



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра растениеводства, селекции растений и
биотехнологии

Б1.В.02 ФИТОСАНИТАРНЫЙ МОНИТОРИНГ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ

Методы проведения фитосанитарного мониторинга плодовых и ягодных
культур

Направление подготовки 35.03.04 Агрономия

Профиль подготовки Биотехнология в растениеводстве

Квалификация (степень) выпускника

Бакалавр

Уфа 2023

Рассмотрены и одобрены на заседании методической комиссии факультета агротехнологий и лесного хозяйства 23 марта 2023г. (протокол № 6).

Составитель: к.б.н., доцент кафедры растениеводства, селекции растений и биотехнологии Иргалина Р.Ш.,

Ответственный за выпуск зав. кафедрой растениеводства, селекции растений и биотехнологии, к.с.-х.н., доцент Алимгафаров Р.Р.

г. Уфа, ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, кафедра растениеводства, селекции растений и биотехнологии

МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ФИТОСАНИТАРНОГО МОНИТОРИНГА ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР

Цель и задачи работы: оценка фитосанитарного состояния плодовых и ягодных культур, проведение фитопатологического мониторинга, а также изучение разных по механизму действия средств защиты этих культур. выявить наиболее распространенных вредителей, болезней и сорняков, доминирующих в плодовых садах, возделываемых при разных уровнях химизации и анализ путей, источников повреждения, заражения ими вредными организмами.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

Долговечность и продуктивность садов и ягодников во многом зависит от качества посадочного материала, идущего на их закладку. Только здоровый посадочный материал обеспечивает защиту насаждений от практически неискоренимых в полевых условиях вирусов, фитоплазм и других системных патогенов, а также наиболее опасных нематод, клещей и скрытноживущих насекомых. При прочих равных условиях сады и ягодники, посаженные таким посадочным материалом, максимально реализуют свой генетический материал и дают в 1,5-3 раза больше продукции, чем посаженные рядовыми саженцами. Качественный посадочный материал можно получать только в специализированных питомниках, технологически и пространственно изолированных от плодоносящих насаждений, и находящихся под постоянным фитосанитарным контроле. В странах Евросоюза фитосанитарный мониторинг и информационные технологии являются важными элементами системы сертификации посадочного материала плодовых и ягодных культур.

Важной составляющей фитосанитарии в питомниках является фитосанитарный мониторинг. Эффективная защита питомнических насаждений, принятие решения о проведении того или иного защитного мероприятия могут быть осуществлены только после регулярного учёта вредных организмов путём визуальных обследований с отбором контрольных растительных и почвенных образцов. Это обеспечивает не только своевременное выявление и подавление вредителей и болезней, но и удаление путем фитосанитарных прочисток больных, поврежденных и ослабленных растений и их частей. Так как в основу современного производства сертифицированного посадочного материала положены принципы племенного дела, то обследованиям должно предшествовать ознакомление с питомнической документацией и происхождением проверяемых клонов. К таким документам относятся: сертификаты и свидетельства на поступившие

клоны, книга питомника с историей использования полей питомника. Фитосанитарный надзор осуществляют в динамике на протяжении всей технологической цепочки, начиная с инспекции мест произрастания, предназначенных для размножения и оздоровления клонов плодовых и ягодных культур. Растения оценивают в сроки наиболее четкого проявления симптомов поражения или повреждения культур наиболее опасными патогенами и вредителями. При необходимости отбирают образцы для контрольных лабораторных анализов. Для размножения по результатам обследований и лабораторных тестов рекомендуют здоровые и наиболее типичные растения для конкретного сорта. Важным элементом фитосанитарного мониторинга является предпосадочная диагностика растений и почвы (почвенных субстратов), предназначенных для закладки питомнических и маточных насаждений, которую осуществляют заранее до планированной высадки оздоровленных клонов. Диагностику почвы проводят для выявления её зараженности фитопаразитическими нематодами (особенно переносчиков вирусов), а также фитопатогенных грибов и возбудителя корневого рака.

В последние годы широкое распространение во многих странах мира получил метод диагностики фитопатогенов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Он отличается высокой чувствительностью, специфичностью и универсальностью, и позволяет выявлять скрытно живущих патогенов, таких как грибы из рода *Phytophthora*, в растительных и почвенных образцах. Появление новых патогенов в насаждениях плодовых и ягодных культур.

При проведении фитосанитарного мониторинга регулярно учитывают следующие данные: 1) фенологию и состояние посадок;

2) распространение, фенологию, биологические особенности и динамику численности вредных организмов и их основных естественных врагов;

3) поврежденность (пораженность) растений вредителями, возбудителями заболеваний и абиотическими факторами среды, засоренность сорняками;

4) эффективность профилактических мероприятий, в т.ч. агротехнических и севооборота;

5) эффективность текущих защитных мероприятий.

Вирусологический фитосанитарный мониторинг в питомниководстве

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – экспериментальный метод вирусологии, способ значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК, РНК) в тестируемом

материале (пробе). В основе метода ПЦР лежит многократное удвоение определённого участка ДНК (РНК) при помощи ферментов *in vitro*. В результате нарабатываются количества ДНК (РНК), достаточные для визуальной детекции. При этом происходит копирование только того участка, который соответствует определённому возбудителю, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце

Во время первого обследования выявляют мозаику (ApMV) и пролиферацию (Apple proliferation ph.) яблони, кольцевую мозаику груши (ACLSV); на вишне и черешне – некротическую (NRSV) и хлоротическую кольцевые пятнистости (PDV), желтую мозаику (PLPV), зеленую кольцевую пятнистость (CGRMV), болезни типа rasp leaf, скручивание листьев черешни (SCLRV); на сливе – шарку (PPV), ленточный узор (PLPV), карликовость сливы (PDV); на абрикосе и персике – шарку (PPV), ленточный узор (PLPV), кольцевую пятнистость (PNRSV, PDV). Признаки перечисленных заболеваний проявляются на листьях. В начале созревания плодов проявляются симптомы вируса шарки (PPV) на плодах абрикоса и персика, желтухи вишни (PDV), некротического пожелтения плодов вишни и черешни, вызванного вирусом ACLSV, а также X-болезни косточковых культур, зелёной морщинистости плодов яблони (ASPV). Во время второго обследования (фенофаза съёмной зрелости плодов) выявляются признаки заболеваний типа желтух и все вирусные и вирусоподобные болезни, проявляющиеся в форме поражения плодов: на сливе – шарка (PPV) и псевдошарка (ACLSV); на персике – шарка (PPV), измельчение и деформация плодов, вызванное желтухой и ямчатостью древесины (ASGV); на яблоне – симптомы израстания деревьев, пораженных пролиферацией (Apple proliferation ph.), зеленая морщинистость и звездчатое растрескивание плодов (ASPV), кольцевая пятнистость (ACLV) и мелкоплодность (ACFV); на груше – пожелтение листьев и красная пятнистость листьев (ASPV); болезни отмирания груши, вишни и персика, сопровождаемые ранним пожелтением или покраснением и скручиванием листьев. Очаги инфекции локализуются. Выделенные визуально здоровые сортообразцы активируются. Сортообразцы, выделенные как исходные для последующего оздоровления, тестируют на скрытое заражение вирусными или вирусоподобными заболеваниями методами ПЦР-диагностики, иммуноферментного анализа (ИФА), с помощью биологического тестирования на травянистых или древесных индикатора.

Для проведения полимеразной цепной реакции требуются следующие компоненты:

- ДНК-матрица, содержащая тот участок ДНК (РНК) вируса, который требуется амплифицировать;
- два праймера, комплементарные концам требуемого фрагмента;
- термостабильная ДНК-полимераза;
- дезоксинуклеотидтрифосфаты (А, G, С, Т);
- ионы Mg^{2+} , необходимые для работы полимеразы;
- буферный раствор.

Иммуноферментный анализ (ИФА) – диагностика, основанная на высокой избирательности и специфичности иммунологических реакций “антиген-антитело”. Различают несколько десятков модификаций ИФА. В диагностике вирусов растений наибольшее распространение получил твердофазный гетерогенный иммунный анализ – ELISA (enzyme linked immunosorbent assay). Для иммуноферментного анализа используются полистирольные тест-планшеты, на стенках лунок которых заранее адсорбируется антиген. Исследуемый образец вносится в лунку планшета. При этом гомологичные антигену антитела прикрепляются к нему. Не прикрепившиеся антитела удаляются промыванием. Далее в лунки вносят антитела против тестируемых иммуноглобулинов (антител), меченые ферментом. Если в исследуемом образце присутствовали определяемые антитела, то они на этом этапе выступают в роли антигенов, с которыми прореагируют меченые антитела. Добавление после промывки хромогенного вещества (красителя) позволяет учесть реакцию по развивающемуся окрашиванию в ячейках. Интенсивность окраски при этом пропорциональна количеству фермента и, следовательно, количеству антител. Результат оценивается спектрофотометрически или визуально. При измерении оптической плотности (ОП) жидкости в лунке и сравнении ее с контрольным образцом подсчитывается концентрация антител в единицах объема. Наиболее часто применяется подсчет результатов в единицах оптической плотности. В зависимости от того, какие антигены используются, все иммуноферментные тест-системы для выявления антител подразделяются на лизатные, в которых используется смесь нативных антигенов (лизированный или обработанный ультразвуком возбудитель инфекции, полученный в культуре); рекомбинантные – в которых используются полученные генноинженерным способом белки-аналоги определенных белковых антигенов возбудителя; пептидные – использующие химически синтезированные фрагменты белков.

Биологическое тестирование выполняется на древесных и травянистых индикаторах. Тестирование на древесных индикаторах заключается в заражении способом множественной окулировки (5-6 глазков или щитков тестируемого растения) индикаторных растений. Биологическое тестирование земляники садовой проводится способом микропрививки черешков листьев индикаторного растения клинообразно заточенными черешками листьев тестируемых образцов. И древесные и травянистые индикаторные растения выращиваются предварительно, культивируются в контейнерах с закрытой корневой системой в условиях строгой изоляции. Период ожидания у травянистых индикаторов – 30-60 дней, у древесных индикаторов – 45 дней-3 года. Для повышения надёжности и эффективности диагностики на основе тестирования с помощью древесных индикаторов разработана “Биологическая актуализованная диагностика”. Принцип методики состоит во внедрении (способом окулировки или прививки) и постоянном присутствии биологических индикаторов наиболее опасных заболеваний в организмах тестируемых растений. При проникновении вирусной или фитоплазменной инфекции в растение индикатор сигнализирует об инвазии, даже если течение болезни проходит латентно. Для подготовки теста в летний период вызревшие черенки древесных индикаторов заготавливаются с тестируемых безвирусных маточных растений. Сортимент биологических индикаторов приведён в рекомендациях по выращиванию безвирусного посадочного материала плодово-ягодных культур и винограда.

Учет численности вредителей плодовых и ягодных культур проводят во все фенологические фазы развития растений.

Наблюдения за динамикой численности вредителей в период вегетации проводят на 7-10 деревьях основных сортов раннего, среднего и позднего сроков созревания. При достижении суммы эффективных температур 450°C (порог 10°C) на модельные деревья яблонь, а также на расположенные поблизости деревья с хорошим урожаем накладывают ловчие пояса, не менее 20 на каждое. Пояса просматривают с интервалом 10 дней.

Готовят пояса из полосок мешковины или плотной бумаги шириной 20 см, размещают на высоте 50-70 см от поверхности почвы, перевязывают плотно шпагатом по верхнему и нижнему краям и оставляют до осени. После уборки урожая их снимают и определяют число зимующих гусениц яблонной плодовой гусеницы, самок боярышничкового и обыкновенного паутинного клеща и других вредителей. При маршрутных обследованиях выявляют общий характер

заселения плодовых насаждений в хозяйствах, очаги карантинных объектов и видов, которым свойственно локальное распространение.

Обследование проводят в период распускания почек (фенофаза зеленого конуса) и в фенофазе обособления бутона. В эти два срока выявляют тлей, клещей, листоверток и листогрызущих гусениц других видов чешуекрылых, яблонного цветоеда.

Сразу после цветения уточняют заселенность садов листовертками и другими листогрызущими видами чешуекрылых, минирующими молями, тлями, клещами, восточной плодовой жоржкой.

Через 20-30 дней после окончания цветения

Библиографический список

1. Ганиев, М. М. Оценка фитосанитарного состояния агроэкосистем [Текст] : учеб. пособие / М. М. Ганиев. - Уфа : БГАУ, 2008. – 236
2. Ганиев М.М. , Недорезков В.Д. Защита полевых культур от вредителей и болезней (справочное издание) – Уфа: БГАУ, 2008. – 244 с.
3. Защита растений в устойчивых системах землепользования / Под общей редакцией доктора с.-х. наук, профессора Д. Шпаара. – Торжок: ООО «Вариант», 2003. Книга 1. 392 с.

