

ННЦ «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова»,  
Україна

## ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ВИНОГРАДУ І ЇХ САНИТАРНИЙ КОНТРОЛЬ В ЄВРОПІ: ІСТОРІЯ, СЬОГОДЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВА

*В огляді, який виконано за матеріалами COSTaction FA 1003 “East-West Collaboration for Grapevine Diversity Exploration and Mobilization of Adaptive Traits for Breeding”, описано основні європейські вимоги до дослідження генетичних ресурсів винограду та їх санітарного контролю. З цих позицій проаналізовано особливості генетичних ресурсів винограду України, їх санітарного стану на прикладі колекцій різного спрямування в ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова»*

**Ключові слова:** виноград, генетичні ресурси, колекції, санітарний контроль.

Генетичні ресурси винограду є основою селекції, а отже в певному розумінні і промислового виноградарства. Увага до збереження генетичних ресурсів *Vitis* була викликана так званою їх «ерозією», в тому числі і клоновою селекцією.

**Метою роботи** був аналіз основних європейських вимог до дослідження генетичних ресурсів винограду та їх санітарного контролю та визначення з цих позицій особливостей стану генетичних ресурсів *Vitis* в Україні.

**Вихідними матеріалами** були доповіді COST-action, відомості щодо генетичних ресурсів винограду, які підтримуються в колекціях різного призначення в ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова», дані щодо санітарного контролю цих колекцій.

### **Огляд та аналіз результатів**

#### **Особливості дослідження та зберігання генетичних ресурсів винограду в Європі**

Цілеспрямовані дослідження генетичних ресурсів винограду Європи з метою їх обліку, збереження та консервації розпочалися наприкінці 70-х років минулого сторіччя. Дослідники ініціювали заходи із захисту генетичних ресурсів винограду. В 1982 році робоча група з генетичних ресурсів зробила огляд стану зародкової плазми *Vitis* в Європі. Ця конференція була організована Міжнародною Радою по генетичним ресурсам рослин (IBPGR) [1].

Того ж року Міжнародна організація винограду та вина (OIV) прийняла резолюцію «Колекції та консервація генетичних ресурсів *Vitis* sp» (Резолюція OIV № 2/82). В ній було рекомендовано запровадити підтримку колекцій, підтримку сортів, селекційних ліній та диких видів винограду в колекціях, а також кооперацію і вільний обмін генетичним матеріалом між колекціями та імплементацію міжнародної бази даних.

З того часу європейські виноградарські країни запровадили чисельні проекти щодо опису та зберігання старих автохтонних сортів, їх клонів та диких видів *Vitis vinifera* підвиду *Vitis silvestris*. Відбулося чотири проекти з генетичних ресурсів винограду (Genres081, Black Sea – project, GrapeGen06, COST FA1003 and ECPGR *Vitis* Working group), проводилась широка діяльність з дослідження генетичних ресурсів в межах окремих країн, проводили роботу по створенню дескриптора (подібно до використання FAO/IPGRI Multi Crop Passports Descriptors (MCPD)). При цьому було стандартизовано характеристики у відповідності до угоди щодо дескрипторів більшості автохтонних сортів та генотипування зразків за допомогою рекомендованих 9 SSR-маркерів. Проводилися досліджування відповідно до типу, польова оцінка та підтримка, дослідження популяції *Vitis silvestris*, документування даних в рамках Європейської бази даних *Vitis* [1].

MCPD дані 31 856 зразків з колекцій 22 країн були занесені до Європейської бази даних *Vitis* до квітня 2012 року. Велика кількість зразків підтримується в кожній з 34-х колекцій, що входять до бази даних, за 25 років роботи кількість зразків в колекціях інститутів, що працюють в галузі генетичних ресурсів винограду, значно збільшилась.

Наразі для створення повної картини із стану консервації зародкової плазми в Європі установам слід надати дані щодо існування (та їх відсотку) старих виноградників з великими

рівнями варіабельності; кількості автохтонних сортів із зазначенням тих, що виведені в даній країні, кількість мінорних сортів, кількість забутих сортів та тих, що знаходяться зараз під загрозою зникнення, які існують лише в репозиторіях. Крім цього обов'язково зазначається присутність *Vitis silvestris* у дикому вигляді, стан реалізації поточних проектів з генетичних ресурсів винограду та стан зберігання клонів. Надаються дані щодо існування національних шляхів зв'язку між колекціями та промисловою і науковою діяльністю, а також щодо існування паралельних проектів та програм по зародковій плазмі *Vitis* [1].

Особливості генетичних ресурсів України, зокрема, інституту Таїрова, в контексті європейських досліджень, безперечно, являють собою певний інтерес для загального масиву генетичних ресурсів *Vitis*. З аналізу перелічених вище пунктів витікає, що з точки зору охорони та консервації генетичних ресурсів особливо привабливим в Україні є відносно велика площа старих виноградників (роки закладання орієнтовно з 1975 по 1985 рр), яка складає близько 10 % загальної площі виноградників, тобто біля 8 тис. га, в тому числі, як база для клонової селекції. Якщо певною мірою вважати автохтонами сорти місцевої селекції, то в інституті Таїрова всього виведено 100 сортів, з яких 31 введено до Державного Реєстру сортів рослин України (9 технічних, 21 столовий та 1 підщепний сорт), крім цього є ще близько 120 форм, що теж поповнює генетичні ресурси країни. Консервація клонів винограду базується на клонах власної, української селекції (98 клонів 45 сортів різних напрямків використання) та 36 інтродукованих клонах 12 сортів, які зараз досліджуються спеціалістами інституту в головних виноградарських регіонах України.

Генетичні ресурси *Vitis silvestris* нещодавно почали збирати та вивчати в інституті Таїрова, тому казати про обсяги ще передчасно. Стосовно участі у програмах дослідження та консервування генетичних ресурсів винограду інститут зберігає паритет, одночасно беручи участь в європейських програмах та в українській НТП НААН «Генетичні ресурси рослин».

#### ***Особливості санітарного контролю генетичних ресурсів винограду***

Колекції зародкової плазми винограду мають розглядатися не лише з генетичної, а й з санітарної точки зору, як один з аспектів роботи фіто санітарних служб. Зараз санітарний статус колекцій сортів і клонів винограду в світі лише починає досліджуватися, проте наші знання щодо ступеня ураження винограду вірусними, бактеріальними та фітоплазмовими хворобами дозволяє припустити, що існує реальний ризик виявлення цих хвороб в колекціях та їх подальшого розповсюдження.

Постійна стратегія у відношенні збереження генетичних ресурсів винограду має включати контроль фітопатогенів. Більш того, мобілізація зародкової плазми має продемонструвати можливості зменшення ризику втрати біорізноманіття. В цьому контексті специфічні протоколи циркулювання зародкової плазми між колекціями, включаючи карантинні процедури і фітосанітарний контроль в репозиторіях, мають розроблятися для досягнення консервації здорової зародкової плазми [2].

За останніми даними, виноград уражується 62 вірусами, серед них представниками родів *Secoviridae*, *Closteroviridae* and *Flexiviridae* – найбільш актуальні, оскільки можуть викликати зниження врожаю до 60 % та викликають зниження приживлюваності в полі. Найбільшу загрозу являють віруси коротковузля, мозаїки резухи, віруси скручування листя та вірус А винограду в усіх регіонах світу, а їх контроль мусить полягати в забезпеченні виробництва матеріалу, контрольованого на віруси. Вихідне джерело інфекції надалі розповсюджується переважно несертифікованим садивним матеріалом, яким закладаються виноградники, від якого йде вторинне ураження переносниками. Санітарний контроль садивного матеріалу мусить відбуватися згідно Директиви EU № 2005/43/CE, яка визначає існування мінімального санітарного статусу[2].

Запобігання поширення вірусів потребує ефективних та методів діагностики для їх детекції. ІФА забезпечує просту діагностику, яка доступна навіть просто обладнаним лабораторіям, без зниження чутливості та специфічності. Окрім серологічних методів для невідомих хвороб потрібно застосовувати так звані стратегії детекції широкого спектру. Відповідні можливості надаються ПЛР, що дає можливість ідентифікувати віруси на рівні роду чи сімейства за допомогою праймерів до консервативних вірусних послідовностей. Нещодавно інноваційний підхід в метагеномних стратегіях дозволив характеризувати вірусну популяцію виноградників чи на окремих рослинах та призвів до відкриття нових вірусів [3], чия роль ще вивчається. Ці нові технології нового покоління секвенування глибоко вивчають геном клітини чи тканини або організму, відкриваючи нову еру в дослідженні санітарного статусу рослини та аналізу відносин між рослиною та вірусом [3].

Міністерство сільського господарства Італії провело проект з метою валідації референтних діагностичних протоколів для контролю та моніторингу рослинних патогенів у фітосанітарних

заходах, зокрема, вірусів винограду, в якому брали участь 8 дослідних інститутів, 3 акредитовані приватні лабораторії, 1 служба сервісу рослинного здоров'я та Асоціація виноградних розсадників. В ході виконання проекту було показано, що ІФА є високоефективною технікою, яку можна порівняти з молекулярними методами, хоча, як і очікували, останній був трохи більш ефективним у відношенні до окремих вірусів та специфічних зразків (підщепи та збірні зразки по 5 шт.). На цій базі серологічні та молекулярні методи розглядаються як альтернативні, а їх застосування визначається для різного специфічного застосування [3].

#### ***Ведення генобанків винограду та попередження вірусної інфекції в них***

На експериментальних виноградниках поширення вірусних хвороб через переносників або через діяльність людини призводить до відповідних економічних збитків, втрат часу та може спричинити негативну дію на дослідницьку роботу. Знання щодо епідеміології вірусів та попередня оцінка ризиків інфекції або реінфекції бере до уваги місцеві кліматичні умови, надає базисну інформацію щодо оптимальної системи превентивних заходів. Хоча виноград уражується найбільшою кількістю вірусів серед інших культур, лише деякі з них, що викликають найбільш шкодочинні хвороби (коротковузля, скручування листя та комплекс борознистості деревини) значно поширені та ефективно переносяться нематодами, щитівками та іншими комахами, і, звісно, людиною [4].

На щастя, перенос насінням та пилком не створює жодних проблем для діяльності селекціонерів та навіть більше – генеративне розмноження може розглядатися як альтернативна процедура санітарії. Контроль популяції нематод, незважаючи на невелику кількість видів переносників неповірусів та велику специфічність переносу, дуже важкий, оскільки прямий хімічний контроль за допомогою фумігації як показано, неефективний у відкритому ґрунті, тому можуть допомогти лише превентивні міри проти занесення нематод на ділянку та перевірка ґрунту у випадку повторного закладання насадження а також боротьба з видами рослин-хазяїв нематод.

Щитівки є більш рухомими, переносять віруси напівперсистентним шляхом та за допомогою низькоспецифічного механізму, проте це можливо на усіх стадіях їх розвитку, і через велику кількість поколінь це навіть більш загрозовано, ніж перенос іншими комахами. Навіть якщо є ефективні засоби хімічного контролю, через високу ефективність переносу популяцію, навіть при низькому інфекційному рівні та недоказаності переносу слід постійно контролювати, особливо у сприятливих кліматичних умовах [4].

Проте дуже часто ре-інфекція або повторна інфекція рослин в колекціях відбувається безпосередньо через активність людини, частково через нелегальне ввезення матеріалу в колекцію з інших країн [5], особливо неперевіреного, та через перещеплювання, яке часто відбувається на експериментальних ділянках для тестування нових сортів. Для запобігання цьому слід використовувати відповідну систему заходів, - вибирати оптимальне розміщення, використовувати агрономічні заходи. Ці заходи мають бути раціональними з огляду на їх ціну, можливий тип інтервенції патогену, мету консервування та дослідження. Різні рішення можуть бути запропоновані для сортового генобанку, фонду донорів ознак чи колекцій, первинного джерела сертифікованих клонів, ділянок оцінки нових схрещувань, проте в будь-якому випадку слід дивитися на ризик зараження та ефективно поєднувати виноградарські та фітопатологічні заходи, оптимізувати цю систему, роботу дослідників, управління колекцією, роботу селекціонерів та агрономів.

#### ***Контроль санітарного стану колекцій винограду різного призначення в Україні***

Принципи санітарного контролю на винограді в Україні досить відпрацьовані у відношенні до колекцій (банків) та дослідних ділянок клонів сортів винограду, оскільки він є важливим компонентом системи сертифікації садивного матеріалу винограду. Водночас санітарний контроль в процесі генеративної селекції робить лише перші кроки та не є системним.

Отримані нами багаторічні дані стосовно санітарного стану колекцій винограду різного призначення, що підтримуються в ННЦ «ІВіВ ім. В.С. Таїрова», віддзеркалюють особливості та шляхи поширення вірусної, бактеріальної та фітоплазмової інфекції, а також рівень їх контролю на різних типах колекцій та дослідних ділянок.

Найбільш часто зустрічаються серед вірусних хвороб скручування листя та мармуровість винограду, серед бактеріальних хвороб – бактеріальний рак винограду, фітоплазмові хвороби.

Нами було показано, що ступінь ураження колекцій винограду різного призначення та дослідних ділянок вірусними, бактеріальними та фітоплазмовими хворобами залежить як від джерела походження матеріалу, так і від суворості заходів контролю, які на ній використовуються. Найнижчим є ризик виявлення вірусної інфекції на банку клонів, найвищим – на ампелографічній колекції та клонодослідних

ділянках першого вегетативного покоління. У відношенні до бактеріального раку та фітоплазмових хвороб ризику ураження практично однакові для усіх типів колекцій через швидкий природний перенос.

#### **Висновки**

1. Генетичні ресурси України можуть бути привабливими в системі генетичних ресурсів Європи через високу частку старих насаджень, значну кількість сортів та форм української селекції, високий рівень і результативність клонової селекції.
2. Санітарний контроль для різних типів колекційних насаджень та дослідних ділянок повинен спиратися на диференційований моніторинг таких показників, як перелік хвороб, який пропонується контролювати, обсяг вибірки та періодичність візуального і лабораторного контролю для кожної із хвороб, яку буде включено до цієї системи.

#### **Література**

1. Topfer R. Status of Vitis germplasm conservation in Europe/ Topfer R., Maule E.//Cost Action FA 1003 materials (Sophia, 8-9 of May 2012). – Sophia, 2012. – P. 1 – 2
2. Saldarelli P. Grapevine virus diseases impact and advanced diagnosis of associated agents/ Saldarelli P., Giampetruzzi A., Minafra A., Martelli G.//Cost Action FA 1003 materials (Sophia, 8-9 of May 2012). – Sophia, 2012. – P. 5 – 6
3. Faggioli F. Validation of diagnostic protocol for the detection of grapevine viruses covered by phytosanitary rules/ Faggioli F., Anaclerio F., Angelini E., et al. //Cost Action FA 1003 materials (Sophia, 8-9 of May 2012). – Sophia, 2012. – P. 15 – 16
4. La Notte P. Management of grapevine gene-banks and prevention from virus infection/ La Notte P., Venerito P., Savino V., Martelli G. // Cost Action FA 1003 materials (Sophia, 8-9 of May 2012). – Sophia, 2012. – P. 17 – 18
5. Frausin S. Grapevine propagation material movement and related phytosanitary rules in the EU/ Frausin S.// Cost Action FA 1003 materials (Sophia, 8-9 of May 2012). – Sophia, 2012. – P. 23 – 24

*Мулюкіна Н.А., Ковалева І.А., Герус Л.В., Лосева Д.Ю.*

#### **Изучение генетических ресурсов винограда и их санитарный контроль в Европе: история, настоящее и перспектива**

*В обзоре, выполненном по материалам COSTaction FA 1003 “East-West Collaboration for Grapevine Diversity Exploration and Mobilization of Adaptive Traits for Breeding”, описаны основные европейские требования к изучению генетических ресурсов винограда и их санитарному контролю. С этих позиций проанализированы особенности генетических ресурсов винограда Украины и их санитарного состояния на примере коллекций различной направленности в ННЦ «ИВиВ им. В.Е. Таирова».*

**Ключевые слова:** виноград, генетические ресурсы, коллекции, санитарный контроль.

*Muljukina N.A., Kovaljova I.A., Gerus L.V., Loseva D.Ju.*

#### **Grapevine genetic resources study and sanitary control in Europe: the history, present days and the perspectiveness.**

*The view has been fulfilled according to the materials of COSTaction FA 1003 “East-West Collaboration for Grapevine Diversity Exploration and Mobilization of Adaptive Traits for Breeding”. The main European demands to grapevine genetic resources study and sanitary control have been presented. From this point of view the peculiarities of grapevine genetic resources of Ukraine and their sanitary status have been analysed for the example of NSC “IViW named after V.Ye. Tairov”.*

**Key words:** grapevine, genetic resources, collections, sanitary control