розмноження мікропагонів, вираженого у відсотках відносно контрольного показника, що приймали за 100 %.

За використання всіх антивірусних препаратів спостерігали падіння коефіцієнту розмноження мікропагонів, порівняно з контрольними рослинами (табл. 5.2).

Найменший фітотоксичний ефект спостерігали при застосуванні римантадину (77,27 %) та озельтамівіру (73,9 %) у мінімальних тестованих концентраціях (варіант 1). Зі збільшенням концентрації препаратів відзначали незначне посилення фітотоксичного впливу. Таким чином ацикловір, озельтамівір і римантадин мали негативний вплив на розвиток рослин малини, знижуючи коефіцієнт розмноження на 30–40 % від показників контрольних рослин. Водночас для цих препаратів не виявлено статистично значущої різниці між випробуваними концентраціями.

Істотне зниження коефіцієнту розмноження до 36,9 % спостерігали для рибавіріну за використання 60 мг/л препарату. Загалом, рибавірин виявився

найбільш фітотоксичним серед досліджених препаратів, що підтверджується високим коефіцієнтом кореляції між підвищенням концентрації та зменшенням коефіцієнта розмноження ($r = 0,917$). Найменший кореляційний зв'язок між концентрацією та фітотоксичним ефектом спостерігався для озельтамівіру ($r = 0,223$), що свідчить про його відносно м'яку дію на мікропагони малини.

Таблиця 5.2

Вплив антивірусних препаратів на коефіцієнт розмноження мікропагонів *in vitro* малини сорту Персея (%) відносно контролю (100%)

Варіант концентрації	Антивірусний препарат			
	Ацикловір	Озельтамівір	Рибавірин	Римантадин
1	67,6 ±6,7 а	73,9 ±6,6 а	67,3 ±0,5 а	77,3 ±8,4 а
2	60,7 ±3,6 а	65,9 ±9,1 а	52,5 ±5,9 b	61,9 ±2,4 а
3	68,5 ±3,2 а	66,1 ±12,7 а	36,9 ±3 с	64,3±4,1 а
Коеф. кореляції (r)	0,566	0,223	0,917	0,512

Примітка: дані наведено як середнє значення ± SE. У таблиці різними літерами також відображено статистичну різницю між варіантами

Отримані нами результати щодо фітотоксичності співпадають з раніше проведеними дослідженнями, коли токсичність рибавіріну підтверджена при застосуванні його в середовищі для культивування рослин черешні у концентраціях вище 80 мг/л, що провокувало некроз верхівок пагонів [83]. Негативний вплив цього віроциду також виявлено під час елімінації ASPV з мікропагонів груші сорту Давид, при чому вижили лише 30 % рослин навіть при концентрації 20 мг/л [240]. Водночас рибавірин у концентрації 30 мг/л продемонстрував дещо меншу фітотоксичність у дослідях на малині, оскільки виживання становило 60–83 % [254], що відповідає отриманим нами результатам. Протилежні результати отримано у дослідженнях на винограді, де

після обробки рибавірином фіксували утворення додаткових бруньок і численних мікропагонів [39].

Важливо зазначити, що препарати римантадин і ацикловір не викликали фітотоксичних проявів у рослин персику Ред Хавен і Санкрест [163], що підтверджує їхню безпечність у невисоких дозах і узгоджується з нашим дослідженням. Аналогічно, озельтамівір не впливав на регенераційну здатність винограду, на відміну від рибавіріну [114].

Через місяць культивування апекси розміром 1-3 мм виокремлювали з мікропагонів та пересаджували на стандартне середовище MS з доданням БАП (0,5 мг/л) для подальшого оцінювання ефективності дії віроцидів.

Після наростання вегетативної маси рослин з апексів проводили напівкількісний ІФА. Аналогічну процедуру здійснювали також з контрольними, не обробленими віроцидом мікропагонами. Зміни титру покривного білка, пропорційного кількості вірусних частинок у пробі, визначали шляхом аналізу змін показника оптичної густини. Таким чином, концентрації покривного білка в кожному варіанті визначали за відхиленням від контролю (варіант без віроциду), що приймали за 100 %.

Найбільше зниження титру RBDV продемонстрував озельтамівір у концентрації 80 мг/л (варіант 3), при цьому залишкова кількість капсидного білка становила 43,7 % (табл. 5.3). Менш ефективний вплив препарату спостерігали при концентрації 60 мг/л (67,9 %), навіть при найнижчій концентрації (40 мг/л) залишкова кількість вірусного покривного білка становила 26 %.

Ацикловір також проявляв антивірусну дію при застосуванні в середовищі в концентрації 60 мг/л, коли залишкова кількість покривного білка RBDV знизилася до 45,2 % (табл. 5.3). Загалом зі зростанням концентрації спостерігали достовірне зменшення титру вірусу — від 72,2 % при 40 мг/л до 45,2 % при 60 мг/л. Усі три варіанти обробки ацикловіром відрізнялися між собою статистично достовірно.

Використання римантадину і рибавіріну не продемонструвало статистично достовірного зниження вірусного білка в більшості концентрацій.

Хоча зі збільшенням дози простежувалася тенденція до зменшення титру RBDV, відмітності між варіантами були недостовірними. Зокрема, при обробці рибавірином в найвищій концентрації рівень білка знизився до 61,2 %, а римантадином — до 64,9 %. Найвищу кореляцію між підвищенням концентрації препарату і зменшенням вірусного білка виявлено саме для римантадину ($r=0,814$).

Таблиця 5.3

Залишкова кількість вірусного покривного білка в мікропагонах малини сорту Персея (%) відносно контролю (100%) під впливом антивірусних препаратів у різних концентраціях (*in vitro*)

Варіант концентрації	Антивірусний препарат			
	Ацикловір	Озельтамівір	Рибавірин	Римантадин
1	72,2 ±18,4 а	74 ±15,7 а	81,4 ±5,5 а	88,6 ±1,8 а
2	53,5 ±13 b	67,9 ±7,8 а	76 ±3,5 а	86,9 ±4,5 а
3	45,2 ±16 с	43,7 ±8,4 а	61,2 ±7,9 а	64,9 ±3,8 b
Коеф. кореляції (r)	0,536	0,618	0,690	0,814

Примітка: дані наведено як середнє значення ± SE. У таблиці різними літерами також відображено статистичну різницю між варіантами

Тестування методом ІФА виявило окремі експланти малини вільні від вірусної інфекції серед рослин, що культивували на середовищі з додаванням ацикловіру. Варто зазначити, що найвищий відсоток оздоровлених рослин отримано при використанні препарату в концентрації 60 мг/л (42,8 %), а також 14,3 % експлантів мали негативний результат при тестуванні на наявність RBDV у варіанті з додаванням 40 мг/л ацикловіру. Застосування ацикловіру показало високу ефективність також на інших культурах. Так, 40 мг/л ацикловіру забезпечили елімінацію DMV у 80 % випадків за 30 діб культивування мікропагонів жоржини [233]. Також показано, що ацикловір у концентрації 25 мг/л для елімінації Indian citrus ringspot virus (ICRV) у Kinnow (*Citrus nobilis* Lour

× *C. deliciosa Tenora*) сприяв максимальному виходу вільних від вірусу рослин (21 %) [273]. Водночас ацикловір не виявляв значного впливу на ерадикацію Potato virus S при отриманні безвірусних саджанців картоплі [239].

У наших випробуваннях ефективність римантадину в ерадикації RBDV не підтвердилася. Проте застосування римантадину та ацикловіру було ефективним проти PPV, PNRSV і PDV в експериментах із сортами персика (*Prunus persica* L.) Редхевен і Санкрест. Обидва противірусні препарати показали добру ефективність в концентраціях 25 або 50 мг/л та забезпечували вихід від 57 до 90 % здорових рослин [163]. Також позитивного результату було досягнуто при елімінації *solanum nigrum ilarvirus 1* (SnIV-1) із рослин яблуні [283].

Результатом використання препарату озельтамівір у максимальній досліджуваній концентрації (варіант 3) стало отримання нами 14,3 % рослин, які були вільні від RBDV. Хоча, при ерадикації GLRaV 1+3 з виноградної лози за концентрації 120 мкмоль L-1 озельтамівіра і 30 діб експозиції результати отримано вищий показник здорових рослин у відсотковому вираженні 71,42 % [113].

Важливо відзначити наукову новизну нашого дослідження, оскільки ацикловір, як озельтамівір і римантадин на рослинах малини в культурі *in vitro* ще не вивчали.

Антивірусна дія рибавіріну щодо досліджуваного вірусу – найменш варіативна серед протестованих віроцидів, що частково узгоджується з даними для черешні, де концентрації нижче 50 мг/л неефективні, а підвищення до 80 мг/л збільшувало відсоток оздоровлених рослин, але водночас пригнічувало їх розвиток *in vitro* [83]. Рибавірин у концентрації 25–100 мг/л виявився ефективним для елімінації ACLSV з мікропагонів аличі та PNRSV з пагонів сливи сорту Імпрез, при цьому найвищу ефективність спостерігали за концентрації 100 мг/л. Натомість ця терапія виявилася неуспішною для видалення PNRSV з аличі та PDV з черешні сорту Early Rivers, що свідчить про специфічність дії рибавіріну, зумовлену особливостями взаємодії вірус–рослина-господар [74]. Застосування окремо рибавіріна в концентрації 30 мг/л

виявилось недостатньо ефективним і при елімінації RBDV у експлантах малини, успішність оздоровлення підвищувалась при комбінуванні культури *in vitro* з термотерапією, а також залежала від розмір апекса, що істотно впливав на забезпечення належного рівня регенерації експлантів [196].

Отже, проаналізувавши ефективність дії антивірусних препаратів на процес оздоровлення мікропагонів малини можна констатувати наступне:

- найбільша фітотоксичність виявилася при додаванні в середовище рибавіріну в концентрації 60 мг/л, що призводила до некрозу верхівок пагонів, пригніченням росту і зменшення коефіцієнту розмноження мікропагонів малини;

- максимально оздоровчий ефект отримано при використанні ацикловіру, що сприяло виходу здорових рослин (42,8 %) при концентрації 60 мг/л;

- застосування озельтамівіру в концентрації 80 мг/л попри його м'яку дію на рослини, мало обнадійливі результати, оскільки у нашому дослідженні, отримали оздоровлені рослини малини (14,3 %).

Такі результати частково узгоджуються з даними окремих праць, в яких повідомляли про ефективність цих сполук. Тому буде продовжено скринінг для достовірного підтвердження відсутності вірусів у рослинах, що показали відсутність останніх за нашими попередніми тестуваннями. Також, подальші дослідження будуть спрямовані на з'ясування потенціалу повної ерадикації RBDV шляхом оптимізації концентрацій препаратів або ж шляхом комбінування хемотерапії з іншими методами, зокрема термотерапією.

Висновки до розділу 5

1. Уперше вивчено вплив антивірусних препаратів: ацикловір, озельтамівір і римантадин для терапії RBDV на рослинах малини в культурі *in vitro*.

2. Установлено, що навіть низькі концентрації віроцидів мали фітотоксичний ефект на експланти малини, при цьому терапевтичний ефект на RBDV був відсутній.

3. При використанні ацикловіра в концентрації 60 мг/л отримано 42,8 % рослин, вільних від RBDV за результатами тестування.

РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН РОСЛИН МАЛИНИ

Малину (*Rubus idaeus* L.) культивують в усіх регіонах світу з помірним кліматом як комерційно важливу ягідну культуру. Серед основних сортів малини, що користуються популярністю серед виробників України, виокремлюють ремонтантні сорти української селекції Брусвяна, швейцарської – Зугана і британської – Джоан Джей. Усі три сорти відзначаються високою врожайністю, стійкістю до хвороб і здатністю пристосовуватися до різних агрокліматичних умов [6], що забезпечує їх стабільну присутність у насадженнях малини в Україні завдяки продуктивності та високій якості плодів. Саме ці сорти відібрані для дослідження з метою вивчення впливу вірусних патогенів на посухостійкість, вміст зелених пігментів у листковому апараті, функціональний стан рослин, продуктивність рослин малини та якість свіжої продукції.

6.1. Вплив інфікування вірусами на посухостійкість рослин малини

У процесі еволюції рослини розвинули специфічні механізми адаптації до стресових умов навколишнього середовища. Абіотичні стреси, такі як дефіцит вологи, екстремальні температури та інтенсивне сонячне випромінювання можуть посилюватися біотичними факторами, зокрема вірусними інфекціями, що порушують метаболічні процеси та знижують продуктивність рослин [85, 94]. Одним із механізмів адаптації до посухи та низьких температур є накопичення органічних метаболітів і антиоксидантів [267].

Вірусні інфекції впливають на водний баланс рослин, що критично важливо для стійкості до стресу [285]. Взаємодія рослин і вірусів щодо посухостійкості безпосередньо залежить від її виду й вірусу. Наприклад, вірус огіркової мозаїки може відтермінувати симптоми стресу від посухи, збільшуючи концентрацію осмозахисних речовин [325], але інші віруси, як у випадку взаємодії з динями, можуть знижувати водний потенціал і посухостійкість [139].

Важливу роль відіграє також взаємодія вірусів з комахами-переносниками: водний дефіцит сприяє ефективнішій передачі вірусів, що свідчить про комплексний механізм захисту в умовах посухи [224]. Зокрема, ремонтантні сорти малини, які плодоносять як на пагонах поточного року, так і на торішніх, мають підвищену вразливість до ураження RBDV. Це пов'язують із виснаженням рослин унаслідок повторного плодоношення [34, 291]. Проте, наразі недостатньо відомо про вплив RBDV на здатність рослин виду *R. idaeus* долати абіотичні стреси, зокрема посуху. У зв'язку із цим виникає потреба детально вивчити роль RBDV у зміні водоутримувальної здатності та рівня водного дефіциту в трьох ремонтантних сортах малини — Джоан Джей, Брусвяна й Зугана. Ці сорти характеризуються різними генетичними особливостями й адаптаційними властивостями, що робить їх перспективними об'єктами дослідження.

6.1.1. Вплив RBDV на водоутримувальну здатність листків малини

Здатність листків утримувати вологу — важливий показник ефективності механізмів, що підтримують клітинний тургор, зменшують втрати води й забезпечують метаболічну активність у періоди нестачі вологи. Тому було проаналізовано втрати води в рослин сортів малини Брусвяна, Зугана й Джоан Джей. Результати оцінки рівня посухостійкості вказали на суттєві відмінності між здоровими рослинами й тими, які інфікував вірус RBDV (табл.6.1).

Таблиця 6.1

Вплив RBDV на водоутримувальну здатність листків малини

Сорт	Втрати води за експозиції, %			
	2 год.	4 год.	6 год.	24 год.
Брусвяна, здорові рослини (к.)	10,3 ±0,8 а	19,7 ±0,6 а	24,8 ±0,85 а	47,8 ±0,3 а
Брусвяна, інфіковані рослини	16,8 ±0,2 b	33,8 ±0,5 b	42,2 ±0,35 b	61,1 ±1 b
Зугана, здорові рослини (к.)	13,8 ±0,3 а	17,9 ±0,45 а	23,7 ±0,3 а	45 ±1,75 а
Зугана, інфіковані рослини	15 ±1,3 а	26,6 ±1,3 b	32,1 ±1,15 b	58,4 ±1,25 b

Джоан Джей, здорові рослини (к.)	9,05 ±0,25 a	14,8 ±0,2 a	18,7 ±0,5 a	32,8 ±0,55 a
Джоан Джей, інфіковані рослини	13,2 ±1,6 a	23,2 ±3,8 a	31,6 ±0,95 b	44,4 ±2,35 a

Примітка: дані наведено як середнє значення $\pm$ SE. У таблиці різними літерами також відображено статистичну різницю між варіантами

У результаті експерименту встановлено істотні відмінності між здоровими й інфікованими рослинами. Через дві години експозиції середній рівень водних втрат у здорових рослин усіх сортів становив 11,05 %, тоді як в інфікованих цей показник зріс до 15 %, що свідчить про збільшення втрат на 35,7 %. Зокрема інфіковані рослини сорту Зугана мали лише на 8 % вищий рівень втрат води, якщо порівнювати зі здоровими рослинами цього сорту.

Наступне вимірювання, проведене через 4 години експозиції, показало суттєві зміни. Втрата води в інфікованих рослин зросла до 48,6 %, якщо порівнювати з вільними від вірусу зразками. Для інфікованих сортів Джоан Джей і Брусвяна цей показник досягнув відповідно 56,7 % і 71,5 %, що свідчить про сильніший вплив вірусу на фізіологічні процеси в окремих генотипах.

Через 24 години у здорових рослин сорту Брусвяна рівень втрати води становив 47,8 %, тоді як в інфікованих сягав 61,1 %, демонструючи різницю втрат на рівні 27,8 %. У сортах Зугана та Джоан Джей різниця між здоровими й інфікованими рослинами також зменшилася: інфіковані рослини мали вищі втрати води на 29,8 % і 35,6 % відповідно. Отже, вірус суттєво знижує водоутримувальну здатність рослин малини різних сортів.

6.1.2. Вплив RBDV на водний дефіцит

В умовах штучної посухи дефіцит води в листковому апараті рослин малини, інфікованих RBDV, був дещо вищим, порівняно з вільними від вірусів (рис. 6.1).

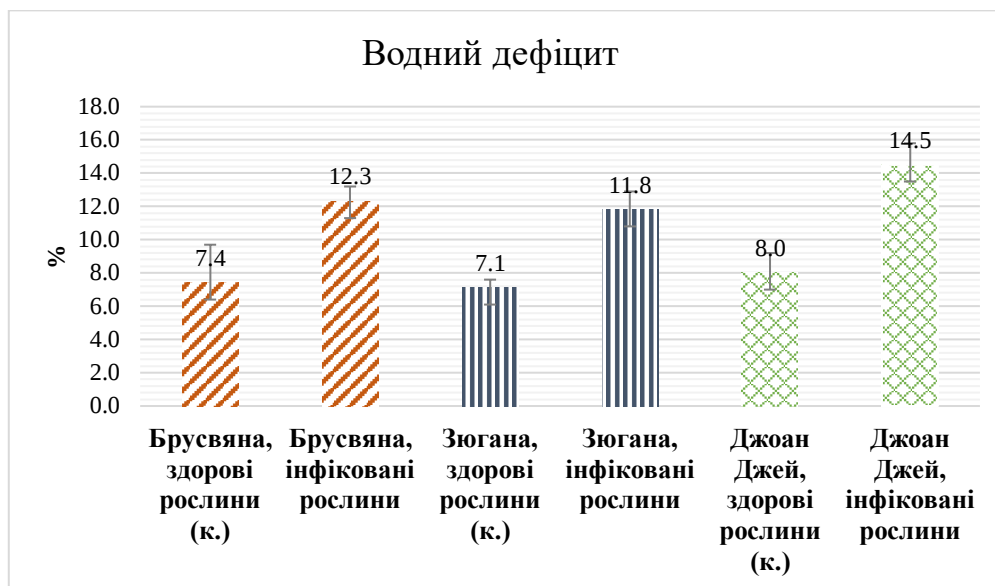


Рис. 6.1. Водний дефіцит листків малини під впливом RBDV

Джерело: сформовано автором.

У рослин сорту Брусвяна, вільних від RBDV, водний дефіцит становив 7,4 %, тоді як в інфікованих зразків цей показник досяг 12,3 % (рис. 6.1).

Отже, ураження вірусом призвело до збільшення водного дефіциту в середньому на 66 % у рослин цих сортів. Найбільше зростання водного дефіциту зафіксовано в інфікованих рослин сорту Джоан Джей, де показник сягнув 14,5 %, що на 81 % перевищило контрольні значення. Ці результати свідчать про нижчий адаптаційний потенціал сорту Джоан Джей до втрати вологи як за нормальних умов, так і під впливом вірусної інфекції.

Дослідження посухостійкості рослин є особливо актуальним в умовах змін клімату, коли посуха залишається одним з головних обмежувальних чинників врожайності [321]. У цьому контексті наші результати демонструють підвищення водного дефіциту в рослин малини, інфікованих RBDV, якщо порівняти зі здоровими зразками. Водночас ці дані не збігаються з результатами досліджень інших науковців щодо вірусів PPV, CMV [139, 325]. Аналіз літературних джерел свідчить, що вірусна інфекція часто супроводжується посиленням лігніфікуванням клітинних стінок, що може знижувати проникність води до клітин і покращувати утримання вологи [269].

Підвищення водного дефіциту в інфікованих рослин може свідчити про порушення структури клітинних стінок, що, імовірно, призвело до зниження їхніх захисних функцій. Імовірно такі зміни пов'язані з модифікаціями метаболічних процесів, які обмежують здатність рослин адаптуватися й акумулювати вологу, у результаті чого вірус RBDV посилив стресові умови і сприяв збільшенню водного дефіциту. Водночас, відомі дослідження, що Turnip mosaic virus (TuMV), еволюціонуючи в умовах посухи, навпаки підвищував стійкість *Arabidopsis thaliana* до водного дефіциту, сприяючи виживанню рослин під час абіотичного стресу [107].

Вплив вірусів на стійкість рослин до посухи залишається актуальною проблемою, оскільки він варіює залежно від конкретної взаємодії між вірусом і рослиною-господарем, а також від умов навколишнього середовища. З огляду на це потрібні подальші дослідження для глибшого розуміння цих взаємозв'язків і використання отриманих знань у сільськогосподарській практиці задля підвищення посухостійкості культур.

6.2. Вплив вірусної інфекції на вміст зелених пігментів у листках малини

У дисертаційній роботі досліджували вплив RBDV на вміст зелених пігментів у листковому апараті, а також на функціональний стан рослин малини шляхом аналізу параметрів флуоресценції хлорофілу.

Вірусна інфекція може впливати не лише на стійкість рослин до абіотичних чинників і тривалість експлуатації насаджень, а й на структуру фотосинтетичного апарату. Це зумовлене тим, що віруси, реплікуючись у клітинах листків, спричиняють руйнування органел, зниження фотосинтетичної активності, посилення літичних процесів, некроз і в'янення тканин. Симптоми проявляються у вигляді змін пігментації, зокрема хлоротичної плямистості на листках хворої рослини. Під впливом вірусів відбуваються структурні й функціональні зміни в хлоропластах, що призводить до зниження фотосинтетичної активності [112, 120].

Про негативний вплив вірусних інфекцій на рівень і функціонування зелених пігментів повідомляли для чорної смородини й малини [29], пшениці [22], тютюну [183, 294], а також для рослин *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi* [328]. У зв'язку із цим було вирішено провести дослідження впливу RBDV на вміст зелених пігментів у рослинах малини сортів Брусвяна, Зугана, Джоан Джей.

Також, вимірювали питому поверхневу щільність листків, оскільки вона є показником інтенсивності роботи фотосинтетичного апарату. За оптимальних умов листові пластинки фотосинтетичних сортів інтенсивно накопичують більшу кількість сухих речовин [31].

Загалом під час аналізу вмісту хлорофілу *a* найбільше відхилення від контролю спостерігали в сорту Джоан Джей — 30,1 %, тоді як у сортів Зугана і Брусвяна зниження становило 23,2 і 18,1 % відповідно. Водночас показники хлорофілу *b* зазнали менш виражених змін: в інфікованих зразках спостерігали зменшення на рівні 27,2–22,1 %. Таким чином, у всіх сортів спостерігали тенденцію до зниження вмісту хлорофілу внаслідок інфікування рослин RBDV (табл. 6.3).

**Питома поверхнева щільність листків малини та вміст у них зелених
пігментів, мг/г**

Сорт малини	Хлорофіли, мг/г сирої маси (M±m)								ППЩЛ, г/дм2 площі листка (M±m)	
	a		b		a+b		a/b			
	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини (к.)	Інфіковані рослини	Здорові рослини	Інфіковані рослини	Здорові рослини	Інфіковані рослини
Брусвян а	2,16 ±0,22 а	1,77 ±0,19 а	0,92 ±0,14 а	0,67 ±0,09 а	3,08 ±0,35 а	2,44 ±0,1 а	2,3	2,6	0,57	0,55
Зугана	2,41 ±0,12 а	1,45 ±0,25 а	1,04 ±0,07 а	0,53 ±0,12 а	3,45 ±0,19 а	1,98 ±0,37 а	2,3	2,3	0,5	0,47
Джоан Джей	1,96 ±0,09 а	1,37 ±0,17 а	0,79 ±0,1 а	0,6 ±0,12 а	3,33 ±0,19 а	1,97 ±0,37 а	2,5	2,3	0,59	0,54

Примітка: дані наведено як середнє значення $\pm$ SE.

Сумарний вміст хлорофілів $a + b$ (мг/г) у інфікованих рослин малини зменшився на 20,8–40,8 %. Найбільшу різницю між інфікованим і контрольним варіантом спостерігали в сорту Джоан Джей (40,8 %), тоді як найменшу — у сорту Брусвяна (20,8 %). Відомо, що суттєве зменшення вмісту хлорофілів a і b фіксували в листках перцю двох сортів під впливом TMV, на 54,13 % і 60,08 % відповідно [245]. Схожі результати для багатьох рослин-господарів, інфікованих різними вірусами, опубліковано раніше [12, 29, 71, 183, 259].

Найбільшою сухою масою одиниці площі листка (до 0,59 г/дм²) характеризувався сорт Джоан Джей у здорових рослин. В інфікованих рослин усіх трьох сортів цей показник був на середньому рівні (0,47–0,55 г/дм²), що дещо нижче за контрольні значення (0,5–0,59 г/дм²).

6.3. Індукція флуоресценції хлорофілу у рослин малини під впливом вірусної інфекції

Вивчення впливу вірусної репродукції на електронний транспорт у фотосистемі фотосинтетичного апарату (ФСА) рослини має безперечно важливе

значення для розуміння патогенної дії вірусного агента. Одним з ефективних методів вивчення стану фотосинтетичного апарату рослини є індукція флуоресценції хлорофілу (ІФХ), що ґрунтується на аналізі змін інтенсивності флуоресценції хлорофілу після початку освітлення адаптованого до темряви листка. Інтенсивність випромінювання залежить від стану рослини.

Згідно з літературними даними, у клітинах переважно флуоресціює хлорофіл *a* ФС2. Зміни його флуоресценції відображають зміни окислювально-відновлювального стану реакційних центрів (РЦ) цієї фотосистеми. Під час активного фотосинтезу, коли всі клітини відкриті для роботи, використовується майже вся поглинена світлова енергія. Лише невелика її кількість (не більше ніж 3 %) відображається у вигляді фонові флуоресценції (F_0). За звичайних обставин це значення невелике, що свідчить про те, що клітини активно використовують поглинену світлову енергію.

Вплив несприятливих чинників, в тому числі вірусної інфекції, зменшує здатність темнових фітохімічних процесів, що зупиняють потік електронів, і тому РЦ переходять у неактивний стан. Поглинута енергія світла вже не може використовуватися в процесі фотосинтезу, тому флуоресценція хлорофілу підвищується в усьому часовому діапазоні реєстрації її індукційних змін [10].

Враховуючи вищенаведене, вирішено використати метод ІФХ для вивчення впливу RBDV на стан ФСА інфікованих рослин малини в різні періоди вегетації.

У нашому дослідженні в інфікованих RBDV листках малини спостерігали підвищення інтенсивності F_0 (початковий рівень флуоресценції), якщо порівнювати зі здоровими рослинами. У сорту Брусвяна цей показник збільшився на 23,4 %, у Джоан Джей сягав 16,1 %, однак у Зугани показник не мав істотної різниці — 6,5 %. Це свідчить про вплив вірусу на фотосинтетичний апарат, який відповідає за первинну флуоресценцію.

Крім того, відзначали збільшення максимальної флуоресценції (F_m) на 20,6–23,7 %, що вказує на блокування передачі електронів в ЕТЛ. Стаціонарний рівень флуоресценції (F_t) є статистично значущим для сорту Джоан Джей (підвищувався на 21,3 %) (табл. 6.3).

Такі зміни свідчать як про деградацію хлорофілу в антенах світлозбиральних комплексів, так і про блокування передачі електронів на пул пластохінонів. Схожі результати досліджень отримали під час вивчення впливу вірусу смугастої мозаїки пшениці на повільну індукцію флуоресценції хлорофілу листків пшениці [21].

Серед параметрів ІФХ найбільш виразно характеризує вплив вірусної інфекції, а саме її патологічний вплив на функціональний стан рослин, коефіцієнт плато: $K_{Pl} = (F_{Pl} - F_0) : (F_P - F_0) = dF_{Pl} / F_V$, де $dF_{Pl} = F_{Pl} - F_0$ — амплітуда плато флуоресценції; $F_V = F_P - F_0$ — варіабельна флуоресценція.

Зафіксовано значне збільшення K_{Pl} (на 33,3 % у Зугани й Брусвяни), що свідчить про накопичення неефективних реакційних центрів фотосистеми II. Цей параметр відображає кількість комплексів, у яких другий акцептор електронів пластохінон В (QB) не здатний до відновлення. У нормальних умовах QB приймає електрони від первинного акцептора QA і передає їх далі по ланцюгу електронного транспорту. При вірусному ураженні цей процес порушується, що призводить до блокування переносу електронів і зростання флуоресценції хлорофілу. Отже, збільшення K_{Pl} є індикатором стресу і зниження фотохімічної ефективності ФСII, і може бути використане як тестовий показник на наявність вірусної інфекції у зразках.

Таблиця 6.3

Середні значення параметрів ІФХ

Сорт, варіант	F0	Fpl	Fmax1	Fmax2	Ft	Kpl	Ki	RFD
Брусвяна, здорові рослини (к.)	166,7 ±6,5 b	320,3 ±6,9 b	565 ±9,5 a	572,3 ±19,5 a	223,3 ±12,5 a	0,3 ±0,03 a	1,8 ±0,6 a	1,6 ±0,19 a
Брусвяна, інфіковані рослини	224,7 ±18,3 a	423 ±25,1 a	724,3 ± a	689 ±103 a	235 ±28,5 a	0,4 ±0,08 a	1,6 ±0,43 a	1,9 ±0,21
Зугана, здорові рослини (к.)	189 ±10,8 a	271,7 ±17,9 a	527,3 ±25,8 a	511,3 ±14,9 a	205,3 ±7 a	0,3 ±0,12 a	1,3 ±0,33 a	1,5 ±0,12 a
Зугана, інфіковані рослини	212,5 ±16,5 a	353,5 ±16,5 a	554,5 ±14,8 a	538,5 ±10,5 a	228,5 ±16,5 a	0,4 ±0,08 a	1,7 ±0,3 a	1,5 ±0,4 a
Джоан Джей здорові рослини (к.)	170 ±2 b	316 ±0 a	534 ±10 b	518 ±10 b	204,5 ±4,5 b	0,4 ±0 a	2,2 ±0,04 a	1,5 ±0,07 a
Джоан Джей, інфіковані рослини	215 ±8 a	411 ±30 a	705,5 ±14,5 a	674,5 ±29,5 a	247,5 ±8,5 a	0,4 ±0,04 a	2,3 ±0,05 a	1,7 ±0,03 a

Примітка: дані наведено як середнє значення ± SE. У таблиці різними літерами також відображено статистичну різницю між варіантами

Вірусна інфекція підвищила показники ІФХ у всіх трьох сортів, хоча в сорту Зугана різниця між здоровими й інфікованими рослинами менш виражена, якщо порівняти із сортами Брусвяна й Джоан Джей.

Дослідження показують, що співвідношення білків у складі комплексу, відповідального за фотоліз води і виділення кисню (комплекс розщеплення води фотосистеми II), є критичним для підтримки ефективності фотосинтезу за умов вірусної інфекції [260]. Цей висновок узгоджується з результатами інших досліджень [52, 80, 286], які вказують, що фотосинтетичні білки є одними з основних мішеней вірусної дії або виявляють змінену експресію в інфікованих рослинах. Зокрема, встановлено, що зміни рівня ферредоксину — білка, який бере участь у транспорту електронів у світловій фазі фотосинтезу, — корелюють із розвитком симптомів інфекції tobacco mosaic virus (TMV) [183].

Зважаючи на аналіз даних, методом ІФХ встановлено, що у більшості досліджуваних рослин з вірусною інфекцією, порівняно з вільними від вірусів, флуоресценція хлорофілу в листках підвищується протягом усього часового діапазону реєстрації індукційних змін.

6.4. Вплив вірусної інфекції на врожайність, фізичні властивості та біохімічний склад плодів малини

За результатами наших досліджень, на початку вегетації та росту пагонів інфіковані рослини відставали в рості на 14 %, якщо порівнювати з контролем. Однак на наступних етапах — під час цвітіння й плодоношення — різниці між приростами не виявлено.

У сорту Брусвяна в інфікованих рослин спостерігалось зниження всіх показників, найвиразніше — у кількості плодоніжок на пагін (17,4 %) (*табл. 6.4*). Найбільше скорочення кількості плодоносних пагонів зафіксовано у рослин сорту Зугана, інфікованих RBDV (23,3 %). У сорту Джоан Джей показники дещо вирізнялися: кількість плодоносних пагонів у інфікованих рослин зменшилася на 5,3 %. Хоча важливо врахувати, що різниця в кількості плодоніжок на пагін становила 20 %. Висота пагонів на кущі залишалася стабільною в усіх сортів навіть під дією вірусної інфекції, що може свідчити про сприятливі умови вирощування малини. Загалом під час обліків різниця між варіантами становила від 1,8 до 21,9 %. Отже, результати підтверджують деякий вплив вірусу на плодоношення рослин, зокрема через пригнічення ростових процесів і зниження формування врожаю.

Таблиця 6.4

Біометричні показники росту рослин малини

Сорт, варіант	К-сть плодоносних пагонів, шт	Висота пагонів, см	К-сть плодових гілочок на пагін, шт
Брусвяна, здорові рослини (к.)	6,8 ±0,6 а	107 ±2,1 а	8,6 ±1,2 а
Брусвяна, інфіковані рослини	5,7 ±0,73 а	89 ±9 а	7,1 ±0,3 а
Зугана, здорові рослини (к.)	10,2 ±2,2 а	102,67 ±2,3 а	4,8 ±0,46 а
Зугана, інфіковані рослини	7,85 ±1,2 а	98 ±8 а	3,85 ±0,15 а
Джоан Джей, здорові рослини (к.)	7,6 ±0,83 а	125 ±2,3 а	6 ±0,6 а
Джоан Джей, інфіковані рослини	8 ±0,6 а	116 ±4 а	4,8 ±0,64 а

Примітка: дані наведено як середнє значення ± SE.

Продуктивність — важлива властивість сорту, яка залежить від генотипу та умов вирощування. Середня врожайність плодів малини в Україні становить до 7,4 т з гектара. Найбільшими її виробниками на сьогодні є Вінницька, Дніпропетровська, Житомирська та Київська області [303].

Основними завданнями комерційних виробників малини є збільшення врожайності та поліпшення таких компонентів якості плодів, як зовнішній вигляд (розмір, колір, цілісність ягоди) і смак (вміст цукрів).

Вплив вірусів на врожайність залежить від багатьох чинників, зокрема від штаму й ізоляту вірусу, сорту й віку рослин, технологій вирощування, наявності видів-переносників, часу й способу інфікування, а також кліматичних умов [276]. Одним з найбільш шкідливих є RBDV, який передається через пилок і впливає на ріст пилкових трубок. Порушення формування кістянок призводить до появи розсипчастих плодів. Прояв симптомів інфікування може вирізнятися залежно від генотипу малини [289]. Розсипчастість ягід є однією з найхарактерніших ознак ураження цим вірусом. Дослідження, проведені на сорті ожини Маріон, показали, що під дією RBDV кількість кістянок скорочувалася від 70 до 10 штук [293]. Martin & Mathews [192] дійшли висновку, що саме

розсипчастість плодів зумовлює зниження врожайності на 50–60 %, навіть якщо загальна кількість кістянок не змінюється.

Отже, наявність вірусних патогенів, зокрема RBDV, становлять реальну загрозу для продуктивності малини. Відомо, що цей вірус може знижувати урожайність до 50 %, навіть якщо симптоми хвороби не проявляються [227].

Оскільки на сьогодні бракує інформації щодо економічних наслідків поширення RBDV в насадженнях малини, актуальність нашого дослідження полягала у вивченні впливу цього патогену на фізичні властивості й хімічний склад плодів обраних сортів малини. Рослини, інфіковані RBDV, а також вільні від вірусів рослини трьох сортів (Брусвяна, Зугана й Джоан Джей) оцінено за врожайністю, масою плодів і кількістю кістянок. Важливо зазначити, що вплив інших чинників, які могли спричинити зниження продуктивності або втрату врожаю, усунено: інфіковані й здорові рослини вирощували за однакових ґрунтово-кліматичних умов.

Урожайність усіх трьох досліджуваних сортів помітно зменшувалася під впливом вірусної інфекції. Найбільших втрат зазнав сорт Джоан Джей, де показники досягли разючого рівня (рис. 6.2). Зокрема, з інфікованих рослин зібрано на 6,3 т/га менше продукції, що становило 62,2 % урожайності контрольного варіанта. Водночас значне зменшення продуктивності зафіксовано в інфікованих рослин Зугани та Брусвяни, де загальна урожайність знизилася на 5,53 т/га (61,8 %) та 6,08 т/га (58,6 %), відповідно.

Можливою причиною відсутності різниці в продуктивності між зараженими й безвірусними рослинами окремих сортів може бути їхня толерантність до вірусної інфекції. Це підтверджується тим, що в таких рослин зазвичай не проявляються симптоми вірусних захворювань. Натомість у рослин сорту Брусвяна, інфікованих RBDV, спостерігали симптоми хлорозу на листках, які призводили до зменшення продуктивності.

Важливо зазначити, що вірус, виявлений у ході цього дослідження, негативно впливав на всі компоненти врожаю. Під час обстеження дослідних ділянок малини зафіксовано деформацію плодів, що проявлялася у вигляді

неодномірності кістянок і розсипчастості в рослин, інфікованих RBDV (рис. 6.2). Особливо помітні зміни спостерігалися у ягодах сорту Джоан Джей, де візуально зафіксовано зменшення розміру й погіршення вигляду плодів, якщо порівнювати зі здоровими рослинами.

За ботанічною характеристикою, плід малини складний і має 50–150 окремих кістянок (зазвичай близько 100) [42]. Ягоди, інфіковані RBDV (рис. 6.2 б), демонструють типові ознаки розсипчастості, що проявляється у формуванні менших, деформованих і непридатних до споживання у свіжому вигляді плодів. Це пояснюється тим, що вірус порушує нормальне формування кістянок, спричиняючи зниження щільності кістянок і погане прикріплення до суцвіття. Отримані спостереження відповідають результатам попередніх досліджень [192, 293].

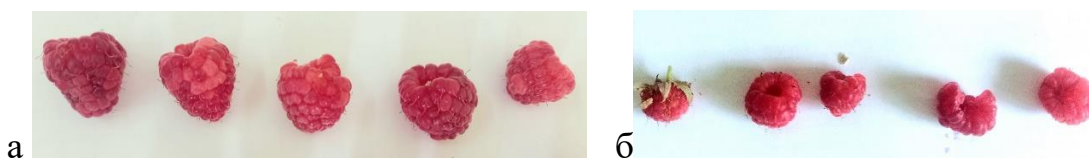


Рис. 6.2. Прояв симптомів розсипчастості ягід і зменшення кількості кістянок малини сорту Джоан Джей; а) плоди рослин, вільних від вірусної інфекції; б) плоди рослин, інфікованих RBDV

Джерело: сформовано автором

Згідно з ДСТУ 7179:2010, дуже малу частку плодів, зібраних з інфікованих RBDV рослин, можна вважати товарними. До першого товарного сорту — 14 %; другого сорту — 17,6 %. Більша частина зібраного врожаю не відповідала необхідним якісним параметрам для реалізації у свіжому вигляді, тому 68,4 % плодів класифікували як сировину для технічного перероблення.

У контрольних рослин Брусвяни фіксували високу частку ягід першого товарного сорту (82,3 %), тоді як в уражених RBDV рослин практично не зібрали ягід першого товарного сорту (10,3 %), натомість переважає частка для технічного перероблення (79,7 %). У рослин з вірусною інфекцією сорту Зугана частина плодів першого товарного сорту виявилася вищою, ніж у Брусвяни —

28,6 %, другого товарного сорту — 14,3 %, значну частку класифікували як сировину для технічного перероблення — 57,1 %. Серед плодів, зібраних зі здорових рослин сорту Джоан Джей, значну частку ягід класифікували як перший товарний сорт — 87,5 %, натомість у хворих рослин не було плодів цього сорту.

На статистичному рівні значущих відмітностей у кількості ягід на плодових гілочках між інфікованими та здоровими рослинами не зафіксовано в жодному з досліджуваних сортів (рис. 6.3). Водночас найбільшу різницю між рослинами з вірусною інфекцією та здорових рослин фіксували саме в Джоан Джей, де кількість плодів у інфікованих рослин зменшилася на 16,3 %. Цей показник свідчить про вплив вірусу на загальну продуктивність саме цього сорту.

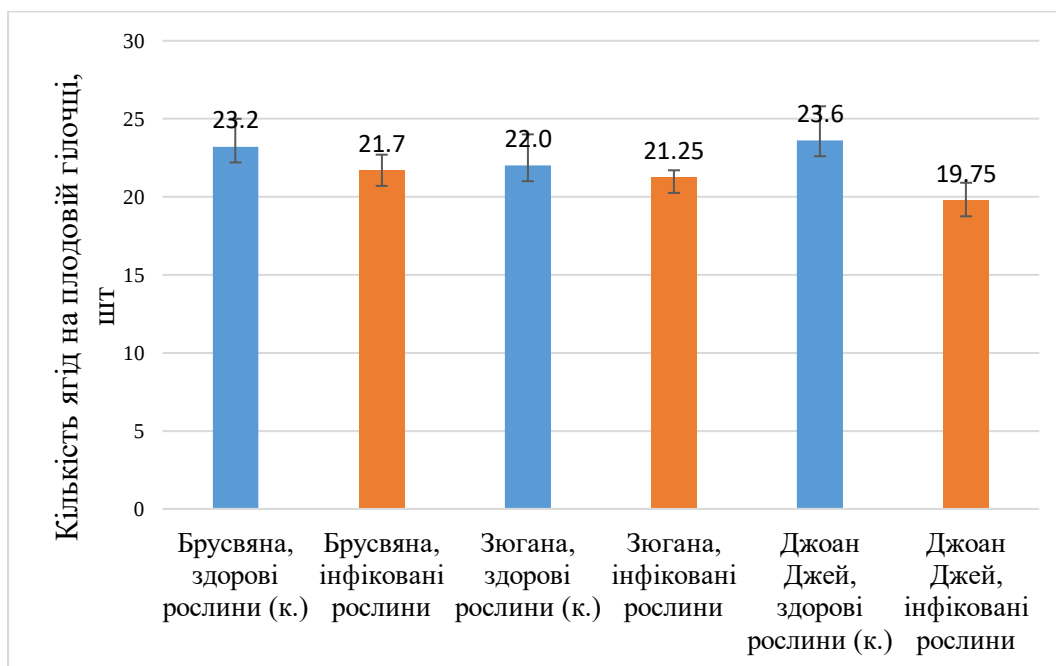


Рис. 6.3. Вплив RBDV на кількість плодів на плодовій гілочці, шт

Джерело: сформовано автором

Результати дослідження чітко продемонстрували зменшення ваги плодів у рослин малини сортів Брусвяна, Зюгана та Джоан Джей, інфікованих RBDV (рис. 6.4). Зафіксовані показники коливалися в межах 35–46 %. Найбільше зниження ваги ягід спостерігалось в сорту Джоан Джей — на 46,05 %, що є найвищим показником серед усіх досліджуваних сортів.

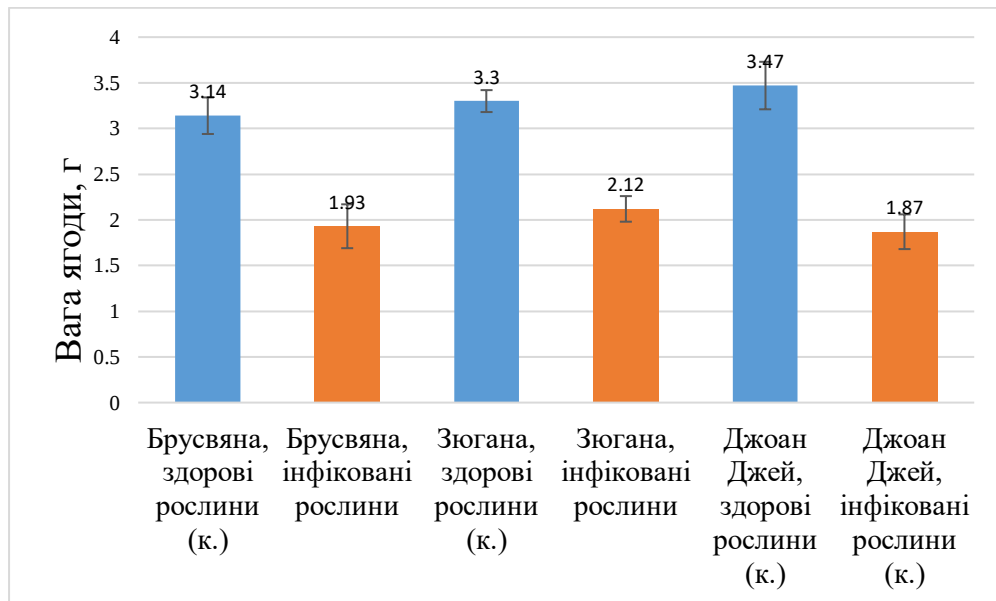


Рис. 6.4. Вплив RBDV на вагу ягоди, г

Джерело: сформовано автором

Не менш важливим показником товарності та якості плодів малини є вигляд і розмір ягоди, які відображають сортові особливості. Одним з ключових обмежувальних чинників, пов'язаних з вірусною інфекцією, є формування кістянок і їх кількість у плоді. В інфікованих рослин спостерігали помітне скорочення кількості кістянок на ягодах. Найбільш виражений вплив RBDV зафіксовано в сорту Брусвяна, де зменшення становило 61,3 % (рис. 6.5). Для порівняння, цей показник у сорту Зюгана сягнув 52,2 %, що свідчить про суттєве порушення процесів формування плодів, хоча і дещо менше, ніж у Брусвяни. Зменшення кількості кістянок у рослин сорту Джоан Джей на 50,6 % є найнижчим результатом серед трьох вивчених сортів.

Подібні результати отримані Moore & Noashi-Erhardt [220] для трьох з 5 сортів малини, інфікованих RBDV, де кількість кістянок і маса плоду були нижчими. Аналогічно, під впливом іншого вірусу, що вражає малину, RLBV, у сорту Вілламетте спостерігалось значне зменшення розміру і маси плодів (9,15-27,5%) [137].

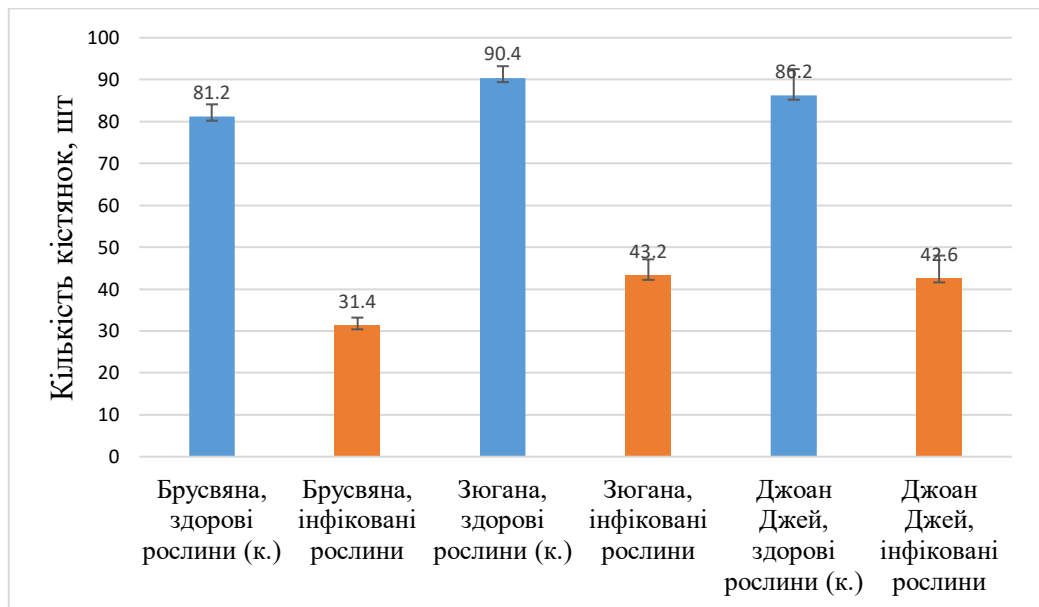


Рис.6.5. Вплив RBDV на кількість кістянок, шт/плід

Джерело: Сформовано автором

Результати нашого дослідження чітко показали негативний вплив RBDV на кількість плодів, розміри (кількість кістянок) та масу плодів інфікованих рослин порівняно з рослинами, вільними від патогену.

Цей вплив підтверджено для всіх трьох сортів. Під час дослідження також виявлено суттєві деформації плодів, зібраних з інфікованих рослин.

Результати статистичної оцінки досліджуваних параметрів за допомогою дисперсійного аналізу (ANOVA) підтвердили вірогідний вплив RBDV на масу плодів малини й кількість кістянок у складі ягід у всіх трьох сортів ($p < 0,05$). Статистичної значущості між останніми показниками не було досягнуто лише для плодів у сорту Джоан Джей, але різниця між середніми значеннями маси плодів інфікованих і здорових рослин виявилася істотною.

Біохімічний склад плодів малини

З літературних джерел давно відомо, що за біохімічним складом малину відносять до лікарських рослин. Соковиті плоди високо цінуються за чудовий смак і багатий склад вторинних метаболітів, таких як вітамін С, мінерали (залізо, калій), фенольні сполуки, антоціани та флавоноїди [203, 248]. Завдяки цьому, малина має антиоксидантні, протизапальні та антитоксичні властивості, а також

сприяє зниженню ризику хронічних захворювань [55, 179].

Вплив RBDV на вміст цукру, рівень сухих розчинних речовин, титровану кислотність соку, рН, а також на кількість фенолів, антоціанів і вітаміну С у малині детально відображено в *таблиці 6.5*.

Аналіз вмісту цукру й рівня рН показав незначну тенденцію до зниження цих показників під впливом вірусу. Вони суттєво не відрізнялися між інфікованими RBDV і здоровими рослинами. Водночас у сорту Брусвяна зафіксовано статистично значуще зменшення вмісту загального цукру — на 11,8 %. Значення рН соку у плодів між сортами коливалися в межах 2,9–3,02 — для інфікованих та 2,93–3,08 — для здорових рослин.

Схожа тенденція спостерігалась й під час дослідження рН соку винограду, інфікованого GLRaV-2 і GLRaV-3 [169]. У плодів винограду сортів Каберне Франц і Мерло, інфікованих TBRV, рівень загального цукру зростав, але різниця була статистично значущою лише для сорту Мерло [84]. Обидва показники не змінювались і в малини, інфікованої RLBV [137].

У рослин з вірусною інфекцією загальний вміст сухих розчинних речовин зменшувався в усіх сортів малини, проте істотна різниця виявлена лише в сорту Брусвяна, де зниження становило 12,5 %. Схожі результати отримано під час вивчення впливу RLBV на сорт малини Вілламетте. Хоча статистично різниця в цьому дослідженні була незначною, RBDV спричинював зменшення вмісту CPP, тоді як під впливом RLBV цей показник дещо зростав [137]. У плодах персика вміст CPP також не відрізнявся між здоровими й інфікованими PPV деревами [271]. Натомість рослини *Physalis peruviana*, інфіковані groundnut ringspot virus (GRSV), давали плоди з нижчим загальним вмістом CPP на 6,8 %, і навпаки, під впливом *physalis rugose mosaic virus* (PhyRMV) їхній вміст збільшувався на 7 % [161]. У суниці сорту Беніхоп рівень CPP унаслідок інфікування strawberry mottle virus (SMoV) і strawberry vein banding virus (SVBV) знижувались на 21,09 %, якщо порівнювати з контрольними плодами [98].

Формування смаку плодів значною мірою залежить від співвідношення між вмістом цукрів і кислот. Вміст титрованих кислот (ТК) був вищим в інфікованих

рослин сортів Брусвяна й Зугана (на 40–50 %), тоді як у сорту Джоан Джей цей показник залишався на тому ж рівні. Отже, спричинене RBDV підвищення вмісту титрованих кислот у плодах малини негативно вплинуло на баланс смаку плодів та їх придатність до перероблення. Хоча ACLSV не мав чіткого впливу на ТК плодів яблуні Голден Делішес, в інфікованих дерев фіксували дещо вищі показники, що пов'язували зі зниженим врожаєм [74]. Натомість у плодах суниці, інфікованих SMoV і SVBV, вміст титрованих кислот, навпаки, зменшувався на 36,11 % [98].

Аскорбінова кислота відіграє важливу роль в біохімічному складі плодів як антиоксидант, захищаючи клітини від окиснювального стресу, спричиненого дією патогенів. Вона також сприяє росту рослин, гормональній регуляції та захисним реакціям, впливаючи на стійкість до інфекцій. Усі досліджувані сорти показали суттєву різницю у вмісті вітаміну С (аскорбінової кислоти), його рівень знижувався в рослинах, інфікованих вірусною інфекцією, — на 7,7–9,6 %. Аналіз вмісту аскорбінової кислоти за різних взаємодій рослин і вірусів засвідчив варіативність реакції. Збільшення вмісту аскорбінової кислоти на 15 % зафіксовано в плодах *Carica papaya* сорту Ред Леді, інфікованих *papaya ring spot virus* (PRSV) [67], тоді як *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) призвів до її зниження — на 35,3–51,5 % у плодах двох сортів томатів [297].

Фенольні сполуки впливають на колір, смак, аромат, стиглість і тривалість зберігання плодів, а також беруть участь в обміні речовин. У нормі їх загальний вміст у плодах може досягати 800 мг/100 г [8].

Варто відзначити значне зростання рівня поліфенолів у ягодах інфікованих RBDV рослин сортів Джоан Джей (28,7 %) і Зугана (16 %). У сорті Брусвяна також зростали показники вмісту поліфенолів, хоча й не виявлено статистично істотної різниці між інфікованими й здоровими рослинами. Ці зміни суттєво впливають на якісний потенціал плодів малини. Отримані результати узгоджуються з дослідженнями N. Miletic [214], де під впливом RLBBV загальні показники фенолів змінювалися залежно від року й умов культивування сорту Вілламетте. Підвищення вмісту фенольних сполук також фіксували в хмелі

сорту Сааз, інфікованому HLVD [132], а також у плодах винограду сорту Пінот Нуар, ураженого GLRaV-2 і GLRaV-3 [169]. Водночас вплив вірусів на рівень фенолів може залежати від генотипу сорту. Наприклад, у сорту Чачанська Лепотіка інфікування PPV не викликало змін у вмісті фенолів, що свідчить про толерантність цього сорту до вірусу [213].

Антоціани є важливим класом флавоноїдів, які належать до великої групи вторинних метаболітів рослин. Їхній синтез регулюється різними чинниками навколишнього середовища: освітленням, температурою, впливом патогенів, а також фізіологічним станом рослин [123, 150]. До основних чинників, що впливають на вміст антоціанів, належать тип плодів, сорт, стадія стиглості, тип ґрунту. Біотичні й абіотичні стреси також призводять до змін синтезу антоціанів та інших фенольних сполук.

Рівень антоціанів був значно вищим у інфікованих рослин сортів Зугана й Брусвяна, зростаючи на 60,4 % та 53,7 % відповідно. Це свідчить про те, що стрес, спричинений патогенами, призводить до змін у вмісті фенольних сполук і антоціанів, що є проявом захисної реакції рослини, оскільки ці вторинні метаболіти активуються [138]. Натомість у сорту Джоан Джей кількість антоціанів у плодах інфікованих рослин дещо знизилася. Загалом, у цього сорту вміст антоціанів був значно нижчим, якщо порівнювати з іншими двома сортами. Водночас з інфікуванням RLBV рівень антоціанів не змінювався [214]. Дослідження на вишні сорту Лутовка показали, що вміст антоціанів у плодах, інфікованих як prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), так і коінфекцією PNRSV + cherry virus A (CVA), був нижчим за контроль [237].

Таблиця 6.5

**Вміст хімічних сполук у вільних від RBDV та інфікованих RBDV
плодах малини**

Сорт, варіант	Сухі розчин ні речови ни	Сума титрова них кислот	Загальн ий вміст цукру	рН	Феноль ні речовин и	Вітамін С	Антоціани
	% на сиру масу				мг/100 г		
Брусвяна, здорові рослини (к.)	9,6 ±0,1 а	0,52 ±0,02 а	5,56 ±0,14 а	2,95 ±0,01 а	283 ±2,3 а	17,75 ±0,18 а	31,1 ±0,3 а
Брусвяна, інфіковані рослини	8,4 ±0,2 b	0,73 ±0,05 b	4,9 ±0,28 а	2,9 ±0,02 а	294 ±3,6 а	16,04 ±0,25 b	47,8 ±0,7 b
Зугана, здорові рослини (к.)	10,4 ±0,2 а	0,52 ±0,06 а	5,86 ±0,15 а	3,08 ±0,03 а	237 ±2,5 а	18,8 ±0,25 а	32,8 ±0,5 а
Зугана, інфіковані рослини	10 ±0,3 а	0,78 ±0,06 b	5,82 ±0,23 а	3,02 ±0,07 а	275 ±2,2 b	17,35 ±0,11 b	52,9 ±0,3 b
Джоан Джей, здорові рослини (к.)	10,6 ±0,1 а	0,52 ±0,07 а	6,16 ±0,09 а	2,93 ±0,04 а	202±3,9 а	16,05 ±0,19 а	15,9 ±0,8 а
Джоан Джей, інфіковані рослини	9,7±0,3 а	0,52±0,0 4 а	6,11±0,1 7 а	2,98±0,0 5 а	260±2,1 b	14,8±0,2 6 b	14,8±0,4 а

Примітка: дані наведено як середнє значення ± SE. У таблиці різними літерами також відображено статистичну різницю між варіантами

Вірус спричинив суттєві зміни в біохімічному складі плодів малини. Хоча рівень цукрів й показник pH зазнали незначних змін, найвиразнішими виявилися зміни у вмісті фенольних сполук та антоціанів. Отже, хоча RBDV не викликає істотних змін в основних біохімічних показниках, він негативно впливає на комерційну привабливість плодів. Особливо це виявляється в зменшенні розміру, маси й погіршенні загальної якості продукції. Отримані результати вказують на потребу впровадження ефективних методів контролю вірусних інфекцій у процесі культивування малини для забезпечення стабільної врожайності й високих стандартів якості плодів, що важливо для комерційного виробництва й подальшого перероблення.

Висновки до розділу 6

1. Виявлено, що під впливом RBDV водоутримувальна здатність листків малини знижується до 27,8–35,6 %, а водний дефіцит в інфікованих рослин зростає на 66 %.
2. Встановлено, що вміст зелених пігментів у листках малини під впливом RBDV знижується на 20,8–40,8 %.
3. За допомогою методу індукції флуоресценції хлорофілу листків встановлено, що в інфікованих вірусом рослин флуоресценція хлорофілу зростає в усьому часовому діапазоні реєстрації її індукційних змін.
4. Під впливом вірусної інфекції продуктивність рослин знижується, що призводить до зменшення врожайності на 58–62 %.
5. Описано зміни в біохімічному складі плодів малини, на які впливає RBDV. Виявлено зниження вмісту аскорбінової кислоти (на 7,7–9,6 %) в інфікованих рослин і статистично значуще падіння рівня загального цукру лише в сорту Брусвяна — на 11,8 %. Натомість титровані кислоти в інфікованих рослин цього сорту зростали на 50 %.

Дані описані в цьому розділі опубліковані автором в наступних друкованих працях:

1. **Riaba I.**, Udovychenko K. Impact of raspberry bushy dwarf virus on yield and fruit quality of three red raspberry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2025. Vol. 9 (1). P. 23–31. DOI: <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2025.0003>
2. **Ряба І.А.**, Удовиченко К.М. Вплив вірусу кущистої карликовості малини на посухостійкість рослин малини. *Садівництво*. – 2024. Вип. 79. С. 139–144. DOI: <https://doi.org/10.35205/0558-1125-2024-79-139-144>

РОЗДІЛ 7. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИРОЩУВАННЯ МАЛИНИ В УМОВАХ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Економічні дослідження підтверджують значні збитки від вірусних захворювань і переваги використання здорового садивного матеріалу. У США розроблено програму захисту від вірусів, спрямовану на мінімізацію поширення вірусних захворювань. За розрахунком переваги для трьох економічних секторів (розсадників, виробників і споживачів), загальна сума вигоди за впровадженою програмою становила майже 227,4 млн дол. США на рік [65].

Наприклад, PPV завдає значної шкоди насадженням кісточкових — спричиняє передчасне опадання плодів, знижує їх якість і призводить до втрати 80–100 % урожаю. Витрати на боротьбу з цією хворобою у світовому масштабі перевищили 11 млрд дол. США [217]. Збитки виробників від GLRaV-3 залежали від стратегії управління виноградниками. Найбільші втрати спостерігали за використання несертифікованого матеріалу для садіння та пересаджування — у середньому 2,8 тис. дол. США за 1 га на рік, а з використанням сертифікованого матеріалу вони зменшувалися до 1,5 тис. дол. США за 1 га. Залежно від рівня інфікування несертифікованого матеріалу (5–30 %) загальна вигода від впровадження програми сертифікації становила 32,3–330 млн дол. США на рік [104].

Дані для економічної оцінки вирощування малини в умовах вірусної інфекції отримано в результаті обліку витрат і трудових затрат у розрізі варіантів досліду впродовж усього періоду — від закладання насаджень до їх продуктивного використання.

Оцінюючи економічну ефективність плодоносних насаджень, важливо враховувати ефективність інвестицій, вкладених у їх створення [20]. Капіталовкладення в плантації малини охоплюють деталізовану структуру витрат, необхідних для створення й підтримки насаджень до моменту досягнення ними комерційної рентабельності.

Строк окупності інвестицій (у роках) визначали як суму періодів, протягом яких насадження не приносять доходу (етап закладання й догляду за молодими насадженнями), і періоду, потрібного для повного відшкодування витрат на

капітальні інвестиції за рахунок прибутку від реалізації продукції після того, як рослини почнуть товарне плодоношення.

Економічну ефективність вирощування малини в насадженнях, що містили як здорові, так і інфіковані вірусами рослини, оцінювали за такими показниками: урожайність з 1 га, виробничі витрати на 1 га насаджень, повна собівартість 1 т плодів, реалізаційна ціна 1 т плодів, прибуток (збиток) з 1 га, рівень рентабельності (збитковості).

Розрахунки виробничих витрат і повної собівартості продукції проводили згідно з методичними рекомендаціями й технологічними картами з догляду за плодоносними насадженнями малини [20, 33]. Для дослідження обрали ремонтантні сорти малини: Брусвяна, Зугана, Джоан Джей, уражені вірусною інфекцією. За контроль узяти рослини цих самих сортів, вільні від вірусів.

Згідно з проведеними розрахунками, обсяг інвестицій, потрібних для закладання 1 га насаджень малини зі схемою розміщення рослин $1,5 \times 0,7$ м, становить 406,0 тис. грн.

Рівень цін на матеріально-технічні ресурси й заробітну плату прийнято відповідно до показників, чинних у сільськогосподарських підприємствах Правобережного лісостепу України станом на 01.12.2024.

Для оцінки впливу вірусної інфекції на економічні показники вирощування малини важливо враховувати товарну якість плодів з диференціацією на товарні сорти. Відповідно до вимог національного стандарту [17], плоди малини класифікуються на перший і другий товарні сорти, а також на плоди для технічного перероблення. Від товарності залежить ціна реалізації продукції. У розрахунках використано середні гуртові ціни на українському ринку свіжої малини 2024 року: 80 грн/кг для малини першого товарного сорту, 60 грн/кг - другого сорту та 40 грн/кг для плодів на технічне перероблення.

Показники економічної ефективності вирощування сортів малини наведено в таблиці 7. Встановлено, що інфікування рослин вірусом призвело до значного зниження врожайності: у сорту Джоан Джей — на 62,1 %, у Брусвяни та Зугани — на 58,5 та 61,8 % відповідно. Більша частина врожаю, зібраного з інфікованих

рослин (1,96–3,59 т/га) відійшла на технічне перероблення. Зазначені чинники істотно вплинули на зростання виробничої собівартості продукції. Собівартість виробництва однієї тонни плодів рослин, уражених вірусом, виявилася суттєво вищою, якщо порівняти зі здоровими рослинами. Найбільше зростання показника зафіксовано в сорту Зугана, де собівартість зросла на 62,7 %. Такий результат зумовлено різким зниженням урожайності хворих рослин на тлі незмінно високих витрат, потрібних для їх догляду.

Економічні показники також продемонстрували суттєві відмінності. Доходи від реалізації врожаю зі здорових рослин залежно від сорту становили від 680 тис. грн/га до 827,2 тис. грн/га. Натомість економічна ефективність вирощування інфікованих рослин значно скоротилася — виторг знизився на 72,6–78,2 %. Це зумовлено значним падінням урожайності, погіршенням товарної якості плодів і відповідним зменшенням ціни їх реалізації. Прибуток і рентабельність — ключові індикатори оцінки економічної ефективності вирощування сільськогосподарських культур, зокрема малини. Дослідження показали, що на плантаціях, де виявлено уражені RBDV рослини двох сортів малини, прибуток знизився на 95,2–96,0 %. Для сорту Джоан Джей це зниження було настільки істотним, що призвело до збитків у розмірі –6,4 тис. грн/га. Унаслідок цього рентабельність вирощування знизилася: для сортів Брусвяна й Зугана вона становила 11,2–11,9 %, тоді як сорт Джоан Джей продемонстрував від’ємну рентабельність (–3,7 %).

Аналіз строку окупності інвестицій показав час, потрібний для повернення вкладених коштів у створення насаджень. Для сортів з рослинами, вільними від вірусних інфекцій, період окупності становив 2,8–3 роки, що є прийнятним для цієї культури. Натомість у разі інфікування рослин вірусом інвестиції виявилися економічно необґрунтованими: вирощування сорту Джоан Джей стало збитковим, а сорти Зугана й Брусвяна продемонстрували надзвичайно низьку ефективність. Для останніх строк окупності сягнув 21,5 та 22,5 року відповідно, що більш, ніж удвічі перевищує термін експлуатації насаджень малини.

Таблиця 7

Економічна ефективність вирощування сортів малини під впливом вірусної інфекції

Показник	Брусвяна		Зугана		Джоан Джей	
	здорові рослини (к)	інфіковані рослини	здорові рослини (к)	інфіковані рослини	здорові рослини (к)	інфіковані рослини
Урожайність, т/га, у т.ч.	10,82	4,49	8,98	3,43	9,77	3,70
1 товарний сорт	8,90	0,45	7,06	0,98	8,55	0,00
2 товарний сорт	1,92	0,45	1,92	0,49	1,22	0,85
Питома вага товарного сорту в загальній кількості, %: 1 сорт	82,3	10,3	78,6	28,6	87,5	0,0
2 сорт	17,7	10,0	21,4	14,3	12,5	23,0
Недоотриманий урожай, т/га	-	6,33	-	5,55	-	6,07
Виторг від реалізації продукції, тис. грн	827,2	206,6	680,0	186,2	757,2	165,0
Вартість недоотриманого врожаю, тис. грн	-	620,6	-	493,8	-	592,2
Виробничі витрати на 1 га, тис. Грн	274	168,9	243,4	151,3	256,6	155,8
в т.ч. витрати по догляду за плодоносними насадженнями	94,3	94,3	94,3	94,3	94,3	94,3
витрати на збирання урожаю	179,7	74,6	149,1	57,0	162,3	61,5
Собівартість реалізованої продукції, тис. грн.	301,4	185,8	267,7	166,4	282,3	171,4
Собівартість 1 т плодів, тис. Грн	27,9	41,4	29,8	48,5	28,9	46,3
Прибуток (збиток) на 1 га, тис. Грн	525,8	20,8	412,3	19,8	474,9	-6,4
Рівень рентабельності (збитковості), %	174,5	11,2	154,0	11,9	168,3	-3,7
Строк окупності інвестицій, років	2,8	21,5	3,0	22,5	2,9	-

Економічна оцінка є важливим інструментом для визначення доцільності вирощування агрокультур за різних умов. Результати дослідження підтвердили, що вірусна інфекція на малині спричиняє суттєві економічні втрати через зниження врожайності, скорочення частки товарної продукції та підвищення собівартості. Найчутливішим до вірусних інфекцій виявився сорт Джоан Джей, вирощування якого стає економічно невигідним у разі зараження. Це підкреслює важливість профілактичних заходів для мінімізації ризику поширення вірусів, оскільки їх наявність становить загрозу рентабельності виробництва.

Висновки до розділу 7

1. Інфікування малини сортів Брусвяна, Зугана й Джоан Джей вірусним патогеном призводить до значного зниження врожайності, яке в середньому становить 60,8 %.

2. Встановлено суттєві економічні втрати у виробництві плодів: дохід від реалізації врожаю уражених рослин зменшився на 72,6–78,2 %, а прибуток – на 95,2–96 %. Вирощування сорту Джоан Джей виявилося збитковим (–6,4 тис. грн/га).

3. Виявлено, що вірусне інфікування значно погіршує рентабельність вирощування малини, що підкреслює важливість посиленого фітосанітарного контролю та застосування комплексних заходів для захисту насаджень.

Дані описані в цьому розділі опубліковані автором в наступних друкованих працях:

Ряба І.А., Барабаш Л.О., Удовиченко К.М. Економічне оцінювання вирощування малини за умов інфікування raspberry bushy dwarf virus. *Bulletin of Agricultural Science*. 2025. Том 103. №5. С. 33–39. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202505-04>

ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні теоретично узагальнено та науково обґрунтовано необхідність проведення скринінгу насаджень, серологічної та молекулярної діагностики патогенів малини й ожини, здійснено філогенетичний аналіз українських ізолятів, застосовано метод хемотерапії для оздоровлення рослин малини в культурі *in vitro*, вивчено вплив вірусів на функціональний стан і продуктивність рослин сортів малини. Ключові наукові та практичні результати роботи викладені у висновках:

1. Встановлено видовий склад патогенів у насадженнях малини й ожини в Поліссі та Лісостепу України. Загальний рівень інфікування тестованих зразків склав 26,5 %.

2. Найпоширенішими патогенами виявились: RBDV (18,2 %), ArMV (8,9 %), RLBV (8,3 %), RpRSV (4,6 %), SLRSV (3 %), CLRV (2,9 %), RVCV (2,7 %), фітоплазми (2,2 %).

3. Поширення RBDV зафіксовано у 6 областях України. Найвищий рівень інфікування відмічено у Київській та Вінницькій областях, де також виявлено випадки ураження іншими вірусами та фітоплазмами. Водночас у Волинській і Чернігівській областях зразки були вільними від зазначених патогенів.

4. Уперше в Україні ідентифіковано вірус RVCV в зразках малини, а також виділено перший вітчизняний ізолят RBDV з ожини в насадженнях Житомирської області.

5. Серед протестованих зразків відібрано рослини-кандидати 18 сортів малини та 5 сортів ожини, вільні від основних вірусів. Вони підлягають подальшій перевірці на наявність вірусних патогенів за допомогою методу RT-PCR і розмноженню відповідно до стандартних процедур сертифікації садивного матеріалу.

6. Молекулярно-філогенетичний аналіз фрагменту гена капсидного білка 5 українських ізолятів RBDV встановив високу ступінь консервативності послідовностей (ідентичність — 98,28–99,78 %). Максимальний рівень гомології виявлено з ізолятами з Білорусі (99,78 %) та Казахстану (98,7–100 %).

7. Молекулярно-філогенетичний аналіз нуклеотидної послідовності фрагмента гена покривного білка українських ізолятів RLBV виявив їх ідентичність між собою на 95,6 %. Порівняння нуклеотидних та амінокислотних послідовностей виділених ізолятів RLBV зі світовими зразками показало, що найвищий рівень гомології (96,13–100 %) виявлено з ізолятами з Сербії.

8. Додавання озельтамівіру та римантадину до поживного середовища в культурі *in vitro* мало найменшу фітотоксичність для експлантів малини. Оздоровлені рослини отримано при використанні ацикловіру та озельтамівіру у визначених концентраціях (40, 60 та 80 мг/л відповідно).

9. Доведено доцільність змін до ДСТУ 7185:2010 і ДСТУ 4720:2007, а саме розширення списку патогенів для тестування рослинного матеріалу малини й ожини, включаючи RLBV, зважаючи на його шкідливість та рівень поширення.

10. Доведено негативний вплив вірусу RBDV на посухостійкість, вміст зелених пігментів та фотосинтез листків рослин.

11. Досліджено, що RBDV негативно впливає на врожайність всіх досліджуваних сортів малини (зниження на 58–62 %) та біохімічний склад плодів малини (зменшення рівня вітаміну С та загальних цукрів, значне підвищення рівня титрованих кислот та поліфенолів).

12. Економічний аналіз показав низький рівень рентабельності вирощування інфікованих рослин малини сортів Брусвяна та Зугана (11,2–11,9 %) і збитковість вирощування сорту Джоан Джей (–3,7 %).

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для закладання нових маточних насаджень рекомендуємо використовувати отримані *in vitro* рослини з 18 сортів малини та 5 сортів ожини та перевірені на відсутність вірусів методом RT-PCR.

2. У насадженнях Київської та Вінницької областей з високим рівнем інфікування рекомендуємо проводити посилений фітосанітарний контроль, який включає щорічне обстеження плантацій та використання лише здорового садивного матеріалу.

3. Державним органам відповідальним за сертифікацію садивного матеріалу рекомендуємо внести зміни до національних стандартів ДСТУ 7185:2010 та ДСТУ 4720:2007, а саме додати до переліку патогенів, обов'язкових для тестування садивного матеріалу малини й ожини, Raspberry leaf blotch virus (RLBV).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондарева Л., Завадська О., Ноліщук І. Видовий склад рослинорідних кліщів на ягідних культурах у плодоовочевому саду НУБІП України. Тези доповідей всеукраїнської науково - практичної онлайн - конференції «Ягідництво в Україні. Управління якістю ягідних культур за допомогою впровадження новітніх технологій вирощування, збирання, післязбиральної доробки, зберігання та переробки», м. Київ, 28 - 29 квітня 2021 р. С. 22–24.
2. Бублик М. О., Скрыга В. А., Китаєв О. І. Особливості вивчення адаптивного потенціалу сортів вишні до жару та посухи. Бюлетень Інституту зернового господарства НААН України. 2010. № 39. С. 173–176.
3. Глобальна база даних ЄОКЗР. 'Candidatus Phytoplasma rubi' (PHYPRU). 2023. <https://gd.eppo.int/taxon/PHYPRU/distribution>
4. Господарик А. В., Удовиченко К. М., Поліщук В. П. Діагностика вірусів плодових культур в умовах України. *Наукові записки НУКМА. Біологія та екологія*. 2005. № 43. С. 51–53.
5. Гриненко У. В., Журавель І. О. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів в листі шпинату городнього (*Spinacia oleracea*). Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. 2017. Вип. 28. С. 29–33.
6. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні. [Електронний ресурс] / Режим доступу до ресурсу: <https://minagro.gov.ua/file-storage/reyestr-sortiv-roslin> (дата звернення: 10.06.2025).
7. Саджанці малини і ожини. Технічні умови. ДСТУ 4720:2007
8. Єжов В. М., Гриник І. В. Біохімія плодових культур. Київ, 2020. С. 364
9. Забуга І. Прибуткова «ніша»: плюси та мінуси вирощування незвичних ягід [Електронний ресурс] / І. Забуга. 2016. Режим доступу до ресурсу: <https://agroinsider.com.ua/2018/07/06/shhorokuzbir-malini-vukra%D1%97ni-zrostaye-na-2-5-tis-tonn> (дата звернення: 28.03.2019 р.).

10. Зеленянська Н. М. Індукція флуоресценції листків винограду в стресових умовах середовища. *Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області*. 2009. Вип. 6. С. 70–80.
11. Кирик М. М. Діагностика вірусної інфекції смородини чорної та малини методом індукції флуоресценції хлорофілу листків / М.М. Кирик, Ю.М. Таранухо, М.П. Таранухо та ін. // *Вісник аграрної науки : наук.-теорет. журнал НААН України*. 2011. № 10. С. 26-28.
12. Кириченко А. М. Вплив вірусу жовтої мозаїки квасолі на метаболізм фотосинтетичних пігментів, білків і вуглеводів у *Glycine soja* L. *Мікробіологічний журнал*. 2014. Т. 76. № 1. С. 47–52.
13. Кондратенко П. В., Бублик О. М. Методика проведення польових досліджень з плодовими культурами. Київ: Аграрна наука, 1996. 96 с.
14. Кондратенко П. В., Шевчук Л. М., Левчук Л. М. Методики оцінки якості плодово-ягідної продукції. 2008. Київ: ІС УААН
15. Культури плодові та ягідні. Методи визначення фітовірусологічного статусу садивного матеріалу кущових ягідних культур: ДСТУ 7185:2010. [Чинний від 01.07.2010]. К. 2011. 13 с.
16. Малина Персея. 2025. URL: http://sad-institut.com.ua/ua/licenzuvannja_sortiv/malina/malina_perseja.html
17. Малина свіжа. Технічні умови. ДСТУ 7179:2010.
18. Медведєва Т.В., Натальчук Т.А., Супрун К.І., Ряба І.А, Тряпціцина Н.В. Принципи оздоровлення вірус-інфікованих сортів малини методом хемотерапії в культурі *in vitro*. *Захист і карантин рослин*. 2018. Вип. 64. DOI: 10.36495/1606-9773.2018.64.90-98
19. Метод індукції флюоресценції хлорофілу у фітопатологічних дослідженнях. Методичні рекомендації. Гуляєва Г.Б., Токовенко І.П., Богдан М.М., Патика М.В., Пасічник Л.А., Буценко Л.М. За редакцією Г.Б. Гуляєвої – К.: ФОП Ямчинський О.В., 2020. – 33 с.
20. Методика економічної та енергетичної оцінки типів насаджень, сортів, інвестицій в основний капітал, інновацій та результатів технологічних

досліджень у садівництві./ За редакцією О.М. Шестопаля. Вид. 2-ге, з доповн. та змінами. Київ: ННЦ «Інститут аграрної економіки». 2006. 140 с.

21. Міщенко Л. Т. Вірусні хвороби озимої пшениці. Київ. 2009. 352 с.
22. Міщенко Л. Т. Смогаста 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.
23. Немцева Ю. Павутинний кліщ може призвести до втрати 60-80% урожаю — поради щодо захисту культур. *Kurkul.com*. 2025. Режим доступу до ресурсу: (дата звернення: 6.03.22).
24. Про карантин рослин: Закон України від 30.06.1993 р. № 3348-XII [Електронний ресурс] / Відомості Верховної Ради України. – 1993. – Режим доступу до ресурсу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/term/28269> (дата звернення: 6.03.22).
25. 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>
26. Ряба І.А., Павлюк Л.В., Удовиченко К.М., Тряпїцина Н.В. Відбір безвірусних клонів у маточних насадженнях малини (*Rubus idaeus*) та ожини (*Rubus caesius*). Садівництво. 2019. Вип. 74. С. 153–160. <https://doi.org/10.35205/0558-1125-2019-74-153-160>
27. Ряба І.А., Удовиченко К.М. Вплив вірусу кущистої карликовості малини на посухостійкість рослин малини. *Садівництво*. – 2024. Вип. 79. С. 139–144. DOI: <https://doi.org/10.35205/0558-1125-2024-79-139-144>
28. Ряба І.А., Барабаш Л.О., Удовиченко К.М. Економічне оцінювання вирощування малини за умов інфікування raspberry bushy dwarf virus. *Bulletin of Agricultural Science*. 2025. Том 103. №5. С. 33–39. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202505-04>
29. 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.

30. Таранухо М.П., Таранухо Ю.М. Поширеність вірусних хвороб малини (*Rubus idaeus* L.) у лісостепу України. Садівництво. 2015. Вип. 69. С. 192–198.

31. Телепенько Ю. Ю. Адаптивний потенціал та продуктивність ожини (*Rubus* Subg. *eubatus* Focke) за умов Правобережної частини Західного Лісостепу України. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 06.07.01. Київ, 2019. 215 с.

32. Типові технологічні карти на створення насаджень горіхоплідних та ягідних культур / За ред. Шестопаля О.М. Київ, 2004. 86 с.

33. Типові технологічні карти по догляду за плодоносними насадженнями плодових та ягідних культур./За ред. О. М.Шестопаля. Київ, 2006. 64 с.

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

35. Тряпідина Н.В., Медведєва Т.В. Вплив хемотерапії на складні вірусні патокомплекси в експлантах малини/ Наукові доповіді НУБіП [Електронний ресурс]. 2014 № 6(48). Режим доступу <http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2014>

36. Чайка Т. О., Піщаленко М. А., Рубан Є. Р., Саєнко А. О., Скляр С. С., Кріпак А. В., & Голтвяниця Т. О. Особливості використання акарицидів від звичайного павутинного кліща (*Tetranychus urticae* Koch) для захисту огірка в умовах захищеного ґрунту. *Scientific Progress & Innovations*. 2023. Vol. 26 (3). P. 58–62. DOI: [10.31210/spi2023.26.03.11](https://doi.org/10.31210/spi2023.26.03.11)

37. Adams M. J., Antoniow J. F. and Fauquet C. M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Archives of Virology*. 2005. Vol. 150. P. 459–479. DOI: [10.1007/s00705-004-0440-6](https://doi.org/10.1007/s00705-004-0440-6)

38. Adekunle O. K., Saurabh K., Ramdeen P., Vilpin H., Gaurav R. Plant parasitic and vector nematodes associated with Asiatic and Oriental hybrid lilies. *Biores. Technol.* 2006. Vol. 97. P. 364–371. DOI:[10.1016/j.biortech.2005.03.012](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.012)
39. Aiter N., Lehad A., Haddad B., Taibi A., Meziani S., Rabh M.-L., Khelifi L., Chaouia C. Sanitation of autochthonous grapevine varieties from Algeria by chemotherapy. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 2020. Vol. 55. P. 43–50. DOI:10.1556/038.55.2020.013
40. Agrios G. N. *Plant Pathology*. 2005. 5th ed. Elsevier Inc. Burlington, USA. P. 784.
41. Alberts B., Johnson A., Lewis J., et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science; 2002. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/>
42. Aprea E., Biasioli F., Gasperi F. Volatile compounds of raspberry fruit: from analytical methods to biological role and sensory impact. *Molecules*. 2015. Vol. 20 (2). P. 2445-2474. DOI: [10.3390/molecules20022445](https://doi.org/10.3390/molecules20022445)
43. Arnaud G., Malembic-Maher S., Salar P., Bonnet P., Maixner M. Multi locus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence doree phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. Vol. 73. no. 12. P. 4001–4010. DOI: [10.1128/AEM.02323-06](https://doi.org/10.1128/AEM.02323-06)
44. Ayllon M. A., Rubio L., Sentandreu V., Moya A., Guerri J. Variations in two gene sequences of Citrus tristeza virus after host passage. *Virus Genes*. 2006. Vol. 32. P. 119–128. DOI: [10.1007/s11262-005-6866-4](https://doi.org/10.1007/s11262-005-6866-4)
45. Bădăraș C. L., Chiru N., Guță I. C. The effect of some therapies on potato virus Y and potato virus X infected *Solanum tuberosum* L. plantlets (cv. ‘Roclas’). *An. Univ. Oradea Fasc. Biol.* 2014. Vol. 21. P. 24–32. DOI: [10.1007/s11240-023-02621-4](https://doi.org/10.1007/s11240-023-02621-4)
46. Barbara D. J., Morton A., Ramcharan S., Cole I. W., Phillips A., Knight V. H. Occurrence and distribution of Raspberry bushy dwarf virus in commercial

- Rubus plantations in England and Wales. *Plant Pathol.* 2001. Vol. 50. P. 747–754. DOI:[10.1046/J.1365-3059.2001.00642.X](https://doi.org/10.1046/J.1365-3059.2001.00642.X)
47. Barnett O. W. & Murrant A. F. Host range, properties and purification of Raspberry bushy dwarf virus. *Annals of Applied Biology*. 1970. Vol. 65. P. 435–449. DOI: [10.1111/j.1744-7348.1970.tb05512.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1970.tb05512.x)
48. Baumann G. Elimination of a heat-stable Raspberry virus by combining heat treatment and meristem culture. *Acta Hort.* 1982. Vol. 129. P.11–13. DOI: [10.17660/ActaHortic.1982.129.2](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1982.129.2)
49. Bertaccini A., Vibio M., Gennari F., Guerrini S., Benni A., and Lee I.-M. Detection of mycoplasma-like organisms (phytoplasmas) in *Rubus* by nested polymerase chain reaction (PCR). *Acta Hort.* 1995. Vol. 385. P. 126–131. DOI: [10.17660/ActaHortic.1995.385.18](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.385.18).
50. Besse S., Gugerli P., Ramel M.-E. and Balmelli C. Characterization of mixed virus infections in *Ribes* species in Switzerland. *Julius Kühn-Archiv*. 2010. Vol. 427. P. 214–217.
51. Bettoni J. C., Wang M. R., Li J. W., Fan X., Fazio G., Hurtado-Gonzales O. P. Application of biotechniques for in vitro virus and viroid elimination in pome fruit crops. *Phytopathology* 2024. Vol. 114. P. 930–954. DOI: [10.1094/PHYTO-07-23-0232-KC](https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-23-0232-KC)
52. Bhattacharyya D., Chakraborty S. Chloroplast: the Trojan horse in plant-virus interaction. *Mol Plant Pathol.* 2018. Vol. 19. (2). P. 504–518. DOI: [10.1111/mpp.12533](https://doi.org/10.1111/mpp.12533)
53. Bi Y., Artola K., Kurokura T., Hytönen T., Valkonen J. P. First report of Raspberry leaf blotch virus in raspberries in Finland. *Plant Disease*. 2012. Vol. 96. P. 1231. DOI: [10.1094/PDIS-04-12-0368-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-04-12-0368-PDN)
54. Blouin A. G., Pearson M. N., Chavan R. R., Woo E. N. Y. Viruses of kiwifruit (*Actinidia* species). *Journal of Plant Pathology*. 2013. Vol. 95 (2). P. 221–235.
55. Bobinaitė R., Viškelis P., Venskutonis P. R. Chemical composition of raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars, Chapter*

29; Simmonds, M.S.J., Preedy, V.R., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2016. Pp. 713–731. DOI:[10.1016/B978-0-12-408117-8.00029-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00029-5)

56. Brown D. J. F. and Trudgill D. L. Differential transmissibility of arabis mosaic and strains of strawberry latent ringspot viruses by three populations of *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimoidea) from Scotland, Italy and France. *Rev. Nematol.* 1983. Vol. 6. P. 229–238.

57. Brown D. J. F. The transmission of two strains of Arabis mosaic virus by populations of *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimoidea) from ten countries. *Rev. Nematol.* 1986. Vol. 9. P. 83–87.

58. Bruni R., Bianchi A., & Bellardi, M. Essential oil composition of *Agastache anethiodora* Britton (*Lamiaceae*) infected by cucumber mosaic virus (CMV). *Flavour and Fragrance Journal.* 2007. Vol. 22. P. 67–70. DOI: [10.1002/ffj.1760](https://doi.org/10.1002/ffj.1760)

59. Bujarski J., Gallitelli D., García-Arenal F., Pallás V., Palukaitis P., Reddy M. K., Wang A., & ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Bromoviridae. *Journal of General Virology.* 2019. Vol. 100. no. 8. P. 1206–1207. DOI: [10.1099/jgv.0.001282](https://doi.org/10.1099/jgv.0.001282)

60. Bulger M. A., Stace-Smith R., Martin R. R. Transmission and field spread of Raspberry bushy dwarf virus. *Plant Disease.* 1990. Vol. 74. P. 514–517. DOI:[10.1094/PD-74-0514](https://doi.org/10.1094/PD-74-0514)

61. Büttner C., von Barga S., Bandte M., Myrta A., Cherry leaf roll virus. In: Hadidi A., Barba M., Candresse T., Jelkmann W. (eds). *Virus and Virus-like Diseases of Pome and Stone Fruits.* 2011. APS Press, St. Paul, MN, USA. pp. 119-125.

62. Cadman C. H. Studies in *Rubus* virus diseases II: three types of vein chlorosis of raspberries. *Annals of Applied Biology.* 1952. Vol. 39. P. 61.

63. Cadman C. H. Raspberry viruses and virus diseases in Britain. *Hort. Res.* 1961. 1. P. 47–61.

64. Çağlayan K., Gazel M., Roumi V., Lamovsek J., Beber A., Pleško I.M. Sweet Cherry, a New Host of Raspberry Bushy Dwarf Virus. *J. Plant Pathol.* 2023. Vol. 105. P. 307–311. DOI: [10.1007/s42161-022-01257-1](https://doi.org/10.1007/s42161-022-01257-1)

65. Cembali T., Folwell R. J., Wandschneider P. et al. Economic implications of a virus prevention program in deciduous tree fruits in the US. *Crop Protection*. 2003. Vol. 22 (10). P. 1149–1156. DOI: [10.1016/S0261-2194\(03\)00156-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(03)00156-X)
66. Chamberlain C. J., Kraus J. E., Kohnen P. D., Finn C. E., Martin R. R. First report of Raspberry bushy dwarf virus in *Rubus multibracteatus* from China. *Plant Dis*. 2003. Vol. 87. P. 603. DOI: [10.1094/PDIS.2003.87.5.603A](https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.5.603A)
67. Chamika Buddhinie P. K., Nazeera S., Hewage Sarananda K., & Nimal Punyasiri P. A. Effect of papaya ringspot virus infection on the fruit quality of a tolerant papaya variety, ‘Rec Lady’. *Asian J. Sci. Technol*. 2017. Vol. 8. No. 10. P. 5874–5880.
68. Chard J., Irvine S., Roberts A. M. I., Nevison I. M., McGavin W. J., and Jones A. T. Incidence and distribution of Raspberry bushy dwarf virus in commercial red raspberry (*Rubus idaeus*) crops in Scotland. *Plant Disease*. 2001. Vol. 85. P. 985–988. DOI: [10.1094/PDIS.2001.85.9.985](https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.9.985)
69. Cheong E. J., Mock R., Li R. Elimination of five viruses from sugarcane using in vitro culture of axillary buds and apical meristems. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2012. Vol. 109. P. 439–445. DOI: [10.1007/s11240-011-0108-3](https://doi.org/10.1007/s11240-011-0108-3)
70. Cheong E. J., Jeon A. R., Kang G. W., Mock R., Li R. In vitro elimination of Black raspberry necrosis virus from black raspberry (*Rubus occidentalis*). *Hort. Sci*. 2014. Vol. 41. P. 95–99.
71. Christov I., Stefanov D., Velinov T., Goltsev V., Georgieva K., Abracheva P., Genova 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. *Journal of Plant Physiology*. 2005. Vol. 164. No. 9. P. 1124–1133. DOI: [10.1016/j.jplph.2005.11.016](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.016)
72. Cieślińska M. Application of thermo-and chemotherapy in vitro for eliminating some viruses. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 2007. Vol. 15. P. 117–124.
73. Cieslinska M. Detection and characterization of phytoplasmas associated with diseases of *Rubus spp.* in Poland. *J. Plant Pathol*. 2011. Vol. 93. no. 1. P. 51–56.

74. Cieślińska M., & Rutkowski K. P. Effect of Apple chlorotic leaf spot virus on yield and quality of fruits from ‘Golden delicious’ and ‘Sampion’ apple trees. *Acta Horticulturae*. 2008. Vol. 781. P. 119–124. DOI: [10.17660/ActaHortic.2008.781.17](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.781.17)
75. Cieslinska M., Tartanus M. Molecular diversity of Raspberry leaf blotch virus—a new pathogen of *Rubus* sp. plants in Poland. *Book of Abstracts of the 11th Conference of the European Foundation for Plant Pathology*. 8–13 September 2014. Publishing House of the University of Agriculture in Krakow. Krakow. P. 162.
76. 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. no. 3. P. 475–483. DOI: [10.1099/0022-1317-34-3-475](https://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475)
77. Converse R. H. Influence of heatlabile components of the raspberry mosaic virus complex on growth and yield of red raspberries. *Phytopathology*. 1963. Vol. 53. P. 1251–1254.
78. CSL, EC listed diseases – Raspberry viruses. 2004. Text prepared by CSL Central Science Laboratory, Sand Hutton, York PB 3883 Ref. no. QIC/63 <http://www.fera.defra.gov.uk/plants/publications/plantHealth/documents/QIC63>
79. Dal Zotto A., Cardozo A., Cabrera Mederos D., Nome C., Giolitti F. and Cobelo C. First report of Raspberry bushy dwarf virus infecting raspberry in Argentina. *Journal of Plant Pathology*. 2017. Vol. 99. no. 2. P. 533–543. DOI: [10.4454/jpp.v99i2.3896](https://doi.org/10.4454/jpp.v99i2.3896)
80. DeBlasio S. L., Johnson R., Mahoney J., Karasev A., Gray S. M., Cilia M. Insights into the Polerovirus-plant interactome revealed by coimmuno precipitation and mass spectrometry. *Mol. Plant Microbe Interact*. 2015. Vol. 28. P. 467–481. DOI: [10.1094/MPMI-11-14-0363-R](https://doi.org/10.1094/MPMI-11-14-0363-R)
81. DeliĆ D., Radulović M., Vakić M., Sunulahpašić A., Villamor D. E. V., Tzanetakis I. E. Raspberry leaf blotch emaravirus in Bosnia and Herzegovina: population structure and systemic movement. *Mol Biol Rep*. 2020. Vol. 47. no. 6. P. 4891–4896. DOI: [10.1007/s11033-020-05560-x](https://doi.org/10.1007/s11033-020-05560-x)

82. Deng S., Hiruki C. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non-culturable mollicutes. *Journal of Microbiological Methods*. 1991. Vol. 14. No. 1. P. 53–61. DOI: [10.1016/0167-7012\(91\)90007-D](https://doi.org/10.1016/0167-7012(91)90007-D)
83. Deogratias J. M., Dosba F., Lutz A. Eradication of prune dwarf virus, necrotic ringspot virus and apple chlorotic leaf spot virus in sweet cherries by a combination of chemotherapy, thermotherapy, and in vitro culture. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1989. №11. P. 337–343.
84. Dewasme C., Mary S., Darrieutort G., Audeguin L., & van Helden M. 2019. Impact of tomato black ring virus (TBRV) on quantitative and qualitative features of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot and Cabernet franc. *OENO One*. Vol. 53. no. 2. DOI: [10.20870/oenone.2019.53.2.2429](https://doi.org/10.20870/oenone.2019.53.2.2429)
85. Diaz I. Plant defense genes against biotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19. no. 8. P. 2446. DOI: [10.3390/ijms19082446](https://doi.org/10.3390/ijms19082446)
86. Diaz-Lara A., Mosier J., Keller K. E. A variant of Rubus yellow net virus with altered genomic organization. *Virus Genes*. 2015. Vol. 50. P. 104–110. DOI: [10.1007/s11262-014-1149-6](https://doi.org/10.1007/s11262-014-1149-6)
87. Digiaro M., Elbeaino T. and Martell G. P. Development of degenerate and species specific primers for the differential and simultaneous RT-PCR detection of grapevine-infecting nepoviruses of subgroups A, B and C. *Journal of Virological Methods*. 2007. Vol. 141. P. 34–40. DOI: [10.1016/j.jviromet.2006.11.033](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.033)
88. Dong L., Lemmetty A., Latvala S., Samuilova O. Occurrence and genetic diversity of Raspberry leaf blotch virus (HTS/RT-PCR) infecting cultivated and wild Rubus species in Finland. *Annals Appl Biology*. 2016. Vol. 168. no. 1. P. 122–132. DOI: [10.1111/aab.12247](https://doi.org/10.1111/aab.12247)
89. Dulleman A. M., Botermans M., de Kock M. J. D. et al. Creation of a new genus in the family Secoviridae substantiated by sequence variation of newly identified strawberry latent ringspot virus isolates. *Arch Virol*. 2020. Vol. 165. P. 21–31. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04437-0>

90. Dunich A., Mishchenko L., Andriichuk O., Korotieieva H., Budzanivska I. First report of cherry leaf roll virus from *Juglans regia* in Ukraine. *Journal of Plant Pathology*. 2024. Vol. 106. P. 773. DOI: [10.1007/s42161-024-01593-4](https://doi.org/10.1007/s42161-024-01593-4)
91. Eastwell K. C., Mekuria T. A. & Druffel K. L. Complete nucleotide sequences and genome organization of a cherry isolate of Cherry leaf roll virus. *Arch Virol*. 2012. Vol. 157. P. 761–764. DOI: [10.1007/s00705-011-1208-4](https://doi.org/10.1007/s00705-011-1208-4)
92. 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. DOI: [10.1016/j.virusres.2003.08.001](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2003.08.001)
93. EFSA Panel on Plant Health. Scientific opinion on the risk to plant health posed by Arabis mosaic virus, Raspberry ringspot virus, Strawberry latent ringspot virus and Tomato black ring virus to the EU territory with the identification and evaluation of risk reduction options. *ESFA J*. 2013. 11. P. 3377. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2019.5501>
94. Egan M. J., Wang Z. Y., Jones M. A., Smirnov N., Talbot N. J. Generation of reactive oxygen species by fungal NADPH oxidases is required for rice blast disease. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2007. Vol. 104. no. 28. P. 11772–11777. DOI: [10.1073/pnas.0700574104](https://doi.org/10.1073/pnas.0700574104)
95. EPPO. Raspberry bushy dwarf virus. [Distribution map]. Distribution Maps of Plant Diseases, 2013. No. October. Wallingford, UK: CABI, Map 1149 (Edition 1). Available on: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/DMPD/20133421485> [Accessed: 12 September 2024]
96. Eun A. J., Seoh M. L., Wong S. M. Simultaneous quantitation of two orchid viruses by the TaqMan real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods*. 2000. Vol. 87. Iss. 1–2. P. 151–160. DOI: [10.1016/j.jviromet.2005.11.005](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.11.005)
97. Everett K. R., Milne K. S., and Forster R. L. Nucleotide sequence of the coat protein genes of strawberry latent ringspot virus: Lack of homology to the

nepoviruses and comoviruses. *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. P. 1821–1825. DOI: [10.1099/0022-1317-75-7-1821](https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-7-1821)

98. Fan L., Song D., Khoo Y., Wu M., Xu T., Zhao X., & Wang H. Effect of strawberry vein banding virus and strawberry mottle virus co-infection on the growth and development of strawberry. *BIOCELL ech T Press Science*, 2022. Vol. 46. no. 1. P. 263–273. DOI: [10.32604/biocell.2022.016306](https://doi.org/10.32604/biocell.2022.016306)

99. Food and Agriculture Organization of the United Nations. URL: <https://www.fao.org/faostat/ru/#data/QCL> (дата звернення: 18.11.2024)

100. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985. Vol. 39. P. 783–791. DOI: [10.2307/2408678](https://doi.org/10.2307/2408678)

101. Feng J., Liu S., Wang M., Lang Q., & Jin C. Identification of microRNAs and their targets in tomato infected with Cucumber mosaic virus based on deep sequencing. *Planta*. 2014. Vol. 240 (6). P. 1335–1352. DOI: [10.1007/s00425-014-2158-3](https://doi.org/10.1007/s00425-014-2158-3)

102. Franova J., Pribylova J., Zemek R., Tan J. L., Hamborg Z., Blystad D. R., Lenz O., Koloniuk I. First report of 'Candidatus Phytoplasma rubi' associated with Rubus stunt disease of raspberry and blackberry in the Czech Republic. *Plant Dis*. 2023. Vol. 107. Iss. 8. P. 2279-2351. DOI: [10.1094/PDIS-03-23-0467-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-03-23-0467-PDN)

103. Fuchs M., Schmitt-Keichinger C., Sanfaçon H. Chapter Two - A renaissance in nepovirus research provides new insights into their molecular interface with hosts and vectors. In: *Kielian M, Mettenleiter TC, Roossinck MJ (eds) Advances in Virus Research*. 2017. Academic Press. P. 61–105. DOI: [10.1016/bs.aivir.2016.08.009](https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.009)

104. Fuller K. B., Alston J. M., Golino D. A. The benefits from certified virus-free nursery stock: A case study of grapevine leafroll-3 in the North Coast region of California. *Working Paper of Robert Mondavi Institute Center for Wine Economics*. 2013. Vol. 1306. P. 35. doi: [10.22004/ag.econ.162527](https://doi.org/10.22004/ag.econ.162527)

105. Georgieva M., Kondakova V. & Yancheva S. A comparative study on raspberry cultivars in micropropagation. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2020. Vol. 26. Iss. 3. P. 527–532.

106. Giusti M. M. & Wrolstad R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001. DOI: [10.1002/0471142913.faf0102s00](https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00)
107. González R., Butković A., Escaray F. J., Martínez-Latorre J., Melero Í., Pérez-Parets E., Gómez-Cadenas A., Carrasco P., Elena S. F. Plant virus evolution under strong drought conditions results in a transition from parasitism to mutualism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2021. Vol. 118. No. 6. DOI: [10.1073/pnas.2020990118](https://doi.org/10.1073/pnas.2020990118)
108. Gordon S. C., Ellis M. A., Converse R. H., Williams R. N., Williamson B. Dryberry mite. *Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects*. 1991Eds.; APS Press: St. Paul, MN, USA,; pp. 70–71
109. Graci J. D., Cameron C. E. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev. Med. Virol.* 2006. Vol. 16. P. 37–48. DOI: [10.1002/rmv.483](https://doi.org/10.1002/rmv.483)
110. Gray S. & Gildow F. E. Luteovirus-aphid interactions. *Annual Review of Phytopathology*. 2003. Vol. 41. P. 539–566. DOI: [annurev.phyto.41.012203.105815](https://doi.org/annurev.phyto.41.012203.105815)
111. Gundersen D. E., Lee I. M. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea*. 1996. Vol. 35. No. 3. P. 144–151. DOI: [stable/42685262](https://doi.org/stable/42685262)
112. 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: [10.1016/j.plantsci.2004.07.019](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.019)
113. Guta I. C., Buciumeanu E. C., Gheorghe R. N., Teodoresc A. Solutions to eliminate grapevine leafroll associated virus serotype 1+3 from *V. vinifera* L. cv. Ranâi Magaraci. *Romanian Biotechnological Letters*. 2010. Vol. 15. No. 1. P. 72–78.
114. Guta I. C., Buciumeanu E. C., Vişoiu E. Elimination of Grapevine fleck virus by in vitro Chemotherapy. *Not. Bot. Horti. Agrobi.* 2014. Vol. 42. P. 115–118. DOI: [10.15835/nbha4219227](https://doi.org/10.15835/nbha4219227)
115. Halgren A., Tzanetakis I. E., and Martin R. R. Identification, characterization, and detection of Black raspberry necrosis virus. *Phytopathology*. 2007. Vol. 97. P. 44–50. DOI: [10.1094/PHYTO-97-0044](https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-0044)

116. Hall H. K., Hummer K., Jamieson A. J. Raspberry Breeding and Genetics. *Plant Breeding Reviews*. 2009. Vol. 32. P. 281–290. DOI: [10.1002/9780470593806.ch2](https://doi.org/10.1002/9780470593806.ch2)
117. Hannoun C. Rimantadine in the prevention and treatment of influenza A. *Rev. Médecine Interne*. 1988. Vol. 9(5). P. 554–558. DOI: [10.1016/s0248-8663\(88\)80024-9](https://doi.org/10.1016/s0248-8663(88)80024-9)
118. Harrison B. D. Cucumber mosaic virus in raspberry. *Plant Pathology*. 1958. Vol. 7. P. 109–111. DOI: [10.1111/j.1365-3059.1958.tb00843.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1958.tb00843.x)
119. Harrison B. D., Murrant A. F. Nepoviruses: ecology and control. Polyhedral virions and bipartite RNA genomes. *The plant viruses*. New York, USA. 1996. Vol. 5. P. 211–228.
120. 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. Vol. 1. P. 51–59. DOI: [10.1046/j.1364-3703.2000.00007.x](https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2000.00007.x)
121. Higuera M., Pérez A., Gallo Y. *et al.* A global analysis of the *Rubus* virome using public transcriptome data. *Eur J Plant Pathol*. 2024. Vol. 170. P. 373–389. DOI: [10.1007/s10658-024-02904-2](https://doi.org/10.1007/s10658-024-02904-2)
122. Hodgetts J., Boonham N., Mumford R., Harrison N. and Dickinson M. Phytoplasma phylogenetics based on analysis of secA and 23S rRNA gene sequences for improved resolution of candidate species of ‘Candidatus Phytoplasma’. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008. Vol. 58. P. 1826–1837. DOI: [10.1099/ijs.0.65668-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.65668-0)
123. Howard L. R., Clark J. R. & Brownmiller C. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2003. Vol. 83. no. 12. P. 1238–1247. DOI: [10.1002/jsfa.1532](https://doi.org/10.1002/jsfa.1532)
124. Hu G., Dong Y., Zhang Z. Virus elimination from in vitro apple by thermotherapy combined with chemotherapy. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2015. Vol. 121. P. 435–443. DOI:

125. 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: [10.1038/s41598-017-16536-6](https://doi.org/10.1038/s41598-017-16536-6)
126. In vitro techniques for plum pox virus elimination from two infected romanian plum cultivars / [L.A.Vescan, I.D.Pamfil, I.V.Zagrai et al.]/ Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies. 2011. -№ 68(1-2). P.389-395
127. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes. 1993. *Minutes of the interim meetings, 1 and 2 August 1992, Ames, Iowa. Int. J. Syst. Bacteriol.* Vol. 43. P. 394–397.
128. Ipach U., Altmayer B., Eichhorn K. Detection of Arabis mosaic virus using the polymerase chain reaction (PCR). *Vitis*. 1992. Vol. 31. P. 213–219.
129. Isac V., Isac M., Mladin P. Viruses occurrence in raspberry cultivars grown in Romania. SHS Acta Horticulturae 656: *X International Symposium on Small Fruit Virus Diseases*. 2004. DOI: [10.17660/ActaHortic.2004.656.27](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.656.27)
130. Isogai M., Nakamura T., Ishii K. First report of raspberry yellows disease caused by Raspberry bushy dwarf virus in Japan. *Gen Plant Pathol.* 2012. Vol. 78. P. 360–363. DOI: [10.1007/s10327-012-0392-8](https://doi.org/10.1007/s10327-012-0392-8)
131. James D., Phelan J. Complete genome sequence and analysis of blackcurrant leaf chlorosis associated virus, a new member of the genus Idaeovirus. *Arch. Virology*. 2017. Vol. 162. P. 1705–1709. DOI: [10.1007/s00705-017-3257-9](https://doi.org/10.1007/s00705-017-3257-9)
132. Jelínek L., Dolečková M., Karabín M., Hudcová T., Kotlíková B., & Dostálek P. Influence of growing area, plant age, and virus infection on the contents of hop secondary metabolites. *Czech J. Food Sci.* 2012. Vol. 30. no. 6. P. 541–547. DOI: [10.17221/50/2012-CJFS](https://doi.org/10.17221/50/2012-CJFS)
133. Jennings D. L., Jones A. T. Further studies on the occurrence and inheritance of resistance in red raspberry to a resistance-breaking strain of Raspberry bushy dwarf virus. *Ann. Appl. Biology*. 1989. Vol. 114. P. 317–323.

134. 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. DOI: 10.5423/RPD.2014.20.3.173
135. Milenković S., & Marčić D. Raspberry leaf and bud mite (*Phyllocoptes gracilis*) in Serbia: the pest status and control options. *Acta Horticulturae*. 2011. Vol. 946. P. 253–256. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.946.40
136. Jevremović D., Leposavić A., & Paunović A. S. Raspberry leaf blotch virus – a common raspberry pathogen in Serbia. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*. 2016. Vol. 19(3). P. 147–156.
137. Jevremović D., Leposavić A., Miletić N., Vasiljević B., Popović B., Mitrović O., & Milinković M. Impact of raspberry leaf blotch emaravirus on red raspberry ‘Willamette’ fruits. *Pestic. Fitomed*. 2022. Vol. 37. no. 1. P. 1–7. DOI: [10.2298/PIF2201001J](https://doi.org/10.2298/PIF2201001J)
138. Jevremović D., Leposavić A., Paunović A.S. Genetic diversity of raspberry leaf blotch emaravirus in red raspberries from Serbia. *Span. J. Agric. Res*. 2019. Vol. 17. Iss. 1. P. 1004. DOI: [10.5424/sjar/2019171-13861](https://doi.org/10.5424/sjar/2019171-13861)
139. Jiménez J., Sadras V. O., Espaillet N. Interplay between drought and plant viruses co-infecting melon plants. *Scientific Reports*. 2024. Vol. 14. P. 15833. DOI: [10.1038/s41598-024-66344-y](https://doi.org/10.1038/s41598-024-66344-y)
140. Jonczyk M., Borodynko N., Pospieszny H. Restriction analysis of genetic variability of Polish isolates of Tomato black ring virus. *Acta Biochim*. 2004. Vol. 51. P. 673–681. DOI: 10.18388/abp.2004_3552
141. Jones A. T. & Wood G. A. The virus status of raspberries (*Rubus idaeus* L.) in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1979. Vol. 22. no.1. P. 173–182. DOI: [10.1080/00288233.1979.10420857](https://doi.org/10.1080/00288233.1979.10420857)
142. Jones A. T. Some properties of variants of Raspberry bushy dwarf virus. *Acta Horticulturae*. 1997. Vol. 551. P. 27–31. DOI: [10.17660/ActaHortic.2001.551.3](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.551.3)
143. Jones A. T., Fauquet C. M., Mayo M. A. Idaeovirus. In: Virus taxonomy: eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. *Elsevier Academic Press, London*. 2005. P. 1063–1065.

144. Jones A. T., Gordon S. C. & Jennings D. L. A leaf-blotch disorder of tayberry associated with the leaf and bud mite (*Phyllocoptes gracilis*) and some effects of three aphid-borne viruses. *Journal of horticultural science*. 1984. Vol. 59. no. 4. P. 523– 528.
145. Jones A. T., Mayo M. A., Murrant A. F. Raspberry bushy dwarf idaeovirus. In: The plant viruses polyhedral virions and bipartite RNA genomes. *Plenum Press*. New York. 1996. Vol 5. P. 283–301. DOI: [10.1007/978-1-4899-1772-0_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1772-0_11)
146. Jones A. T., Mc Gavin W. J., Mayo M. A. Comparisons of some properties of two laboratory variants of Raspberry bushy dwarf virus (RBDV) with those of three previously characterized RBDV isolates. *European Journal of Plant Pathology*. 2000. Vol. 106. no. 7. P. 623–632. DOI: [10.1046/j.1365-3059.2001.00642.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00642.x)
147. Jones A. T., McGavin W. J., Geering A. D. W., Lockhart B. E. L. 2002. Identification of Rubus yellow net virus as a distinct badnavirus and its detection by PCR in Rubus species in aphids. *Annals of Applied Biology*. Vol. 141: P. 1–8. DOI: [10.1111/j.1744-7348.2002.tb00189.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00189.x)
148. Jones A. T., Wood G. A. The occurrence of Cherry leaf roll virus in red raspberry in New Zealand. *Plant Disease Reporter*. 1978. Vol. 62. P. 835–838.
149. Jordovic M. The effects of sources of infection on the epidemiology of plum pox disease. *Tagungsber*. 1968. Vol. 97. P. 301–308.
150. Kalt W., Ryan D. A. J., Duy J. C., Prior R. L., Ehlenfeldt M. K., & Vander Kloet, S. P. Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (*Vaccinium Section cyanococcus spp.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. Vol. 49. no. 10. P. 4761–4767. DOI: [10.1021/jf010653e](https://doi.org/10.1021/jf010653e)
151. Kanapiya A., Amanbayeva U., Tulegenova Z., Abash A., Zhangazin S., Dyussebayev K. and Mukiyanova G. Recent advances and challenges in plant viral diagnostics. *Front. Plant Sci*. 2024. Vol. 15. P. 1–13. DOI: [10.3389/fpls.2024.1451790](https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1451790)
152. Kassanis B. Heat inactivation of leaf-roll virus in potato tubers. *Annals of applied biology*. 1950. Vol. 37(3). P. 339–341. DOI: [10.1111/j.1744-7348.1950.tb00959.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1950.tb00959.x)

153. 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. no. 2. P. 137–150. DOI: 10.1127/0171-8177/2014/0019
154. Kerimbek N., Kapytina A., Pozharskiy A. Development of primer sets for detection of Raspberry leaf blotch virus and Raspberry leaf mottle virus by multiplex RT-PCR. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2022. Vol. 1. P. 36. DOI: [10.11134/btp.1.2022.4](https://doi.org/10.11134/btp.1.2022.4)
155. Kimura M. A. Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 1980. Vol. 16. P. 111–120. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01731581>
156. Kokko H. I., Kivineva M. & Kärenlampi S. O. Single-step immunocapture RT-PCR in the detection of Raspberry bushy dwarf virus. *Bio Techniques*. 1996. Vol. 20. P. 842–846.
157. Kolchenko M., Kapytina A., Kerimbek N., Pozharskiy A., Nizamdinova G., Khusnitdinova M., Taskuzhina A., Gritsenko D. Genetic characterization of Raspberry bushy dwarf virus isolated from red raspberry in Kazakhstan. *Viruses*. 2023. Vol. 15. P. 975. DOI: [10.3390/v15040975](https://doi.org/10.3390/v15040975)
158. Koloniuk I., Fránová J., Přebilová J., Sarkisova T., Špak J., Tan J.L., Zemek R., Čmejla R., Rejlová M., Valentová L. Molecular characterization of a novel Enamovirus infecting raspberry. *Viruses*. 2023 Vol. 15. P. 2281. DOI: [10.3390/v15122281](https://doi.org/10.3390/v15122281)
159. Komínek P., Svoboda P., Aboughanem N. Improved detection of Arabis mosaic virus in grapevine and hop plants. *Acta Virologica*. 2003. Vol. 47. no. 3. P. 199–200.
160. Komorowska B., Ptaszek M., Jarecka-Boncela A. & Hasiów-Jaroszewska B. First report of arabis mosaic virus in rhubarb in Poland. *Plant disease*. 2018. Vol. 102(9). P. 1863. DOI: [10.1094/PDIS-02-18-0324-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0324-PDN)

161. Kraide H. D., Carmo E. Y. N., Esquivel-Fariña A., Ferro C. G., Moreira da Silva P. P., & Rezende J. A. M. Effects of physalis rugose mosaic and groundnut ringspot viruses, in single and double infections, on the development, yield and postharvest fruit characteristics of *Physalis peruviana* plants. *Plant Pathology*. 2023. Vol. 72. P. 1104–1110. DOI: [10.1111/ppa.13733](https://doi.org/10.1111/ppa.13733)
162. Kreiah S., Strunk G., Cooper J. I. Sequence analysis and location of capsid proteins within RNA 2 of Strawberry latent ringspot virus. *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. P. 2527–2532. DOI: [10.1099/0022-1317-75-9-2527](https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-9-2527)
163. Kudelkova M., Pavelkova R., Ondrusikova E. Virus elimination in peach using chemotherapy. *ISHS Acta Horticulturae*. 2017. Vol. 1155. P. 431–438. DOI [10.17660/ActaHortic.2017.1155.64](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1155.64)
164. Kudell A. R. Studies on the occurrence and distribution of Raspberry bushy dwarf virus in raspberries and on the possibility of eliminating it from tissue explants in conjunction with chemotherapy. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land Forstwirtschaft*. 1988. P. 469.
165. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 2018. Vol. 35. P. 1547–1549.
166. Kummert J., Vendrame M., Lepoivre P., Steyer S. Development of routine RT-PCR ELOSA tests for fruit tree certification. *EPPO Bulletin*. 2001. Vol. 30 (3-4). P. 441–448. DOI: [10.1111/j.1365-2338.2000.tb00926.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2000.tb00926.x)
167. Lankes C. Elimination of raspberry bushy dwarf virus. *Acta Horticulturae*. 1995. Vol. 385. P. 70–75.
168. Lee I. M., Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E. and Bartoszyk I. M. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1998. 48. P. 1153–1169.
169. Lee J., & Martin R. R. Influence of grapevine leafroll associated viruses (GLRaV-2 and-3) on the fruit composition of Oregon *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir.

- Phenolics. Food Chem.* 2009. Vol. 112. no. 4. P. 889–896. DOI: [10.1016/j.foodchem.2009.03.082](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.082)
170. Lefeuvre P., Martin D. P., Elena S. F., Shepherd D. N., Roumagnac P., Varsani A. Evolution and ecology of plant viruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. Vol. 17. P. 632–644.
171. Lenz O., Koloniuk I., Sarkisová T., Čmejla R., Valentová L., Rejlová M. Molecular characterization of a novel rubodvirus infecting raspberries. *Viruses*. 2024. Vol. 16. no. 7. P. 1074. DOI: [10.3390/v16071074](https://doi.org/10.3390/v16071074)
172. Li N., Yu C., Yin Y., Gao S., Wang F., Jiao C., & Yao M. Pepper crop improvement against cucumber mosaic virus (CMV): A Review. *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. DOI: [10.3389/fpls.2020](https://doi.org/10.3389/fpls.2020)
173. Liefting L. W., Andersen M. T., Beever R. E., Gardner R. C. and Forster R. L. Sequence heterogeneity in the two 16S rRNA genes of *Phormium* yellow leaf phytoplasma. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996. Vol. 62. P. 3133–3139.
174. Linck H., Reineke A. Rubus stunt: a review of an important phytoplasma disease in *Rubus* spp. *J Plant Dis Prot.* 2019. 126. P. 393–399. [10.1007/s41348-019-00247-3](https://doi.org/10.1007/s41348-019-00247-3)
175. Lindsay S. M. Raspberry viruses manipulate plant–aphid interactions. 2011. P. 35–42.
176. Lister R. M. Strawberry latent ringspot: a new nematode-borne virus. *Ann. Appl. Biol.* 1964. Vol. 54. no. 2. P. 167–176. DOI: [10.1111/j.1744-7348.1964.tb01180.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1964.tb01180.x)
177. Loebenstein G., Preface Katis N. Control of plant virus diseases seed-propagated crops. 2015. Vol. 91. P. 68.
178. Lopez R., Asensio C., Guzman M. M., Boonham N. Development of real-time and conventional RT-PCR assays for the detection of potato yellow vein virus (PYVV). *Journal of Virological Methods*. 2006. Vol. 136. Issues 1–2. P. 24–29. DOI: [10.1016/j.jviromet.2006.03.026](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.03.026)
179. Lopez-Corona A. V., Valencia-Espinosa I., González-Sánchez F. A., Sánchez-López A. L., Garcia-Amezquita L. E., & Garcia-Varela R. Antioxidant, anti-

inflammatory and cytotoxic activity of phenolic compound family extracted from raspberries (*Rubus idaeus*): A General Review / A. V. Lopez-Corona et al. *Antioxidants*. 2022. Vol. 11. no. 6. P. 1192. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox11061192> (date of access: 20.02.2025).

180. Loudes A. M., Ritzenthaler C., Pinck M., Serghini M. A. and Pinck L. The 119 kDa and 124 kDa polyproteins of Arabis Mosaic Nepovirus (isolate S) are encoded by two distinct RNA2 species. *J. Gen. Virol.* 1995. Vol. 76. no. 4. P. 899–906. DOI: [10.1099/0022-1317-76-4-899](https://doi.org/10.1099/0022-1317-76-4-899)

181. Lu Y., McGavin W., Schnettler E., Yan F., Chen J., MacFarlane S. Newly identified RNAs of Raspberry leaf blotch virus encoding a related group of proteins. *J Gen Virol*. Vol. 96. 2015. P. 3432–3439. DOI: [10.1099/jgv.0.000277](https://doi.org/10.1099/jgv.0.000277)

182. Lunello P., Mansilla C., Conci V., Ponz F. Ultra-sensitive detection of two garlic potyviruses using a real-time fluorescent (TaqMan) RT-PCR assay. *J. Virol. Methods*. 2004. *Journal of Virological Methods*. Vol. 118. Iss. 1. P. 15–21. DOI: [10.1016/j.jviromet.2004.01.012](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.01.012)

183. 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: [10.1016/j.pmpp.2008.05.004](https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.004)

184. MacFarlane S. A. Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Genus *Idaeovirus*. *Elsevier Academic Press*. London, UK. 2011. P. 1173–1175.

185. MacKenzie D. J., Johnson R. C. and Warner C. Incidence of four important viral pathogens in Canadian vineyards. *Plant Dis*. 1996. № 80. P. 955 – 958.

186. MacLatchy I. PHPD 00-40 Plant Health Risk Assessment *Rubus* Stunt Phytoplasma. *Plant Health Risk Assessment Unit*, Ottawa, ON. 2001.

187. Magyar-Tábori K., Mandler-Drienyovszki N., Hanász A., Zsombik L., Dobránszki J. Phytotoxicity and other adverse effects on the in vitro shoot cultures caused by virus elimination treatments: reasons and solutions. *Plants*. 2021. Vol. 10. No. 4. P. 670. DOI: [10.3390/plants10040670](https://doi.org/10.3390/plants10040670)

188. Maniatis T., Edward F., Sambrook J. Molecular cloning a laboratory manual. New York: *Cold Spring Harbor Laboratory*. 1982.
189. Marcone C., Lee I. M., Davis R. E., Ragozzino A. and Seemüller E. Classification of aster yellows-group phytoplasmas based on combined analyses of rRNA and tuf gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000. Vol. 50. P. 1703–1713.
190. Martin D. P., Murrell B., Golden M., Khoosal A., & Muhire B. RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus evolution*. 2015. 1(1).
191. Martin R. R. Viruses and virus disease of Rubus. *Plant Disease*. 2013. Vol. 97. no. 2. DOI: [10.1094/PDIS-04-12-0362-FE](https://doi.org/10.1094/PDIS-04-12-0362-FE)
192. Martin R. R. and Mathews H. Engineering resistance to Raspberry bushy dwarf virus. *Acta Hortic.* 2001. Vol. 551. P. 33–37. DOI: [10.17660/actahortic.2001.551.4](https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.551.4)
193. Martin R. R. Virus diseases of Rubus and strategies for their control. *Acta Horticulturae*. 2002. Vol. 585. P. 265–270. DOI: [10.17660/actahortic.2002.585.43](https://doi.org/10.17660/actahortic.2002.585.43)
194. Martin R. R., Keller K. E., Mathews H. Development of resistance to Raspberry bushy dwarf virus in 'Meeker' red raspberry. *Acta Horticulturae*. 2004. Vol. 656. P. 186–191. DOI: [10.17660/actahortic.2004.656.26](https://doi.org/10.17660/actahortic.2004.656.26)
195. Martin R. R., Tzanetakis I. E., Barnes J. E. and Elmhirst J. F. First report of Strawberry latent ringspot virus in strawberry in USA and Canada. *Plant Dis.* 2004. № 88. P. 575. DOI: [10.1094/PDIS.2004.88.5.575A](https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.5.575A)
196. Mathew L., Tiffin H. R., Erridge Z. A., McLachlan A. R., Hunter D. A., & Pathirana R. Efficiency of eradication of Raspberry bushy dwarf virus from infected raspberry (*Rubus idaeus*) by in vitro chemotherapy, thermotherapy and cryotherapy and their combinations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2020. Vol. 144. P. 133–141. DOI: [10.1007/s11240-020-01829-y](https://doi.org/10.1007/s11240-020-01829-y)
197. Mavrič I., Marn M.V., Koron D., Žežlina I. First report of Raspberry bushy dwarf virus on red raspberry and grapevine in Slovenia. *Plant Dis.* 2003. Vol. 87. No. 9. P. 1148. DOI: [10.1094/PDIS.2003.87.9.1148D](https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.9.1148D)

198. Mavrič pleško I., Virscek Marn M., Lazarova S., Peneva V., Širca S., Urek G. First detection of Raspberry leaf blotch virus in red raspberry in Bulgaria. *J Plant Pathol.* 2014. Vol. 96. no.2. P. 431–439. DOI: [10.4454/JPP.V96I2.013](https://doi.org/10.4454/JPP.V96I2.013)
199. Mavrič pleško I., Virscek Marn M., Sirca S. Biological, serological and molecular characterisation of Raspberry bushy dwarf virus from grapevine and its detection in the nematode *Longidorus juvenilis*. *Eur J Plant Pathol.* 2009. Vol. 123. P. 261–268. DOI: [10.1007/s10658-008-9362-6](https://doi.org/10.1007/s10658-008-9362-6)
200. Mayek-PÉrez N., García-Espinosa R., LÓpez-CastaÑeda C., Acosta-Gallegos J. A., Simpson J. Water relations, histopathology and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology.* 2002. Vol. 60, no. 4. P. 185–195. DOI: [10.1006/pmpp.2001.0388](https://doi.org/10.1006/pmpp.2001.0388)
201. Mayo M. A., Jolly C. A., Murant A. F. Nucleotide sequence of Raspberry bushy dwarf virus RNA-3. *Gen Virol.* 1991. Vol. 72. P. 469–472. DOI: [10.1099/0022-1317-72-2-469](https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-2-469)
202. Mazeikiene I., Kviklys D., Siksnianiene J. B., Zinkus D., Stanys V. Influence of Ribavirin on *Prunus domestica* L. regeneration, genome stability and virus eradication in vitro. *Proc. Latvian Acad. Sci. Sect. B.* 2019. Vol 73. Iss. 3. P. 238–243. DOI: <https://doi.org/10.2478/prolas-2019-0038>
203. Mazur S. P., Nes A., Wold A. B., Remberg S. F. & Aaby K. Quality and chemical composition of ten red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes during three harvest seasons. *Food chemistry.* 2014. Vol. 160. P. 233-240.
204. McGavin W. J., MacFarlane S. A. Sequence similarities between Raspberry leaf mottle virus, Raspberry leaf spot virus and the Closterovirus Raspberry mottle virus. *Annals of Applied Biology.* 2010. Vol. 153. no. 3. P. 439–448. DOI: [10.1111/j.1744-7348.2010.00401](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00401)
205. McGavin W. J., Mitchell C., Cock P. J. A., Wright K. M., MacFarlane S. A. Raspberry leaf blotch virus, a putative new member of the genus Emaravirus, encodes a novel genomic RNA. *J. Gen. Virol.* 2012. Vol. 93. P. 430–437. DOI: [10.1099/vir.0.037937-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.037937-0)

206. McGavin W. J., Cock P. J. A., MacFarlane S. A. Partial sequence and RT-PCR diagnostic test for the plant rhabdovirus Raspberry vein chlorosis virus. *Plant Pathology*. 2011. Vol. 60. P. 462–467. DOI: [10.1111/j.1365-3059.2010.02387.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02387.x)
207. McMenemy L. S., Mitchell C., Johnson S. N. Biology of the European large raspberry aphid, *Amphorophora idaei*: its role in virus transmission and resistance breakdown in red raspberry. *Agric. For. Entomology*. 2009. Vol. 11. P. 61–71. DOI: [10.1111/j.1461-9563.2008.00409.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2008.00409.x)
208. Medina C. J., Matus T., Zúñiga M., San-Martín C. and Arce-Johnson P. Occurrence and distribution of viruses in commercial plantings of *Rubus*, *Ribes* and *Vaccinium* species in Chile. *Cien. Inv. Agr.* 2006. Vol. 33 (1). P. 23–28.
209. Medina-Ortega K. J., Bosque-Perez N. A., Ngumbi E., Jimenez-Martinez E. S. & Eigenbrode S. D. *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) responses to volatile cues from Barley yellow dwarf virus-infected wheat. *Environmental Entomology*. 2009. Vol. 38. P. 836–845. DOI: [10.1007/s10340-021-01458-0](https://doi.org/10.1007/s10340-021-01458-0)
210. Menéndez-Arias L., Gago F. Antiviral agents: Structural basis of action and rational design. *Struct. Phys. Viruses*. 2013. Vol. 68. P. 599–630. DOI: [10.1007/978-94-007-6552-8_20](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6552-8_20)
211. 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: [10.1016/s0166-0934\(01\)00381-0](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(01)00381-0)
212. Mielke-Ehret N., Mühlbach H. P. Emaravirus: a novel genus of multipartite, negative strand RNA plant viruses. *Viruses*. 2012. Vol. 4. P. 1515–1536. DOI: [10.3390/v4091515](https://doi.org/10.3390/v4091515)
213. Miletić N., Jevremović D., Mitić M., Popović B., & Petković M. Influence of D and Rec strains of plum pox virus on phenolic profile and antioxidant capacity of fresh plum fruits of ‘Čačanska Lepotica’ cultivar. *Span. J. Agric. Res.* 2022. Vol. 20. P. 1005. DOI: [10.5424/sjar/2022204-18179](https://doi.org/10.5424/sjar/2022204-18179)
214. Miletić N., Mitić M., Popović B., Petković M., Vasiljević B., Katanić V., & Jevremović D. Chemical composition of healthy and raspberry leaf blotch

emavirus-infected red raspberry ‘Willamette’ fruits. *Horticulturae*. 2024. Vol. 10. no. 2. P. 187. DOI: [10.3390/horticulturae10020187](https://doi.org/10.3390/horticulturae10020187)

215. Milkus B. N. Incidence of four nepoviruses in Missouri vineyards. *Am. J. Enol. Vitic.* 2001. Vol. 52. P. 56–57.

216. Milošević S., Cingel A., Jevremović S., Stanković I., Bulajić A., Krstić B., Subotić A. Virus elimination from ornamental plants using in vitro culture techniques. *Pestic. Phytomed.* 2012. Vol. 27. Iss. 3. P. 203–211. DOI: [10.2298/PIF1203203M](https://doi.org/10.2298/PIF1203203M)

217. Milošević T., Milošević N., Mladenović J., Jevremović D. Impact of Sharka disease on tree growth, productivity and fruit quality of apricot (*Prunus armeniaca* L.). 2019. Vol. [244](#). P. 270–276. DOI: [10.1016/j.scienta.2018.09.055](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.055)

218. Mishchenko L. T., Dunich A. A., Dashchenko A. V., Bondus R. O. Molecular characterization of cucumber mosaic virus infecting *Echinacea purpurea* in Ukraine. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 2021. Vol. 23. P. 1–16.

219. Mishchenko L., Dunich A., Dashchenko A., Kozub N., Hlushchenko L. Screening of cherry leaf roll virus in *Sambucus nigra* plants in Ukraine. *Quarantine and Plant Protection*. 2022. Vol. 3. P. 11–14. DOI: [10.36495/2312-0614.2022.3.11-14](https://doi.org/10.36495/2312-0614.2022.3.11-14)

220. Moore P. P. & Hoashi-Erhardt W. K. Effects of raspberry bushy dwarf virus on fruit traits in five raspberry cultivars. *Acta Hort.* 2012. Vol. 946. P. 263–266. DOI: [10.17660/ActaHortic.2012.946.42](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.946.42)

221. Moskovets S. M., Glushak L. E. Several properties of cucumber mosaic virus (CMV-1). *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. 1970. Vol. 32. no. 1. P. 64–69.

222. Muhire B., Varsani A., Martin D. SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PloS one*. 2014. Vol. 9. no. 9. P. 108–277. DOI: [10.1371/journal.pone.0108277](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108277)

223. Mumford R., Skelton A., Metcalfe E., Boonham N. The reliable detection of Barley yellow and mild mosaic viruses using real-time PCR (TaqMan®). *Journal of Virological Methods*. 2004. Vol. 117. Iss. 2. P. 153–159. DOI: [10.1016/j.jviromet.2004.01.006](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.01.006)

224. Munster M., Yvon M., Vile D., Dader B., Fereres A., Blanc S. Water deficit enhances the transmission of plant viruses by insect vectors. *PLoS ONE*. 2017. Vol. 12. no. 5. DOI: [10.1371/journal.pone.0174398](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174398)
225. Murrant A. F. CMI/AAB Descr. – Arabis mosaic virus. *Plant Viruses*. 1970. No. 16. P. 4.
226. Murrant A. F. CMI/AAB Descr. – Strawberry latent ringspot virus. *Plant Viruses*. 1974. No. 126. P. 4.
227. Murrant A. F., Chambers J., Jones A. T. Spread of Raspberry bushy dwarf virus by pollination, its association with crumbly fruit, and problems of control. *Ann. of Appl. Biol.* 1974. Vol. 77. P. 271–281.
228. Murrant A. F., Mayo M. A., Raschke J. H. Some biochemical properties of Raspberry bushy dwarf virus. *Acta Hort.* 1986. Vol. 186. P. 23–30.
229. Murrant A. F., Roberts I. M. Particles of Raspberry vein chlorosis virus in the aphid vector, *aphis idaei*. *Acta Hort.* 1981. Vol. 94. P. 103–106. DOI: [10.17660/1981.94.11](https://doi.org/10.17660/1981.94.11)
230. Murashige T. & Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473–479. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)
231. Nascimento L. C., Pio-Ribeiro G., Willadino L., Andrade G. P. Stock indexing and Potato virus Y elimination from potato plants cultivated in vitro. *Scientia Agricola*. 2003. Vol. 60 (3). P. 525–530. DOI: [10.1590/S0103-90162003000300017](https://doi.org/10.1590/S0103-90162003000300017)
232. Natsuaki T., Mayo M. A., Jolly C. A., Murrant A. F. Nucleotide sequence of raspberry bushy dwarf virus RNA-2: a bicistronic component of a bipartite genome. *J Gen Virol*. 1991. no. 72. P. 2183–2189. DOI: [10.1099/0022-1317-72-9-2183](https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-9-2183)
233. Nerway Z. A. A., Duhoky M. M. S., Kassim N. A. In vitro elimination of dahlia mosaic virus by using meristem culture, electrotherapy and chemotherapy. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2020. Vol. 51. no. 2. P. 665–674. DOI: [10.36103/ijas.v51i2.994](https://doi.org/10.36103/ijas.v51i2.994)

234. OEPP/EPPO. PM 4/10 (2): Certification scheme for *Rubus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2009. Vol. 39. No. 3. P. 271–277. DOI: [10.1111/j.1365-2338.2009.02308.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2009.02308.x)
235. Osman F. Real-time RT-PCR (TaqMan[®]) assay for the detection of *Grapevine leafroll associated viruses* 1–5 and 9. *J. Virol. Methods*. 2007. Vol. 141. Iss. 1. P. 22–29. DOI: [10.1016/j.jviromet.2006.11.035](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.035)
236. Osman F., Rowhani A. Application of a spotting sample preparation technique for the detection of pathogens in woody plants by RT-PCR and real-time PCR (TaqMan). *J. Virol. Methods*. 2006. Vol. 133. Iss. 2. P. 130–136. DOI: [10.1016/j.jviromet.2005.11.005](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.11.005)
237. Paduch-Cichal E., Krupa T., Mirzwa-Mróż E., Szyndel M. S., Staniszewski K., Kukuła W., Mielniczuk E., Wit M., & Wakuliński W. Influence of virus infection on fruit quality of cherry cultivar Lutowka. *Acta Sci. pol. Hortorum Cultus*. 2024. Vol. 23. No. 2. P. 43–59. DOI: [10.24326/asphc.2023.5327](https://doi.org/10.24326/asphc.2023.5327)
238. Panattoni A., Triolo E. Susceptibility of grapevine viruses to thermotherapy on in vitro collection of Kober 5BB. *Scientia Horticulturae*. 2010. Vol. 125. P. 63–67. DOI: [10.1016/j.scienta.2010.03.001](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.03.001)
239. Panattoni A., Luvisi A. and Triolo E. Review. Elimination of viruses in plants: Twenty years of progress. *Spanish J. Agric. Res.* 2013. Vol. 11. P. 173–188. DOI: [10.5424/sjar/2013111-3201](https://doi.org/10.5424/sjar/2013111-3201)
240. Paprstein F., Sedlak J., Talacko L. In vitro chemotherapy of pear cultivars. *ISHS Acta Horticulturae 1048: II International Symposium on Biotechnology of Fruit Species*. 2014. DOI: [10.17660/ActaHortic.2014.1048.27](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1048.27)
241. Parker W. B. Metabolism and antiviral activity of ribavirin. *Virus Res.* 2005. Vol. 107. P. 165–171. DOI: [10.1016/j.virusres.2004.11.006](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.11.006)
242. Paunović S. A. and Jevremović D. High proportion of mixed virus infections in raspberry plantation in Serbia. *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*. 2020. Vol. 35. no.1. P. 27–37. DOI: [10.2298/PIF2001027P](https://doi.org/10.2298/PIF2001027P)

243. Pavelkova R., Kudelkova M., Ondrusikova E., Eichmeier A. Virus elimination in Peach Cv. 'Red haven' by Chemotherapy. *Agricultural Commun.* 2015. № 3. no. 2. P. 16–20. DOI: [10.17660/ActaHortic.2017.1155.64](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1155.64)
244. Pavliuk L., Udovychenko K., Riaba I., Bublyk M. Detection of sour and sweet cherry viruses in Ukraine. *Agronomy Research.* 2021. Vol. 19, no. 1. P. 199–209. DOI: [10.15159/AR.20.238](https://doi.org/10.15159/AR.20.238)
245. Pazarlar S., Gümüş M., Öztekin G. B. The effects of tobacco mosaic virus infection on growth and physiological parameters in some pepper varieties (*Capsicum annum* L.). *Not Bot Horti Agrobo.* 2013. Vol. 41. No. 2. P. 427–433. DOI: [10.15835/nbha4129008](https://doi.org/10.15835/nbha4129008)
246. Perez-Lopez E., Rodriguez-Martinez D., Olivier C. Y., Luna-Rodriguez M. and Dumonceaux T. J. Molecular diagnostic assays based on cpn 60 UT sequences reveal the geographic distribution of subgroup 16SrXIII-(A/I)I phytoplasma in Mexico. *Sci. Rep.* 2017. № 7. P. 950. DOI: [10.1038/s41598-017-00895-1](https://doi.org/10.1038/s41598-017-00895-1)
247. Poggi Pollini C., Giunchedi L. The occurrence of viruses in red raspberry cultivars in Italy. *ISHS Acta Horticulturae 236: V International Symposium on Small Fruit Virus Diseases.* 1989. DOI: [10.17660/ActaHortic.1989.236.6](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1989.236.6)
248. Ponder A. & Hallmann E. The nutritional value and vitamin C content of different raspberry cultivars from organic and conventional production. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2020. Vol. 87. 1. P. 429.
249. Posnette A. F., Cropley R. Leafroll: a virus disease of cherry. *Report of East Malling Research Station for 1954.* 1955. P. 126-127.
250. Postman J. D., Tzanetakis I. E., Martin R. R. First report of Strawberry latent ringspot virus in a *Mentha* sp. from North America. *Plant Dis.* 2004. Vol. 88. P. 907. DOI: [10.1094/PDIS.2004.88.8.907B](https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.8.907B)
251. Powell G. Intracellular salivation is the aphid activity associated with inoculation of non-persistently transmitted viruses. *Journal of General Virology.* 2005. Vol. 8. no.4. P. 469–472. DOI: [10.1099/vir.0.80632-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.80632-0)

252. Pozhylov I., Snihur H., & Budzanivska I. Phylogenetic analysis of Ukrainian isolate of raspberry leaf blotch virus. *AGROFOR*. Vol. 6 no. 1. 2021. P. 19–25. [10.7251/AGRENG2101019P](https://doi.org/10.7251/AGRENG2101019P)
253. Prasch C. M., Sonnewald U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. *Plant Physiology*. 2013. Vol. 162. no. 4. P. 1849–1866. DOI: [10.1104/pp.113.221044](https://doi.org/10.1104/pp.113.221044)
254. Pupola N., Lepse L., Kale A., Morocko-Bicevska I. Occurrence of RBDV in Latvia and virus elimination in vitro by chemotherapy. *Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture, Sodininkyste Ir Darzininkyste*. 2009. Vol. 28 (3). P. 165–172.
255. Pye Daniel R. L. & Lillo Enrico De. A review of the eriophyoid mites (Acari: Eriophyoidea) on *Rubus* spp. in Britain, with a new species (Diptilomiopidae) and two new records. *Zootaxa*. 2010. Vol. 2677. no. 1. P. 18–19. DOI: [10.5281/zenodo.6196465](https://doi.org/10.5281/zenodo.6196465)
256. Quito-Avila D. F., Jelkmann W., Alt S., Leible S., Martin R. R. A new member of the family Reoviridae may contribute to severe crumbly fruit in red raspberry, *Rubus idaeus* ‘Meeker’. *Proceedings of the 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops ICVF, (Neustadt, Germany, 5-10 July)*. 2010. P. 18–23.
257. Quito-Avila D. F., Martin R. R. Real-time RT-PCR for detection of Raspberry bushy dwarf virus, Raspberry leaf mottle virus and characterizing synergistic interactions in mixed infections. *Journal of Virological Methods*. 2012. Vol. 179. Iss. 1. P. 38–44. DOI: [10.1016/j.jviromet.2011.09.016](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.09.016)
258. Quito-Avila D. F., Peralta E. L., Ibarra M. A. First report of Raspberry bushy dwarf virus in blackberry in Ecuador. *Plant Dis*. 2013. Vol. 97. P. 1003. DOI: [10.1016/j.jviromet.2011.09.016](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.09.016)
259. Radwan D. E. M., Fayez K. A., Mahmoud S. Y., Hamad A., Lu G. Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments. *Plant Physiology*

and *Biochemistry*. 2007. Vol. 45 (6-7). P. 480–489. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.03.002

260. 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: [10.1034/j.1399-3054.2000.110220.x](https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.110220.x)

261. Rebenstorf K., Candresse T., Dulucq M. J., Buttner C., Obermeier C. Host species-dependent population structure of a pollen-borne plant virus, Cherry leaf roll virus. *Journal of Virology*. 2006. Vol. 80. No. 5. P. 2453 – 2462. DOI: [10.1128/JVI.80.5.2453-2462.2006](https://doi.org/10.1128/JVI.80.5.2453-2462.2006)

262. **Riaba I.**, Udovychenko K. Impact of raspberry bushy dwarf virus on yield and fruit quality of three red raspberry cultivars. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2025. Vol. 9 (1). P. 23–31. DOI: <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2025.0003>

263. Rizqi A., Zemzami M., Spiegel S. Recovery of virus-free almond plants by improved in vitro shoot-tip grafting. In *XVIII International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops-Top Fruit Diseases*. 2000. No. 550. P. 447–454.

264. RMD -09-01: Фітоплазма *Rubus stunt* (RSP), збудник хвороби *Rubus stunt*. 2012. Available on: <https://inspection.canada.ca/plant-health/invasive-species/directives/pest-risk-management/rmd-09-01/eng/1330474804915/1330474882989>. [Accessed: 6 August 2024]

265. Roberts C. A., Dietzgen R. G., Heelan L. A., Maclean D. J. Real-time RT-PCR fluorescent detection of tomato spotted wilt virus. *Journal of Virological Methods*. 2000. Vol. 88. Iss. 1. P. 1-8. DOI: [10.1016/S0166-0934\(00\)00156-7](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(00)00156-7)

266. Rodrigues S. P., Ventura J. A., Aguilar C., Nakayasu E. S., Almeida I. C., Fernandes P. M. B., Zingali R. B. Proteomic analysis of papaya (*Carica papaya* L.) displaying typical sticky disease symptoms. *Proteomics*. 2011. Vol. 11. P. 2592–2602. DOI: [10.1002/pmic.201000757](https://doi.org/10.1002/pmic.201000757)

267. Rontein D., Basset G., Hanson A. D. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic engineering*. 2002. Vol. 4. no. 1. P. 49–56. DOI: [10.1006/mben.2001.0208](https://doi.org/10.1006/mben.2001.0208)
268. Sabanadzovic N., Tzanetakis I. E., Sabanadzovic S. Rubus canadensis virus 1, a novel betaflexivirus identified in blackberry. *Arch. Virol.* 2012. Vol. 158. no. 2. P. 445–449. DOI: [10.1007/s00705-012-1484-7](https://doi.org/10.1007/s00705-012-1484-7)
269. Sacco Botto C., Matic S., Moine A., Chitarra W., Nerva L., D’Errico C., Pagliarani C., & Noris E. Tomato yellow leaf curl Sardinia virus increases drought tolerance of tomato. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24. no. 3. P. 2893. DOI: [10.3390/ijms24032893](https://doi.org/10.3390/ijms24032893)
270. 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.
271. Samara R., Hunter D. M., Stobbs L. W., Greig N., Lowery D. T., & Delury N. C. Impact of Plum pox virus (PPV-D) infection on peach tree growth, productivity and bud cold hardiness. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2017. Vol. 39. no. 2. P. 218–228. DOI: [10.1080/07060661.2017.1336489](https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1336489)
272. Sanfaçon H., Iwanami T., Karasev A. V., van der Vlugt R., Wellink J., Wetzels T., and Yoshikawa N. Secoviridae. In: *Virus Taxonomy. 9-th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. eds. Academic Press. 2012. San Diego, CA, USA.
273. Sanjeev S., Balwinder R., Gita Z., Aijaz Asghar H., Vipin N. Production of Indian citrus ringspot virus free plants of Kinnow employing chemotherapy coupled with shoot tip grafting. *Journal of Central European Agriculture*. 2007. Vol. 8. P. 1-8.
274. Sapkota B., Trandem N. J. Incidence of aphid-transmitted viruses in raspberry and raspberry aphids in Norway and experiments on aphid transmission of black raspberry necrosis virus. 2024. *Sec. Plant Pathogen Interactions*. Vol. 15. DOI: [10.3389/fpls.2024.1441145](https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1441145)

275. Sasaki-Tanaka R., Shibata T., Moriyama M., Okamoto H., Kogure H., Kanda T. Amantadine and Rimantadine Inhibit Hepatitis A virus replication through the induction of autophagy. *J. Virol.* 2022. Vol. 96. DOI: [10.1128/jvi.00646-22](https://doi.org/10.1128/jvi.00646-22)
276. Sastry K. S. Impact of virus and viroid diseases on crop yields. *Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics*. Springer, Dordrecht. 2013. P. 99–199. DOI: [10.1007/978-94-007-6524-5_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6524-5_3)
277. Sawicka B., Barbaś P., Skiba D., Krochmal-Marczak B., & Pszczółkowski P. Evaluation of the quality of raspberries (*Rubus idaeus* L.) grown in balanced fertilization Conditions. *Commodities*. 2023. Vol. 2 (3). P. 220–245. DOI: [10.3390/commodities2030014](https://doi.org/10.3390/commodities2030014)
278. Schneider B., Seemüller E., Smart C. D., Kirkpatrick B. C. Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas. S Razin, JG Tully, eds. *Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasmaology*. San Diego, CA, USA: Academic Press. 1995. P. 369–380. DOI: [10.1016/B978-012583805-4/50040-6](https://doi.org/10.1016/B978-012583805-4/50040-6)
279. Schoch CL et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. 2020. Database (Oxford). baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187. Available on: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=2732890> [Accessed: 23 August 2024]
280. Scott S. W., Zimmerman M. T., Jones A. T., and Le Gall O. Differences between the coat protein amino acid sequences of English and Scottish serotypes of Raspberry ringspot virus exposed on the surface of virus particles. *Virus Res.* 2000. Vol. 68. no. 2. P. 119–126. DOI: [10.1016/s0168-1702\(00\)00158-168](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(00)00158-168)
281. Sedlak J., Paprštejn F., Suchá J. Influence of chemotherapy on development and production of virus free in vitro strawberry plants. *Hort. Sci. (Prague)*. 2019. Vol. 46. P. 53–56. DOI: [10.17221/249/2017-HORTSCI](https://doi.org/10.17221/249/2017-HORTSCI)
282. Sedlak J., Paprštejn F., Polak Y., et al. Results of in vitro thermotherapy of apple cultivars. 2008. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. Vol. 94. (3). P. 347–352. DOI: [10.1007/s11240-008-9342-8](https://doi.org/10.1007/s11240-008-9342-8)

283. Sedlak J., Příbylová J., Koloňuk I., Špak J., Lenz O., Semerák M. Elimination of *Solanum nigrum* ilarvirus 1 and Apple Hammerhead Viroid from apple cultivars using antivirals ribavirin, rimantadine, and zidovudine. *Viruses*. 2023. Vol. 15 (8). P. 1684. DOI: [10.3390/v15081684](https://doi.org/10.3390/v15081684).
284. Sharma S., Singh B., Rani G., Zaidi A. A., Hallan V., Nagpal A., Virk G. S. In vitro production of Indian citrus ringspot virus (ICRSV) free Kinnow plants employing thermotherapy coupled with shoot tip grafting. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2008. Vol. 92. P. 85–92. DOI: [10.1007/s11240-007-9307-3](https://doi.org/10.1007/s11240-007-9307-3)
285. Simeone A. M., Cappelini P. and Yuanhu Z. Physiological modification caused by PPV in the leaves of peach and apricot tree. *Phytopathologia Mediteranea*. 2000. Vol. 39. No. 3. P. 447–450. DOI:
286. Singh S., Awasthi L. P., Jangre A. Transmission of plant viruses in fields through various vectors. *Applied Plant Virology*. 2020. P. 313–334. DOI: [10.1016/b978-0-12-818654-1.00024-4](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818654-1.00024-4)
287. Sønsteby A., Heide O. Physiology of flowering and dormancy regulation in annual and biennial-fruited red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2011. Vol. 86 no. 5. P. 6–8. DOI: [10.1080/14620316.2011.11512785](https://doi.org/10.1080/14620316.2011.11512785)
288. Spak J. A., Holý A., Pavingerová D., Votruba I., Spaková V., Petržík K. New in vitro method for evaluating antiviral activity of acyclic nucleoside phosphonates against plant viruses. *Antivir. Res.* 2010. Vol. 88. P. 296–303. DOI: [10.1016/j.antiviral.2010.09.019](https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.09.019)
289. Sproge L. and Strautina S. Influence of Raspberry bushy dwarf virus on pollination of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivars. *Agronomy Research*. 2020. Vol. 18 (S4). P. 2776–2784. DOI: [10.15159/AR.20.227](https://doi.org/10.15159/AR.20.227)
290. Stace-Smith R. Virus and virus-like diseases of Rubus (Raspberry and Blackberry). In: *Virus Diseases of Small Fruits*. 1987. R. H. Converse, ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C

291. Stahler M. M., Lawrence F. J., Martin R. R. Incidence of Raspberry bushy dwarf virus in breeding plots of red raspberry. *Hort Science*. 1995. Vol. 30. no. 1. P. 113–114. DOI: [10.21273/hortsci.30.1.113](https://doi.org/10.21273/hortsci.30.1.113)
292. Stephens M. J., Buck E. J., Tahir J. Mapping a potential resistance gene for Raspberry bushy dwarf virus in red raspberry. *Acta Horticulturae*. 2016. Vol. 1133. no.18. P. 121–128. DOI: [10.17660/ActaHortic.2016.1133.18](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1133.18)
293. Strik B., Martin R. R. Impact of Raspberry bushy dwarf virus on ‘Marion’ Blackberry. *Plant Disease*. 2003. Vol. 87. P. 294–296.
294. 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: [10.1007/s00705-013-1778-4](https://doi.org/10.1007/s00705-013-1778-4)
295. Susaimuthu J., Tzanetakis I. E., Gergerich R. C., Kim S. K., Martin R. R. Viral interactions lead to decline of blackberry plants. *Plant Dis*. 2008. 92. P. 1288–1292. DOI: [10.1094/PDIS-92-9-1288](https://doi.org/10.1094/PDIS-92-9-1288)
296. Susi H., Rajamäki M. L., Artola K., Jayaraj-Mallika F.R., & Valkonen J.P.T. Molecular detection and characterisation of black raspberry necrosis virus and raspberry bushy dwarf virus isolates in wild raspberries. *Annals of Applied Biology*. 2018. Vol. 173. no. 2. P. 97–111. DOI: [10.1111/aab.12438](https://doi.org/10.1111/aab.12438)
297. Tajul M. I., Naher K., Hossain T., Siddiqui Y., & Meon S. Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) alters the phytochemical constituents in tomato fruits. *Australian Journal of Crop Science*. 2011. Vol. 5. No. 5. P. 575–581.
298. Tan J. L. et al. Known and potential invertebrate vectors of Raspberry viruses. *Viruses*. 2022. Vol.14. no. 3. P. 571. DOI: [10.3390/v14030571](https://doi.org/10.3390/v14030571)
299. Tan J. L., Trandem N., Hamborg Z., Sapkota B., Blystad D. R., Fránová J., Zemek R. The species, density, and intra-plant distribution of mites on red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Exp Appl Acarol*. 2024. Vol. 93 (2). P. 317–337. DOI: [10.1007/s10493-024-00930-7](https://doi.org/10.1007/s10493-024-00930-7).

300. Thekke-Veetil T., Khadgi A., Johnson D., Burrack H., Sabanadzovic S., Tzanetakis I. E. First report of raspberry leaf mottle virus in blackberry in the United States. *Plant Disease*. 2017. Vol. 101 (1). P. 265.
301. Tzanetakis I. E., Halgren A., Mosier N., Martin R. R. Identification and characterization of Raspberry mottle virus, a novel member of the Closteroviridae. *Virus Res*. 2007. Vol. 127. P. 26–33. DOI: [10.1016/j.virusres.2007.03.010](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.03.010)
302. Tzanetakis I. E., Postman J. D., Gergerich R. C. and Martin R. R. A virus between families: nucleotide sequence and evolution of Strawberry latent ringspot virus. *Virus Res*. 2006. Vol. 121. P. 199–204. DOI: [10.1016/j.virusres.2006.06.001](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.06.001)
303. UKRSTAT. Areas, gross harvests and productivity of agricultural crops by their types by regions. 2022. Available on: <https://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2022/sg/pvzu/archpvxureg.htm>. [Accessed: 19 August 2024].
304. Untiveros M., Fuentes S., and Salazar L. F. Synergistic interaction of Sweet potato chlorotic stunt virus (Crinivirus) with carla-, cucumo-, ipomo-, and potyviruses infecting sweet potato. *Plant Dis*. 2007. Vol. 91. P. 669–676. DOI: [10.1094/PDIS-91-6-0669](https://doi.org/10.1094/PDIS-91-6-0669)
305. Uzest M., Gargani D., Drucker M., Hebrard E., Garzo E., Candresse T., Fereres A. & Blanc S. A protein key to plant virus transmission at the tip of the insect vector stylet. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007. Vol. 104. P. 17959–17964. DOI: [10.1073/pnas.0706608104](https://doi.org/10.1073/pnas.0706608104)
306. Valasevich N., Kukharchyk N., Kvarnheden A. Molecular characterization of Raspberry bushy dwarf virus isoaltes from Sweden and Belarus. *Archives of Virology*. 2011. Vol. 156. P. 369–374. DOI: [10.1007/s00705-010-0912-9](https://doi.org/10.1007/s00705-010-0912-9)
307. Valentova L., Rejlova M., Čmejla R. New methods for the detection of viruses infecting rubus plants – verification in diagnostic practice. *VPO*. 2024. Vol. 30 (1). P. 1–11. DOI: [10.60702/Op68-7386](https://doi.org/10.60702/Op68-7386)
308. Van der Meer F. A. Rubus stunt. In: Converse RH (ed) Virus diseases of small fruits—agriculture handbook no 631. *United States Department of Agriculture, Washington*. 1987. DC. P. 197–203.

309. Verma N., Ram R., Zaidi A. A. In vitro production of Prunus necrotic ringspot virus-free begonias through chemo- and thermotherapy. *Sci. Hortic.* 2005. Vol. 103. P. 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.05.005>
310. Virus Taxonomy—Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 2012. ICTV. Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
311. Walkey D. G. A., Stace-Smith R., Tremaine J. H. Serological, physical, and chemical properties of strains of Cherry leaf roll virus. *Phytopathology.* 1973. Vol. 63. P. 566–571.
312. Wang L., Wang G., Hong N., Tang R., Deng X., Zhang H. Effect of thermotherapy on elimination of apple stem grooving virus and apple chlorotic leaf spot virus for in vitro-cultured pear shoot tips. *Hort Science.* 2006. Vol. 41. P. 729–732. DOI: [10.21273/HORTSCI.41.3.729](https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.3.729)
313. Wang M. R., Bi W. L., Bettoni J. C., Zhang D., Volk G. M., & Wang, Q. C. Shoot tip cryotherapy for plant pathogen eradication. *Plant Pathology.* 2022. Vol. 71. no. 6. P. 1241–1254. DOI: [10.1111/ppa.13565](https://doi.org/10.1111/ppa.13565)
314. Wang Q., Cuellar W. J., Rajamäki M. L., Hirata Y. and Valkonen J. P. T. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Molecular Plant Pathology.* 2008. Vol. 9. no. 2. P. 237–250. DOI: [10.1111/j.1364-3703.2007.00456.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00456.x).
315. Wang Y. M., Ostendorf B., Gautam D., Habili N., Pagay V. Plant viral disease detection: from molecular diagnosis to optical sensing technology—A multidisciplinary review. *Remote Sens.* 2022. Vol. 14. P. 1542. DOI: [10.3390/rs14071542](https://doi.org/10.3390/rs14071542)
316. Ward J. A., Boone W. E., Moore P. P., Weber C. A. Developing molecular markers for marker assisted selection for resistance to Raspberry bushy dwarf virus (RBDV) in red raspberry. *Xth Intl. Rubus and Ribes Symp. Ed.: B. Tanović. Acta Hort.* 2012. ISHS 946. P. 61–66.

317. Weber C. A. Eliminating Raspberry bushy dwarf virus (RBDV) from infected raspberry tissue cultures with ribavirin. *Acta Hort.* 2016. Vol. 1133. P. 473–478. DOI: [10.17660/ActaHortic.2016.1133.72](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1133.72)
318. Wetzels T., Fuchs M., Bobko M. Size and sequence variability of the Arabis mosaic virus protein 2A. *Archives of Virology*. 2002. Vol. 147. no. 8. P. 1643–1653. DOI: [10.1007/s00705-002-0828-0](https://doi.org/10.1007/s00705-002-0828-0)
319. Wetzels T., Krczal G. Molecular biology of Raspberry ringspot nepovirus. In: *Plant Viruses*. Global Science Books. 2007. P. 45–51
320. Wetzels T., Meunier L., Jaeger U., Reustle G. M. and Krczal G. Complete nucleotide sequences of the RNAs 2 of German isolates of grapevine fanleaf and Arabis mosaic nepoviruses. *Virus Res.* 2001. Vol. 75. no. 2. P. 139–145. DOI: [10.1016/s0168-1702\(01\)00235-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(01)00235-0)
321. Wollenweber B., Porter J. R., Lubberstedt T. Need for multidisciplinary research towards a second green revolution. *Current Opinion in Plant Biology*. 2005. Vol. 8. P. 337–341. DOI: [10.1016/j.pbi.2005.03.001](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.03.001)
322. Woo E. N. Y., Clover G. R. G., Pearson M. N. First report of Cherry leaf roll virus (CLRv) in *Malus domestica*. *Australasian Plant Disease Notes*. 2012. Vol. 7. P. 151–156. DOI: [10.1007/s13314-012-0072-8](https://doi.org/10.1007/s13314-012-0072-8)
323. Wood G. A. Further investigations of Raspberry bushy dwarf virus in New Zealand. *Crop Hort.* 1995. Vol 23. P. 273–281
324. Wróblewska W., Pawlak J., Paszko D. Economic aspects in the raspberry production on the example of farms from Poland, Serbia and Ukraine. *Journal of Horticultural Research. Sciendo*. 2019. Vol. 27 (2). P. 71–80. <https://doi.org/10.2478/johr-2019-0019>
325. Xu P., Chen F., Mannas J. P., Feldman T., Sumner L. W., Roossinck M. J. Virus infection improves drought tolerance. *New Phytol.* 2008. Vol. 180. no. 4. P. 911–921. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2008.02627.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02627.x)
326. Yu C. L., Karlin D. G., Lu Y. W., Wright K., Chen J. P., MacFarlane S. Experimental and bioinformatic evidence that Raspberry leaf blotch emaravirus P4 is

a movement protein of the 30K superfamily. *J Gen Virol*. 2013. Vol. 94. P. 2117–2128.

DOI: [10.1099/jgv.0.000277](https://doi.org/10.1099/jgv.0.000277)

327. Zerbini F. M., Siddell S. G., Mushegian A. R., Walker P. J., Lefkowitz E. J., Adriaenssens E. M., Alfenas-Zerbini P., Dutilh B. E., García M. L., Junglen S., et al. Differentiating between viruses and virus species by writing their names correctly. *Archives of Virology*. 2022. Vol. 167. P. 1231–1234. DOI: [10.1007/s00705-021-05323-4](https://doi.org/10.1007/s00705-021-05323-4)

328. Zhao J., Zhang X., Hong Y., Liu Y. Chloroplast in plant-virus interaction. *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 1–20. DOI: [10.3389/fmicb.2016.01565](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01565)

329. Ziegler A., Natsuaki T., Mayo M.A., Jolly C. A., Murrant A. F. The nucleotide sequence of RNA-1 of Raspberry bushy dwarf virus. *J Gen Virol*. 1992. Vol. 73. P. 3213–3218. DOI: [10.1099/0022-1317-73-12-3213](https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-12-3213)

330. Zindović J., Viršček Marn M., Mavrič Pleško I. First report of Raspberry leaf blotch virus (HTS/RT-PCR) in red raspberry in Montenegro. *J Plant Pathol*. 2015. Vol. 97. no. 2. P. 398. DOI: [10.4454/JPP.V97I2.024](https://doi.org/10.4454/JPP.V97I2.024)

**Ідентичність нуклеотидної та амінокислотної послідовностей гена
капсидного білка досліджуваних українських ізолятів RBDV зі світовими
ізолятами з Генбанку, %**

Реєстраційний номер послідовності	Назва ізоляту	Рослина-господар	Країна	Ідентичність, %									
				177UA		431UA		UA1		87UA		KB-UA	
				Нт	Ак	Нт	Ак	Нт	Ак	Нт	Ак	Нт	Ак
FR687357.1	BY22	R. idaeus	Білорусь	99.78	99.35	100.00	100.00	99.78	100.00	98.47	99.35	95.96	98.05
FR687355.1	BY3	R. idaeus	Білорусь	99.13	99.35	99.35	100.00	99.13	100.00	97.81	99.35	95.5	98.05
D01052.1		R. idaeus	Велика Британія	98.92	98.7	99.14	99.35	98.92	99.35	97.59	98.7	95.27	97.4
AF259796.1	strain D1		Велика Британія	98.70	98.7	98.92	99.35	98.70	99.35	97.36	98.7	95.27	97.4
OQ336284	KZSelectio n2-8	R. idaeus	Казахстан	99.57	99.35	99.78	100.00	99.57	100.00	98.70	99.35	95.73	98.05
OQ336277	KZMol3	R. idaeus	Казахстан	99.57	99.35	99.78	100.00	99.57	99.35	98.70	100.00	95.73	98.05
OQ336272	KZ3-4	R. idaeus	Казахстан	99.35	98.7	98.70	99.35	99.35	99.35	98.48	98.70	95.49	97.4
OQ336283	KZSelectio n1	R. idaeus	Казахстан	96.19	98.7	95.96	98.05	95.73	98.1	95.74	98.7	100	100
OR178942	RB	R. idaeus	Велика Британія	99.14	99.35	99.35	100	99.14	100	97.81	99.35	95.5	98.05
AY894679.1	Z13-b		Фінляндія	97.13	98.7	96.90	98.05	96.67	98.05	96.68	98.7	95.97	98.7
AY894678.1	Z13	R. idaeus	Фінляндія	96.91	98.7	96.68	98.05	96.45	98.05	96.45	98.7	95.74	98.7
OQ336286	KZWild2	wild red_raspberry	Казахстан	97.14	98.70	96.91	99.35	96.68	99.35	96.69	98.7	95.97	98.7
MW729744	B39	Pr. avium_Ziraat 900	Туреччина	96.45	98.7	96.68	99.35	96.45	99.35	96.45	91.63	96.2	98.7
MW791303	665_	R. idaeus	Туреччина	94.84	95.8	94.6	95.1	94.36	95.1	94.84	95.8	95.05	96.72
OQ168636	TS83	Blackberry cv:Navajo	Туреччина	96.45	98.7	96.68	99.35	96.45	99.35	96.45	100.00	96.2	98.7
AF259797.1	-	R. idaeus	Велика Британія	96.90	99.35	96.68	98.7	96.45	98.7	95.99	98.05	96.2	98.05
EU796088.1	RR-1	R. idaeus	Словенія	96.90	98.7	96.67	98.05	96.44	98.05	96.91	98.7	97.12	98.7
KY417869.1	RR3	R. idaeus	Словенія	96.90	98.7	96.67	98.05	96.44	98.05	96.91	98.7	97.12	98.7
OR178944	D200	R. idaeus	Велика Британія	96.68	98.7	96.45	98.05	96.22	98.05	95.76	97.39	95.97	97.4

AF259794.1	strain M	R. idaeus	Велика Британія	96.8 9	98.6 9	96.6 6	98.0 3	96.4 3	98.0 3	96.8 9	98.6 9	97.1 1	98.7
EU796089.1	CmRR-1	R. idaeus	Словенія	96.6 7	98.0 5	96.4 5	97.3 9	96.2 1	97.3 9	96.6 8	98.0 5	96.8 9	98.0 5
FR687358.1	SE3	R. idaeus	Швеція	96.6 7	98.7	96.9 0	99.3 5	96.6 7	99.3 5	96.6 7	98.7	95.9 6	97.4
AB698500.1	J2	R. idaeus	Японія	96.4 4	98.0 5	96.6 7	98.7	96.4 4	98.7	95.5 1	98.0 5	95.7 3	98.0 5
AB698501.1	J3	R. idaeus	Японія	96.4 4	98.0 5	96.6 7	98.7	96.4 4	98.7	95.5 1	98.0 5	95.7 3	98.0 5
AB948215.1	J1	R. idaeus	Японія	96.4 4	98.0 5	96.6 7	98.7	96.4 4	98.7	95.5 1	98.0 5	95.7 3	97.4
KY308191.1	EB-42	R. idaeus	Аргентина	95.9 8	97.3 9	96.2 1	98.0 5	95.9 7	98.0 5	96.2 1	98.7	95.7 4	97.4
KY417876.1	GR13	V. vinifera	Словенія	95.7 7	98.0 5	95.5 4	97.3 9	95.3 1	97.3 9	94.8 4	96.7 2	95.0 6	96.7 2
KY417870.1	RR5	R. idaeus	Словенія	95.5 3	96.7 2	95.3 0	96.0 5	95.0 6	96.0 5	95.5 4	96.7 2	95.2 9	98.0 5
KY417871.1	RR8	R. idaeus	Словенія	95.3 0	96.7 2	95.0 6	96.0 5	94.8 2	96.0 5	95.3 0	96.7 2	94.5 8	98.0 5
KY417878.1	RR6	R. idaeus	Словенія	95.3 0	96.7 2	95.0 6	96.0 5	94.8 2	96.0 5	95.3 0	96.7 2	95.0 5	98.0 5
KY417875	GR12	V. vinifera	Словенія	95.2 9	97.3 9	95.5 2	98.0 5	95.2 8	98.0 5	95.2 9	98.7	95.0 4	98.7
KY417873.1	GR9	V. vinifera	Словенія	95.0 6	96.7 2	95.2 9	97.3 9	95.0 6	97.3 9	95.0 6	98.0 5	95.2 8	98.0 5
MH802010.1	12G412	V. vinifera	Канада	94.8 2	96.0 5	95.0 6	96.7 2	94.8 2	96.7 2	94.8 2	97.3 9	95.0 5	97.4
KC315892.1	Ec_Az	R. glaucus	Еквадор	94.5 9	94.0 2	94.8 3	94.7	94.5 9	94.7	95.0 7	95.3 8	94.3 4	95.4
EU796087.1	GR-2	V. vinifera	Словенія	94.5 8	96.0 5	94.8 2	96.7 2	94.5 8	96.7 2	94.5 8	97.3 9	94.8 1	97.4
EU796090.1	CmGR-2	V. vinifera	Словенія	94.5 8	96.0 5	94.8 2	96.7 2	94.5 8	96.7 2	94.5 8	97.3 9	94.8 1	97.4
EU796086.1	GR-4	V. vinifera	Словенія	94.3 4	95.3 8	94.5 8	96.0 5	94.3 4	96.0 5	94.3 4	96.7 2	94.5 7	96.7 2
JQ928629.1	114	V. vinifera	Угорщина	94.3 4	96.0 5	94.5 8	96.7 2	94.3 4	96.7 2	94.3 5	97.3 9	94.5 7	98.0 5
KY417872.1	GR7	V. vinifera	Словенія	94.1 0	96.0 5	94.3 4	96.7 2	94.1 0	96.7 2	94.1 0	97.3 9	94.3 3	97.4
MF446640.1	RBDV-HUSZHU	V. vinifera	Угорщина	94.1 0	95.3 8	94.3 4	96.0 5	94.1 0	96.0 5	94.1 0	96.7 2	94.3 3	96.7 2
DQ120126		R. multi-bracteatus	Китай	83.7 0	86.9 2	83.6 8	86.9 2	83.3 9	86.9 2	82.7 8	87.6 6	82.8 2	86.9