

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ «МАГАРАЧ» РАН»

*На правах рукописи*

**Володин Виталий Александрович**

ЭКОЛОГИЗАЦИЯ ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА  
ПРИВИТЫХ ВИНОГРАДНЫХ САЖЕНЦЕВ В УСЛОВИЯХ КРЫМА

Специальность: 06.01.08 - Плодоводство, виноградарство

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:

доктор сельскохозяйственных наук,

профессор

Странишевская Елена Павловна

Краснодар – 2016

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ВИНОГРАДНОГО ПИТОМНИКОВОДСТВА.....	13
1.1 Общие сведения о технологии производства привитого посадочного материала винограда.....	14
1.2 Фитосанитарный контроль при производстве привитого посадочного материала винограда.....	19
1.2.1 Фитосанитарный мониторинг грибных патогенов при производстве привитого посадочного материала винограда, их влияние на качественные показатели.....	28
1.2.2 Защитные мероприятия от возбудителей грибных болезней на различных этапах производства привитых саженцев.....	31
1.2.3 Использование биофунгицидов для защиты от грибных болезней.....	36
1.3 Симптомы и вредоносность вирусных и бактериальных фитопатогенов винограда.....	40
1.4 Молекулярная диагностика экономически значимых вирусных и бактериальных инфекций винограда.....	54
1.5 Применение биологически активных веществ в виноградном питомниководстве.....	57
2 УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	62
2.1 Агрометеорологические условия в годы проведения исследований.....	62
2.2 Объекты исследований.....	67
2.3 Характеристика испытываемых биопрепаратов и регуляторов роста растений.....	73
2.4 Методики проведения исследований.....	74
2.4.1 Тестирование вирусных и бактериальных инфекций в растительных образцах винограда методами ОТ-ПЦР, ПЦР, ИФА.....	74
2.4.2 Полевые и лабораторные методики.....	77
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	81

3.1 Фитосанитарный мониторинг патогенов на участках отбора лоз.....	81
3.1.1 Фитосанитарный мониторинг вирусных и бактериальных заболеваний по внешним (визуальным) признакам.....	82
3.1.2 Тестирование латентной стадии основных вирусных и бактериальных инфекций GFLV, GLRaV, RWC, <i>Agrobacterium tumefaciens</i> в исходном материале винограда.....	86
3.2 Влияние погодных условий на интенсивность развития грибных болезней в исходном материале винограда в условиях Крыма .....	97
3.3 Интенсивность развития и локализация грибных патогенов при разных технологических условиях производства привитых черенков.....	102
3.3.1 Влияние технологических условий хранения черенков подвоя и привоя на развитие грибных патогенов.....	103
3.3.2 Влияние технологических условий стратификации привитых черенков на интенсивность распространения и локализацию возбудителей грибных болезней.....	109
3.4. Биологическая эффективность защитных мероприятий от грибной патогенной микрофлоры на разных этапах выращивания привитого посадочного материала винограда.....	115
3.4.1 Биологическая эффективность биопрепаратов при обеззараживании черенков привоя и подвоя.....	115
3.4.2 Биологическая эффективность защитных мероприятий от грибной патогенной микрофлоры при стратификации привитых черенков.....	118
3.5 Выход и качественные показатели привитых черенков винограда.....	122
3.6 Биологическая эффективность биопрепаратов и регуляторов роста растений при выращивании привитого посадочного материала .....	125
3.7 Качество привитого посадочного материала после выкопки из виноградной школки.....	132
3.8 Экономическая эффективность усовершенствованной технологии выращивания привитых саженцев винограда на основе использования экологически безопасных средств защиты в условиях Крыма.....	138

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	142
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ.....	147
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	149
СПИСОК ТЕРМИНОВ.....	150
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	152
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	180

## ВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Современная концепция стабильного производства винограда основана на стратегии формирования высокопродуктивных устойчивых ампелоценозов. Фундаментом стабильного развития виноградарской отрасли является питомниководство, уровень развития которого определяет главные позиции отрасли – срок эксплуатации виноградных насаждений, их потенциальную и фактическую продуктивность, устойчивость к биотическим и абиотическим факторам, экономическую эффективность производства в целом [34, 56, 84, 164].

Стратегией экономического и социального развития Республики Крым до 2020 года является расширение виноградных насаждений и увеличение производства привитого посадочного материала в Крыму. В связи с этим, планируется проводить ремонт существующих плодоносящих насаждений и ежегодную закладку не менее 6 000 га новых виноградников ежегодно. Для этого питомники должны обеспечивать высокий выход саженцев винограда свободных от грибной, вирусной и бактериальной инфекции [83, 143].

В результате исследовательских работ, проводимых такими учеными как: Вердеревский Д.Д., Васелашку Е.Г., Недов П.Н. Козарь И. М., Надежкина Н.Д., Попушой, И. С., Талаш А.И. и др. по изучению видового состава грибных патогенов на разных этапах производства посадочного материала, отмечена их специализация к технологическим условиям выращивания. Однако, такие возбудители грибных болезней как *Plasmopara viticola*, *Oidium tuckeri*, *Gleosporium ampelophagum*, *Botrytis cinerea*, *Phomopsis viticola*, *Coniotirium diplodiella*, *Rhacodiella vitis*, заселяют и поражают все надземные части виноградной лозы в любой стадии развития. В том числе и при выращивании подвоя и привоя, при его хранении, на стадии стратификации привитых черенков и при выращивании саженцев в школке [5, 10, 23, 24, 25, 54, 74, 84, 162, 163]. Определение видового состава грибных патогенов на растительном материале позволяет использовать наиболее эффективные специальные защитные мероприятия на каждом этапе производства и повышать качество и общий выход посадочного материала винограда.

Вирусные и бактериальные болезни часто являются системными инфекциями, возбудители которой присутствуют в тканях и органах пораженного растения до полной гибели последнего. В условиях интенсификации питомниководства производство привитого посадочного материала свободного от вирусной и бактериальной инфекций, возможно только при строгом соблюдении требований и регламентов фитосанитарной селекции. При этом основным профилактическим мероприятием при отборе растительного материала является молекулярная диагностика тестирования их латентной стадии [81, 95, 120, 122, 225, 256, 274].

Химический метод борьбы с патогенной микрофлорой при производстве саженцев является наиболее распространенным, поскольку традиционно для сдерживания развития грибных патогенов в технологическом цикле применяют средне- и высокотоксичные пестициды. Отмечены случаи, когда в результате фитотоксического действия растворов фунгицидов на паренхимные клетки, расположенные вблизи сосудов, привитые саженцы отставали в росте и развитии, а изреженность виноградных насаждений, заложенным таким материалом, достигала 20% и с возрастом увеличивалась.

Установлено, что после постоянного применения пестицидов появляются более агрессивные и устойчивые штаммы грибных патогенов, а также усиливается загрязнение окружающей среды и негативное воздействие на работников питомниководческих комплексов [28, 62, 80, 226, 268].

В последнее время четко намечен переход к сокращению обработок химическими препаратами либо отказ от них полностью в период выращивания плодоносящих насаждений. Также возникла необходимость в изучении механизма действия экологически безопасных препаратов на разных этапах производства посадочного материала. В связи с этим усовершенствование отдельных элементов технологии выращивания привитых виноградных саженцев с использованием экологически безопасных пестицидов и регуляторов роста растений является актуальной проблемой и требует поиска путей ее теоретического и практического решения. Решению этих проблем и посвящена данная работа.

**Цель исследований** – научно обосновать возможность экологизации элементов технологии производства привитых виноградных саженцев на основе использования биологических фунгицидов и биологически активных веществ (регуляторов роста растений), современных методов диагностики возбудителей вирусных и бактериальных болезней винограда, распространенных на территории Крыма.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Определить основной видовой состав, распространение и интенсивность развития фитопатогенных микроорганизмов на участках отбора лоз, в период хранения привойных и подвойных лоз винограда, при стратификации привитых черенков, выращивании привитых виноградных саженцев.

2. Оценить растения привойных и подвойных сортов на наличие вирусных и бактериальных инфекций по внешним признакам и выполнить молекулярную диагностику латентной стадии инфекции.

3. Оценить биологическую эффективность экологически безопасных средств защиты и биологически активных веществ на разных этапах производства привитых виноградных саженцев.

4. Изучить влияние биофунгицидов и биологически активных веществ на качественные показатели привитых черенков, на выход стандартных виноградных саженцев из школки.

5. Рассчитать экономическую эффективность экологизированной технологии производства привитых виноградных саженцев.

*Объект исследований*: экологизированная технология выращивания привитых виноградных саженцев; оценка биологической эффективности экологически безопасных препаратов и их влияние на качественные показатели привитых черенков, выход привитых саженцев из школки; молекулярная диагностика латентной стадии вирусных и бактериальных инфекций.

*Предмет исследований*: технологические этапы производства привитого посадочного материала; количественные и качественные характеристики привитых

черенков и саженцев винограда; комплекс грибных болезней, распространенность и интенсивность их развития; вирусная и бактериальная инфекция; эффективность биофунгицидов и биологически активных веществ.

### **Научная новизна полученных результатов.**

Усовершенствованы элементы технологии производства привитых саженцев винограда на основе применения экологически безопасных средств защиты и биологически активных веществ.

Впервые молекулярная диагностика латентной стадии комплекса вирусных и бактериальных фитопатогенов *GFLV*, *GLRaV-1*, *-2*, *-3*, *RWC*, *Agrobacterium tumefaciens*, фитоплазмы винограда у исходных привойного и подвойного сортов, была включена как элемент технологии производства привитого посадочного материала. Полученные результаты включены в базу данных «Распространение вирусных фитопатогенов винограда *Vitis vinifera* L. на территории Крыма», № 2016620355.

Определен видовой состав возбудителей грибных болезней на черенках винограда в период хранения, при стратификации привитых черенков, выращивания саженцев в школке.

Впервые показана высокая биологическая эффективность биофунгицидов Гуапсин, 0,2 %, и Триходермин, 0,5%, в защите растительного материала от десяти грибных патогенов на разных этапах производства привитых виноградных саженцев.

Изучено влияние биофунгицидов Гуапсин, 0,2 %, Триходермин, 0,5%, и биостимуляторов Атоник Плюс, 0,02%, Гумисол, 0,01%, на активизацию каллусообразования у привитых черенков винограда и качественные показатели привитых виноградных саженцев.

### **Практическое значение полученных результатов.**

На основных этапах производства привитых виноградных саженцев идентифицировано 10 видов возбудителей грибных болезней, среди которых наиболее распространенными являются: *Phomopsis viticola* – до 76,3%, *Alternaria spp.*

– до 56,7%, *Cladosporium herbarum* – до 50,1%, *Trichotecium roseum* – до 43,1%, *Botrytis cinerea* – до 30,0%.

Молекулярная диагностика исходного растительного материала на наличие скрытых (латентных) инфекций позволила заготовить и заложить в опыт черенки винограда, свободные от основных экономически значимых вирусных и бактериальных болезней.

Для расширения ассортимента фунгицидов и биологически активных веществ, используемых в питомниководстве, проведена оценка эффективности и показана перспективность использования двух биопрепаратов: Гуапсин, 0,2 %, Триходермин, 0,5%, и регуляторов роста Атоник Плюс, 0,02%, Гумисол, 0,01%. Их использование на разных этапах производства п

ривитого посадочного материала винограда позволяет сдерживать интенсивность развития патогенов на экономически неощутимом уровне, не влияющим на качественные и количественные характеристики привитых черенков и саженцев. Биологическая эффективность изучаемых биологических препаратов при использовании их в период хранения черенков составила: против комплекса плесневых грибов 66,9 и 65,8%, против черной пятнистости 28,0 и 16,8%; в период стратификации против комплекса плесневых грибов 67,7-78,1%, против черной пятнистости – 52,6-54,7%; в школке против милдью – 74,4 и 77,0 %.

Разработана технология использования экологически безопасных биофунгицидов Гуапсин, 0,2 % и Триходермин, 0,5%, на основных технологических этапах производства привитого посадочного материала: однократное обеззараживание черенков подвоя и привоя перед закладкой на хранение; 7-8 - кратная обработка привитых черенков при стратификации «на воде» и однократная – при стратификации во влагоудерживающим материале; шестикратное опрыскивание вегетирующих растений в школке, первое в I-II декаде июня, последующие через 14 дней.

Усовершенствованная технология производства привитого посадочного материала позволила увеличить выход качественных привитых черенков на 3,8-

9,1%, увеличить приживаемость привитых черенков после высадки в школку на 5,7-7,3%, выход стандартных привитых саженцев – на 20,0-35,1 %.

Применение биофунгицидов и биологически активных веществ на основных этапах производства привитого посадочного материала позволяет снизить себестоимость одного саженца с 14,14 до 13,24-13,59 рублей; величить выход стандартных саженцев на 26,1-53,6%; рентабельность производства на 6,8-35,5%.

**Методология и методы исследований.** Для решения поставленных задач проводили полевые и лабораторные исследования при помощи общепринятых методик и определителей. Полевые исследования – для учета распространения грибных болезней с участков отбора лоз; оценки наличия растений с внешними признаками поражения вирусными и бактериальными инфекциями; оценки эффективности защитных мероприятий от грибных болезней. Лабораторные исследования – для видовой диагностики возбудителей грибных болезней и учетов их развития на растительном материале на разных этапах производства привитого посадочного материала; тестирования молекулярными методами латентных стадий вирусных и бактериальных болезней исходного материала для производства привитых виноградных саженцев, свободных от вирусной и бактериальной инфекций. Математически-статистический метод – для расчета экономической и биологической эффективности, определения достоверности полученных результатов и выявления зависимостей между исследуемыми показателями.

**Положения, выносимые на защиту:**

- комплексное применение биофунгицидов Гуапсин, 0,2 %, Триходермин, 0,5% и биостимуляторов Атоник плюс, 0,02%, Гумисол, 0,01%, на разных этапах выращивания посадочного материала, в целях повышения категории качества привитых саженцев из школки;

- видовой состав патогенной микрофлоры и места их локализации на участках отбора привойного сорта Алиготе и подвойного Кобер 5ББ, на черенках подвоя и привоя в период хранения, в период проведения стратификации, в школке;

- применение молекулярной диагностики растений винограда на наличие латентной стадии вирусных и бактериальных болезней в целях получения посадочного материала, свободного от основных фитопатогенов винограда.

**Степень достоверности результатов** подтверждается экспериментальным материалом, полученным автором, проанализированным и обобщенным с использованием статистических и математических методов, выводами и рекомендациями производству, а также публикациями, отражающими основные результаты диссертационных исследований.

### **Апробация и реализация результатов исследований**

Результаты исследований по выявлению бактериальных и вирусных инфекций на этапе заготовки исходного материала были включены в базу данных «Распространение вирусных фитопатогенов винограда *Vitis vinifera* L на территории Крыма» (свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2016620355, приложение А). Разработанная технология выращивания посадочного материала внедрена в питомнике АФ «Ария-Н» при производстве 5000 привитых черенков (приложение Б).

Основные результаты диссертации докладывались на секциях Ученого совета по виноградарству НИВиВ «Магарач» (2012-2014 гг.), международной научно-практической конференции (Нальчик, 2015 г.), 18-й конференции Международного Совета по изучению вирусных и вирусоподобных болезней винограда (18th Conference of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine) (Турция, Анкара, 2015 г.), II Всероссийской научной конференции молодых ученых с международным участием «Современное состояние, проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса (Симферополь, 2016 г.).

По результатам диссертации, опубликовано 14 научных трудов, из них 9 статьи опубликованы в научных изданиях, рекомендуемых ВАК при Министерстве образования и науки России, 2 публикации – в материалах научно-практических конференций, свидетельство о регистрации базы данных: «Распространение вирусных фитопатогенов винограда *Vitis vinifera* L. на территории Крым».

**Личный вклад соискателя** заключается в непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, наблюдений, анализе полученных результатов, математической обработке и подготовке к печати материалов. Автором лично по теме диссертации проанализированы источники научной, технической, патентной литературы, что позволило выбрать направление исследований. Определение задач исследования, обсуждение и обобщение полученных результатов проводили совместно с научным руководителем и сотрудниками отдела биологически чистой продукции и молекулярно-генетических исследований.

Автор искренне благодарит сотрудников отдела биологически чистой продукции и молекулярно-генетических исследований и отдела агротехники ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач»: к. б. н. Рисованную В.И., к. б. н. Гориславец С.М, к.с.-х.н. Матвейкину Е.А., к.с.-х. н. Шадуру Н.И., к.с.-х. н. Волкова Я.А., д. с.-х. н., профессора Странишевскую Е.П., д. с.-х.н. Бейбулатова Магомедсайгит Расуловича за всесторонне оказанную помощь при написании данной диссертационной работы.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа изложена на 190 страницах компьютерного текста, включает введение, 3 основных раздела и 28 подразделов, выводы и рекомендации производству, список терминов, список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы и приложения, в которых размещены 14 таблиц и 3 акта внедрения результатов исследований в производство. Основной текст иллюстрирован 26 таблицами и 21 рисунком. Список использованной литературы содержит 277 источников, в том числе 68 иностранных.

## 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ВИНОГРАДНОГО ПИТОМНИКОВОДСТВА

В успешном развитии виноградарства, как отрасли, основное место занимает питомниководство, а с конца девятнадцатого столетия особое значение приобретает выращивание привитого посадочного материала.

Благодаря наличию благоприятных почвенно-климатических условий виноградарство является одной из основных отраслей сельского хозяйства на территории Крыма. Однако, в настоящее время площадь виноградных насаждений на территории Крыма составляет 31,1 тыс. га (25,4% от общей площади виноградных насаждений в Российской Федерации), что на 74% меньше, чем в 1984 г. Необходимо отметить, что сейчас 14564,8 га (46,6%) всех виноградных насаждений Крыма имеют срок эксплуатации более 25 лет, и только 6108,5 га (20%) посадок моложе пяти лет и являющийся перспективными для дальнейшей эксплуатации [83].

Для увеличения площадей виноградных насаждений в Крыму до 60-70 тыс. га необходимо ежегодно увеличивать закладку виноградных насаждений до 6200 га ежегодно. Однако, питомниководческая база виноградарства Крыма представлена отдельными, в основном, мелкими производителями посадочного материала, большинство которых специализируются на производстве рядовых корнесобственных саженцев, что в свою очередь не удовлетворяет в полной мере всех потребностей отрасли.

В настоящее время актуальным является создание современной виноградной питомниководческой базы, которая сможет ежегодно производить около 8,0 млн. шт. саженцев (84% от потребности), обеспечивая тем самым потребность отрасли виноградарства Крыма в посадочном материале. Важным звеном в виноградном питомниководстве является научный подход на базовой стадии развития – выведении высокопродуктивных, устойчивых к болезням сортов винограда и получении свободного от вирусных, бактериальных и грибных болезней посадочного материала.

Производство такого посадочного материала должно основываться на научном подходе, одним из основных приемов этапов производства, которого является проведение защитных мероприятий на основе использования эффективных средств защиты [36, 37, 64, 74, 76, 165, 237].

В последние годы одним из основных современных направлений защиты растений является использование экологически безопасных средств защиты, в т.ч. биопрепаратов, биологически активных веществ при производстве привитого посадочного материала с целью получения привитых саженцев, в том числе, свободных от инфекционных болезней. Этому актуальному вопросу и посвящена данная работа.

### **1.1 Общие сведения о технологии производства привитого посадочного материала винограда**

Технология производства привитого посадочного материала винограда является сложным процессом, объединяющим организационные, агротехнические и экономические мероприятия, проводимые с целью обеспечения отрасли виноградарства посадочным материалом высокого качества [29, 45, 46, 47, 52, 64, 104, 106, 118, 141, 152, 157]. Начиная с конца девятнадцатого века значительный вклад в разработку, внедрение и усовершенствование этапов, режимов, материалов внесли многие ученые, питомниководы, селекционеры, в частности: Боровиков Г. А., Колесник Л. В., Мишуренко А. Г., Николенко В. Н., Кучава Г. Д., Субботович А. С., Драновский В. А., Дженеев С. Ю., Вильчинский В. Ф., Громаковский И. К., Малтабар Л. М. и другие [17, 18, 19, 32, 46, 49, 53, 58, 78, 106, 119, 128, 176, 182].

На практике технология производства привитых саженцев винограда является технологическим циклом, который занимает продолжительный период и состоит из последовательно проводимых операции и технологических приемов: заготовка и хранение подвойных и привойных черенков, вымачивание и обеззараживание компонентов прививки, прививка черенков привоя на подвой,

стратификация и закалка привитых черенков винограда, высадка и уход за привитыми виноградными черенками в виноградной школке, выкопка и хранение привитых виноградных саженцев [46, 49, 101, 118, 152].

Целью виноградного питомниководства является получение высокого выхода стандартных привитых саженцев свободных от грибных, вирусных и бактериальных инфекций. Фундаментом являются процессы каллусогенеза в месте спайки черенков привоя и подвоя, влияние температуры и относительной влажности воздуха в хранилище на оводненность тканей и содержание запасных веществ в черенках, в стратификационной камере – на ростовые, регенерационные процессы привитых черенков винограда, и проведение защитных мероприятий на основных этапах производства привитых саженцев винограда [49, 71, 80, 85, 114].

Предложенная технология производства привитого посадочного материала винограда, применяемая в современном питомниководстве, является результатом поиска эффективного способа защиты виноградных насаждений европейских сортов от интенсивного распространения филлоксеры и массовой гибели виноградных кустов. Идея использования американских лоз для прививки на них «благородных» европейских сортов в борьбе с филлоксерой принадлежит Лалиману и Базийю [50, 71, 119].

Первые партии привитых черенков окучивались влагоудерживающим субстратом, как результат, – возникла сложность с поддержанием оптимальной влажности окружающего место спайки субстрата и возможностью избежать инфицирования привитых черенков патогенными микроорганизмами и предотвращения активного ризогенеза привойной части прививки [71, 119, 182].

Идеи В.Е. Таирова о производстве отечественного посадочного материала свободного от вредных организмов милдью, антракноза, оидима, серой и черной гнилей и др., поддержаны такими учеными, как: Боровиков А. Г., Мишуренко А. Г., Субботович А. С., Драновский В. А. и другими [17, 18, 19, 32, 46, 49, 53, 58, 71, 78, 119, 182].

Изучение процессов каллусогенеза, а также роста и развития виноградных саженцев позволило перейти к производству качественного привитого посадочного материала винограда. Одним из важных вопросов являлось изучение влияния технологических условий производства на сохранение запаса питательных веществ и оводненности тканей в черенках. Для этого в период хранения было проведено ряд исследовательских работ, направленных на изучение влияния температуры и относительной влажности воздуха на интенсивность физиологических процессов транспирации и дыхания черенков привоя и подвоя при хранении. Анализ данных, полученных в исследованиях Е. А. Макаревской, Л. М. Малтабара, А. С. Субботовича, С. И. Унгурияну, А. Г. Мишуренко, позволяет сделать вывод о том, что оптимальной температурой хранения черенков привоя в камере является  $+2...+4^{\circ}\text{C}$ , а черенков подвоя –  $0...-2^{\circ}\text{C}$ , при этом относительная влажность воздуха должна быть на уровне 80-90%. Полученные результаты показывают, что при низкой положительной температуре воздуха в черенках привоя и подвоя сохраняется относительно большой запас питательных веществ, которые при соответствующих условиях предпрививочной подготовки и стратификации являются основой для дальнейшего прохождения процессов сращивания компонентов прививки. При хранении компонентов прививки в температуре воздуха ниже  $0^{\circ}\text{C}$  замечено пониженное содержание полифенолов и повышенное процентное соотношение растворимых веществ в воде фракций дубильных веществ к щелочерастворимой, что влияет на интенсивность метаболических процессов, а также повышается укореняемость привитых черенков в виноградной школке [99, 100, 106, 118, 176, 187, 262, 275].

Отмечено, что повышение температуры воздуха в период хранения черенков привоя и подвоя до  $+22^{\circ}\text{C}$  замедляет интенсивность физиологических процессов, уменьшается соотношение и перераспределение танинов и полифенолов по всей длине черенка, снижается содержание дубильных веществ в тканях черенков. Таким образом, повышение температуры воздуха при хранении компонентов прививки негативно влияет на каллусообразование регенерационные свойства привитых черенков, уменьшается общий выход и качество привитых

черенков винограда. Снижение влажности тканей черенков в период хранения ниже 46% приводит к увеличению гибели глазков до 25% [106, 118, 176].

В исследованиях Л. М. Малтабара отмечено, что при влажности тканей черенков более 48% и укрытием штабелей полиэтиленовой пленкой при их хранении, отсутствует необходимость в переслаивании черенков винограда влагоудерживающими материалами. Недостатком данного способа хранения – значительная часть глазков черенков привоя выпревают, что снижает выход и качество привитых виноградных черенков [101, 104].

Ответственным моментом технологии производства привитых саженцев является технологический прием – стратификация привитых черенков. Классическим является способ стратификации, который заключается в проведении стратификации в отапливаемых помещениях с использованием влагоудерживающих материалов. Преимуществом данного способа является обеспечение стабильных условий температуры субстрата и относительной влажности для образования раневой ткани в месте спайки компонентов прививки. Изначально в качестве субстрата для стратификации использовали: торф, мох, песок. В последствии начали применять различные влагоудерживающие материалы: перлит, глауконит, опилки, и т.д. однако, неизученность процессов происходящих при стратификации снижало выход и качество привитых черенков [71, 119, 182].

Было установлено, что способы стратификации привитых черенков в значительной степени определяют выход и качество посадочного материала винограда. Поэтому работа в этом направлении проводилась достаточно активно, в результате был предложен ряд способов проведения стратификации, которые можно разделить на:

- закрытый способ - с применением влагоудерживающими материалов;
- открытый способ - без применения и с применением влагоудерживающих материалов при заданной температуре и относительной влажности воздуха, освещении привитых саженцев [15, 19, 31, 33, 46, 47, 51, 58, 59, 107, 128, 141, 142, 188].

Л. М. Малтабар, Л. В. Колесников и др. рекомендовали поддерживать температуру в стратификационных камерах на уровне  $+25+27^{\circ}\text{C}$ ; А. В. Постоюк, Х. Бекер – проводить стратификацию при  $+28+30^{\circ}\text{C}$ , Н. Е. Jacob, N. Varga, V. Рора и др. – рекомендовали в начальный период стратификации поддерживать температуру  $+32+34^{\circ}\text{C}$ , а потом снижать ее до  $+28^{\circ}\text{C}$  [182].

Для улучшения процессов корнеобразования при стратификации было предложено помещать деревянный поддон на дно стратификационных ванн, на который помещались привитые виноградные черенки. Таким образом, корневые бугорки не загнивали. Также было предложено использовать водно-безводный режим в период стратификации, который заключался в периодическом сливе воды из ванн на 8-10 часов для улучшения условий корнеобразования [53, 57].

В дальнейшем Букатарь и Константинеску улучшили процесс стратификации «на воде», рекомендовав проводить процесс в атмосферном воздухе с высокой влажностью с периодическим погружением в воду нижней части подвоя на глубину 5-7 см, без применения их во влагоудерживающих материалах. Недостатком являлось ухудшение корнеобразовательной способности нижней части подвоя после пребывания ее в воде во время стратификации [19, 46].

Как один из путей решения проблемы повышения качества и увеличения выхода привитых саженцев и снижения затрат на производство, на основе изучения вышеупомянутых вопросов, в 1962 году В. Г. Николенко разработал первую промышленную технологию бессубстратной стратификации, которая проводилась в 3 этапа в световых камерах с подачей кондиционированного воздуха [128].

В настоящее время достаточно активно проводятся исследования по повышению качества и количества привитых черенков: изучают влияние различных субстратов на выход привитых черенков и применение различных биологически активных веществ на процессы роста и развития привитых саженцев. Одним из основных результатов исследований, проводимых в привитом питомниководстве стало усовершенствование технологии выращивания

привитого посадочного материала винограда и расширение ареала возделывания виноградного растения [1, 29, 50, 51, 79, 105, 141, 193].

М. А. Никольский рекомендует в дополнение к существующим методикам классических гистохимических исследований по определению физиологического состояния черенков привоя и подвоя применять программы, использующие методы компьютерного зрения с автоматическим подсчетом объектов. Это позволит проводить более эффективное изучение анатомических структур черенков винограда и определять физиологическое состояние черенка [129, 130].

Анализ научной литературы показал, что в настоящее время основным направлением питомниководства является разработка ресурсосберегающих технологий с целью получения высокого выхода качественных привитых черенков свободных от грибных, вирусных и бактериальных инфекций. Необходимо отметить, что если основные технологические условия, и их влияние их на каллусогенез и ростовые процессы изучены в достаточной степени, то возможность использования биологических фунгицидов на различных этапах производства привитых черенков до настоящего времени не изучалась. Соответственно, проведение исследований по усовершенствованию отдельных элементов технологии выращивания привитых саженцев винограда с использованием биологических фунгицидов является актуальной задачей, что и отражено в данной работе.

## **1.2 Фитосанитарный контроль при производстве привитого посадочного материала винограда**

При фитосанитарном обследовании устанавливают наличие болезней на растениях винограда. После выявления растений с симптомами болезни проводят диагностику заболевания, устанавливают его причину, и в случае инфекционного заболевания идентифицируют возбудителя. Для идентификации различных возбудителей инфекционных болезней растений используют следующие методы диагностики: визуальный, использование растений-индикаторов, анатомо-

морфологический метод, культурально-морфологический, ПЦР, ОТ-ПЦР, ИФА [76, 109, 111, 113, 114, 116, 123].

За последние двадцать лет значительно изменилась фитосанитарная обстановка на виноградных насаждениях Крыма. Это вызвано особенностями технологии выращивания, климатическими условиями и импортом посадочного материала, что привело к ввозу новых вредоносных организмов и распространению уже выявленных на территории Крыма патогенов. Эти обстоятельства привели к пересмотру методических подходов оценки поражения посадочного материала грибными, бактериальными и вирусными фитопатогенами [39, 109, 111, 124, 161, 162, 163, 167, 195, 196].

При проведении исследовательских работ такими учеными, как: Д. Д. Вердеревский, Е. Г. Васелашку, Н. Д. Надежкина, Е. А. Березовская, Н. П. Недов, И. М. Козарь, О. О. Березовська, А. Н. Дучак, Н. О. Арестова, установлена четкая специализация патогенных микроорганизмов к этапам технологического процесса [2, 4, 10, 23, 24, 28, 55, 74, 75, 125, ].

Анализ научной литературы показал, что на виноградных насаждениях Республики Крым встречаются, в основном, 15 видов патогенов, наиболее распространены: *Oidium tuckeri* Berk., *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni, *Phomopsis viticola* Sacc, *Gloeosporium ampelophagum* D.B. Jacz., *Botrytis cinerea* Pers., *Coniotirium diplodiella* (Speg.) Sacc. Кроме прямого действия – снижения урожайности на 30%, а в благоприятные годы до 100%, косвенно, поражая растения, они снижают выход и качество черенков, используемых в качестве компонентов прививки [39, 41, 149, 162, 163, 171, 195, 198, 199, 205, 237, 238, 248, 262].

Накопление большого количества многолетней древесины, на которой могут развиваться более 700 видов патогенов, произрастание виноградного растения на постоянном месте, тенденция к снижению количества обработок виноградников фунгицидами, приводит к активному развитию болезней [110, 220, 231, 235, 236, 242].

В опыте, проведенном Световым В.Г., при использовании влажной камеры, было установлено, что состав грибов на виноградной лозе довольно разнообразный и включает до 30 видов из родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Mucor*, *Phoma*, *Penicillium*, *Pythium*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Verticillium* и т.д. Наиболее распространенными видами грибных патогенов, которые встречались постоянно и являлись доминирующими, являлись *Alternaria tenuis*, *Trichothecium roseum*, *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Phoma sp.* Как показал анализ, указанные грибы особенно сильно развивались на глазках (почках) и в прилегающей к ним зоне, на однолетней лозе, листовом аппарате и гроздях [162, 163].

Характерной особенностью технологии выращивания привитых саженцев винограда является то, что на каждом этапе технологического процесса создаются оптимальные технические условия (температура и относительная влажность воздуха) для прохождения процессов регенерации тканей и образования новых органов привитого черенка и привитого саженца. Однако, данные условия являются также благоприятными для развития патогенной микрофлоры.

Далее приводим краткую характеристику патогенов и их приуроченность к этапам производства привитого посадочного материала.

*Участки отбора привойных и подвойных лоз.* Грибные болезни являются вредоносными и, при благоприятных климатических условиях могут интенсивно развиваться на виноградном растении, вызывают различные пятнистости, некрозы, усыхание отдельных органов и всего куста в целом.

В зависимости от климатических особенностей и условий агротехники на участках отбора лоз развиваются такие патогены, как: милдью, оидиум, черная пятнистость, серая гниль, инфекционное усыхание виноградных кустов, эска; вирусные болезни – короткоузлие, скручивание, бороздчатость, мраморность; из бактериальных – бактериальный рак [2, 4, 27, 54, 75, 96, 143, 181, 224, 227, 237, 257].

*Милдью, или ложная мучнистая роса.* Возбудитель – гриб *Plasmopara viticola Berl. et de Toni*, – относится к классу Oomycetes, порядок Peronosporales.

Узкоспециализированный патоген (облигатный монофаг), поражающий только виноград. Болезнь распространена во всех виноградарских зонах и развивается в течение всего вегетационного сезона на маточных кустах, саженцах, поражая все зеленые органы виноградной лозы – листья, побеги, соцветия, ягоды, усики. На зеленых побегах, усиках, гребнях образуются буроватые, слегка вдавленные пятна. Части растений, находящиеся выше места поражения, часто отмирают и легко обламываются [195, 196].

Источником первичной инфекции милдью являются покоящиеся споры – ооспоры, зимующие в опавших пораженных листьях и ягодах. Активному заражению растений способствуют осадки выше 10 мм и среднесуточные температуры выше 11<sup>0</sup> С, оптимальны для развития болезни температура 22-25<sup>0</sup> С и относительной влажность воздуха 90-100% [175, 229].

В Крыму, в зависимости от метеорологических условий отдельных вегетационных сезонов, милдью может развиваться с различной интенсивностью. В годы с благоприятными условиями для развития патогена потери урожая могут составлять 50% и более [168, 196].

Сильно пораженные листья опадают, зеленые побеги могут остаться без листьев. Частичная или полная потеря листьев способствует плохому вызреванию однолетней лозы, снижению зимостойкости кустов. Помимо повреждения камбия, такая лоза содержит пониженное количество запасных питательных веществ, что так же снижает приживаемость привитых черенков и выход привитых саженцев винограда. В школке прививки поражаются милдью, которое, поражая, листовой аппарат и побеги, ухудшает качество саженцев.

*Оидиум, или мучнистая роса.* Возбудитель заболевания – сумчатый гриб *Uncinula necator Burrell.*, относящийся к порядку *Erysiphales* (эризифовые). В конидиальной стадии возбудитель носит название *Oidium tuckeri*. В Крыму болезнь получила повсеместное распространение. Наибольшую опасность заболевания представляет для виноградников южнобережной зоны [171].

Настоящая мучнистая роса поражает листья, побеги, соцветия и ягоды.

Пораженные оидиумом зеленые органы виноградной лозы покрываются белым налетом. На ягодах также образуется белый налет. При очень раннем заражении ягоды прекращают рост и усыхают; при более позднем – растрескиваются, обнажая семена. Если после этого устанавливается дождливая влажная погода – на пораженных ягодах развиваются возбудители гнилей. Первичная инфекция сохраняется в виде толстостенного мицелия на однолетней лозе и в почках. Использование такой лозы для выращивания посадочного материала существенно снижает выход привитых черенков, а, впоследствии, и привитых саженцев [76, 77, 153, 267].

*Серая гниль* – повсеместно распространённая болезнь, которая поражает различные сельскохозяйственные культуры, в т.ч. и виноград. Возбудитель заболевания – несовершенный гриб *Botrytis cinerea* (порядок гифомицеты), сумчатая стадия – *Sclerotinia fuckeliana* (Д.В.) Fuck. По паразитическим свойствам он относится к фитопатогенным сапрофитам.

Гриб может поражать все зелёные части куста и однолетнюю древесину, при выращивании посадочного материала – черенки, места прививок. На виноградных растениях при холодной и сырой весне гриб может поражать распускающиеся почки и молодые побеги, особенно при их повреждении весенними заморозками. При наступлении сухой погоды весенняя инфекция почти всегда прекращается [76, 215, 243].

Гриб спорулирует на инфицированных ягодах, и споры распространяются воздушным путем, прорастают на поверхности ягод при наличии воздушной влаги, в течение двух дней приводят к новым заражениям. Интенсивность развития серой гнили зависит от погодных условий и агротехники винограда. При большой влажности и температуре серая гниль может уничтожить до 100% урожая [209, 248].

*Черная пятнистость* (эскориоз). Возбудитель *Phomopsis viticola* Sacc. (класс – *Deuteromycetes*, подкласс – *Sphaeropsidales*).

Черная пятнистость поражает все зеленые органы (побеги, листья, усики, соцветия и грозди) и одревесневшие части виноградных кустов – однолетние

побеги, плодовые звенья, рукава и штамбы. Первые признаки появляются в июне. На однолетних зеленых побегах наблюдается отмирание тканей коры вокруг устьиц. Некротические пятна появляются и под корой. Пораженные ткани имеют вид черно-бурых, вначале овальных точек. По мере роста побегов точки увеличиваются; часто сливаются в продольные пятна. Пораженные ткани растрескиваются. Наиболее активно поражаются первые 6-7 междоузлий [207].

Мицелий *Phomopsis viticola* проникает глубоко в ткани древесины и способен сохраняться в течение нескольких лет. Осенью и весной на пораженных участках коры, где защитные реакции растения значительно ослаблены, образуются многочисленные пикниды [55, 85, 126].

Распространяется болезнь с посадочным материалом с пораженных кустов, причем черной пятнистостью болеют как американские, так и европейские сорта. Долгое время эта болезнь была объектом внешнего карантина.

Особенно опасно развитие черной пятнистости в питомниках и хозяйствах, производящих посадочный материал. Использование больных лоз при выращивании посадочного материала недопустимо, так как инфицированные саженцы и черенки являются одним из источников распространения болезни. Кроме того, при прививке зараженной лозы происходят большой «выпад глазков», плохое каллусообразование, а в школке – гибель саженцев [219].

*Эска.* Болезнь, возбудителями которой являются комплекс грибов. Самые важные, из них – *Fomitiporia mediterranea*, *Phaeomoniella chlamydospora* и *Phaeoacremonium aleophilum*. Первоначально описанные грибы *Stereum hirsutum*, *Phellinus igniarius*, *Fomitiporia punctata*, *Phellinus punctatus*, очень редко выделяются из пораженной древесины винограда, и играют только вторичную роль в процессе инфицирования.

Болезнь может развиваться в двух различных формах, медленной (хронической) и острой (апоплексической). Медленное течение эски проходит в течение нескольких лет и характеризуется появлением обесцвеченных пятен на листьях между жилками. На белых сортах винограда пятна желто-коричневые и красноватые на окрашенных сортах, которые постепенно сливаются, только

жилки остаются зелеными. Эти симптомы проявляются сначала на нижних листьях побега, а позже могут распространиться по всему побегу. В прогрессирующей фазе листья высыхают и опадают прежде времени [110, 222, 249].

Однако болезнь может встречаться в виде апоплексической формы (внезапное увядание). Побеги на пораженных рукавах развиваются нормально без видимых симптомов. На фоне повышенных температур воздуха и пониженной влажности на листьях появляются маленькие, неприметные пятна, которые быстро увеличиваются. В течение нескольких дней все листья высыхают снизу-вверх, побег отмирает. В обоих случаях, внутренняя ткань виноградных лоз содержит белесые губчатые зоны мертвой древесины, отделенные от здоровой ткани тонкой черновато-коричневой зоной твердой консистенции. Заготовленные с пораженных кустов черенки плохо образуют каллус на этапе производства привитых черенков, в период стратификации на них развиваются сапрофитные микроорганизмы [223, 242].

#### *Хранение привойных и подвойных лоз.*

В период хранения, при температуре воздуха выше 7<sup>0</sup>С, увеличивается опасность поражения тканей черенка грибными болезнями. Наиболее часто встречающимися являются грибы из родов *Pythium*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichotecium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Macrosporium*, многочисленные сапрофитные виды. Это приводит к тому, что в черенках усиливаются потери углеводов, снижается оводненность тканей, регенерационные процессы и каллусование в месте спайки черенков винограда [74, 76, 262, 276].

Косвенное влияние проявляется также в том, что возбудители таких болезней, как *Botrytis cinerea*, *Phomopsis viticola*, по данным Е. Г. Васелашку, активно развиваются на последующих этапах технологического процесса, снижая качество и в большинстве случаев, вызывая гибель посадочного материала [23, 25].

Далее приведена характеристика патогенов, встречающихся в период хранения.

*Альтернариоз* – возбудителями этого заболевания в литературных источниках называются виды р. *Alternaria* – *A. alternata* (Fr.) Keissler, *A. tenuissima* (Fr.) Wiltsh., *A. vitis* Cav.; класс Deuteromycetes, подкласс Hyphomycetales. Телеоморфа – *Clathrospora diplospora* (Ell. et Ev.), *C. elyanae* Rab., *Pleospora infectora* Fuck. [177].

Симптомы заболевания на побегах вегетирующих растений — коричневые или серебристые пятна, которые легко можно принять за симптомы оидиума. На листьях вначале появляются светлее пятна с характерным некрозом в центре, а затем они темнеют и во влажную погоду покрываются налетом плодоношения гриба. На зрелых ягодах заболевание проявляется характерным светлым металлическим блеском.

Гриб развивается на разных субстратах, космополит. До недавнего времени вид *Alternaria alternata* повсюду в мире сообщался как обычный сапрофит или раневой паразит, способный развиваться на поврежденных тканях, в том числе и на черенках привоя и подвоя как на этапе их хранения, так и в период производства прививок и при стратификации [126, 202, 220].

Характеристика возбудителей *Botrytis cinerea*, *Phomopsis viticola* изложена выше.

#### *Развитие патогенов при стратификации привитых черенков винограда.*

Период стратификации является наиболее важным этапом в производстве привитых саженцев винограда. В этот период создаются условия для каллусообразования, однако этот температурный режим способствует развитию фитопатогенных микроорганизмов на разных частях черенка. Молодые проростки виноградных прививок в первые дни роста, до появления в листьях хлорофилла, совсем неустойчивы против грибных патогенов, а исключительно благоприятные условия среды ускоряют развитие на них многих патогенных и сапрофитных грибов.

Во время стратификации отмирают некачественные или подсушенные черенки привоя и подвоя. Отмирание тканей чаще всего начинается от пятки или на верхнем срезе. Реже наблюдается отмирание тканей посередине подвойной части прививок или тканей привоя. Довольно активно развиваются клещи, которые повреждают органы привитого черенка винограда, со временем на поврежденных органах поселяются сапрофитные грибы (*Botrytis cinerea*, *Alternaria spp.*, и др.) [89, 91]. Болезни проростков наиболее активно развиваются при открытой стратификации прививок на слое воды, особенно в камерах с «регулируемой средой» прививочных комплексов. При этих условиях гибнет 50-80% прививок [217, 238].

Кроме этого, на этом этапе начинается активное развитие болезней компонентов прививок, которые связаны с использованием для производства привитых черенков, пораженных белой гнилью, черной пятнистостью и другими патогенами.

Сильное поражение зеленого прироста привоя комплексом факультативных сапрофитов, представленных термофильными и влаголюбивыми видами, во многом определялось условиями режима в начале и в конце стратификации [86, 88, 89]. Появление кругового каллуса в месте спайки и распускание почек привоя обычно наблюдается на 7-10 сутки после начала стратификации прививок. Поддержание высоких влажности и температуры в период отрастания побегов приводило их к подпариванию в различной степени, что во многом обуславливало развитие сапрофитных грибов. Прививок с загнившим приростом встречается от 2-5 до 6-8%, в основном при слабой и средней степени загнивания.

Поддерживаемая в период стратификации относительная влажность 97-100% и температура 28-30°C. способствуют усиленному развитию термофильных грибов (из родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichothecium* и др.), которые повреждают прирост, а затем и почки. Наибольшей вредоносностью отличаются питиевые грибы (*Pythium sp.*) и серая гниль (*Botrytis cinerea*). Поэтому через 8-10 дней после начала стратификации (когда у 60% прививок нарастет круговой каллус и распустятся глазки привоя) изменяют режим стратификации: снижают

относительную влажность воздуха до 75-80%, а через 3-4 дня и температуру до 24-25°C.

*Rythium spp.* – возбудитель грибной болезни питиоз. Вызывают заболевание корней виноградной лозы, характеризуется обильным некрозом, ненормальным ветвлением, пожелтением. Интенсивное развитие болезни в период проведения стратификации приводит к общему угнетению, замедлению роста и даже гибели растения в период вегетации в школке, снижается интенсивность образования кругового каллуса, погибают глазки привоя [217, 248].

*Грибные болезни, развивающиеся на привитых черенках винограда в школке.* После высадки в виноградную школку на привитые черенки винограда действуют жесткие условия абиотических и биотических факторов окружающей среды. В данный период наиболее опасными патогенами, как и на промышленных виноградных насаждениях, являются: *Oidium tuckeri* Berk., *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni, *Phomopsis viticola* Sacc, *Gloeosporium ampelophagum* D.B. Jacz., *Botrytis cinerea* Pers., *Coniotirium diplodiella* (Speg.) Sacc [208, 234, 262]. Их характеристики приведены выше.

Таким образом, анализ научной литературы свидетельствует о том что, на каждом из этапов технологии выращивания и на протяжении всего процесса производства на черенках винограда поселяется и развивается большое количество грибных патогенов. В связи с чем разработка эффективных и экологически безопасных систем защиты является одним из перспективных направлений научных исследований.

### **1.2.1 Фитосанитарный мониторинг грибных патогенов при производстве привитого посадочного материала винограда, их влияние на качественные показатели**

Одним из наиболее распространенных и используемых методов диагностики болезней виноградных растений является внешняя визуальная оценка при проведении фитосанитарных обследований. Данный метод позволяет

с большой долей вероятности эффективно и достоверно выявлять, диагностировать, на основании этого принимать решения о проведении защитных мероприятий. Несмотря на простоту данного метода, недостатком является то, что работник проводящий обследование должен иметь соответствующее образование и квалификацию, а исследования необходимо проводить в сроки оптимальные для выявления патогенов [21, 42, 63]. Поскольку симптомы многих инфекционных и неинфекционных болезней совпадают, то вероятность субъективной оценки внешних признаков поражения и ложной идентификации достаточно велика. Наиболее полные данные о развитии и распространении получают при проведении визуального контроля методом маршрутных обследований виноградных насаждений [77, 111, 135].

*Оидиум.* Первичные очаги выявляют во 2-й половине июня, а при холодной весне — в июле. Возможно совмещение этих обследований с выявлением растений, зараженных вирусными болезнями. Обследования начинают с хорошо прогреваемых участков и с наиболее восприимчивых сортов (Мускат белый, Траминер розовый, Каберне-Совиньон, Ркацители, Пино серый). Обследования проводят на всех виноградниках, но в первую очередь на плодоносящих. Осмотру подвергается каждый 5-й ряд. В журнале отмечают наличие (+) или отсутствие (—) на кустах признаков болезни и результаты наносят на план, с тем, чтобы учесть, какие участки в последующие годы необходимо обследовать в первую очередь. Очаги постоянного развития оидиума наносят на карту насаждений с целью проведения дифференцированной борьбы с этой болезнью химическими средствами [153, 171].

*Милдью.* Проявляется чаще на листьях, расположенных ближе к почве, в виде единичных крупных, округлых светло-желтых пятен или групповых мелких. На сильно и регулярно поражающихся виноградниках возможна первичная инфекция в виде системно зараженных порослевых побегов, которые создают интенсивные очаги заражения. Отмечают участки, где заболевание проявляется раньше и интенсивнее, с тем чтобы начинать обследование с таких участков. При обнаружении первичных очагов их ликвидируют путем удаления листьев с

явными симптомами и опрыскивания, что в значительной мере снижает опасность массового раннего заражения всех массивов. Участки раннего первичного заражения милдью отмечаются на плане [111, 112, 113].

*Серая гниль.* Поражает в основном ягоды, которые становятся бурными и покрываются порошащимся налетом серого цвета, но при благоприятных условиях, в дождливую теплую погоду, может развиваться и на др. зеленых органах растений. Интенсивность развития болезни зависит от экологических условий произрастания, метеоусловий и сортовых особенностей винограда. Обследование проводят для выявления наиболее опасных участков, благоприятствующих развитию болезни и накоплению инфекции из года в год. Подобные участки отмечаются на плане и, при наличии условий для развития заболевания, химическая защита проводится именно на этих участках, в первую очередь на сильновосприимчивых сортах (Алиготе, Фетяска, Траминер, группа Пино, Совиньон, Рислинг, Мускат Оттонель).

В течение сезона предусматривается проведение шести обязательных учетов развития серой гнили. Первые три учета проводят перед, во время и после цветения винограда соответственно. Последующие три – в период роста и созревания ягод, перед уборкой урожая [111, 112, 113].

*Эска.* Наблюдения, направленные на обнаружение первых визуальных признаков развития эски, проводят в период образования и увеличения завязей (сразу после цветения). Второе и третье обследование проводят в фазу роста ягод и перед уборкой урожая соответственно. Все три учета по развитию эски совмещают с учетами других вредных объектов [111].

*Черная пятнистость.* Первый учет проводят совместно с учетом оидиума в период набухания почек винограда для определения запаса перезимовавшей инфекции на лозе. Последующие три учета проводят перед цветением, в период роста ягод и перед уборкой урожая соответственно, совмещая их с учетами развития других болезней. Во время этих учетов определяют процент поражения черной пятнистостью по общепринятой 9-балльной шкале [111, 112, 113].

В последнее время в научной литературе чаще появляется информация о посадочном материале, зараженном вирусной или бактериальной инфекциями. Симптомы с внешним проявлением признаков могут проявиться после высадки на постоянное место либо остаться в скрытой стадии, причиняя вред как непосредственно растению, так и снижая качество и массу урожая. Основным методом диагностики вирусных и бактериальных инфекций являются молекулярные методы, степень изученности данного вопроса описана в следующем разделе 1.3.

### **1.2.2 Защитные мероприятия от возбудителей грибных болезней на различных этапах производства привитых саженцев**

При защите сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней применяют комплекс мероприятий, включающий приемы агротехники и дополняющие их в необходимых случаях химические, биологические, физико-механические и другие специальные методы борьбы [41, 64, 68].

Каждый технологический этап производства посадочного материала сопровождается защитными мероприятиями, направленными на борьбу с фитопатогенными организмами – обеззараживание черенков привоя и подвоя, обработки привитых черенков винограда в стратификационных камерах. Борьба с возбудителями грибных болезней на этих стадиях позволяет снизить инфекционную нагрузку на последующих этапах производства привитых саженцев винограда.

Выход и качество привитых саженцев зависит в основном от качества и фитосанитарного состояния подвойных и привойных черенков, их соответствия по аффинитету и скорости образования каллуса, качества прививки, придерживания технологических режимов (температура и влажность) во время хранения черенков привоя и подвоя и стратификации привитых виноградных черенков.

*Обеззараживание виноградной лозы перед закладкой на хранение.* Участки отбора подвойных и подвойных лоз сильно поражаются серой и белой гнилями. Такие черенки характеризуются низким качеством и пониженной активностью корнеобразования. Во время заготовки такие лозы выбраковывают.

Перед закладкой на хранение в последние 30 лет рекомендуется вымачивать привойные и подвойные черенки в растворах таких фунгицидов, как 0,1% концентрации Хинозол, Топсин, Ронилан, Ровраль, 0,5% концентрации – Бенлат. Черенки обрабатывают по-разному, в зависимости от их влажности. Черенки с влажностью ниже 48% вымачивают в дезинфицирующем растворе на протяжении 24 часов, при влажности выше 48% - в 0,3-0,5% растворе фунгицидов 12-15 часов. Учитывая высокую степень поражения черенков патогенами, развивающимися в тканях древесины, преимущество следует отдавать первому способу. Он дает возможность уничтожить возбудителей болезней, проникших в сосудистую систему черенков [10, 21, 28, 41, 68].

Особенно эффективным, по данным П. Н. Костюк, оказалось протравливание привойных и подвойных лоз в медном купоросе. Оно обеспечило выход первосортных саженцев из школки на 25 % больше, чем без обработки [84].

По данным Лехоцки, перед укладкой лозы на хранение ее следует замочить в растворе Хинозола или других препаратов: 8-гидроксихинолина сульфате, 14 %-ном калий-сульфате, 15 %-ной этилендиаминтетрауксусной кислоте. В процессе замочки лозы препараты диффундируют в ткань под чешуйки почек, в кору и оказывают фунгицидное и бактерицидное действие. Раствор Хинозола или Солвохина-экстра следует готовить 0,5%-ной концентрации при температуре воды 10-18 °С и вымачивать лозу в растворе 4 часа. После обработки лозу рекомендуют помещать в продезинфицированное хранилище с температурой +1 °С и относительной влажностью 95-100 %. Лозу можно также хранить в закрытых полиэтиленовых мешках при температуре +1 °С [253].

Для борьбы с глубинной инфекцией, особенно при хранении черенков длинными лозами, необходимо проводить длительную вымочку их в растворах фунгицидов. Установлено, что 2-х часовая вымочка черенков обеспечивает только

поверхностную дезинфекцию лоз от возбудителей болезней. При хранении лоз 50 см черенками они насыщаются водой или растворами фунгицидов только при вымочке в течение 20-24 часов [50].

Для вымочки саженцев рекомендуют использовать 0,3 % раствор Хинозола. Черенки привоя и подвоя перед укладкой на хранения обеззараживают 0,4-0,5 % раствором Хинозола. При этом саженцы погружают корнями вверх с тем, чтобы вымочить только привой. При 15-20 °С черенки и саженцы вымачивают в течение двух часов, при 10 °С – 5 часов [78, 93].

Применение 0,01%-ного Хинозола способствует гибели бактерии (в том числе возбудителя бактериального рака), грибов и простейших и повышению активности образования корней [74].

Известен способ борьбы с сосудистым некрозом, когда пучки лоз и саженцев дезинфицируют 5% раствором медного купороса, погружают их на 2-3 секунды, затем просушивают и укладывают на хранение. Недостатком данного способа является то, что через раны в ткани попадают грибы *Fusarium Viticolum* и *Botrytis Cinerea* Pers., являющиеся сапрофитами и полусапрофитами и такая обработка против них малоэффективна.

Парафинирование верхних концов прививок после их изготовления на длину 15-20 см при температуре парафина 100°С является составной частью технологии производства привитых саженцев. Парафинирование предохраняет место соединения привоя и подвоя не только от подсыхания, но и от возможного вторичного заражения грибами места спайки прививаемых компонентов, уменьшает вероятность образования корней и распускание почек на привое, что улучшает условия для образования каллуса и срастания [104, 119].

*Проведение защитных мероприятий при стратификации и закалке привитых черенков винограда.* Период стратификации прививок является наиболее благоприятным для развития многочисленных болезней, которые можно условно разделить на три группы.

Чтобы предупредить распространение грибных болезней в период стратификации, необходимо не допускать образования капель воды на пленке и

на проростках путем своевременного их проветривания, а также через каждые 2-3 дня опрыскивать прививки Хинозолом, Топсином, Фундазолом, Рониланом или Ровралем в 0,1%-ной концентрации. Гетероауксин в концентрации 0,1-0,2 %, ингибируя прорастание почек, также надежно предупреждает поражение их грибными болезнями. В производственных условиях необходимо сочетать своевременное проветривание прививок в стратификационных камерах с обработкой их Гетероауксином перед стратификацией или опрыскиванием фунгицидами в период стратификации [47, 75, 93, 125].

В период закалки прививки поражаются серой гнилью и сапрофитными грибами. Против них эффективны, как и на других этапах, опрыскивания 0,1%-ным раствором Хинозола, Топсипа, Фундазола, Ронилана или Ровраля.

*Система защиты привитых черенков винограда от грибных патогенов в виноградной школке.* Развитие грибных патогенов в школке приводит к нарушению физиологических процессов, протекающих в листовом аппарате и в однолетних побегах. Они в значительной степени ухудшают качество привитых саженцев [68].

Для защиты прививок от болезней школку обрабатывают 6-8 раз неорганическими фунгицидами, разрешенными для применения на промышленных виноградных насаждениях. В конце вегетации опрыскивание проводят 1% бордосской жидкостью или 0,4% купроксатом. Данная система обеспечивает эффективную защиту прививок от болезней, благоприятствует хорошему росту побегов и их вызреванию [137].

Борьба с черной пятнистостью особенно усложняется в связи с тем, что мицелий *Phomopsis viticola* Sacc. проникает глубоко в ткани [58]. Были проведены исследования по воздействию фунгицидов на рост мицелия. Фунгицидное влияние отмечено для Нитрозана 50 (в концентрации 0,1-0,3 %), Спортака 45 ЕС (в концентрации 0,075 %) и Фундазола (в концентрации 0,05 %), фунгистатическое – для Дитана М-45, Купрозана супер D, Купроцина супер, Санкоцеба и Ридомила [91; 92].

Талаш А.И., считает, что для защиты от черной пятнистости профилактические обработки целесообразны только на восприимчивых сортах, а при среднем развитии болезни необходимо 1-2 обработки за вегетацию [178, 181].

Высокую токсичность в отношении пикнид показали препараты ДНОК, Нитрафен в 1 % концентрации и Хиназол, 0,5 %-ный. В отношении спор высокой токсичностью обладали фунгициды ДНОК, Полирам ДФ, Нитрафен, Хиназол, Эупарен, они подавляли прорастание спор в 0,015% концентрации [27, 29, 125].

Однако практически все исследователи указывают, что в короткий срок полностью ликвидировать черную пятнистость даже при проведении всего комплекса защитных мер невозможно. Борьбу следует вести в течение нескольких лет [16].

Проведенный анализ литературных источников показывает, что первопричиной угнетения и гибели кустов, посаженных на постоянное место, является низкое качество посадочного материала. У 56-84 % растений отмечен брак в спайках привитых компонентов, а у 25-32 % – ожоги от парафина. С возрастом раны не затянулись, а наоборот расширились, что создало условия для поражения кустов бактериальным раком. Через 6-7 лет изреженность на участках составляла 50-80 %. Таким образом, установлена зависимость между скрытыми повреждениями в спайках и поражением растений бактериальным раком. Поэтому необходимо введение более строгих требований по определению качества срастания прививок [31, 32].

На виноградниках, заложенных высококачественным посадочным материалом, увеличивается продолжительность жизни растений в 1,5-2 раза, а продуктивность возрастает на 30,0-40,0%. Некачественный посадочный материал, используемый для закладки виноградников, приводит в дальнейшем к большой изреженности насаждений, неравномерному развитию кустов, слабой устойчивости их к неблагоприятным условиям среды, снижению урожайности и преждевременной гибели. Возраст виноградных насаждений, заложенных саженцами низкого качества, не превышает 15, максимум 20 лет [49].

### 1.2.3 Использование биофунгицидов для защиты от грибных болезней

Применение в широких масштабах пестицидов сыграло огромную роль в защите растений, имеет огромный экономический эффект и привело к значительному росту мирового производства продовольствия и сырья для перерабатывающей промышленности. Однако очень скоро начали проявляться и отрицательные стороны и последствия широкого применения химических средств защиты растений: накопление их в почве, водоемах; возникновение устойчивых к пестицидам популяций вредных организмов; появление новых экономически значимых вредителей, прежде существовавших только как вид (нейтральных); губительное действие на энтомофагов, опылителей и другие виды полезной фауны; угроза здоровью человека и сельскохозяйственных животных, нарушение естественных связей в биоценозах и другие явления [11, 12, 13].

Химический метод борьбы с вредными организмами оказался не в состоянии предотвратить массовое размножение вредителей и распространение болезней. По мере того, как проявлялось отрицательное воздействие одностороннего использования синтетических пестицидов на окружающую среду, более остро вставала проблема поиска новых способов борьбы с вредными организмами в дополнение к традиционным методам.

К концу XX в. в России была разработана концепция фитосанитарной оптимизации растениеводства. Она пришла на смену интенсивной химической защите на основе использования пестицидов по схеме так называемых календарных обработок, игнорирующих фактическое состояние насаждений (60-е годы), и интегрированной защите растений (80-е годы) [12, 61].

Новая же концепция предусматривает предпочтительное использование нехимических методов. При этом актуальным является разработка и внедрение интегрированной экологизированной защиты виноградных насаждений, которая предполагает оптимальное использование безопасных средств и методов защиты растений, предпочтительно не химических – организационно-хозяйственных, агротехнических и биологических [72, 200].

В основе биологического метода защиты растений от болезней лежат естественные явления сверхпаразитизма и антибиоза (антагонизм, фунгистазис, супрессивность), регулирующие взаимоотношения между сапрофитной, паразитной и патогенной микробиотой. Микроорганизмы, выделяемые из природной среды и вносимые опять в естественные условия в качестве средств защиты растений, позволяют избежать нежелательных изменений в биоценозах, сохранять полезные организмы. Основным преимуществом микробиологических средств защиты растений, созданных на основе существующих в природе микроорганизмов (бактерий, грибов и т.д.), является специфичность – способность поражать определенные виды вредных организмов, не причиняя вреда человеку, теплокровным животным, птицам и полезным насекомым [121, 180, 206, 249].

К биопрепаратам следует относить лишь те, которые содержат живые культуры специально отобранных полезных микроорганизмов с заданными контролируемыми свойствами или растительные экстракты (можно вместе с живыми культурами). Их можно разделить на биофунгициды и экстракты растений [11, 121, 258].

В настоящее время признано, что контролирующими биоагентами для вредителей могут быть свыше 100 видов бактерий, 800 видов грибов и 300 видов нематод, для контроля сорняков – 50 видов бактерий и грибов, для борьбы с возбудителями болезней растений – всего 20 видов бактерий и грибов [11, 12, 13, 14].

В исследованиях Радабанова Г.Г. отмечено, что использование биопрепаратов повышает урожайность винограда по сравнению с применением химических препаратов. Так, в вариантах с использованием препаратов Планриз, Фитоверм, КЭ и Бактофит урожайность винограда выше, чем в вариантах с применением химических препаратов на 15-20% [154].

Достаточно широко использование биопрепаратов на основе бацилл (Бактофит, Битоспорин, Алирин-Б, Гамаир, Витаплан) на разных культурах, в том числе на винограде. Результаты исследований по данным препаратам позволяют

рекомендовать их как эффективные экологически безопасные и альтернативные синтетическим химическим соединениям [73, 190].

Биопрепараты Агрофил, Азоризин, Флавобактерин, Ризоагрин, Мизорин – созданы на основе различных видов и штаммов неспоровых бактерий, выделенных из ризосферы и ризопланы растений. Использование данных препаратов подавляет развитие фитопатогенных организмов, снижая поражаемость растений болезнями в 10-15 раз. Кроме этого биопрепараты стимулируют рост и развитие фитопатогенных организмов, ускоряя созревание на 10-15 дней за счет биосинтеза физиологически активных веществ [88, 147, 191, ].

В результате исследований, проведенных Юрченко Е. Г. по изучению биологической эффективности Триходермина (*Trichoderma viride* штамм 4090) и микробиофунгицида Трихоцина (*T. harzianum* штамм 18 ВИЗР) была выявлена высокая антифунгальная активность в отношении возбудителя альтернариоза винограда – *Alternaria tenuissima*. Так, высокую активность проявил вид *T. viride* штамм 4090, умеренную активность – *T. harzianum* штамм 18 ВИЗР, слабую активность – *T. lignorum* штамм 81-17. Полевыми испытаниями была подтверждена достаточно высокая биологическая эффективность биологизированного способа защиты на основе применения *T. viride* в подавлении *A. tenuissima* на винограде [73, 82, 203, 204, 205].

Характерной особенностью нового тысячелетия является поиск путей снижения воздействия на окружающую среду посредством снижения кратности опрыскиваний, а также поиск и замещение химических пестицидов биопрепаратам. Анализ мировой литературы и практические результаты в области исследований и практического применения в сельском хозяйстве биопрепаратов и технологий биозащиты показывает быстро растущий интерес к ним как в развитых, так и развивающихся странах [85, 86, 87].

В исследованиях, проведенных Е. П. Странишевской, Я. А. Волковым показана высокая эффективность схемы защиты растений винограда с применением препаратов Трихофит и Гаупсин от милдью и оидиума. На фоне слабо развития данных болезней (менее 10%) эффективность биологической

защиты не уступал схеме с применением химических препаратов. В момент уборки урожая (при среднем развитии болезней) биологическая эффективность оставалась высокой – 75,5-79,1%. Это позволило рекомендовать биологическую систему защиты, включающую 6 обработок препаратами Гуапсин и Триходермин с нормой расхода 6 л/га на насаждениях винограда при развитии милдью и оидиума в средней и слабой степенях [170, 172].

Применение разработанных технологий обеспечивает более эффективную, по сравнению с применением химических способов, регуляцию развития и распространения вредных организмов, стабилизацию устойчивости патосистем, снижение уровня загрязнения объектов экосистемы и фитотоксичности, оптимизацию агrobiологических показателей, сокращение издержек на защиту насаждений, повышения продуктивности виноградных насаждений.

Отмечено, что комплексное применение химических и микробиологических фунгицидов по эффективности находятся на уровне и выше систем защиты, состоящих только из химических фунгицидов. Преимущество биологизированных систем заключается в повышении их экологической безопасности за счет снижения химической нагрузки на виноградники, в меньшей затратности за счет замены дорогих химических средств биологическими, в повышении урожайности и уменьшении стрессовой фитотоксичности фунгицидов. Такие системы защиты полностью отвечают требованиям адаптивно-ландшафтной технологии возделывания винограда, которая является стратегическим направлением развития современного сельскохозяйственного производства и основным принципом которого является экологичность элементов [201, 258, 268, 277].

Анализ мировой литературы, результаты исследований и практического применения в сельском хозяйстве биопрепаратов и технологий биозащиты показывает быстро растущий интерес к ним как в развитых, так и развивающихся странах.

В настоящее время для биологической защиты растений от возбудителей болезней на территории России зарегистрированы, препараты на основе: *Bacillus subtilis*, штамм 26-Д (Фитоспорин-М, Ж, ПС, П); *B. subtilis*, штамм В-10 ВИЗР

(Алирин Б, Ж, СП, Таб); *B. subtilis*, штамм ИПМ-215 (Бактофит, СК, СП); *B. subtilis*, штамм М\$22 ВИЗР (Гамаир, СП, ТАБ); *B. subtilis*, штамм ВКМ\$B\$2604D + *B. subtilis*, штамм ВКМ\$B\$2604D (Витаплан, СП); *B. subtilis*, штамм Ч-13 (БисолбиСан, Ж); *B. subtilis* + *Trichoderma viride*, штамм 4097 (Споробактерин, СП); *Pseudomonas aureofaciens*, штамм BS1393 (Псевдобактерин-2, Ж, ПС); *Pseudomonas aureofaciens*, штамм ИБ-51 (Елена, Ж); *Pseudomonas fluorescens*, штамм AP-33 (Ризоплан, Ж); *Trichoderma harzianum*, штамм ВКМ F\$4099D (Стернифаг, СП); *Trichoderma harzianum*, штамм Г 30 ВИЗР (Трихоцин, СП); *Trichoderma viride*, штамм 471 (Триходерма Вериде 471, СП) [13, 14].

Однако в проработанной нами литературе не встречаются данные по использованию биологических препаратов на основных этапах производства привитого посадочного материала.

Поэтому проводимые нами исследования по экологизации отдельных элементов технологии производства посадочного материала и изучению влияния биофунгицидов на развитие грибных заболеваний на этапах хранения подвоя и привоя, прививки и стратификации; выращивание в школке, на качество полученного посадочного материала являются актуальными и имеют большое практическое значение.

### **1.3 Симптомы и вредоносность вирусных и бактериальных фитопатогенов винограда**

Вирусные болезни винограда обнаружены повсеместно, особенно распространены в зоне привитой культуры. Они влияют на физиологические процессы растения, служат источником инфекции посадочного материала. Патогены снижают зимостойкость, засухоустойчивость виноградной лозы, срок ее жизни. Кроме того, пораженная вирусами и бактериями лоза служит источником инфекции посадочного материала для новых насаждений. Заражение микроорганизмами прямо влияет и на качество вина, причиняя, таким образом, наибольший экономический ущерб отрасли [43, 120, 122].

Наиболее эффективным средством, способным ограничить распространение системной вирусной, бактериальной и грибной инфекции, является санитарная селекция – комплекс приемов, проводимых для получения здорового посадочного материала за счет исключения из размножения больных кустов. Санитарная селекция участков отбора лоз является составной частью сертификации посадочного материала винограда, свободного от вирусной, бактериальной, фитоплазменной и грибной инфекции [177, 183, 189]. В полевых условиях анализ фитосанитарного состояния виноградных насаждений осуществляется методом обследования виноградников на предмет обнаружения растений с внешними признаками вирусных, бактериальных и фитоплазменных инфекций.

*Короткоузлие* относится к наиболее распространенным и вредоносным вирусным заболеваниям. Вызывается вирусом *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) – семейство Secoviridae, род Nepovirus. Эта болезнь входит в комплекс инфекционного вырождения винограда. Вирус встречается на всех мировых виноградниках и является одним из вредоносных вирусов виноградной лозы. В Крыму это заболевание было обнаружено впервые в 1934 г. в окрестностях Ялты.

Вирус может инфицировать практически все сорта винограда рода *Vitis*, в том числе европейского вида *Vitis vinifera*, а также гибриды. Вместе с вегетативно размножаемым посадочным материалом вирус распространился повсеместно. Переносчики – нематоды *Xiphinema index* и *Xiphinema italiae*, а также некоторые виды кокцид и псевдококцид. В среднем от момента инфицирования до гибели растения проходит 3-5 лет. Однако пораженные лозы могут еще долгое время оставаться живыми, становясь менее продуктивными. Ягоды мельчают, не созревают, повышается их кислотность, урожайность снижается на 20-80%. Кроме того, товарная ценность столовых сортов винограда заметно падает из-за внешнего вида гроздей (осыпание и горошение ягод). Привитые черенки, древесина которых была поражена короткоузлием, отличаются более слабым ростом и пониженной способностью к окоренению; процент успешных прививок снижается [269, 255].

Описаны и изучены 3 штамма вируса короткоузия листьев винограда, вызывающие короткоузлие (Fanleaf), желтую мозаику (инфекционный хлороз, Jellow mosaic) и окаймление жилок (Vein banding) [116, 230, 240, 269].

Короткоузлие (Fanleaf) характеризуется асимметрией, редукцией листовых пластинок, ненормальным жилкованием, расширением черешковых выемок, заострением и удлинением зубчиков, иногда мозаичностью листьев. Короткие междоузлия часто чередуются с более длинными, наблюдаются двойные узлы, сплюсненность и вильчатость побегов, избыточное развитие пасынков. Происходит осыпание цветков и горошение ягод винограда. Кусты постепенно вырождаются. Распространено повсеместно. Вредоносность высокая: урожай незначительный или отсутствует, снижается качество и выход привитых саженцев [120, 233].

*Желтая мозаика* или инфекционный хлороз (Yellow mosaic). Болезнь характеризуется хромово-желтой крапчатостью листьев в начале весны. Побеги могут частично или полностью желтеть. К листовым симптомам относятся пожелтение сетки жилок, желтое окаймление жилок, желтые пятна и сплошное пожелтение. Грозди мельчают и содержат много мелких ягод. Листья обычно сохраняют свои нормальные контуры, но у некоторых сортов деформируются, и на растениях появляются побеги с двойными узлами или укороченными междоузлиями. В ксилеме и флоэме побегов на пораженных кустах образуются трабекулы или эндоцеллюлярные кордоны (cordoni endocellulari) [116, 120]. Трабекулы, представляют собой особые продукты клеточной мембраны, развивающиеся в тканях лоз, пораженных короткоузлием. Трабекулы легко обнаруживаются в сосудах одревесневших побегов, где они образуют стекловидные, светопреломляющие радиальные тяжи [261]. Наблюдается снижение качества и выхода привитых саженцев снижается их приживаемость после высадки на производственные участки.

*Окаймление жилок* (Vein banding). Возбудителем заболевания является штамм вируса короткоузия. Симптомы проявляются в конце весны и летом в виде хромово-желтых полос вдоль жилок. Первоначально на листьях пораженных

кустов появляется хромово-желтая крапчатость. С развитием заболевания крапинки сливаются, образуя желтые полосы вдоль главных жилок. При сильном развитии заболевания крапчатость и желтые полосы образуются и вдоль второстепенных жилок. На пораженных кустах наблюдаются и некоторые симптомы короткоузлия: двойные узлы, вильчатость побегов, ремневидность усиков и побегов. Рост кустов подавлен, происходит осыпание цветков и горошение ягод. Распространено повсеместно. Диагностируется аналогично желтой мозаике [120, 246, 252].

*Скручивание листьев винограда (Grapevine leafroll)*. Возбудитель этой инфекции – *Grapevine leafroll-associated viruses (GLRaV)* локализуется во флоэме. Длина вирусных частиц 12 nm x 1400 до 2200 nm [10, 16]. Существует несколько типов частиц, ассоциированных с этим заболеванием: изометрические, потивирусоподобные и кластеровирусоподобные. Среди них отмечают серологически отличные типы GLRaV, которые отнесены к 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 серотипам. Возбудитель *Grapevine leafroll* относится к семейству *Closteroviridae* и трём родам *Ampelovirus* (GLRaV-1, GLRaV-3-6, GLRaV-8,9), *Closterovirus* (GLRaV-2) и *Velarivirus* (GLRaV-7). Основным внешним признаком болезни — это скручивание листьев краями вниз.. На юге России наиболее распространены штамм GLRaV-1, который характеризуется сильным скручиванием листьев, умеренным изменением окраски и штамм GLRaV – 3 у которого умеренное скручивание листьев сочетается с сильным изменением окраски, особенно у сортов с окрашенной ягодой [245, 263].

Особенности проявления симптомов скручивания листьев зависят от сорта, климата, почвенных условий и времени года, наиболее вредоносен в южных широтах и жарком климате. Весенние симптомы, как правило, выражены неявно, но больные кусты обычно меньше здоровых, и листья на них появляются позднее. На некоторых сортах в конце лета на листьях между главными жилками появляются участки побуревшей ткани (рисунок 1).



Рисунок 1 - Наиболее характерные внешние симптомы поражения растений винограда вирусом короткоузля Grapevine leafroll-associated viruses (COST FA 1003 Training School 2013, Maixner) [254]

Симптомы у больных растений европейского винограда и гибридов прямых производителей, в виде скручивания листьев краями вниз, начиная от основания побегов, проявляются в августе и прогрессируют до конца вегетационного периода. Листья утолщаются, становятся хрупкими, площадь обесцвечивания постепенно увеличивается, осенью листовая поверхность обесцвечивается, жилки остаются зелеными [230, 251, 256]

К основным внутренним симптомом скручивания листьев относится дегенерация флоэмы в побегах, черешках, листьях, ножке грозди и плодоножках. Элементы ситовидных трубок, сопровождающие клетки и лубяная паренхима отмирают и исчезают. Содержание калия и кальция в листовых пластинках зараженных кустов значительно ниже, чем у здоровых растений, в листовых пластинках пораженных кустов накапливается крахмал. Привитые черенки, элементы которых заготовлены с больных растений, слабо укореняется, значительная их часть гибнет в школке [212].

Векторами вируса скручивания листьев Grapevine leafroll-associated viruses являются некоторые виды кокцид и псевдококцид [272]. Семенами винограда болезнь не передается [255]. Распространение болезни на большие расстояния происходит с посадочным материалом европейских сортов и, особенно – с

американскими видами подвоев, большинство из которых являются бессимптомными носителями этой болезни.

Негативное влияние скручивания листьев на агробиологические показатели виноградного растения показано в многочисленных исследованиях. Авторы указывают, что особенно сильно вирус скручивания влияет на урожайность растений, снижение которой может достигать 85%. На больных кустах на 2 - 3 недели задерживается созревание ягод, при этом наблюдается снижение сахаристости (от 5 до 26%). Из-за уменьшения содержания антоцианов в ягодах ухудшается окраски и товарный вид гроздей [120, 122].

Иногда GFLV и GLRaV присутствуют в растениях в смешанной инфекции с комплексом бороздчатости древесины.

*Комплекс бороздчатости винограда (Rugose wood complex (RWC))* включает следующие наиболее распространённые болезни: *Rupestris pitting* – бороздчатость *Rupestris* – GRSPaV, *Kober stem grooving* – ямчатость древесины Кобера – GVA и *Corky bark* – опробковение коры – GVB. Возбудители этих болезней относятся к семейству *Betaflexiviridae*. Большая часть из них принадлежит к роду *Vitivirus*: *Grapevine virus A (GVA)*, *Grapevine virus B (GVB)*, *Grapevine virus C (GVC)*, *Grapevine virus D (GVD)*, *Grapevine virus E (GVE)*, *Grapevine virus F (GVF)* и только вирус *Grapevine Rupestris Stem Pitting associated Virus (GRSPaV)* относится к роду *Foveavirus*.

В природе инфицируется только виноград (европейские сорта, подвои, гибриды - прямые производители), с образованием ямок и борозд древесины. Степень проявления симптомов бороздчатости древесины варьирует в зависимости от сорта [251, 255].

Бороздчатость древесины – болезнь вторичных тканей, по причине ненормального функционирования камбия наблюдается гипертрофия, гипер- и гипоплазия и паренхиматозы во вторичной ксилеме и флоэме. Слабая дифференциация проводящей ткани больных кустов приводит к замедлению распускания глазков, угнетение роста, преждевременной гибели кустов [124]. Подвойные сорта не проявляют симптомов болезни. Сила проявления симптомов

варьирует в зависимости от подвоя, который используется [271]. Бороздчатость древесины распространена в большинстве виноградарских регионов мира, однако особенно часто болезнь встречается в бассейне Средиземного моря [16]. Высокий процент поражения бороздчатости древесины *V. rupestris* (GRSPaV) также обнаружен в США на посадочном материале, интродуцированном из Франции (66%), Германии (42%) и Австралии (67%) [255, 265]. Высокий уровень поражения бороздчатостью на ряде сортов было отмечено в Греции [105]. На территории СНГ болезнь отмечена в Молдове и в Украине [120].

Часто на месте спайки прививки привой образует утолщение, а подвой остается гораздо тоньше привой. Кора под участками с симптомами бороздчатости утолщенная, дырчатая. С развитием болезни отмечается задержка роста кустов и слабый хлороз листьев. У сильно пораженных кустов наблюдается значительное подавление роста и развития, в основном бесплодные побеги и, как правило, хлоротичные листья.

У многих сортов *V. vinifera* никаких симптомов опробковения коры (corky bark), кроме ослабления мощности роста, не наблюдается. Лишь у немногих, например, у Паломино, Сира, Мондэз, Каберне Фран и Гамэй, симптомы появляются на побегах и листьях. Распускание почек весной задерживается, и на каждой пораженной лозе после начала роста можно обнаружить один или больше мертвых сучков. Лозы склонны сгибаться книзу, тогда, как кончики их бывают обращены кверху. Листья на зараженных кустах мелкие и уже в начале сезона начинают бледнеть; позднее у сортов с красными плодами они краснеют и закручиваются книзу, как на кустах, пораженных скручиванием листьев. На кустах, пораженных опробковением коры, листья не опадают нормально, а сохраняются на 3-4 недели дольше, чем на здоровых. Вызревание древесины протекает неправильно: пятна зеленой древесины чередуются с нормально одревесневшей тканью. Побеги не вызревают или вызревают неравномерно, пятна зеленой древесины и делаются мягкими или «каучукоподобными». Симптомы развиваются сначала у оснований лоз, которые вздуваются и часто покрываются глубокими трещинами, в то время как на верхушках симптомы могут

отсутствовать. С течением вегетационного периода чередуются с нормальной одревесневшей тканью, симптомы распространяются.

Болезнь легко передается окулировкой вприклад (аблатировкой), прививкой зеленым черенком или сближением на LN-33. При прививке зеленым черенком симптомы могут проявиться через месяц после инокуляции. После окулировки вприклад они развиваются через 3-15 месяцев. Сортам *V. vinifera* болезнь труднее передается окулировкой вприклад, чем LN-33, а симптомы на *V. vinifera* развиваются не ранее чем через 18 месяцев после инокуляции. Вирус *Grapevine virus A* (GVA) локализуется во флоэме.

Переносчик вируса опробковения коры не обнаружен. Случайный характер встречаемости болезни в промышленных виноградниках показывает, что болезнь может распространяться с зараженным посадочным материалом. Из черенков, нарезанных с больных кустов, развиваются больные растения. В настоящее время, некоторые авторы, к переносчикам вирусов, ассоциированных с комплексом бороздчатости древесины, относят несколько видов псевдококцид: *Pseudococcus longispinosus*, *P. affinis*, *Planococcus ficus*, *P. citri*, *Heliococcus bohemicus* и ложнощитовок: *Neopulvinaria innumerabilis* и *Parthenolecanium corni* [16, 17, 18]. Однако, главным образом, комплекс бороздчатости древесины распространяется с пораженным посадочным материалом.

Комплекс бороздчатости древесины негативно влияет на ряд агробиологических показателей винограда, в первую очередь, на силу роста и продолжительность жизни виноградного растения. Поражение бороздчатостью оказывает влияние на урожайность, которая уменьшается от 14-35% [119, 120] до 70% [121]. Было установлено, что бороздчатость древесины уменьшает приживаемость прививок на 30-40% в зависимости от подвоя, который используется [123].

К бактериальным инфекциям, встречающимся на виноградных насаждениях относится бактериальный рак и фитоплазма.

*Бактериальный рак* представляет собой широко распространенное заболевание растений, наносящее большой экономический ущерб питомникам,

виноградникам и фруктовым садам [94, 120]. Возбудителем болезни является бактерия *Agrobacterium tumefaciens*, представляющая собой Грамотрицательную почвенную бактерию, распространенную во всем мире. Штаммы *Agrobacterium tumefaciens* разделяются на три биовара, при этом третий биотип, вызывающий опухоли и некротические повреждения на виноградных лозах называется *Agrobacterium vitis*. Бактерия вызывает опухоли корончатого галла (рисунок 2) у широкого диапазона хозяев, принадлежащие почти к 90 различным семействам, включая большинство двудольных, некоторые однодольные и некоторые голосеменные [20, 66, 213].



Рисунок 2 - Растения винограда с внешними признаками бактериального рака [116]

Способность бактерии индуцировать опухоли корончатого галла требует присутствия большой плазмиды, обозначенной как Ti-плазида. В процессе инфицирования бактерия переносит специфический участок (Т-ДНК) Ti-плазмиды *A. tumefaciens* в клетку хозяина, который затем интегрируется в геном хозяина. После интегрирования в растительный геном гены Т-ДНК кодируют (рисунок 3) ферменты, ответственные за неконтролируемый синтез растительных гормонов ауксина и цитокинина, которые отвечают за аномальную пролиферацию ткани и образование галлов на кроне, корнях и в некоторых случаях на стеблях [211, 253].



Рисунок 3 – Цикл болезни бактериального рака (*Agrobacterium tumefaciens*) [253]

Бактерия обнаружена во всех частях пораженного виноградного куста, т.е. является системной и может распространяться с посадочным материалом (черенки, саженцы), внешне кажущимся здоровым. На месте раскорчеванных больных кустов *Agrobacterium tumefaciens* может сохраняться в остатках корней и лозы до двух лет, инфицируя посадочный материал. Болезнетворный микроорганизм может находиться в растении в течение нескольких лет, не вызывая опухолей, пока не появятся условия, способствующие поражению. Бактериальный рак развивается на многолетней и однолетней древесине виноградного куста в местах поранений (механических, морозобоины). Поврежденная клетка винограда выделяет аттрактанты, привлекающие *Agrobacterium vitis* к клетке. Бактерия передает часть кода ДНК (названный Т-ДНК) в ДНК клетки растения. Т-ДНК активизирует клетку вырабатывать огромное количество гормонов роста (ауксинов и цитокининов), которые приводят к неуправляемому делению и росту зараженных клеток растения, из которых образуется ракообразный нарост [94, 97].

Бактериальный рак винограда распространён повсеместно в регионах возделывания культуры, где может наносить значительный ущерб, как молодым,

так и плодоносящим насаждениям. Распространение заболевания в странах Европы, СНГ происходит по причине широкого обмена посадочным материалом, который содержит фитопатогенные агробактерии. В последние годы распространение болезни на виноградниках Крыма, южных областей России и Украины возросло [6, 120].

Продуктивность зараженных растений резко снижается, уменьшается прирост, а в ряде случаев развитие болезни приводит к гибели куста. Развитие опухоли вызывает дефицит питания органов растений, сокращает срок жизни и устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды. Пораженные растения становятся восприимчивыми к низким температурам зимнего периода. Их урожайность может снижаться на 20 %, а сахаристость падает на 1-2 % [120, 123].

Эффективные методы защиты от бактериального рака в настоящее время не разработаны, а практикуемые, как правило, очень трудоемки и малоэффективны, вследствие чего имеют ограниченное применение. Наиболее эффективный метод защиты – это ограничение распространения болезни с посадочным материалом и закладка виноградных насаждений посадочным материалом, свободным от агробактерии. Поскольку бактериальный рак часто является латентной инфекцией, заготовка черенков подвойных и привойных сортов с бессимптомных кустов для выращивания саженцев может привести к распространению возбудителя. Особенное внимание требует посадочный материал, импортируемый из зарубежных стран, например из стран Европейского Экономического Союза (ЕЭС), где система сертификации не предполагает тестирование на наличие возбудителя бактериального рака [261].

С целью профилактики распространения бактериального рака осуществляется фитосанитарный контроль. Для этого в июле и августе, а также после уборки урожая проводят ряд мероприятий, направленных на ограничение его распространения. Так, на маточниках привойных и подвойных лоз проводится тщательное покустное обследование растений после уборки урожая. Если в результате фитосанитарного обследования выявлено, что доля больных кустов на

площади 1 га превышает 5%, то с такого участка не заготавливают лозу, поскольку учитывая наличие скрытой инфекции, доля зараженных кустов может достигать 20% и более. Если же процент пораженных кустов составляет менее 5%, то их выкорчевывают и сжигают. В течение следующего периода вегетации проводят обследование с целью выявления опухолеобразования оставшихся растений, соседних с выкорчеванными. В случае отсутствия визуальных симптомов, с таких участков разрешается заготавливать виноградную лозу. В случаях, когда на саженцах, полученных от здорового привоя, имеются симптомы бактериального рака, проводится обследование маточника подвойных лоз. На каждом 100-м кусте на 1 га маточника оставляют по одному побегу. Весной, в период сокодвижения, на поверхности лозы (после предварительной поверхностной дезинфекции) в 3 местах делают поперечные надрезы, задевая при этом камбиальный слой черенка. Открытые раны обматывают влажной ватой, а затем (сверху) перевязывают их полиэтиленовой пленкой. Через 30-45 дней, при повторном обследовании, при наличии латентной инфекции в местах ранений появляются наросты типа раковых опухолей. Учеты дают возможность определить степень зараженности маточника подвоев. Для дальнейшего использования данного маточника необходимо провести покустную проверку с последующим удалением зараженных кустов [94, 95, 96].

Традиционно диагностика бактериального рака винограда основывается на определении патогенности выделенных штаммов агробактерий методом заражения индикаторных растений. Метод требует значительных затрат времени, трудоемкий, и не всегда позволяет получить достоверные результаты. В этой связи актуальным является использование молекулярно-генетических методов диагностики, которые позволяют в кратчайшие сроки выявить наличие патогена.

*Фитоплазмы* (прежнее название: микоплазмоподобные организмы) — субмикроскопические бактерии без твердых стенок клеток, облигатные паразиты растений, не растущие на искусственных питательных средах, но размножающиеся в телах переносчиков — цикадок. Они поражают проводящие ткани растения. В значительной степени это связано с аномалиями клеточных

структур, и, в частности, разрушением хлоропластов и снижением активности фотосинтеза. В настоящее время выявлено более 100 видов фитоплазм, являющихся возбудителями более 300 различных заболеваний растений. Они имеют широкое распространение практически во всех районах земледелия и отличаются большой вредоносностью, способны вызывать снижение урожая на 50-85% и даже полное вырождение пораженных растений.

Болезни, которые они вызывают, разнообразны по симптомам. Наиболее распространенные симптомы фитоплазмы, которые определяются летом и осенью в полевых условиях: листья желтеют или краснеют в зависимости от сорта, закручиваются книзу и становятся хрупкими, участки между жилками могут стать некротическими, побеги демонстрируют неполное одревеснение и на зеленой коре вдоль пораженных заболеванием побегов развиваются ряды черных пустул. Побеги становятся тонкие, резиноподобные и поникшие, ягоды усыхают. Так, например, в Австралии, на виноградниках сорта Мерло было обнаружено так называемое «преждевременное обезвоживание ягод (PBD)», которое характеризуется сокращением роста растения, индукцией общего старения и некрозом ягод, вызывая существенные сокращения производительности виноградника [1].

Другой симптом поражения растения фитоплазмой - так называемая «ведьмина метла»: растение выпускает пучок деформированных побегов, которые выглядят как метла или птичье гнездо. Переносчики бактерий, цикадки, представляют собой крохотные насекомые, родственники клопов, которые питаются соком растений и могут причинять ощутимый ущерб сельскому хозяйству.

Наиболее распространённые в Европе виды фитоплазм – это «flavescence doree (FD)» (золотистое пожелтение) и «bois noir (BN)» (почернение древесины) (рисунок 4). Кроме их в отдельных странах идентифицированы и другие разновидности фитоплазм: *aster yellows* (AY), *STOL and X-disease* (XD) groups, *ULW elm yellows*, *FD70*, *flavescence dome* (EY group), *EAY European aster yellows* (AY group), *STOL*, *stolbur of tomato strain F* (STOL группа), *PYLR*, *peach yellow*

*leaf roll*, *GYU*, *grapevine yellows from Udine* (XD группа) и др. У некоторых виноградных лоз была идентифицирована комбинация этих болезней [234]. Несколько различных фитоплазменных групп могут заразить виноградную лозу в Европе и с посадочным материалом «переселиться» на виноградники России и стран СНГ.



Рисунок 4 – Внешние симптомы фитоплазменной инфекции на растении винограда [234]

В последнее время большое количество саженцев сортов винограда завозится из Франции, Италии, Германии, Югославии и других европейских стран. Среди ввозимого посадочного материала могут присутствовать образцы с латентной формой фитоплазменной инфекции, в частности - «почернения древесины». Закладка виноградников таким материалом приводит в будущем не только к уменьшению производительности виноградников и качества продукции, но и к ослаблению роста и развитию кустов, снижения их устойчивости против неблагоприятных условий окружающей среды. Полная гибель таких растений наступает на 4-5 год вегетации.

Симптомы проявления «почернения древесины» винограда на больных кустах достаточно характерны и очень похожи на карантинную болезнь - золотистое пожелтение, хотя, как и в любой фитопатологической проблеме, они могут отличаться в зависимости от сорта, климатических условий и агротехники. В связи с этим биологическое испытание, предложенное ОЕРР/ЕРРО, не является подходящим для идентификации фитоплазменной инфекции и больше не рекомендуется. Метод ПЦР для тестирования фитоплазменной инфекции является наиболее чувствительным и универсальным [128, 152].

В целом вирусные, фитоплазменные и бактериальные болезни могут оказывать следующее неблагоприятное воздействие на растения винограда: нарушение различных аспектов метаболизма; подавление роста корней, побегов, листьев, ягод; препятствование опылению; снижение качества винограда и вина; увеличение восприимчивости виноградной лозы к разным биотическим и абиотическим факторам; сокращение срока жизни лозы и продуктивности на 50%. Зараженная лоза служит источником инфекции для посадочного материала и может являться причиной непосредственной гибели растений.

В связи с тем, что некоторые заболевания, например, комплекс бороздчатости древесины и другие, часто не вызывает характерных симптомов и протекает в латентной форме, а некоторые болезни могут проявляться только на привойных сортах винограда, а на подвоях присутствовать бессимптомно, для тестирования рекомендуется использовать методы молекулярной диагностики и ИФА (иммуноферментный анализ).

#### **1.4 Молекулярная диагностика экономически значимых вирусных и бактериальных инфекций винограда**

Одной из особенностей вирусных инфекций является то, что они системные и хронические, то есть ткани зараженных растений остаются больными в течение всей жизни. Поэтому вегетативное размножение растений, пораженных латентной

стадией вирусов, приводит к производству больного посадочного материала, способствуя, таким образом, дальнейшему распространению вирусов.

Традиционно наличие вирусных и бактериальных болезней определяли методом внешней визуальной оценки при проведении фитосанитарных обследований. Этот метод очень опосредован, так как иногда на растениях встречаются сходные симптомы неинфекционной природы, вызванные, например, недостатком микроэлементов (Mg, K, Zn и др.), повреждением цикадкой или грибными заболеваниями [93, 81, 95, 116, 120]. Диагностика по внешним признакам не позволяет выявить латентной стадии вирусов или инфекции, симптомы которых могут проявляться на поздних стадиях развития, когда растения поражены в значительной степени и непригодны для производства посадочного материала [1, 4, 7]. Кроме того, некоторые подвои, например, американские гибриды *Vitis* spp., являются бессимптомными носителями GLRaV-2 при прививке на которые вирус накапливается до высоких концентраций у привоев *Vitis vinifera* [7].

Ранее определение вирусов и бактериальных инфекций проводили также при помощи теста на растениях-индикаторах (*Chenopodium* spp., *Nicotiana* spp., *Gomphrena* spp, *Briophillum* spp. и др.). Для дополнительного подтверждения вирусной инфекции используют также электронную микроскопию, но данный метод нельзя использовать для массового анализа. Для диагностики возбудителей бактериальных болезней винограда также используют биохимические (оксидазная реакция, окраска по Грамму, тест на солетолерантность, тест на 3-кетолактозу, и др.) и микробиологические (посев на селективные питательные среды) методы [5, 242]. Однако применение данных методов, особенно микробиологических, требует длительного времени, что невозможно при быстрой диагностике, например, при определении зараженности черенков винограда.

Наиболее чувствительными, точными и доступными методами для диагностики латентных стадий болезней винограда, как и других растений, являются методы иммуноферментной (ИФА) и молекулярной диагностики (ПЦР).

ИФА и ПЦР обеспечивают раннюю и точную диагностику вирусов плодовых культур и винограда, как при получении безвирусных растений, так и при тестировании маточников.

Высокая чувствительность метода ИФА и простота его применения способствовали его широкому распространению в различных областях биологии, медицины и сельского хозяйства. Однако необходимо отметить, что чувствительность ИФА-методов для диагностики фитопатогенов даже с использованием моноклональных антител не всегда достаточно высока, особенно в случае латентной инфекции [218, 241, 273]. В последнее десятилетие для сертификации плодовых и винограда широко применяется метод ранней и точной диагностики - полимеразная цепная реакция (ПЦР). Этот метод является одним из наиболее точных и чувствительных методов молекулярной диагностики по сравнению с биотестом и твердофазным иммуноферментным анализом.

Для обнаружения нескольких вирусов в единичной реакции были разработаны протоколы множественной ПЦР с обратной транскрипцией (м-ПЦР с обратной транскрипцией), в результате чего была достигнута быстрая, надежная и экономичная стандартная диагностика [241]. Повышенная чувствительность и возможность в некоторых модификациях ПЦР проводить количественную оценку присутствия фитопатогена делает этот метод более предпочтительным при диагностике карантинных и фитосанитарных объектов [212, 254].

Для некоторых культур, в том числе и винограда, разработаны диагностические наборы с целью диагностики ряда карантинных и наиболее экономически значимых вирусных и бактериальных фитопатогенов, начиная от самых простых, качественных тест-систем в формате электрофореза, и до значительно более точных, количественных методов, таких как FLASH-ПЦР и ПЦР в реальном времени.

Так как большинство вирусных патогенов винограда являются РНК-содержащими, для их идентификации необходимо проведение несколько этапов: выделение РНК, синтез кДНК и непосредственное проведение ПЦР с вирусоспецифическими праймерами. Считается, что основным условием

выделения качественной РНК является возраст и тип тканей растения. Молодые и новые ткани винограда идеальны для того, чтобы изолировать РНК. Многие источники указывают в литературе, что концентрация полифенолов увеличивается с возрастом растения, что затрудняет изоляцию высококачественной РНК и рекомендуют выделять РНК из молодых тканей растения [252, 254]. Однако при тестировании вирусов, необходимо использовать более зрелый лист [264, 271]. Объем и качество полученной РНК меняются также не только от возраста используемых тканей, но и зависят от типа тканей. В качестве тестируемых органов можно также использовать раскрывающиеся почки в сентябре, верхушки или не распустившиеся листья в сентябре и октябре, черешки листьев с октября по апрель, полностью распустившиеся листья с ноября по апрель, зеленые ткани флоэмы с октября по февраль и соскобы коры с декабря по август. Наилучшим источником всех тестируемых вирусов является флоэма одревесневших побегов, обеспечивающая 100%-ное обнаружение методами ОТ-ПЦР [239, 261].

Таким образом, молекулярные методы более быстрые, чувствительные и точные, чем традиционные методы диагностики. Применение методов, основанных на ПЦР, позволяет в короткое время получить быстрые и достоверные результаты, тестировать растения винограда для подтверждения явных и выявления латентных инфекций. Поэтому в наших исследованиях мы использовали молекулярную диагностику для получения сорто-подвойной комбинации Алиготе - Кобер 5ББ, свободной от основных вирусных и бактериальных болезней.

### **1.5 Применение биологически активных веществ в виноградном питомниководстве**

Биологически активные вещества (БАВ), в том числе фитогормоны, в современных условиях приобретают все большее значение и использование. Их применение позволяет более полно реализовывать генетические возможности,

повышает устойчивость растений против стрессовых факторов биотической и абиотической природы, и в конечном итоге повышает урожай и улучшает его качество. Благодаря эффективности применения регуляторов роста их можно рекомендовать в системах усовершенствования технологий производства растительной продукции [4, 127, 131, 132, 139].

Согласно современным представлениям, под регуляторами роста растений понимают природные и синтетические вещества, которым свойственна значительная биологическая активность, и которые в малых дозах изменяют физиологические и биохимические процессы, рост, развитие, формирование урожая сельскохозяйственных растений, не вызывая токсического эффекта. При экзогенном введении в растение, они включаются в обмен веществ и активируют физиолого-биохимические процессы, повышают уровень жизнедеятельности растений [30, 65, 67, 70, 117, 148].

В настоящее время регуляторы роста растений в виноградном питомниководстве применяют при производстве привитого и корнесобственного посадочного материала с целью стимулирования корне-, каллусогенеза, сращивания компонентов прививки [89, 90, 91, 92].

При использовании регуляторов роста необходимо учитывать следующее: черенки во время заготовки должны содержать оптимальное количество воды (не менее 48% на влажную массу) и питательных веществ, в частности, углеводов (не менее 12% на абсолютно сухую массу), поскольку регуляторы роста дают максимальный эффект на хорошо вызревших лозах [69, 103, 185, 186, 194].

Для стимулирования ризогенеза виноградного черенка используют регуляторы роста ауксинов природы:  $\beta$ -ИМК,  $\alpha$ -НОК, гетероауксин, Наама. Существуют различные способы обработки черенков для стимулирования корнеобразования: быстрое погружения, длительное вымачивание, обпудривания [185, 186, 194].

Широкое распространение в виноградном питомниководстве получил гетероауксин, который используют для стимулирования корне- и калусогенеза. Особенно часто его применяют для активации ризогенеза трудноукореняемых

подвоев. Для этого черенки базальными концами на 1,5-2,0 см погружают в 0,15-0,20% раствор гетероауксина с экспозицией 1,-1,5 сек. и в дальнейшем выдерживают их в полиэтиленовой пленке в течение 6-8 суток при температуре 22 °С. Однако, исследования проведенные с гетероауксином (вымачивание черенков в 0,01% растворе в течение 24 ч.) на сортах винограда разного генетического происхождения (Августин, Ритон, Первенец Магарача, Молдова, Виорика) показали отсутствие стабильного положительной действия [156, 158, 194].

$\alpha$ -НОК и НАА<sub>м</sub> по сравнению с ИМК и гетероауксином, являются более активными, но в повышенных концентрациях может вызывать фитотоксичность у растений. В оптимальных концентрациях, в частности,  $\alpha$ -НОК стимулирует ризогенез [102, 140, 155, 159].

В технологии выращивания посадочного материала винограда рекомендуется применять 2,4-дихлорфеноксиоцтову кислоту (2,4-Д), которая в концентрации 0,5 мг / л при 12-часовом вымачивании инициирует образование корней. Поскольку 2,4-Д проявляет и свойства ингибитора, то его лучше заменять Полистимулином А-6. Действующее вещество – 2,4 дихлорфеноксиоцтова кислота, рекомендуемая норма применения – 5 мг / л [92, 139].

В ВНИИВиВ им. Я. И. Потапенко в целях повышения укореняемости черенков винограда и повышения выхода саженцев испытывали ряд новых регуляторов роста растений: Эпин, Силк, Никфан, симбионты-1, «Универсальный». Положительный эффект по срастанию компонентов прививки получен в результате обработки спайки привитых черенков 1-2 сек. 0,1% раствором, Эль-1, 0,3% раствором Эпин, 0,05% раствором препарата «Универсальный» с экспозицией 24 ч. [140, 158, 159].

Для стимулирования ризогенеза привоев винограда с последующим получением вегетирующих саженцев применяли комплексные препараты, в состав, которых входят фитогормоны, элементы питания и соединения, способствуют повышению устойчивости растений к фитопатогенам - Риверм и Гумисол. Их использовали для 12-часового вымачивания пяток привоев

винограда с целью получения вегетирующих саженцев винограда сортов Алиготе и Каберне Совиньон (подвой Кобер 5 ББ). Было установлено, что наибольший выход саженцев этих сортов был в вариантах, где использовали раствор препарата Гумисол, 1,0% концентрации (77,7 – 81,3%), продолжительность вымачивания пяток привоев - 12 ч. [60].

Для стимуляции регенерационных процессов черенков винограда сортов Антей Магарчский, Памяти Голодриги, Красавец применяли препараты с выше приведенной группы – Торфовит и Бювитрекс. Полученные результаты, в том числе и результаты математической обработки показали, что применение Бювитрекса разведения 1: 1000 позволяет увеличить выход саженцев на 5% (по сравнению с контролем), Торфовита разведения 1: 2000 - на 29%, а совместное их использование - на 39% [43].

На протяжении нескольких лет научными сотрудниками Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия было проведено исследования ряда препаратов, которые стимулируют процесс ризогенеза черенков винограда – Биостом, Акпинол, АЭС-17. Наиболее рентабельными препаратами при стимуляции укоренения для сортов Кобер 5ББ, Шасла х Берландиери 41Б, Бианка, Молдова и Восторг был АЭС-17 с уровнем рентабельности 71–164%. Самые высокие показатели уровня рентабельности при использовании препарата АЭС-17 получили при производстве саженцев сорта Феркаль - 181%, при использовании препарата Акпинол и сорта Молдова - 196% [131, 132, 139].

Положительная роль в предпосадочной обработке привитых черенков винограда препаратами Сизам, Риверм, Валмицин отмечена для сортов Августин, Аркадия, Загадка. Через 30 суток после обработки и высадки в питомник приживаемость обработанных привитых черенков была больше контрольной (предпосадочную обработку не проводили) на 9,3-11,5%, а в дальнейшем в школке привитые черенки и саженцы отличались лучшими показателями роста и развития: увеличивался диаметр побегов, объем общего и вызревшего прироста,

выход стандартных саженцев превышал контрольные значения на 12-30% [89, 90, 91, 92, 197].

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что применение регуляторов роста растений обеспечивает более полную реализацию использования биологического потенциала винограда, позволяет увеличить выход посадочного материала с единицы площади и значительно улучшить качество саженцев. Однако, при приготовлении рабочих растворов необходимо точно соблюдать дозирования, в противном случае использование регуляторов роста растений может привести даже к отрицательному результату.

## 2 УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Агрометеорологические условия в годы проведения исследований

Экспериментальные исследования проводились в течение 2012-2014 гг. в юго-западной предгорной зоне Республики Крым [14] на базе хозяйства АФ «Магарач», Бахчисарайского района, в 2015 г. на базе КФХ «Ария-Н», и в 2012-2015 гг. на базе отдела биологически чистой продукции и молекулярно-генетических исследований ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН».

Исследования проводили с помощью полевого и лабораторного методов. Полевые исследования проводили на участках европейского сорта Алиготе и американского – Кобер 5ББ. Опытное хозяйство ГП АФ «Магарач», расположено в юго-западном предгорном агроклиматическом районе и по почвенным, климатическим и технологическим условиям выращивания культуры, является типичным для данного района [26, 35].

Почвенный покров на опытных участках представлен черноземом южным карбонатным, слабовыщелоченным, преимущественно на красных глинах и галечных отложениях. Почвенные горизонты хорошо выражены. Содержание гумуса в пахотном слое составляет 1,6-2,3%, активных карбонатов в слое 30-50 см – 4,8-12,1%. Мощность гумусового горизонта 50-60 см. Гидролизуемого азота в горизонте А содержится 4,5-10,3%, подвижного фосфора 0,5-3%, обменного калия 27-82,4 мг/100 г., сумма поглощенных оснований в верхних горизонтах достигает 34-41 мг/экв. Поглощающий комплекс насыщен кальцием (80-90% от емкости обмена). Содержание обменного натрия не превышает 2,3-3,6%. Реакция почвенного раствора в гумусовых горизонтах нейтральная или слабощелочная (рН 7,6-8,3), с глубиной она становится щелочной (рН 8,2-8,6). Следовательно, рационально выращивать саженцы, привитые на подвойных сортах, устойчивых к содержанию активных карбонатов в почве. В частности подвой, выбранный для исследования – Берландиери x Рипариа Кобер 5ББ.

Материнскими породами на выбранном участке являются аллювиально-деллювиальные глинистые и глинисто-галечниковые отложения. Земельные ресурсы хозяйства характеризуются неоднородностью почвенных разностей, что связано с ветровой эрозией.

По механическому составу почвы тяжелосуглинистые в верхнем корнеобитаемом горизонте. Структура в пахотных горизонтах комковато-пылеватая. Более глубокие слои имеют комковато-зернистый состав, переходящий в пылевато-песчаный. Вследствие этого почвы имеют промывной режим, влага не задерживается в верхних горизонтах, отсутствует опасность засоления почвы. Механически состав корнеобитаемого слоя включает фракции более 3 мм – 37%; 3-1 мм – 6,5%; 1-0,25 мм – 7-8,5%; 0,025-0,05 – 38-39,6%; 0,05-0,001 мм – 6,4-13,3% и илистых частиц от 24,6 до 31%. Коэффициент дисперсности колеблется по профилю в пределах 2,3-5,6, что свидетельствует о высокой микроагрегатированности. Удельный вес почвы не превышает 1,32 г/см<sup>3</sup>, что является благоприятным для возделывания винограда.

Климат юго-западного предгорного агроклиматического района средиземноморский с преобладанием осенне-зимних осадков, умеренно-жарким летом и мягкой зимой с частыми оттепелями. Зима составляет 1,5-2 месяца. Средний из абсолютных минимумов – 15-20<sup>0</sup>С. В отдельные годы морозы могут достигать – 22-29<sup>0</sup>С. Опасные для растений заморозки почти полностью отсутствуют (весной они заканчиваются на 3-10 дней раньше, а осенью начинаются на 5-7 дней позднее перехода среднесуточных температур через 10<sup>0</sup>С) [2].

В зоне Юго-западного Крыма сумма положительных среднесуточных температур воздуха выше 10<sup>0</sup>С составляет за вегетационный период 3400-3450<sup>0</sup>С. Продолжительность вегетационного периода со среднесуточной температурой выше +10<sup>0</sup>С составляет 178-186 дней. Среднесуточная температура воздуха выше +10<sup>0</sup>С весной начинается с второй декады апреля, осенью заканчивается в третьей декаде октября. Интенсивное повышение температуры наблюдается от марта к апрелю (на +5,3<sup>0</sup>С) и от апреля к маю (на +5,0<sup>0</sup>С). Значительное повышение

происходит также от мая к июню. От июля к августу начинается медленный спад температуры, что способствует качественному вызреванию однолетней лозы.

Для исследуемой территории характерна большая сухость воздуха. С июля по сентябрь средняя относительная влажность воздуха составляет 40-50%. Однако район мало подвержен суховеям. Общее число дней с суховеями средней и большей интенсивности за весь теплый период не более 10-22. Близость моря способствует сохранению влажности воздуха – средняя относительная влажность в июле в 13 часов не ниже 45%.

Большое влияние на приживаемость и развитие привитых саженцев винограда оказывает степень увлажнения территории. Годовое количество осадков в зоне проведения исследований подвержено значительным колебаниям. При средней многолетней величине 435 мм наблюдается изменение этого показателя от 267 до 752 мм. Основное количество осадков выпадает в виде дождя, часто – ливней. Гидротермический коэффициент преимущественно 0,6-0,7 – влагообеспечение данной территории неустойчивое. Испаряется в среднем за год 780-855 мм, в период активной вегетации 546 – 590 мм.

Анализ метеорологических условий данной местности проводили в 2012-2014 . на основании данных метеостанции с. Почтовое (Бахчисарайский район). Метеорологические условия в ГП АФ «Магарач» в 2012-2014 гг. были благоприятными для роста и развития виноградного растения и представлены на рисунках 5, 6 и 7.

В 2012 г. устойчивый переход среднесуточных температур через 10 °С произошел 15 апреля. Среднемесячная температура воздуха в мае, июне и июле была незначительно выше, чем среднемноголетние показатели на 0,1 °С, 0,3 °С, 0,1 °С, соответственно.

Сумма активных температур за период с апреля по сентябрь составила 2834,8 °С. В сентябре среднемесячная температура воздуха была ниже среднемноголетних показателей на 0,7 °С. За вегетационный период выпало 209,7 мм осадков (60,2 % в июле и сентябре), что на 53,3 мм больше среднемноголетних показателей. Июль был самым жарким месяцем +23,4 °С. ГТК с апреля по

сентябрь равнялся 0,8, что характеризует зону, как засушливую, для культуры винограда увлажнение достаточное.

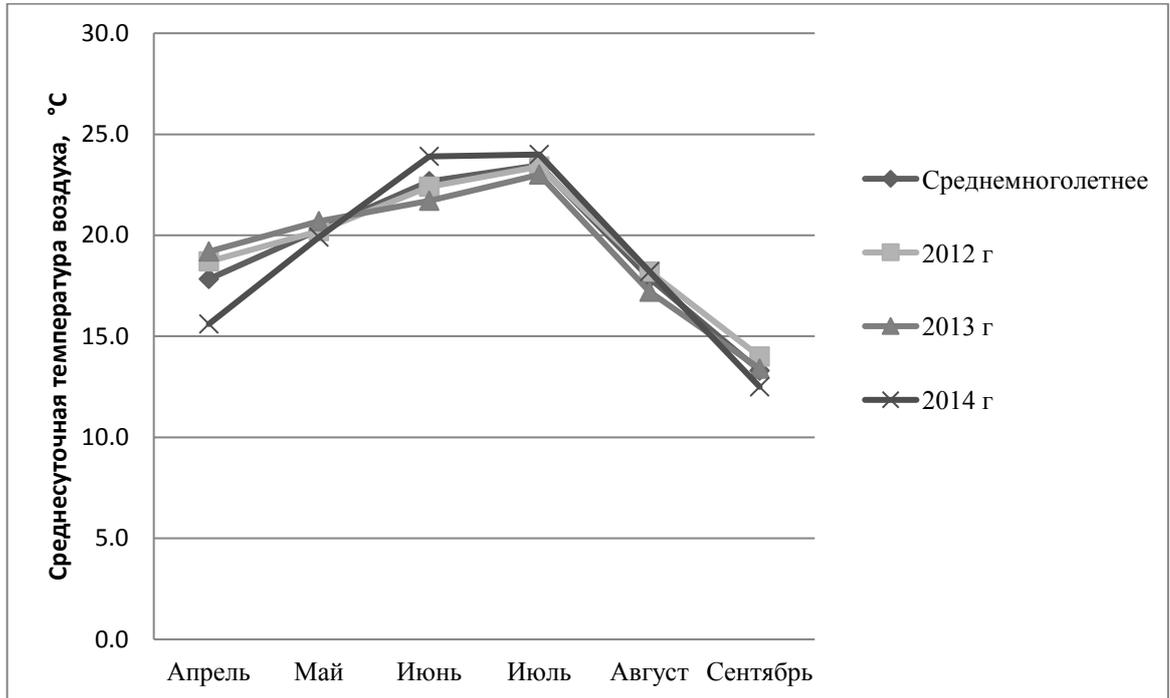


Рисунок 5 – Среднесуточная температура воздуха, °С 2012-2014 гг., с. Почтовое (Бахчисарайский район)

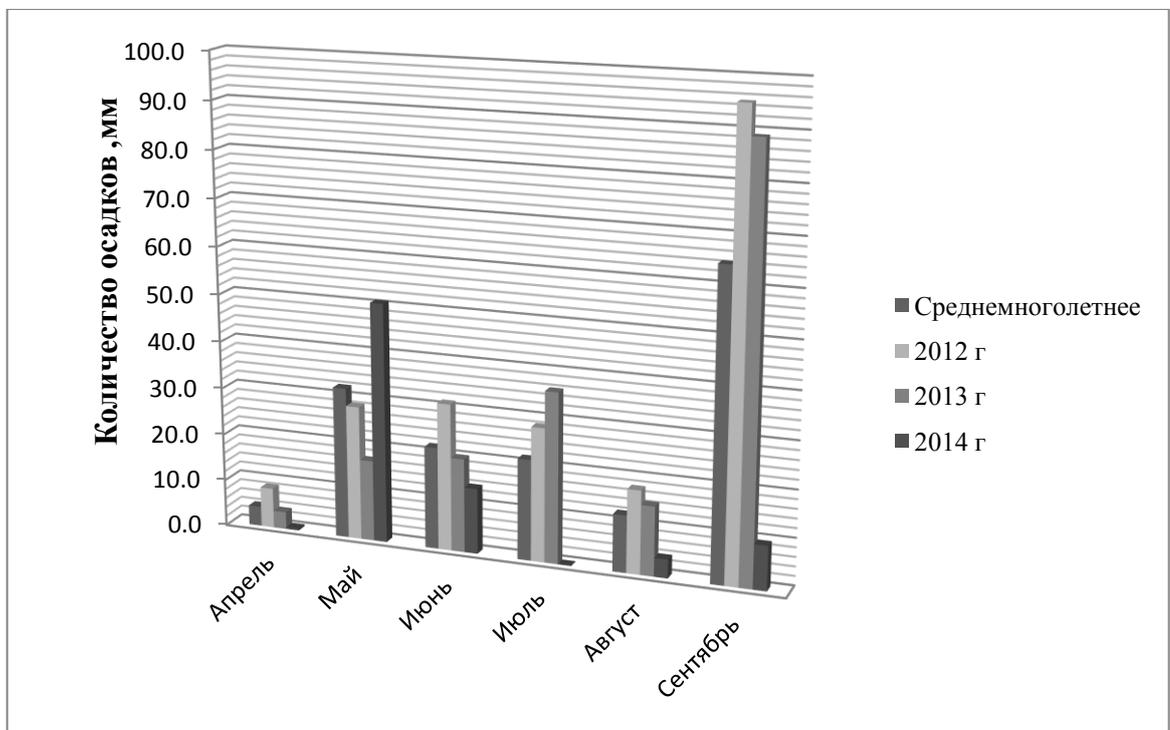


Рисунок 6 – Количество осадков, мм, 2012-2014 гг., с. Почтовое (Бахчисарайский район)

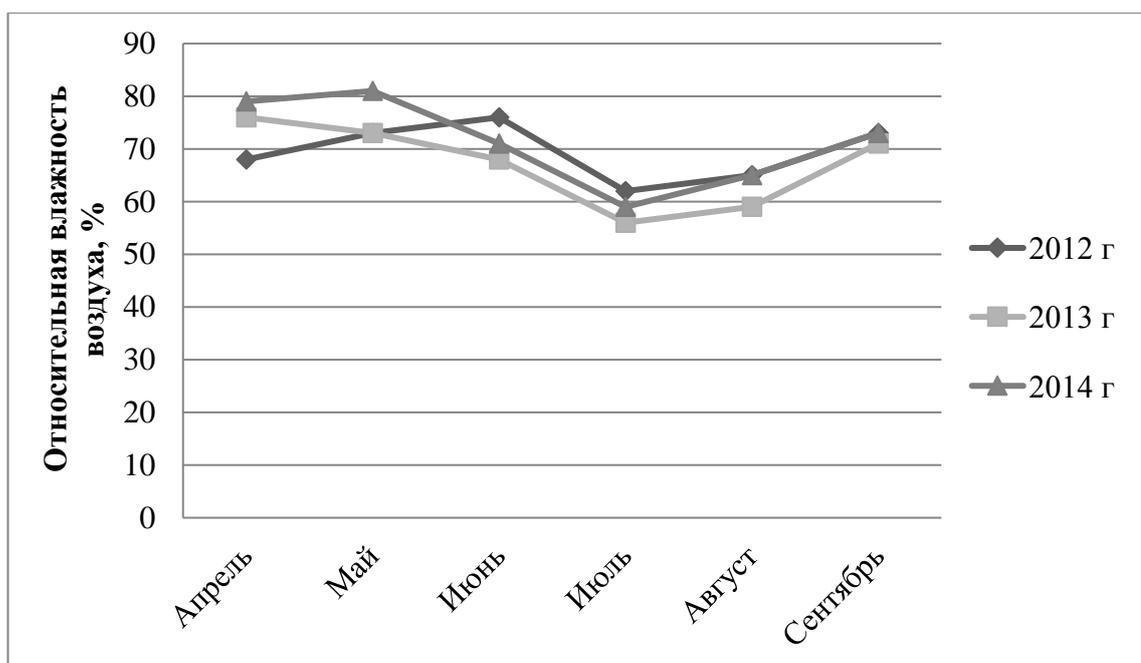


Рисунок 7 – Относительная влажность воздуха, %, 2012-2014 гг., с. Почтовое (Бахчисарайский район)

Климатические условия осенне-зимнего периода 2012 г. были удовлетворительными для вызревания побегов и пасынков, закладке зимних глазков, и обеспечивали своевременное прохождение фаз закаливания.

2013 год характеризовался быстрым набором суммы активных температур, начиная с апреля, и высокими среднесуточными температурами в течение всего вегетационного периода. Сумма активных температур за период с апреля по сентябрь составила 2944,2 °С. Устойчивый переход среднесуточных температур через 10 °С произошел 16 апреля. Среднемесячная температура воздуха в июне и июле была выше, чем среднемноголетние показатели на 0,7 °С и 0,4 °С соответственно. В августе и сентябре среднемесячная температура была выше, чем среднемноголетние показатели на 1,0 °С-0,6 °С, соответственно. С апреля по сентябрь выпало 180,9 мм. осадков (49% в сентябре), что на 24,5 мм больше среднемноголетних показателей. Апрель и август были самыми сухими месяцами, а июль – самым жарким, +23,0 °С. ГТК с апреля по сентябрь равнялся 0,5, что характеризует зону как очень засушливую. Для культуры виноград увлажнение дефицитное.

Климатические условия осенне-зимнего периода 2013 г. были удовлетворительными для вызревания побегов и пасынков, закладки зимних глазков, и обеспечивали своевременное прохождение фаз закаливания.

В 2014 году среднемесячная температура воздуха в апреле была выше, чем средне многолетние показатели на 3,6 °С, соответственно. Сумма активных температур за период с апреля по сентябрь составила 2857,9 °С (средне многолетние показатели в зоне проведения исследований – 3100-3300 °С). Устойчивый переход среднесуточных температур выше 10 °С произошел 19 апреля. В июне, июле, августе среднемесячная температура была ниже, чем средне многолетние показатели на 2,2 °С, 1,0 °С и 1,0 °С, соответственно. За период с апреля по сентябрь выпало 78,6 мм осадков (64% выпало в мае), что на 77,8 мм меньше средне многолетних показателей. Июль был самым сухим и жарким. ГТК за период с апреля по сентябрь равнялся 0,9, что характеризует зону, как засушливую, для культуры виноград увлажнение не достаточное.

Таким образом, в целом почвенные и климатические условия зоны проведения исследований подходят для выращивания плодоносящих виноградных насаждений, маточников подвоя и привоя и посадочного материала в виноградной школке.

В годы проведения исследований район характеризовался как условно благоприятный для выращивания участков отбора лоз и привитых черенков в виноградной школке. Погодные условия не оказали негативного влияния на вызревание виноградной лозы на участках отбора и сохранность глазков привоя и подвоя.

## **2.2 Объекты исследований**

Объектом исследований являлись сорта привоя Алиготе и подвоя Кобер 5ББ. Данные сорта районированы и широко распространены на территории Крыма.

Алиготе – европейский сорт винограда. Продолжительность периода от распускания почек до наступления технической зрелости ягод 145 дней при сумме активных температур 2766 °С. Однолетние побеги вызревают на 80-85%. Сила роста кустов средняя или хорошая.

Во влажную погоду сорт восприимчив к серой гнили ягод, в значительной степени поражается милдью, особенно соцветия, менее восприимчив к оидиуму. Осыпание завязи и горошение ягод незначительные.

Алиготе относится к группе сравнительно зимостойких сортов винограда. В качестве подвойных сортов пригодны Рипариа х Рупестис 3309, Рипариа х Рупестрис 101-14, Берландиери х Рипариа СО-4, Кобер 5ББ, Телеки 8Б [50].

Кобер 5ББ – американский сорт винограда. Продолжительность периода от начала распускания почек до листопада 180 дней при сумме активных температур 3250 °С. Кусты мощные, длина побега достигает 4-5 м. Поросли, пасынков, соцветий и гроздей образует мало.

Черенки укореняются удовлетворительно. Выход корнесобственных саженцев в среднем достигает 40-80% при хорошем однолетнем приросте и образовании большого количества корешков (16-17 при средней толщине 1,3 мм). Зимостойкость глазков очень высокая, повреждение их достигает 4% в особо неблагоприятные годы. Отличается высокой засухоустойчивостью, нетребователен к почвам; хорошо растет на бедных щебенчатых почвах, на склонах. Выдерживает высокое содержание легкорастворимых форм извести – до 20% по шкале Гале [50].

Исследования проводились на 3 этапах производства привитых саженцев: хранение черенков привоя и подвоя, стратификация привитых черенков закрытым и открытым способами, в виноградной школке. Схема постановки опытов приведена на рисунке 8.

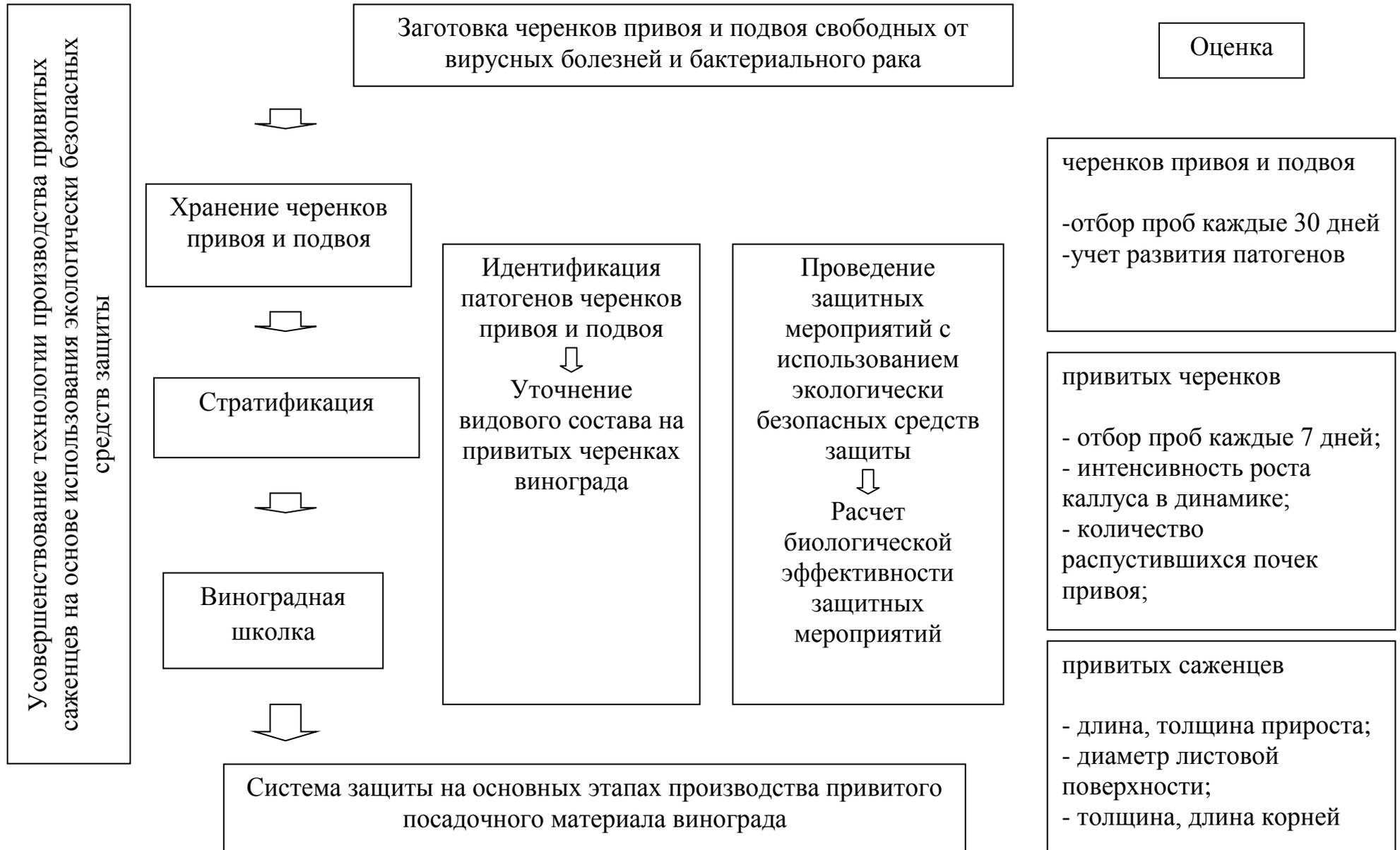


Рисунок 8 – Общая схема проведения исследований

Для усовершенствования технологии выращивания привитого посадочного материала проводили изучение основного видового состава патогенной микрофлоры на основных этапах производства, качественную и количественную оценку полученных привитых черенков и привитых саженцев.

В целях определения видового состава патогенов на заготавливаемых с участков отбора лоз подвоя и привоя и сравнительной оценки биологической эффективности обеззараживания черенков привоя и подвоя биофунгицидами Гуапсин, 0,2%, Триходермин, 0,5% и химическим фунгицидом Дерозал, 0,15% был заложен опыт по схеме I (таблица 1). В растворе препаратов Гуапсин, 0,2%, Триходермин, 0,5% и Дерозал, 0,15%, объемом 50 л проводили обеззараживание 1000 черенков; экспозиция: черенки подвоя 16 часов, привоя – 12. Для анализа видового состава и динамики развития патогенов в период хранения каждые 30 дней отбирали по 60 черенков (20 черенков в трех повторностях) привоя и подвоя из каждого варианта [45, 109]. Видовой состав грибных патогенов определяли методом влажных камер [114, 115, 138].

Таблица 1 – Схема опыта I. Развитие грибных патогенов на черенках привоя и подвоя во время хранения

№ п/п	Варианты опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора, %)	Динамика распространения и развития патогенов на черенках привоя и подвоя, %
1	Контроль (без обработки)	
2	Эталон (Дерозал, 0,15%)	
3	Гуапсин, 0,2%	
4	Триходермин, 0,5%	

После снятия с хранения проводили вымачивание компонентов прививки, прививку черенков привоя на подвой и стратификацию разными способами: открытым («на воде») и закрытым (в торфе), согласно схемы опыта II (таблица 2). В период с марта по май 2013-2015 гг. проводили стратификацию привитых виноградных черенков «на воде» в 6 блоков (3 года по 2 блока), в 2013-2014 г. – стратификацию в торфе в 4 блока (2 года по 2 блока).

Режимы стратификации «на воде»:

первый этап (5-7 дней) – температура воздуха в стратификационной камере + 28 °С, влажность воздуха – 98-95%; второй этап (6-8 дней) – температура воздуха – 26 °С, влажность воздуха – 92-90%; третий этап (5-8 дней) температура воздуха 25 °С, влажность воздуха 80%. Общая продолжительность всего периода стратификации составляла 21-23 дня [128].

Режимы стратификации во влагоудерживающем субстрате (в торфе):

первый этап (6-8 дней) – температура воздуха в стратификационной камере + 26 °С, влажность субстрата – 98-95%; второй этап (7-9 дней) – температура воздуха – 25 °С, влажность субстрата – 95-90%; третий этап (4-6 дней) температура воздуха 24 °С, влажность субстрата 85%. Общая продолжительность всего периода стратификации составляла 21-23 дня [118].

Таблица 2 – Схема опыта II. Интенсивность развития грибных патогенов и биологическая эффективность защитных мероприятий во время стратификации

№ п/п	Варианты опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора, %)	Концентрация рабочего раствора, %
1	Контроль (без обработок)	
2	Эталон (Топсин М)	0,15
3	Гуапсин	0,2
4	Триходермин	0,5

В период проведения стратификации на воде каждые 3 дня проводили опрыскивание привитых черенков биофунгицидами Гуапсин, 0,2%, и Триходермин, 0,5%, в целях уничтожения грибной инфекции на поверхности растительного материала. В динамике, на 7, 14 и 21 день определяли интенсивность развития грибной инфекции на привитых черенках, отмечали степень развития каллуса в месте спайки привитого черенка, рассчитывали биологическую эффективность защитных мероприятий согласно «Методам определения болезней сельскохозяйственных растений» [114] и «Методическим рекомендациям по агротехническим исследованиям в виноградарстве Украины»

[109]. Видовую принадлежность грибов определяли по общепринятым определителям и фундаментальным работам [84, 144, 145, 146].

В период проведения стратификации во влагоудерживающем материале (торфе) обеззараживание привитых черенков биофунгицидами Гуапсин в концентрации 0,2%, и Триходермин в концентрации 0,5%, проводили однократно, за день до закладки на стратификацию.

После высадки привитых черенков в школку для оценки эффективности биофунгицидов в защите от комплекса грибных заболеваний проводили опрыскивание препаратами Гуапсин, 0,2%, Триходермин, 0,5%, шесть раз за вегетацию. В качестве эталона использовали химический фунгицид Фольпан, 0,15%. Для снижения влияния жестких климатических условий на процессы роста и развития привитых черенков и увеличения выхода привитых стандартных саженцев и улучшения их биометрических показателей применяли растворы регуляторов роста Атоник Плюс, 0,02% и Гумисол, 0,01% [88]. Схема опыта III представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Схема опыта III. Развитие, распространение патогенов на привитых черенках в школке

Вариант опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора,%)	Интенсивность развития болезней, R%, на 30, 60 и 90 день после высадки привитых черенков в школку
I. Контроль (Прививки без обработок)	Биометрические показатели привитых виноградных саженцев после выкопки
II. Эталон (Фольпан, 0,15%)	
III. Гуапсин, 0,2%	
IV. Триходермин, 0,5%	
V. Атоник Плюс, 0,02%	
VI. Гумисол. 0,01%	
VII. Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%	

После выкопки привитых саженцев из школки проводили комплексную оценку биометрических показателей побегов и корней, согласно ГОСТа 31783-2012 «Посадочный материал винограда (саженцы). Технические условия» [45].

Полученные растения были протестированы методами ПЦР, ИФА на наличие латентных стадий вирусных, бактериальных и фитоплазменных инфекций.

### 2.3 Характеристика испытываемых биопрепаратов и регуляторов роста растений

1) «Гуапсин» – биологический инсектофунгицид комплексного действия. Обеспечивает защиту растений от болезней и вредителей, стимулирует рост растений, повышает устойчивость сельскохозяйственных культур к заморозкам и засухе, увеличивает урожайность. Механизм защиты основан на действии промышленных штаммов бактерии рода *Pseudomonas aureofaciens* В-306 и В-111, которые защищают растения от болезней и вредителей, стимулируют их рост и развитие.

2) «Триходермин» – биологический фунгицид с бактерицидными свойствами. Механизм действия триходермина основан на подавлении развития фитопатогенов грибом *Trichoderma viride* Pers., с титром не ниже  $2 \times 10^9$  спор в 1 мл препарата. Применяется против серой и белой гнили, чёрной ножки, парши, фузариоза, аскохитоза, фитофтороза и др. Способствует повышению активности клеточного сока и тем самым устойчивости растений к заболеваниям, подавляет развитие патогенов, обеззараживает и обогащает почву питательными веществами, стимулирует рост и развитие растений.

3) «Дерозал, к.э.» – системный фунгицид широкого спектра действия, д.в. – карбендазим 500 г/л. Обладает профилактическим и лечебным действием. Эффективен против комплекса грибных заболеваний: серой и белой гнилей, оидиума, черной пятнистости, инфекционного засыхания, эски и др.

4) «Топсин М, к.э.» – высокоэффективный системный фунгицид, д.в. – тиофанат-метил, 700 г/кг. Системный препарат широкого лечебного и профилактического действия для борьбы на винограде с оидиумом, антракнозом, фузариозом, серой гнилью.

5) «Фольпан, с.п.» – высокоэффективный контактный фунгицидс защитным действием, д.в. – фолпет, 500 г/кг. Эффективен на винограде против оидиума, милдью, серой гнили, белой гнили, черной пятнистости, инфекционного засыхания.

б) «Атоник Плюс» – биостимулятор с ярко выраженным регенеративным и антистрессовым действием на основе трех фенольных соединений: 5-нитроглюконат натрия 3 г/л + ортонитрофенолят натрия 6 г/л + паранитрофенолят натрия 9 г/л. Обработка препаратом обеспечивает более разветвленную корневую систему, интенсивный рост листовой поверхности. Применение в вегетационный период оптимизирует водный баланс в растении и повышает резистентность к болезням. Увеличивает урожайность.

7) «Гумисол» – жидкий концентрат на основе биогумуса. Содержит макро- и микроэлементы, фульвокислоты, витамины, аминокислоты, фитогормоны, полезную почвенную микрофлору. Активные компоненты препарата вызывают стимуляцию биохимических процессов. Активируется процесс фотосинтеза, вызывает ускорение образования ферментов, витаминов, хлорофилла, сахаров, повышает энергию роста растений и развитие плодов.

## **2.4 Методики проведения исследований**

### **2.4.1 Тестирование вирусных и бактериальных инфекций в растительных образцах винограда методами ОТ-ПЦР, ПЦР, ИФА**

В период заготовки черенков привоя и подвоя, после снятия с хранения, после выкопки привитых саженцев из виноградной школки был отобран растительный материал для проведения тестирования на наличие латентной стадии вирусных, бактериальных и фитоплазменных болезней методами ПЦР и ИФА, согласно схемы IV, представленной на рисунке 9.

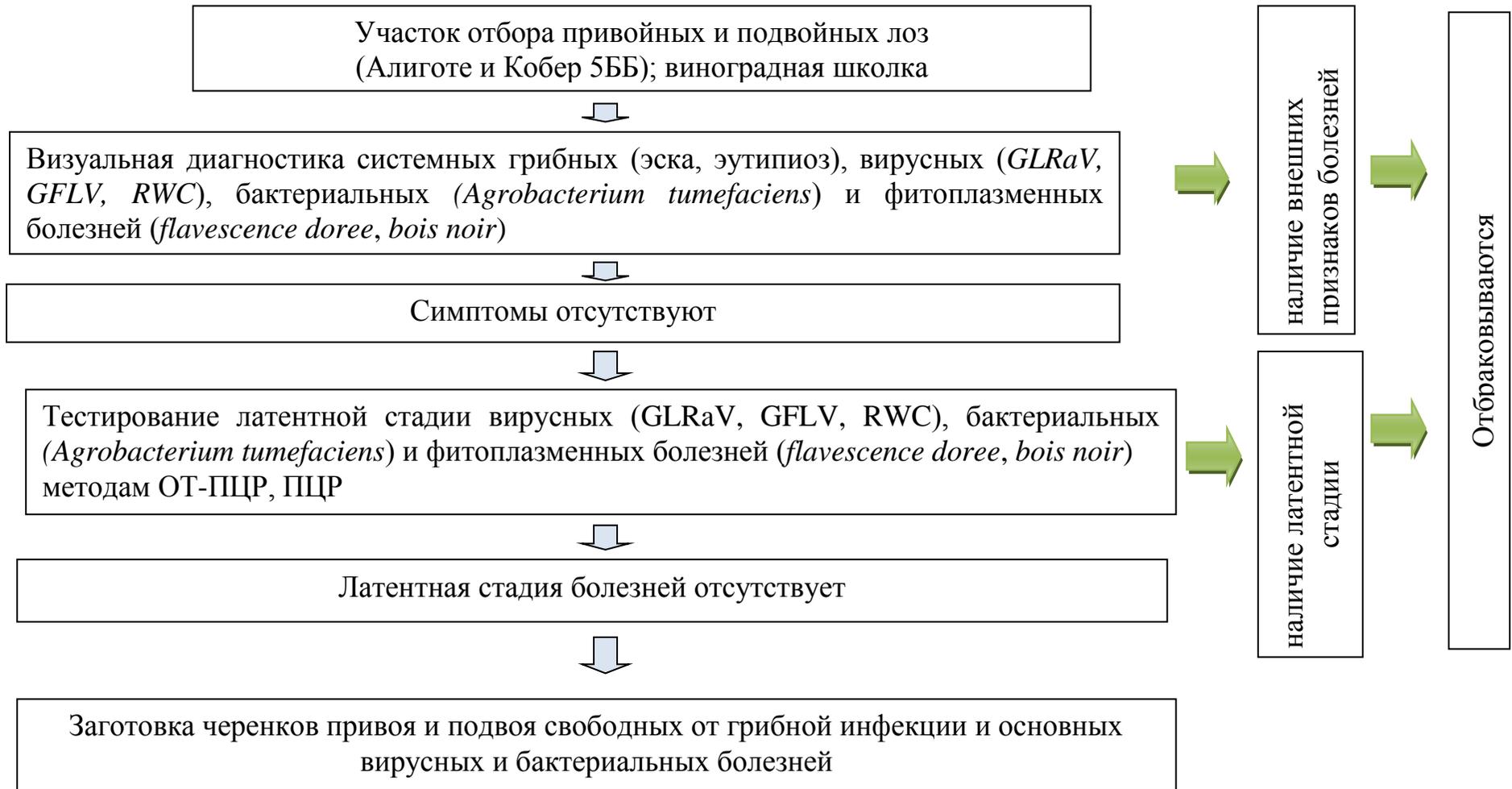


Рисунок 9 - Схема IV. Диагностика вирусных и бактериальных инфекций исходных насаждений привойных и подвойных сортов, привитых саженцев, выполненная методами ИФА, ПЦР

Для выявления латентной стадии вирусных инфекций на первом этапе работы использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA), который основан на использовании реакции преципитации диагностических антител с антигеном-мишенью [218, 273]. Для тестирования отбирали зрелые листья, навеску из которых гомогенизировали шариковым гомогенизатором в 9 мл буфера. Реакцию оценивали по протоколу производителя тест набора, а степень изменения окраски измеряли при помощи планшетного спектрофотометра фирмы Labline.

Для молекулярной диагностики методом ПЦР латентной стадии вирусных инфекций на участках отбора виноградных лоз привойных и подвойных сортов Алиготе и Кобер 5ББ отбирали растительный материал (лист, побег, черешки и др.) без внешних признаков патологии. Для тестирования бактериального рака отбирали ткань растений, расположенную наиболее близко к многолетней древесине. Сбор осуществляли в соответствии с рекомендациями организации защиты растений Европы и Средиземноморья (OEPP/EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization) [261]. Растительный материал отбирали в отдельные пакеты и с этикетками помещали в сумку-холодильник для транспортировки в лабораторию. После отбора каждой пробы перчатки и инструмент обрабатывали 70% этиловым спиртом.

Так как большинство вирусных патогенов винограда являются РНК-содержащими, для их идентификации необходимо проведение несколько этапов подготовки перед проведением ПЦР: выделение РНК, синтез кДНК и непосредственное проведение ПЦР с вирусоспецифическими праймерами. Для экстракции суммарной РНК из черенков винограда использовали метод, который описан Rott and Jelkman [262].

Качественную и количественную оценку экстрагированной РНК выполняли на спектрофотометре «Biophotometer plus» и методом электрофореза в 4,0% агарозном геле [44].

Выделенную РНК использовали для синтеза кДНК по протоколу производителя (Thermo Scientific™) и последующего проведения ОТ-ПЦР на

наиболее экономически важные патогены: *Grapevine virus A (GVA)*, *Grapevine virus B (GVB)*, *Grapevine Rupestris stem pitting-associated viruses (RSPaV)*, *Grapevine fanleaf virus (GFLV)*, *Grapevine leafroll-associated viruses – 1, 3 (GLRaV-1,-2,-3)*.

Наличие фитопатогенных вирусов в образцах винограда определяли методом ОТ-ПЦР на амплификаторе Eppendorf Mastercycler. Анализ ОТ-ПЦР продуктов выполнен методом электрофоретического разделения в 4 % агарозном геле и 1x TBE буфере при 120V в течение 40 минут, при напряженности электрического поля 5 В/см. Продукты ПЦР визуализировали в ультрафиолетовом свете по свечению в бромистом этидии [266].

Тестирование возбудителя бактериального рака *Agrobacterium tumefaciens* осуществляли в два этапа: получение культуры бактериальных клеток микробиологическими методами и проведение ПЦР-анализа [97, 211]. Для экстракции возбудителя бактериального рака из растительного материала лозу нарезают на фрагменты, помещали в стерильную воду [122]. Полученные экстракты высевали в стерильных условиях на полуселективные питательные среды D1 и YMA [247, 270]. Выросшие колонии, схожие по описанию с характеристиками *Agrobacterium* на данных питательных средах, отбирали для экстракции ДНК. Экстрагированную ДНК использовали в качестве матрицы для проведения ПЦР [44]. Результаты ПЦР визуализировали так же как и при тестировании вирусных фитопатогенов, методом гель-электрофореза по свечению бромистого этидия под УФ.

Тестирование фитоплазменной инфекции в черенках сортов Алиготе и Кобера 5ББ выполняли методом nested ПЦР. [224].

#### **2.4.2 Полевые и лабораторные методики**

Метод маршрутных обследований участков отбора привойных и подвойных лоз использовали для определения распространения и динамики развития возбудителей грибных болезней [111]. Лабораторные исследования проводили

согласно общепринятым в фитопатологии методикам, применяемых для идентификации патогенов при изучении их видового состава, первичного испытания эффективности действия фунгицидов [144, 145, 146]. Измерительный метод использовали для изучения агробиологических показателей виноградного растения. Расчетно-сравнительный – для определения эффективности системы защиты привитых черенков и саженцев винограда от возбудителей грибных болезней [109, 111]. Математико-статистический – для определения достоверности полученных результатов и выявления зависимостей между исследуемыми показателями. Математическую обработку полученных результатов проводили по общепринятым методикам с использованием дисперсионного (корреляционного и регрессионного) анализа в соответствии с «Основами научных исследований в агрономии» [135]. Статистический анализ выполнен с помощью пакета анализа данных электронной таблицы Microsoft Excel 2007.

Создание провокационного фона, для проявления диагностических признаков, осуществляли методом использования влажных камер в чашках Петри и эксикаторах, куда помещали увлажненную фильтровальную бумагу и анализируемый объект. Влажные камеры выдерживали при температуре инкубации 22-25 °С, ежедневно осматривали до появления диагностических признаков. Микроскопирование проводили с использованием тринокулярного микроскопа XY-B2 и тринокулярного стереомикроскопа SZM-45T2. Фотосъемку полученных объектов, осуществляли цифровой микроприставкой с адаптером Canon Power Shot A 640. В полевых условиях фотосъемку проводили фотоаппаратом Canon Power Shot A 640. Все фотографии, приведенные в работе сделаны непосредственно автором.

Агробиологические учеты и наблюдения проведены согласно «Методическим рекомендациям по агротехническим исследованиям в виноградарстве Украины» [109].

Полевые опыты по изучению эффективности различных схем защитных мероприятий от возбудителей грибных болезней на участках отбора лоз и в

школке были заложены согласно «Основам научных исследований в агрономии» [135], «Методических указаний по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве» [112]. Названия виноградарских зон приведены согласно виноградному кадастру [35].

Первичную диагностику грибных болезней проводили в полевых условиях по визуальным признакам. Для расчета интенсивности развития болезни каждый учитываемый орган (лист, побег) оценивали по 9-балльной шкале [111]:

1 балл – очень слабое поражение (до 5% площади поверхности обследуемого органа растения);

3 балла – слабое поражение (6-25%);

5 баллов – среднее поражение (26-50%);

7 баллов – сильное поражение (51-75%);

9 баллов – очень сильное поражение (более 76%).

Степень поражения возбудителем черной пятнистости побегов винограда определяли по четырехбалльной шкале [207]:

1 – единичные беловатые пятна вокруг глазков 1-2 междоузлия, пикнид гриба не наблюдается, поражено до 10 % поверхности черенка;

2 – беловатые пятна болезни на 3-4 междоузлиях с единичными пикнидами, поражено 11-25 % поверхности черенка;

3 – беловатые пятна болезни на 4-5 междоузлиях с многочисленными пикнидами, поражено 26-50 % поверхности черенка;

4 – беловатые пятна сливаются с многочисленными пикнидами, занимают более 5 междоузлий, поражено более 50 % поверхности черенка.

В лабораторных условиях поражение черенков винограда грибными патогенами проводили согласно следующей шкалы оценки [76]:

0 баллов – побеги без симптомов поражения;

1 балл – единичные мелкие или 1-2 больших пятна, поражено до 10% поверхности побегов;

2 балла – 2-3 большие пятна, поражено 11-25% поверхности побегов;

3 балла – пятна сливаются, поражено 26-50% побегов;

4 балла – поражено более 50% поверхности побегов.

Распространенность болезней определяли по следующей формуле:

$$P = \frac{n}{N} \times 100, \quad (2.1)$$

где P – распространение болезни, %;

n – количество больных органов растений (гроздей, листьев, побегов и т.д.);

N – общее количество учтенных органов растений (гроздей, листьев, побегов и т.д.).

Интенсивность развития болезней рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{0,1 \cdot n_1 + 1 \cdot n_2 + 2 \cdot n_3 + 3 \cdot n_4}{N} * 100 \quad (2.2)$$

Где R – интенсивность развития болезни, %;

n 0,1-..n4 – количество органов растения пораженных соответствующим баллом;

N – общее количество учтенных органов.

1 – 4 – баллы шкалы учета (в полевых условиях максимальный балл шкалы -

9)

Биологическую эффективность препаратов против комплекса болезней определяли по формуле:

$$Б.Э. = \frac{K-B}{K} * 100 \quad (2.3)$$

где Б.Э. – Биологическую эффективность, %;

K – показатель по контрольному варианту (распространение или интенсивность развития болезни), %;

B – аналогичный показатель по опытному варианту, %.

Рентабельность производства конечной продукции рассчитывали по формуле [134]:

$$P = \frac{Чд}{З} \cdot 100\% \quad (2.4)$$

где: P – рентабельность продукции, %;

Чд – чистый доход, тыс. руб.;

З – затраты на производство 1 000 шт. привитых саженцев, тыс. руб.

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Фитосанитарный мониторинг патогенов на участках отбора лоз

Большая часть существующих промышленных насаждений винограда в разной степени заражены хроническими вирусными, бактериальными и грибными заболеваниями, которые могут распространяться с посадочным материалом при его вегетативном размножении [120, 145]. На промышленных насаждениях, заложенных пораженным посадочным материалом, снижаются долговечность насаждений, устойчивость к неблагоприятным условиям внешней среды, количественные и качественные показатели урожая. В связи с этим, проблема повышения продуктивности винограда в значительной степени зависит от качества привитого посадочного материала – одного из главных источников инфицирования.

Маточные насаждения – виноградные растения, которые используются для получения стандартных черенков привоя и подвоя, свободных от грибных, вирусных и бактериальных инфекций с целью производства привитого посадочного материала [40, 179]. В условиях острого дефицита черенков привоя и подвоя, их заготовка может проводиться с промышленных насаждений, заложенных материалом категории «стандартный», при условии осуществления на них мероприятий массовой селекции и санитарного контроля. Такие виноградные промышленные насаждения могут быть использованы в качестве участка для отбора лоз [122, 124, 224].

Проведение фитосанитарного мониторинга в течение вегетационного периода позволяет выявить и отбраковать растения с визуальными признаками вирусных (GFLV, GLRaV, RWC, GFkV), бактериальных (*Agrobacterium tumefaciens*), грибных заболеваний многолетней древесины (*Fomitiporia mediterranea*, *Phaeoconiella chlamydospora* и *Phaeoacremonium aleophilum*; *Eutypa lata*; *Phomopsis viticola*) и сезонных грибных болезней (*Plasmopara viticola*, *Uncinula necator*, *Alternaria* sp. и др.). Что является важным звеном при получении

качественного посадочного материала, свободного от вирусной, бактериальной и грибной инфекций.

Вирусные болезни и бактериальный рак оказывают сильное влияние на изменчивость агробиологических показателей сорта, угнетенный прирост, вызывают горошение, неравномерное созревание ягод, ухудшение вкусовых качеств, снижение содержания сахаров в ягодах и урожайности. Эти заболевания объединяет системный характер, наличие явной и скрытой инфекции, отсутствие эффективных прямых мер борьбы. Грибные болезни развиваются и поражают различные органы и ткани в течение всего вегетационного периода; причиняют ощутимый вред и могут привести к отмиранию отдельной части куста или гибели всего растения. При фитосанитарном мониторинге можно установить момент заражения растений, интенсивность развития инфекции, сроки проведения защитных мероприятий.

### **3.1.1 Фитосанитарный мониторинг вирусных и бактериальных заболеваний по внешним (визуальным) признакам**

Фитосанитарный мониторинг на участке отбора лоз был начат с оценки наличия внешних признаков вирусных и бактериальных болезней. Для выполнения этой задачи на виноградных насаждениях в течении периодов вегетации 2012, 2013, 2014 годов, были проведены маршрутные обследования насаждений сортов Алиготе и Кобер 5ББ на предмет обнаружения внешних признаков вирусной и бактериальной инфекций с целью последующей заготовки черенков подвоя и привоя, пригодных для производства здорового посадочного материала.

Обследования участков заготовки черенков выполнены в соответствии со схемой диагностики вирусных и бактериальных фитопатогенов растений и рекомендациями ОЕРР/ЕРРО [260]. Схема опыта представлена на рисунке 9 в разделе 2.4.1.

Было обследовано 2200 растений сорта Алиготе и 100 – сорта Кобер 5ББ.

В результате проведенных исследований на штамбах и рукавах не были обнаружены опухоли бактериального рака. Для тестирования латентной стадии *Agrobacterium tumefaciens* методом ПЦР были отобраны листья, черенки и ткани, расположенные близко к многолетней древесине.

При отсутствии среди насаждений растений с внешними признаками бактериального рака при обследованиях был обнаружен ряд симптомов, указывающих на развитие вирусных заболеваний. Наиболее часто встречались растения с признаками наличия вируса короткоузлия винограда (*Grapevine fanleaf virus* - GFLV). В весенний период распространенными признаками на побегах были: отставание в росте как всего куста, так и побегов; укороченные междоузлия; зигзагообразный рост побегов; иногда встречалась фасциация побегов. Короткие междоузлия чередовались с более длинными, наблюдались двойные узлы, избыточное развитие пасынков. На листьях была отмечена симметричность строения листовой пластины и единичные случаи её пожелтения в виде желтой мозаики.

Также на кустах, отстающих в росте и имеющих ярко выраженные признаки короткоузлия было отмечено осыпание цветков и горошение ягод винограда. Данные симптомы встречались весной и осенью (рисунки 10, 11). С симптомами вируса скручивания листьев винограда (*Grapevine leafroll-associated viruses* – GLRaV) было обнаружено 31 растение (4,8%).

При визуальном осмотре обращали внимание на разницу в проявлении симптомов, которые вероятно связаны с разными штаммами GLRaV. Известно, что в Крыму распространены два штамма *Grapevine leafroll-associated viruses*, которые характеризуются разной степенью проявления внешних признаков. Штамм *GLRaV* – 1: сильное скручивание листьев и умеренное изменение окраски, штамм *GLRaV* – 3: умеренное скручивание листьев, сильное изменение окраски, особенно у сортов с окрашенной ягодой [214]. При обследовании участка отбора лоз сорта Кобер 5ББ внешних признаков *Grapevine leafroll-associated viruses* не обнаружено, что соответствует литературным данным о том, что если подвойные сорта винограда и поражаются GLRaV, то в латентной форме [183, 185, 217].

Известно, что к основному внешнему признаку вируса скручивания листьев винограда относится признак - скручивание пластинки листа краями вниз, при этом она становится хрупкой (рисунок 10).



Рисунок 10 – Внешние симптомы вируса скручивания листьев винограда на листьях сорта Алиготе: хрупкость и скручивание листьев к низу

У сортов с окрашенными ягодами наблюдается преждевременное покраснение листовых пластинок за исключением главных жилок. У сорта Алиготе (как светлягодного), на листьях отмечено появление хлороза (рисунок 11).



Рисунок 11 – Внешние симптомы вируса скручивания листьев, сорта Алиготе (изменение окраски листовой пластины, жилки остаются зелеными)

Таким образом, в течение трёх вегетационных периодов (2012-2014 гг.) было выявлено 111 растений с внешними признаками короткоузлия, что составило 5,0% от общего количества осмотренных (таблица 4).

Таблица 4 – Частота встречаемости растений с внешними признаками развития вирусных инфекций и бактериального рака на участках отбора лоз, 2012-2014 гг.

Сорт	Кол-во осмотренных растений	Визуальные проявления вирусных инфекций и бактериального рака на растениях винограда, (%)			
		Короткоузлие	Скручивание листьев	Комплекс бороздчатости	Бактериальный рак
Алиготе	2200	111 (5,0%)	31 (4,8%)	9 (0,2%)	-
Кобер 5 ББ	100	-	-	-	-

При обследовании виноградных насаждений Крыма, в рамках проекта «Молекулярная диагностика бактериальных и вирусных фитопатогенов винограда, актуальных для сельского хозяйства Крыма» (субсидия Министерства образования и науки Российской Федерации №14.604.21.0145, уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI60414X0145), были обнаружены растения поражённые вирусами комплекса бороздчатости древесины винограда (*Rugose wood complex, RWC*), вызывающие такие болезни, как: бороздчатость *Rupestris* (*Grapevine Rupestris Stem Pitting associated Virus, GRSPaV*) и ямчатость древесины Кобера (*Grapevine virus A, GVA*).

Были отмечены следующие симптомы комплекса бороздчатости древесины винограда: образование на штамбе, иногда рукавах и корнях ямок и удлиненных борозд, которые идут параллельно их оси. При сильном развитии болезни борозды сливались в одну, образуя длинные, широкие и глубокие канавки, что способствовало растрескиванию штамба и рукавов. Кора под участками с симптомами бороздчатости была утолщенная и дырчатая. В начальной стадии развития болезни внешние признаки слабо выражены.

В наших обследованиях обнаружены 9 растений с признаками древесины характерными для Rugose wood complex, что составило 0,2% от общего количества обследованных растений

Таким образом, при обследовании в период 2012-2014 г.г. участков отбора лоз сорта Алиготе было выявлено 151 растение с внешними признаками вирусов GFLV (111), GLRaV(31) и RWC (9), что составило 6,8% от общего количества обследованных растений.

На участках отбора лоз подвойного сорта Кобер 5ББ не было выявлено растений с симптомами GFLV, GLRaV и RWC. Признаков бактериального рака *Agrobacterium tumefaciens* не выявлено как среди растений сорта Алиготе, так и сорта Кобер 5ББ.

Растения с внешними симптомами вирусных, бактериальных и фитоплазменных болезней, а также соседние кусты были отмечены и исключены из последующей заготовки черенков.

Данные результаты опубликованы в специализированном научном издании:

Волков, Я.А. Распространение вирусных и бактериальных фитопатогенов на виноградниках юго-западной зоны Крыма / Я.А. Волков, В.И. Рисованная, С. М. Гориславеци др. // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. – № 4. – С. 27-28;

Поротикова, Е.В. Распространение вирусов скручивания листьев винограда 1 и 3 (grapevine leafroll-associated viruses-1 и -3) на территории Крыма / Е.В. Поротикова, В.И. Рисованная, Я.А. Волков и др. // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – 2016. – № 2. – С. 13-16.

### **3.1.2 Тестирование латентной стадии основных вирусных и бактериальных инфекций GFLV, GLRaV, RWC, *Agrobacterium tumefaciens* в исходном материале винограда**

Второй этап анализа фитосанитарного состояния участков отбора лоз сортов Алиготе и Кобер 5ББ заключался в тестировании латентной стадии

основных вирусных и бактериальных болезней в образцах растений, предполагаемых для заготовки черенков методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР), отобранных на первом этапе обследования участков отбора лоз (таблица 5).

Таблица 5 – Основные вирусные болезни и бактериальный рак винограда, протестированные в данной работе

Болезнь виноградной лозы	Возбудитель, штаммы	Вектор переноса
Комплекс борозчатости древесины винограда	<i>Grapevine Rupestris stem pitting-associated viruses (RSPaV)</i>	<i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Pseudococcus viburni</i>
	<i>Grapevine virus A (GVA)</i>	<i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Parthenolecanium corni</i> , <i>Pulvinaria vitis</i>
	<i>Grapevine virus B (GVB)</i>	<i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Pseudococcus viburni</i>
Короткоузлие	<i>Grapevine fanleaf virus (GFLV)</i>	<i>Xiphinema index</i>
Скручивание листьев винограда	<i>Grapevine leafroll - associated viruses - 1 (GLRaV-1)</i>	<i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Parthenolecanium corni</i> , <i>Pulvinaria vitis</i>
	<i>Grapevine leafroll - associated viruses - 2 (GLRaV-2).</i>	Не известны
	<i>Grapevine leafroll - associated viruses - 3 (GLRaV-3).</i>	<i>Pseudococcus longispinus</i> , <i>Pseudococcus viburni</i> , <i>Pseudococcus calceolariae</i> , <i>Pseudococcus maritimus</i> , <i>Planococcus citri</i> , <i>Planococcus ficus</i> , <i>Heliococcus bohemicus</i> <i>Phenacoccus aceris</i> <i>Pulvinaria vitis</i>
Бактериальный рак винограда	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Не известны

Для тестирования скрытой (латентной) стадии болезней с не менее 100 бессимптомных растений Алиготе и Кобер 5ББ ежегодно отбирали растительный материал.

При вегетативном размножении наиболее опасной формой протекания болезни является латентная (скрытая) стадия, при которой растения являются носителями возбудителей вирусных и бактериальных болезней без проявления

внешних симптомов, так как зараженные растения без признаков могут быть использованы при заготовке посадочного материала. При этом внешние признаки вирусных болезней винограда могут быть аналогичны признакам не инфекционной природы, например, такие как функциональное короткоузлие, осыпание и горошение ягод у сортов *Vitis vinifera* L. с женским типом цветка, связанных с нарушением технологии применения гербицидов и др. Кроме того в некоторых случаях внешние симптомы появляются только в хронической стадии болезни, но в ряде случаев находится в латентной или полулатентной стадии. Поэтому обязательным условием получения здорового посадочного материала является соблюдение комплекса мероприятий, исключающих возможность его первичного заражения.

Тестирование было проведено в максимально сжатые сроки, учитывая условия хранения и транспортировки, тип отобранной ткани. Органами виноградного растения, содержащими оптимальную концентрацию возбудителей вирусных болезней в период отбора образцов для тестирования на наличие латентной стадии фитопатогенов являлись зрелые листья и их черешки, отобранные в средней части куста. Методика отбора образцов, рекомендованная ОЕПР/ЕРРО, соответствовала поставленным задачам подготовки и отбора материала для молекулярной и иммуноферментной диагностики фитопатогенов винограда.

В период вегетации 2012-2013 гг. был выполнен скрининг образцов растений сортов Алиготе и Кобер 5ББ, отобранных для заготовки черенков на присутствие латентной стадии наиболее распространённых вирусов короткоузлия – *GFLV* и вирусов скручивания листа *GLRaV-1* + *GLRaV-3*.

Тестирование было выполнено методом ИФА на планшетном иммуноферментном анализаторе Labline – 28 с использованием тест-наборов кат. №: FL-XRA 0500 и кат. №: LR1,3-XRA 0500, соответственно, по инструкции производителя (рисунок 12).

В результате ИФА анализа образцов, отобранных с растений без внешних визуальных признаков вирусных заболеваний, выявлено 27 растений с

признаками наличия латентной стадии *GFLV* и *GLRaV-1 + GLRaV-3*. Эти растения были исключены из последующей заготовки черенков.

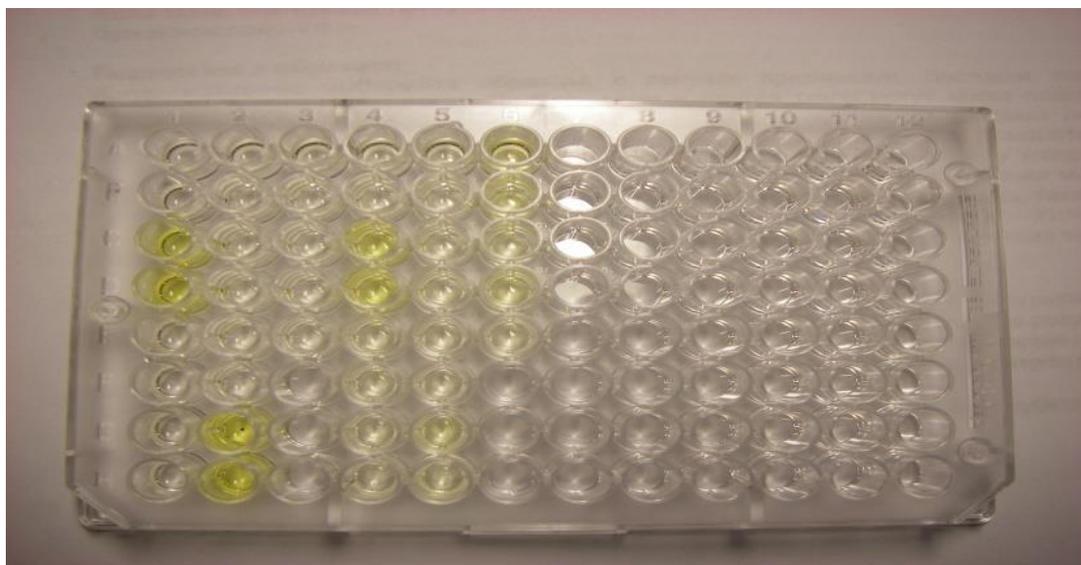


Рисунок 12 - Результаты тестирования вирусов *GFLV* и *GLRaV-1 + GLRaV-3* методом ИФА (пример). Н2 - положительный контроль *GFLV*, исследуемые образцы: А1 – Н1 и А2 - G2, C1, D1, G2 – присутствует вирус *GFLV*; D4 – положительный контроль *GLRaV-1 + GLRaV-3*, исследуемые образцы: А3 – Н3, А4 - С4 и Е4 - Н4, С4 - присутствует вирус *GLRaV-1 + GLRaV-3*

Иногда концентрация возбудителей вирусных и бактериальных болезней в тканях и клетках растений может быть на низком уровне, поскольку распределение возбудителей в виноградной лозе в зависимости от сезона и погодных условий может быть неравномерным, особенно в первый год после инфицирования патогеном. В таких случаях наиболее востребованы молекулярные методы анализа, основанные на выявлении нуклеиновой кислоты вирусного или бактериального фитопатогена. Эти методы более предпочтительные благодаря своей более высокой чувствительности. В связи с этим, в наших дальнейших исследованиях для оценки фитосанитарного состояния растений на участках отбора лоз, а именно тестирование латентных стадий вирусных и бактериальных болезней были использованы методы ОТ-ПЦР и ПЦР.

Поскольку большинство вирусных патогенов винограда являются РНК-содержащими, их тестирование мы начинали с выделения суммарной РНК из 98 растительных образцов Алиготе и 100 Кобер 5ББ методом Rott ME, Jelkmann W. (2001) [262].

Качество выделения РНК контролировали методом электрофоретического анализа в 1,0% агарозном геле (рисунок 13).

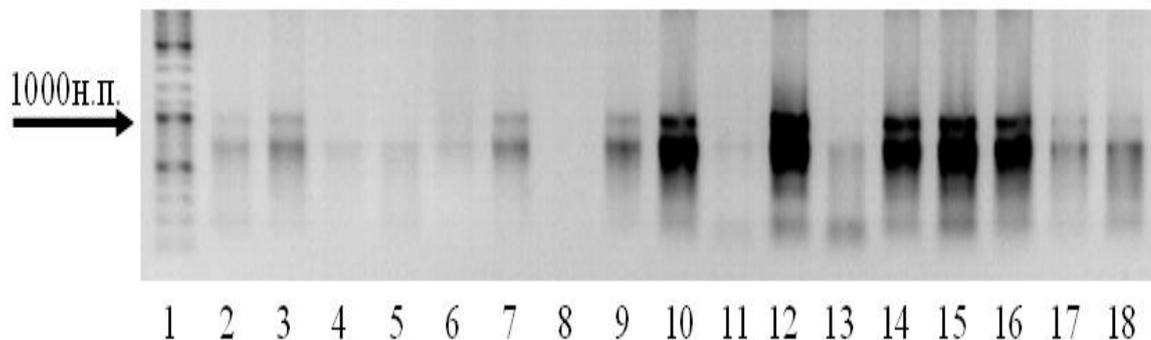


Рисунок 13 – Электрофореграмма выделенной РНК из образцов винограда в 1%-ом агарозном геле. 1 – маркер молекулярной массы (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Mix, Fermentas); 2-18 – РНК, выделенная из образцов винограда

Таким образом, из 198 собранных образцов винограда была выделена РНК, пригодная для дальнейшего определения наличия вирусных патогенов. Выделенную РНК использовали для синтеза кДНК методом ОТ-ПЦР с использованием обратной транскриптазы Revert Aid H Minus (Thermo Scientific™) в соответствии с протоколом производителя.

Далее полученную кДНК использовали в качестве матрицы ПЦР со специфическими праймерами (таблица 6) для тестирования латентной стадии основных вирусных болезней, присутствие которых уже анализировали по внешним признакам на этапе обследования участков отбора лоз сортов Кобер 5ББ и Алиготе.

Таблица 6 – Специфические праймеры для тестирования латентной стадии основных вирусных болезней винограда

Вирус	Последовательность праймеров	Размер фрагмента (н.п.)
<i>GFLV</i>	GFLV_F 5'-CCA-AAG-TTG-GTT-TCC-CAA-GA-3' GFLV_R 5'-ACC-GGA-TTG-ACG-TGG-GTG-AT-3'	300
RSPaV	RSPaV_F 5'-GAT-GAG-GTC-CAG-TTG-TTT-CC-3' RSPaV_R 5'-ATC-CAA-AGG-ACC-TTT-TGA-CC-3'	300
<i>GVA</i>	GVA_F 5'-GAC-AAA-TGG-CAC-ACT-ACG-3' GVA_R 5'-AAG-CCT-GAC-CTA-GTC-ATC-TTG-G-3'	400
<i>GVB</i>	GVB_F 5'-ATC-AGC-AAA-CAC-GCT-TGA-ACC-G-3' GVB_R 5'-GTG-CTA-AGA-ACG-TCT-TCA-CAG-C3'	350
<i>GLRaV-1</i>	GLRaV-1_F 5'-ATG GCT AGC GTT ATA TCT CAA C-3' GLRaV-1_R 5'-CCG GTT GGT AAT ACT ACC GAA A-3'	430
<i>GLRaV-2</i>	GLRaV-2_F 5'-CTA-ACA-ATT-TCT-TCT-TTG-GAT-CGC-AT-3 GLRaV-2_R 5'-AGA-ATG-TCT-TCA-GCT-TCA-TAA-GGA-G-3	200
<i>GLRaV-3</i>	GLRaV-3_F 5'-ATT AAC TTG ACG GAT GGC ACG C-3' GLRaV-3_R 5'-ATA AGC ATT CGG GAT GGA CC-3'	340

Наличие вирусных фитопатогенов в образцах винограда определяли методом ПЦР на амплификаторе Eppendorf Mastercycler. Состав реакционной смеси (объем реакции 15 мкл): 10x буфер для Taq полимеразы; 0,3 mM dNTPs; 3,3 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,7 пкмоль/мкл – прямой праймер; 0,7 пкмоль/мкл – обратный праймер; 1 мкл кДНК-матрицы; 0,375 ед. Taq полимеразы Fermentas (5 ед./мкл); MQ.

В результате ПЦР-анализа всех отобранных, с участков отбора лоз, образцов бессимптомных растений Алиготе и Кобер 5ББ (198) латентная стадия вируса короткоузлия *GFLV* была обнаружена в 9 образцах сорта Алиготе (рисунок 14), что составило 4,5% от общего количества отобранных образцов (198).

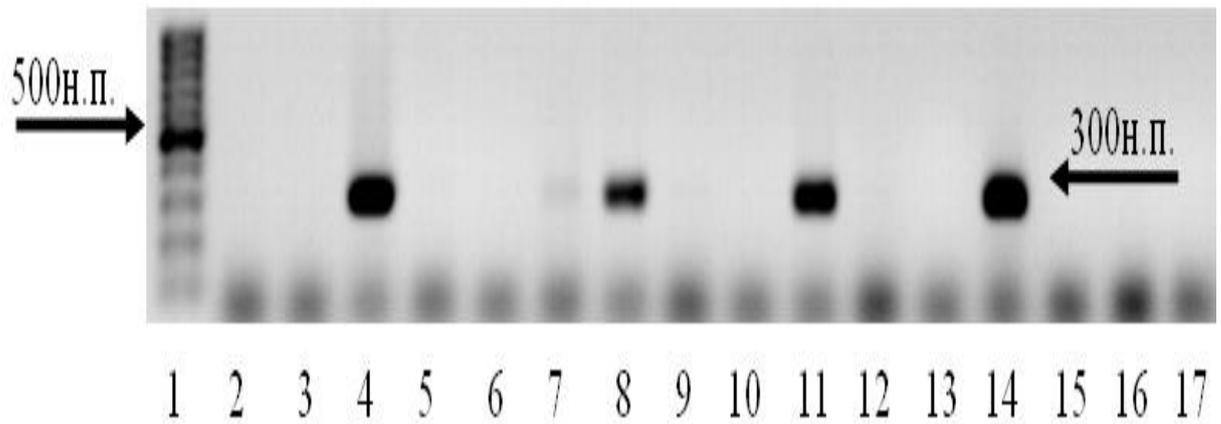


Рисунок 14 - Электрофореграмма продуктов ОТ- ПЦР на наличие GFLV в образцах винограда (фрагмент). 1 – маркер молекулярной массы (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Mix, Fermentas); 2 – ОТ-ПЦР без матрицы, 3, 5-17 – ОТ-ПЦР на суммарной РНК анализируемых растений, 4 – положительный контроль GFLV

Проанализировав отобранные растения, мы обнаружили *GLRaV-1* в 5 образцах растений сорта Алиготе (рисунок 15).

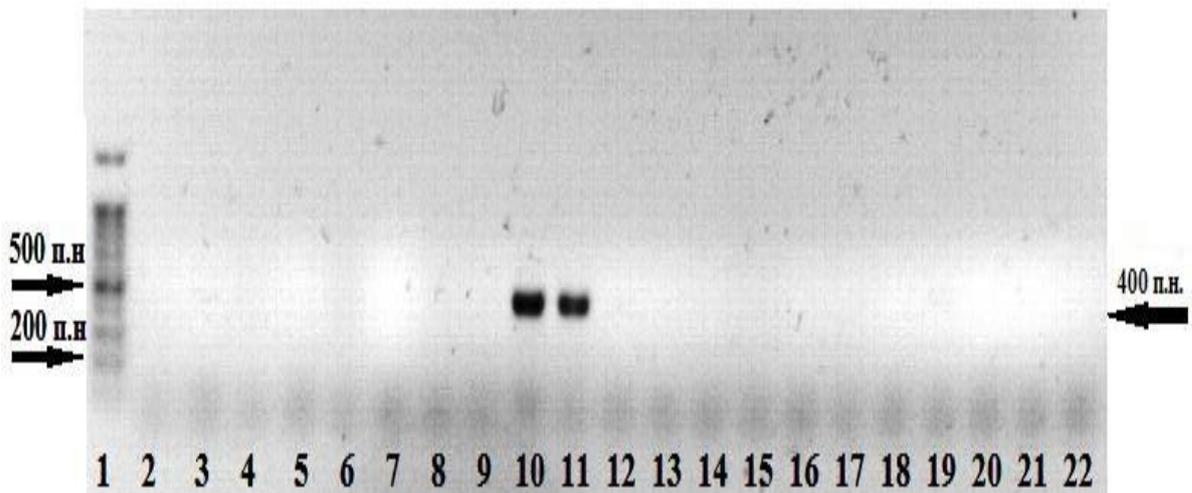


Рисунок 15 – Электрофореграмма продуктов ОТ-ПЦР на наличие вируса GLRaV-1 в образцах винограда (фрагмент). 1 – маркер молекулярной массы (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Mix, Fermentas), 2 – ОТ-ПЦР без матрицы, 3-22 – ОТ-ПЦР на суммарной РНК анализируемых растений

В результате проведенного ПЦР анализа наличия вирусов *GLRaV-2,-3*, в исследуемых образцах винограда не выявлено. В 15 из исследуемых нами образцах сорта Алиготе обнаружен комплекс бороздчатости древесины RWC, а именно в 11 образцах – вирус бороздчатости древесины *Rupestris* (*RSPaV*), в 4 образцах – вирус ямчатости древесины Кобера (*GVA*) (рисунок 16 А и Б). Латентной стадии *GVB* (опробковение коры) в исследуемых образцах не выявлено.

Таким образом, в результате секвенирования продуктов ПЦР и сравнения с последовательностями, имеющимися в GenBank [217], было подтверждено присутствие в 29 исследуемых образцах сорта Алиготе вирусов короткоузлия (*GFLV*), комплекса бороздчатости древесины (*RSPaV* и *GVA*) и скручивания листа, штамм 1 (*GLRaV-1*). При этом в 2 образцах обнаружена смешанная инфекция *GVA* + *GLRaV-1*.

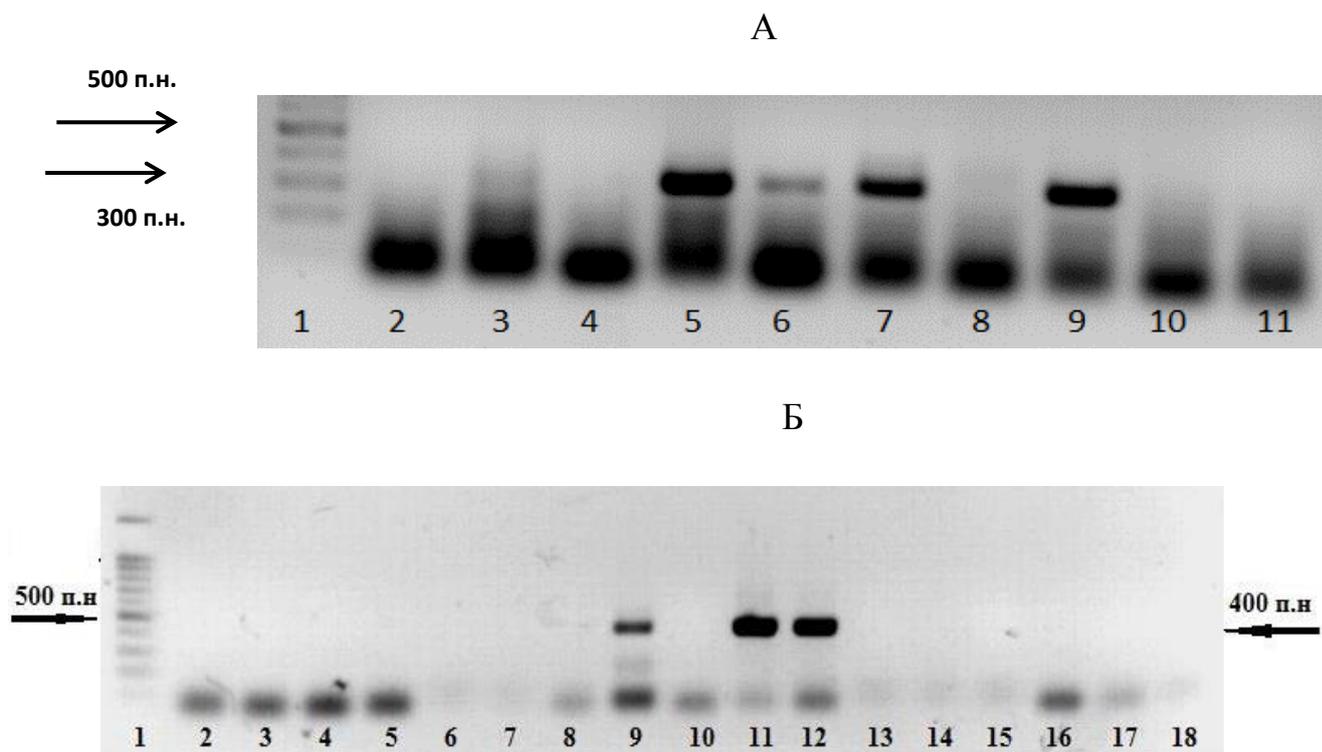


Рисунок 16 А и Б - Электрофореграмма продуктов ОТ-ПЦР на наличие RWC в образцах винограда (фрагмент). (А) *RSPaV*, (Б) *GVA*. 1 – маркер молекулярной массы (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Mix, Fermentas); 2 – ОТ-ПЦР без матрицы, 3-18 – ОТ-ПЦР на суммарной РНК анализируемых растений

Секвенирование продуктов амплификации по методу Сэнгера с помощью реактивов Big Dye Terminator v.3.1 chemistry на автоматическом секвенаторе ABI PRIZM 3730 согласно инструкциям производителя было выполнено на базе Ассоциации ЦКП «Биоинженерия».

В образцах, отобранных с участков отбора лоз сорта Кобер 5ББ, вирусная инфекция *GLRaV-1*, *GLRaV-2*, *GLRaV-3*, *GVA*, *GVB*, *RSPaV*, *GFLV* не выявлена (таблица 7).

Таблица 7 - Латентное поражение вирусными болезнями участков отбора виноградных лоз, 2012-2014 гг.

Сорт	Кол-во осмотренных растений	Вирус	Визуальное проявление, %	Нааличие латентной стадии ПЦР / ИФА
Алиготе	2200	GFLV	5	+/+
		GLRaV	4,8	+/+
		RWC	0,2	+/-
Кобер 5 ББ	100	GFLV	-	+/-
		GLRaV	-	+/-
		RWC	-	+/-

Образцы сортов Алиготе и Кобер 5ББ, отобранные на участках отбора лоз, были также исследованы на наличие скрытой стадии бактериального рака *Agrobacterium tumefaciens*. Наличие фитопатогенных бактерий было определено методом ПЦР.

Анализ продуктов ПЦР также, как и при тестировании вирусной инфекции, выполняли методом гель-электрофореза в 1,2 % агарозном геле, в 1x TBE буфере при 120V в течение 45 минут. Визуализировали результаты по свечению УФ света в бромистом этидии (рисунок 17).

При тестировании фитоплазменной инфекции геномную ДНК экстрагировали из смеси разных тканей растений: одревесневшего побега, черешков и листа винограда. Экстракция ДНК была выполнена с помощью набора Qiagen Plant mini Kit.

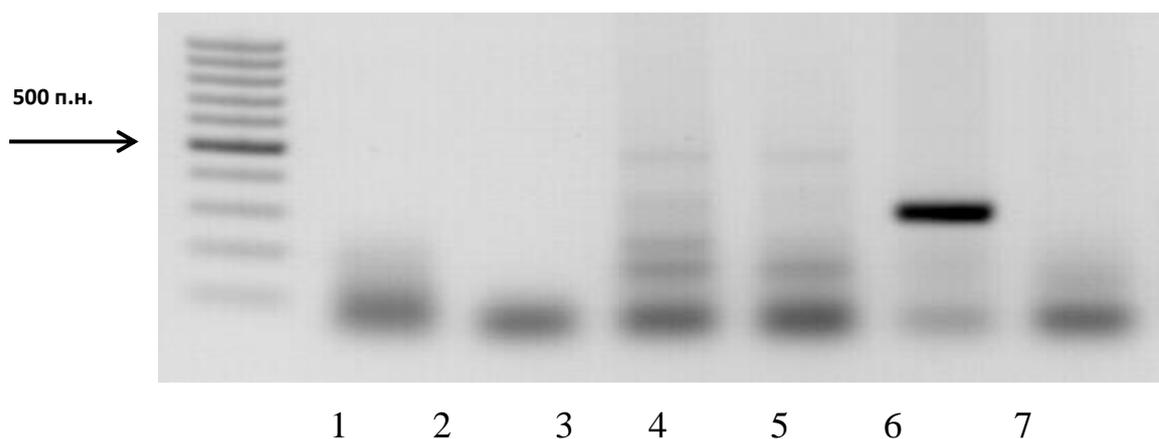


Рисунок 17 - Электрофореграмма продуктов ПЦР со специфическими праймерами для тестирования *Agrobacterium* (фрагмент). 1 – маркер молекулярной массы (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas); 2 - 5 – результаты ПЦР с ДНК культуры бактерий, полученной из образцов сортов Алиготе и Кобер 5ББ; 7- негативный контроль (ПЦР без ДНК-матрицы); 6 – положительный контроль

Чистоту и количество экстрагированной ДНК оценивали по коэффициенту абсорбции на спектрофотометре "Biophotometer plus" и методом электрофореза в 1,3% агарозном геле. Показатели чистоты ДНК находилась в пределах 1,6-2,0. Количество и чистота экстрагированной ДНК были достаточные для выполнения ПЦР. Полученную ДНК использовали для ПЦР реакции.

В качестве негативного контроля использовали ДНК, экстрагированную из здорового растения, растущего *in vitro* сорта Алиготе с ампелографической коллекции НИВиВ «Магарач». В качестве позитивного контроля использовали ДНК, экстрагированную из растения с выраженными признаками фитоплазменной инфекции. Для выполнения ПЦР использовали ПЦР смесь «Thermo Scientific» и универсальную пару праймеров специфическую для фитоплазм fU5/rU3 [4,5]. Праймеры синтезированы фирмой «Metabion», Германия.

В результате выполненных исследований установлено, что во всех образцах сортов Алиготе и Кобер 5ББ, отобранных с участков отбора лоз скрытой (латентной) стадии бактериального рака и фитоплазменной инфекции не обнаружено.

С целью недопущения распространения вирусной и бактериальных инфекций после хранения перед прививкой из партии черенков привоя и подвоя отобраны черенки для проведения тестирования на наличие латентной стадии болезней. Процесс анализа аналогичен представленному в данном разделе. В результате после хранения не было обнаружено вирусной или бактериальной инфекции.

Таким образом, за период проведения обследования участков отбора лоз было отобрано 198 образцов с бессимптомных растений. Для выявления латентной стадии вирусных заболеваний в 2012 г. был проведен ИФА анализа образцов растений. В результате выявлено 27 растений с признаками наличия латентной стадии GFLV и GLRaV-1 + GLRaV-3. Эти растения были промаркированы краской и исключены из последующей заготовки черенков.

В 2013-2014 гг. проведено тестирование на наличие латентной стадии вируса короткоузлия GFLV методом ПЦР. В результате возбудитель был обнаружен в 9 образцах сорта Алиготе, что составило 4,5% от общего количества отобранных образцов (198). В 15 образцах сорта Алиготе обнаружен комплекс бороздчатости древесины RWC, а именно: в 11 образцах - бороздчатость *Rupestris* (RSPaV) и ямчатость древесины Кобера в 4 образцах.

В результате проведения тестирования было установлено отсутствие возбудителей фитоплазменной и бактериальных инфекций в черенках винограда сортов Алиготе и Кобер 5ББ, отобранных на участках отбора лоз.

Таким образом, проведение тестирования на наличие латентных стадий вирусных, бактериальных и фитоплазменных инфекций в заготовленных черенках сортов Алиготе и Кобер 5ББ позволяет определять пригодность данных черенков для размножения и получения стандартных привитых саженцев свободных от системных инфекций многолетней древесины.

Проведение тестирования на наличие фитоплазменных, бактериальных и фитоплазменных инфекций позволило определить кусты свободные от системных инфекций и в период исследований проводить отбор черенков сортов Алиготе и Кобер 5ББ со здоровых кустов.

Данные результаты опубликованы в специализированном научном издании:

Рисованная, В.И. Тестирование латентной стадии фитоплазменной инфекции винограда / В.И. Рисованная, С.М. Гориславец, В.А. Володин // Магарач. Виноградарство и виноделие. - 2013. - № 4. - С. 6-8;

Поротикова, Е.В. Молекулярная диагностика бактериальных и вирусных фито-патогенов винограда, актуальных для сельского хозяйства Крыма / Е.В. Поротикова, С.В. Виноградова, Ю.Д. Дмитренко и др.// Магарач. Виноградарство и виноделие. - 2015. - № 3. - С. 19.

### **3.2 Влияние погодных условий на интенсивность развития грибных болезней в исходном материале винограда в условиях Крыма**

Виноград – многолетнее растение, продолжительный период произрастающее на одном месте. В течение всего года, в период покоя и вегетации, растение подвергается комплексному воздействию биотических и абиотических факторов. Осадки, температура и относительная влажность воздуха влияют как на развитие непосредственно виноградного растения, так и на возбудителей грибных болезней. Так, в летний период происходит ужесточение погодных условий – в результате повышения температуры и снижения относительной влажности воздуха происходит угнетение развития грибной инфекции. В осенне-зимний период (период покоя) температура и относительная влажность воздуха, наличие снежного покрова оказывают незначительное влияние на зимующие стадии болезней, поскольку они обладают устойчивостью к стрессовым ситуациям.

Необходимо отметить, что изменчивость погодных условий влияет на жизнеспособность и видовое разнообразие ампелоценоза, в котором формируются патогены.

Основная вредоносность грибных патогенов, развивающихся на виноградных растениях, выражается в снижении фотосинтетического потенциала листовой поверхности, уменьшении накопления пластических веществ в

однолетних побегах. Данный показатель напрямую влияет на качество вызревания лозы и выход стандартных черенков, а также сказывается на эмбриональной закладке почек.

Условия юго-западной предгорной зоны Республики Крым (Бахчисарайский район) являются благоприятными для интенсивного развития и распространения грибных патогенов в вегетационном периоде. Согласно средне многолетним показателям температуры и относительной влажности воздуха, на апрель приходятся активные температуры воздуха выше 10 °С, в результате этого, процессы жизнедеятельности патогенов происходят более интенсивно. В этот период на участках отбора лозы интенсивно происходят процессы роста и развития виноградного растения. На молодых органах, которые являются отличным субстратом для фитопатогенной микрофлоры, поселяются грибные патогены и происходит заражение первичной грибной инфекцией.

За период исследований на участках отбора лоз (2012-2014 гг.) были определены 7 видов грибов, имеющих отношение к виноградной лозе, которые являются облигатными паразитными и полусапротрофными патогенами – возбудителями грибных болезней (таблица 8).

Таблица 8 – Развитие грибных патогенов на участке отбора виноградных лоз в годы проведения исследований, сорт Алиготе, 2012-2014 гг.

Возбудитель грибной болезни	Болезнь	Интенсивность развития по годам, %		
		2012	2013	2014
<i>Cladosporium herbarum</i>	Оливковая плесневидная гниль	38,9	27,3	21,8
<i>Phomopsis viticola</i>	Черная пятнистость	37,2	28,2	22,2
<i>Alternaria spp.</i>	Альтернариоз	23,1	11,6	6,3
<i>Trichotecium roseum</i>	Розовая плесневидная гниль	22,1	16,4	11,5
<i>Uncinula necator</i>	Оидиум	10,9	8,4	5,7
<i>Plasmopara viticola</i>	милдью	26,3	20,6	18,4
<i>Botrytis cinerea</i>	Серая гниль	2,2	0,3	-

В 2012 году климатические условия вегетационного периода характеризовались теплой погодой и умеренным количеством осадков. Теплая и влажная погода в зимний период способствовала хорошему сохранению инфекционного начала возбудителей грибных болезней винограда. Как результат, в весенний период благоприятные погодные условия способствовали развитию зимующей инфекции и последующему распространению в вегетационный период.

Сентябрь – октябрь были благоприятными для накопления и сохранения инфекционного начала грибных патогенов. При заготовке на черенках привоя и подвоя методом влажной камеры выявлены следующие грибные патогены: *Phomopsis viticola* (37,2%), *Alternaria spp.* (23,1%), *Cladosporium herbarum* (38,9%), *Trichotecium roseum* (22,1%) и др.

В 2013 г. климатические условия в весенний период были благоприятными для развития инфекционного фона. Умеренные температуры воздуха и повышенная влажность способствовали интенсивному развитию грибных патогенов вначале вегетации. В летний период установилась сухая и жаркая погода, которая сдерживала развитие грибных патогенов на виноградных насаждениях. В сентябре умеренные температуры воздуха на фоне осадков создали благоприятные условия для накопления и сохранения грибных патогенов. В период заготовки на черенках привоя и подвоя были обнаружены такие патогены, как: *Phomopsis viticola* (28,2%), *Alternaria spp.* (11,6%), *Cladosporium herbarum* (27,3%), *Trichotecium roseum* (16,4%) и др.

В 2014 году наблюдались благоприятные условия для развития зимующего запаса грибной инфекции в весенний период. В осенние месяцы сложились благоприятные условия для развития грибной инфекции на однолетней и многолетней древесине кустов винограда. Видовой состав патогенов на участках отбора лоз не изменился. Однако, низкая влажность воздуха в летние месяцы способствовала снижению интенсивности развития грибных заболеваний, по сравнению с 2012 и 2013 годами.

Таким образом, изменение климатических условий вегетационного периода неблагоприятно отражаются на фитосанитарном и физиологическом состоянии

растений винограда и по разному воздействию на развитие патогенов. Так высокая относительная влажность воздуха способствует развитию практически всех из исследованных грибных патогенов и может привести к эпифитотии. Высокие же температуры воздуха и низкая влажность угнетают развитие как грибных патогенов, так и виноградного растения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что гриб *Phomopsis viticola* развивался на протяжении всего периода исследований на всех исследуемых сортах. В среднем за три года исследований развитие гриба на однолетних побегах составило 29,2%.

В 2012-2014 гг. уровень развития гриба *Alternaria spp.* на однолетних побегах составил в среднем 13,7%. Отмечено развитие грибов из рода альтернария и на листовой поверхности.

Средняя интенсивность развития грибов *Cladosporium herbarum* и *Trichotecium roseum* на однолетней лозе составила за три года исследований 29,3 и 16,7%, соответственно.

Развитие *Botrytis cinerea* отмечено на виноградных растениях в 2012-2013 гг. Основным фактором, влияющим на развитие патогена является наличие осадков и высокой влажности воздуха в летне-осенний периоды. В 2014 г. незначительное количество осадков (28,0 мм), выпавшее в июне-августе, и низкая относительная влажность воздуха отрицательно влияли на развитие патогена и низкому накоплению инфекции в осенний период.

В 2012-2014 гг. уровень развития гриба *Uncinula necator* составил в среднем 8,0%. Максимальное развитие (10,9%) отмечено в 2012 г., а минимальное (5,7%) – в 2014 г. Патоген развивался в основном на листовой поверхности и однолетних побегах.

Наблюдения за развитием грибных патогенов на участке отбора привойных лоз показали, что во все годы исследования на листовом аппарате и гроздях интенсивно развивалась ложная мучнистая роса винограда – милдью. Средний уровень развития *Plasmopara viticola* составил 22,3%. Максимальное развитие в

2012 г. составило 26,3%, а минимальное в 2014 г. – 18,4%. Основное влияние на интенсивность развития оказали погодные условия конкретного года.

При проведении фитосанитарного мониторинга на участке отбора виноградных лоз, были обнаружены растения винограда с симптомами эски – грибным системным заболеванием, которое отличается высокой вредоносностью и тяжелой формой протекания болезни. Штамбы кустов с визуальным проявлением симптомов эски в виде изменения окраски листьев между главными жилками и некротическими пятнами были отмечены краской, а в дальнейшем отбор черенков с таких растений не проводили.

Таким образом, фитосанитарный мониторинг участков отбора является ответственным мероприятием, проводимым в течение вегетационного периода, которое позволяет заготавливать виноградную лозу, свободную от системной инфекции и пригодную для дальнейшего размножения.

Определен видовой состав грибных патогенов при заготовке черенков привоя и подвоя, что позволило обосновать применение защитных мероприятий на разных этапах производства привитых саженцев.

В результате фитосанитарного мониторинга, проведенного на участках отбора лоз сорта Алиготе в вегетационных периодах 2012-2014 гг. развитие таких патогенов, как *Phomopsis viticola*, *Cladosporium herbarum*, *Trichotecium roseum*, *Plasmopara viticola*, *Alternaria spp.*, *Uncinula necator* составила 29,2%, 29,3%, 16,7%, 22,3%, 13,7% и 8,0%, соответственно. Средняя интенсивность развития *Botrytis cinerea* в вегетационные периоды 2012-2013 гг. составила 1,2%, однако в 2014 г. развитие гриба *Botrytis cinerea* на виноградной лозе отмечено не было.

Основным патогеном на подвойном сорте Кобер 5ББ является *Phomopsis viticola*. Гриб распространен повсеместно, поэтому перед закладкой на хранение необходимо проведение обеззараживания фунгицидом системного действия либо протравителем.

В случае обнаружения растений винограда с симптомами системных грибных инфекций (эска, сухорукавность), их необходимо отметить краской, а

заготовку черенков с больных и соседних растений не проводить. Пораженные кусты раскорчевать в целях предупреждения распространения инфекции.

Результаты, представленные в данном разделе, опубликованы в специализированном издании:

Володин, В.А. Методы фенотипирования устойчивости винограда к грибным болезням / В.А. Володин, В.И. Рисованная, Н.И. Шадура // Магарач. Виноградарство и виноделие.- 2014.- № 3.- С. 11-13;

Шадура, Н.И. Вредоносность милдью и сортовая устойчивость на сортах винограда с различной степенью восприимчивости в условиях южнобережного агроклиматического района Республики Крым (Юг России) / Н.И. Шадура, Е.П. Странишевская, В.А. Володин // Проблемы развития АПК региона №1 (25). – Ч. 1. – 2016. – С. 95-99.

### **3.3 Интенсивность развития и локализация грибных патогенов при разных технологических условиях производства привитых черенков**

В основе вегетативного размножения и промышленного производства привитых саженцев лежит способность черенков винограда к высокой активности регенерации тканей. В условиях интенсификации производства привитого посадочного материала развивается патогенная микрофлора - сапрофиты, паразиты, возбудители гнилостных процессов, приуроченные к виноградному растению.

Основная часть грибных патогенов поселяется на однолетних побегах растения винограда в период вегетации. На последующее развитие грибных патогенов влияют технологические условия производства и эффективность защитных мероприятий.

В 2012-2015 гг. в условиях лаборатории отдела биологически чистой продукции и молекулярно-генетических исследований и в КФХ «Ария – Н» проведено воспроизведение технологических условий процесса хранения

черенков привоя и подвоя и стратификации привитых черенков с целью определения видового разнообразия грибных патогенов.

В камерах хранения (режим хранения от 0 до +2 °С) грибные патогены попадают в неблагоприятные условия развития. Установлено, что основной видовой состав представлен сапрофитными грибами: *Mycelia sterilia*, *Alternaria spp.*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium spp.*, *Phomopsis viticola*, *Trichotecium roseum*, *Gonatobotrys flava*.

При стратификации грибные патогены попадают в благоприятные условия для основных видов грибов. Как результат, грибы поселяются и развиваются на всех органах и тканях черенков винограда: на поверхности, у основания глазков и под чешуйками почек – на подстилающем слое, в местах механических повреждений, на молодых зеленых органах. Основной видовой состав был представлен сапрофитными и паразитными грибами: *Alternaria spp.*, *Aspergillus sp.*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium sp.*, *Phomopsis viticola*, *Pythium sp.*, *Trichotecium roseum*.

Таким образом, определение видового состава патогенной микрофлоры в период хранения черенков привоя и подвоя, а также в процессе стратификации привитых черенков винограда является достаточно актуальным. Главным фактором развития патогенов являются условия проведения хранения и стратификации, от соблюдения которых зависит качество и выход привитых черенков и саженцев. Основной запас возбудителей инфекционных болезней формируется на виноградных насаждениях, а источником грибной инфекции в помещениях питомниководческого комплекса являются черенки привоя и подвоя.

### **3.3.1 Влияние технологических условий хранения черенков подвоя и привоя на развитие грибных патогенов**

Основным источником грибной инфекции являются отмершие органы черенков, накопление которых происходит во время причинения механических травм при заготовке черенков привоя и подвоя. Кроме этого, на желобчатой

стороне побега, в случае неполного вызревания побегов от ряда причин происходит усыхание и дальнейшее отмирание тканей древесины. Также интенсивное отмирание тканей сосудов и прилегающих к ним клеток, происходит на брюшной и спинной сторонах. При нарезке виноградной лозы на стандартные черенки в местах нанесения ран может происходить накопление инфекционного начала, которое может стать источником грибной инфекции.

Таким образом, разные органы черенков винограда в различной степени могут являться источниками грибных патогенов, поэтому анализ развития грибов и расчет эффективности обеззараживания являются важными приемами сохранения качества черенков на последующих этапах.

В период проведения исследований (2012-2015 гг.) был определен основной видовой состав грибных патогенов в период хранения черенков привоя и подвоя. Во время наблюдений отмечено, что в разные годы различия показателей температуры хранения черенков составляли до 2 °С, а влажности воздуха до 10%, соответственно на развитие и разнообразие видовой состав грибов патогенов условия, созданные при хранении, не оказывали. На различия в видовом составе грибных патогенов до закладки на хранение оказывали климатические условия вегетационного периода и эффективность проведения защитных мероприятий, применяемых в базовом хозяйстве на участках отбора лоз.

Для оценки инфекционного фона на черенках привоя и подвоя провели микробиологический анализ обсемененности побегов микроорганизмами. Результаты опыта следующие: на привое развилось в среднем –  $14,9 \times 10^8$  колониеобразующих единиц (КОЕ) на  $100 \text{ мм}^2$  лозы ( $13,6 \times 10^8$  и  $16,3 \times 10^8$ ); на подвое развилось  $12,4 \times 10^8$  колониеобразующих единиц ( $8,6 \times 10^8$  и  $16,2 \times 10^8$ ). Результаты микробиологического анализа свидетельствуют о высоком инфекционном фоне на черенках привоя и подвоя. Повышенное содержание микроорганизмов на черенках винограда, в том числе и фитопатогенных видов, обусловлено, в первую очередь, уровнем агротехники, что приводит к интенсивному заселению микроорганизмами и их накоплению на органах растения. Также при проведении механизированных работ на виноградных

насаждениях увеличивается риск повреждения растений, что может приводить к заражению травмированных участков раневыми фитопатогенами – возбудителями болезней древесины. Для снижения поверхностного инфекционного фона необходимо проводить обеззараживание черенков: привой обеззараживали в течение 12 ч., а подвой – 16 ч.

В период проведения исследований развитие грибных патогенов на черенках подвоя было отмечено в слабой степени. Методом влажной камеры на черенках подвоя определен основной состав грибных патогенов до закладки на хранение: *Phomopsis viticola* – 12,1%, *Alternaria spp* – 8,5%, *Mycelia sterilia* – 6,7%, *Trichotecium roseum* – 3,4% (таблица 9).

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что основным грибным патогеном на черенках подвойного сорта Кобер 5 ББ является возбудитель черной пятнистости *Phomopsis viticola*. Однако, установлено, что интенсивное накопление инфекционного начала в вегетационные периоды 2012-2014 (22,2-37,2%) не повлияло на интенсивность развития плодовых тел на одревесневшей поверхности черенков подвоя в период хранения. В период хранения конидии *Phomopsis viticola* находились в депрессии. К концу периода хранения частота встречаемости патогена была на уровне 8,8%.

Среднее развитие грибов *Alternaria spp.* и *Mycelia sterilia* в период исследований не превышало 1 балла, и к концу хранения интенсивность их развития составила 2,1 и 1,2%, соответственно.

Таблица 9 – Динамика развития основных грибных патогенов в период хранения черенков подвоя, 2012-2015 гг.

Грибы	Интенсивность развития грибов в период хранения, среднее за три года, %		
	1 декада декабря (начало хранения)	1 декада. января	1 декада февраля (окончание хранения)
<i>Phomopsis viticola</i>	12,1	6,7	8,8
<i>Mycelia sterilia</i>	6,7	1,5	1,2
<i>Trichotecium roseum</i>	3,4	1,1	0,8
<i>Alternaria spp.</i>	8,5	2,7	2,1

Интенсивность развития *Trichotecium roseum* в период хранения не превышала 1 балл и составила 3,4% в начале закладки на хранение, а к концу хранения данный показатель снизился до 0,8%.

Анализ полученных в результате исследований данных, позволяет сделать вывод о том, что в период хранения 2012-2015 гг. на черенках подвоя идентифицирован следующий основной видовой состав грибных патогенов: *Trichotecium roseum*, *Alternaria spp.*, *Mycelia sterilia*, *Phomopsis viticola*, интенсивность которых к концу хранения составила от 0,8 до 8,8%. Проведенное перед закладкой на хранение обеззараживание посадочного материала снижает интенсивность развития грибных патогенов в 1,4-5,6 раза по сравнению с исходной.

Перед закладкой на хранение на черенках привоя определен следующий основной видовой состав грибных патогенов: *Trichotecium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria spp.*, *Gonatobotrys flava*, *Cladosporium herbarum*, *Phomopsis viticola*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium spp.* (таблица 10).

Частота встречаемости (интенсивность распространения, %) выделенных патогенов в среднем за три года исследований составила: *Phomopsis viticola* – 78,3%, *Trichotecium roseum* – 43,1%, *Botrytis cinerea* – 30,0%, *Cladosporium herbarum* – 50,1%, *Alternaria spp.* – 56,7% (таблица 10).

Таблица 10 – Распространенность основных грибных патогенов в период хранения черенков привоя, 2012-2015 гг.

№ п/п	Патогены	Распространенность грибных патогенов в период хранения черенков привоя по годам исследований, %			
		2012-2013	2013-2014	2014-2015	Среднее
1	<i>Phomopsis viticola</i>	79,3	78,3	77,5	78,3
2	<i>Alternaria spp.</i>	55,2	62,1	52,9	56,7
3	<i>Cladosporium herbarum</i>	51,2	54,3	44,8	50,1
4	<i>Trichotecium roseum</i>	43,2	47,3	38,8	43,1
5	<i>Penicillium spp.</i>	39,3	44,7	36,2	40,1
6	<i>Botrytis cinerea</i>	29,4	32,1	28,6	30,0
7	<i>Mycelia sterilia</i>	23,4	27,4	18,6	23,1
8	<i>Gonatobotrys flava</i>	21,3	22,9	15,6	19,9

В период хранения патогены развивались в основном на ослабленных участках черенков: в местах повреждения древесины, у основания глазков.

К моменту снятия с хранения частота встречаемости патогенов *Gonatobotrys flava* и *Mycelia sterilia*, в среднем за три года исследований, составила 19,9 и 23,1%. Патогены поселялись и развивались, в основном, в местах повреждения древесины черенков.

В период хранения средняя частота встречаемости гриба *Penicillium sp.* составила 40,1%. В основном гриб встречался у основания глазка (рисунок 18).



Рисунок 18 – Образование мицелия гриба *Penicillium* на черенке привоя в период хранения.

Частота встречаемости гриба *Botrytis cinerea* в период хранения в среднем составила 30,0%.

В период хранения черенков при среднем распространении патогена *Phomopsis viticola* 78,3%, интенсивность развития не превышала 26,7% (таблица 11).

На протяжении всего периода хранения при высокой частоте встречаемости грибов *Cladosporium herbarum* и *Trichotecium roseum*, интенсивность их развития была не высокой и составила 3,7 и 12,4%, соответственно. Развитие гриба *Cladosporium herbarum* наблюдалось на краях ран на срезах черенков. Отмечено, что при интенсивном развитии гриба *Cladosporium herbarum* места локализации имеют обугленный вид.

Таблица 11 – Интенсивность развития основных грибных патогенов в период хранения черенков привоя, 2012-2015 гг.

Патоген	Интенсивность развития грибных патогенов в период хранения черенков привоя по годам исследований, %			
	2012-2013	2013-2014	2014-2015	среднее
<i>Alternaria spp.</i>	7,6	9,5	5,6	7,6
<i>Botrytis cinerea</i>	8,3	9,2	7,5	8,3
<i>Cladosporium herbarum</i>	3,6	3,9	3,5	3,7
<i>Gonatobotrys flava</i>	5	5,5	3,7	4,7
<i>Mycelia sterilia</i>	7,3	8,1	6,4	7,3
<i>Penicillium spp.</i>	3,2	4,7	2,4	3,5
<i>Phomopsis viticola</i>	26,4	28,5	25,1	26,7
<i>Trichotecium roseum</i>	12,1	13,2	11,9	12,4

В среднем за три года исследований на черенках сорта Алиготе максимальный балл развития *Penicillium spp.* составлял 1 (4,7%). К моменту окончания хранения развитие *Gonatobotrys flava*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria spp.* составило, соответственно, 4,7, 8,3 и 7,6%.

Степень развития неспецифического патогена виноградной лозы *Mycelia sterilia* в среднем за период проведения исследований составила 7,3%.

Установлено, что ежегодно (2012-2015 гг.) в период хранения на черенках привоя и подвоя присутствовали следующие виды грибных патогенов: *Phomopsis viticola*, *Mycelia sterilia*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium spp.*, *Trichotecium roseum*, *Gonatobotrys flava*, *Alternaria spp.*

Анализ полученных данных показал, что частота встречаемости грибных патогенов на черенках привоя сорта Алиготе находилась в пределах от 19,9 до 78,3%. Максимальным распространением и развитием характеризовался гриб *Phomopsis viticola*, возбудитель системного заболевания черная пятнистость. В средней степени (от 7,3 до 12,4%) развивались патогенны *Mycelia sterilia*, *Alternaria spp.*, *Botrytis cinerea* и *Trichotecium roseum*.

В среднем за три года исследований уровень развития *Penicillium spp.*, *Cladosporium herbarum* и *Gonatobotrys flava* составил, соответственно, 3,4, 3,7 и

4,7%, что характеризует патогены как незначительно распространенные в период хранения на черенках привоя.

Видовой состав выделенных и идентифицированных грибных патогенов на черенках подвоя отличался меньшим видовым разнообразием и в конце хранения был представлен: *Phomopsis viticola* – 8,8%, *Alternaria spp* – 2,1%, *Mycelia sterilia* – 1,2%, *Trichotecium roseum* – 0,8%.

Проведение микробиологического анализа обсемененности побегов микроорганизмами позволило получить следующие результаты: на привое развилось в среднем –  $14,9 \times 10^8$  колониеобразующих единиц (КОЕ) на  $100 \text{ мм}^2$  лозы ( $13,6 \times 10^8$  и  $16,3 \times 10^8$ ); на подвое развилось  $12,4 \times 10^8$  колониеобразующих единиц ( $8,6 \times 10^8$  и  $16,2 \times 10^8$ ) свидетельствуют о высокой микробиологической засоренности лозы привоя и необходимости проведения обеззараживания до закладки черенков привоя и подвоя на хранение.

Результаты, представленные в данном разделе, опубликованы в специализированном издании:

Странишевская, Е.П. Видовой состав фитопатогенных организмов на черенках привоя и подвоя в период хранения / Е.П. Странишевская, В.А. Володин // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. – № 1. – С. 10-11.

### **3.3.2 Влияние технологических условий стратификации привитых черенков на интенсивность распространения и локализацию возбудителей грибных болезней**

Единственного правильного мнения о наиболее рациональном способе проведения стратификации нет, поэтому в наших исследованиях мы сравнивали эффективность применения защитных мероприятий: закрытым способом во влагоудерживающем субстрате (в торфе) и открытым способом («на воде»). Технологические условия способов стратификации приведены в таблице 12.

Проведение стратификации привитых черенков возможно при температурном диапазоне от +16 до +35 °С. Данные температуры воздуха

являются оптимальными для развития патогенных грибов. Поэтому стратификация является одним из благоприятных периодов для заселения и развития патогенов, что зачастую требует оперативного принятия решений для защиты привитых черенков от грибных патогенов.

Таблица 12 – Технологические условия проведения стратификации разными способами, 2013-2015 гг.

Вариант (способ) стратификации	Этап	Температура воздуха, С	Относительная влажность воздуха, %	Срок проведения, дней
во влагоудерживающем материале (в торфе)	I	25	95-98	21
без влагоудерживающего материала («на воде»)	I	28	98	7
	II	26	95-98	6
	III	25	90-95	8

В 2012-2015 гг. при проведении стратификации привитых черенков открытым способом «на воде» без проведения защитных мероприятий было установлено, что в условиях отсутствия защитных мероприятий на привитых черенках развиваются следующие патогены: *Alternaria spp.*, *Trichotecium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium herbarum*, *Phomopsis viticola*, *Aspergillus sp.*, *Pythium sp.*, *Mycelia sterilia*, *Gonatobotrys flava* (таблица 13). Интенсивность их распространения (частота встречаемости) составила от 2,2 до 18,6%.

Сразу после проведения прививки черенков привоя на подвой, привитые черенки окунали привоем в воду, а затем в разогретый до +80 °С технический парафин. Таким образом, фиксировали места спайки привитых черенков и снижали потерю влаги в месте спайки путем создания оптимальных условий для каллусогенеза в месте сращивания. Побочным эффектом парафинирования привитых черенков является то, что в первый этап место спайки не заселяла патогенная микрофлора.

Таблица 13 – Интенсивность распространения патогенов при стратификации открытым способом, среднее за 2012-2015 гг. (6 блоков)

№ п/п	Грибной патоген	Интенсивность распространения при стратификации открытым способом, %
1	<i>Cladosporium herbarum</i>	18,6
2	<i>Trichotecium roseum</i>	16,3
3	<i>Phomopsis viticola</i>	13,9
4	<i>Alternaria spp</i>	13,4
5	<i>Penicillium spp.</i>	9,1
6	<i>Aspergillus sp.</i>	5,6
7	<i>Gonatobotrys flava</i>	4,3
8	<i>Pythium sp.</i>	4,3
9	<i>Mycelia sterilia</i>	2,8
10	<i>Botrytis cinerea</i>	2,2

Необходимо отметить, что неправильная технология парафинирования приводит к нарушению целостности парафиновой корки на месте спайки и возможному развитию грибных патогенов в месте спайки и на набухающем глазке.

В случае гибели черенка привоя, парафиновая корка являлась барьером для распространения патогенной микрофлоры, развивающейся на погибшем черенке привоя. Особую опасность в таких случаях представляет смешанная комплексная инфекция *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Pythium sp.*, *Gonatobotrys flava* и *Penicillium spp.* Интенсивное развитие этих патогенов вызывает рост мицелия на ослабшем растении и, как результат, гибель как привоя и прироста, так и всего растения. При заселении подстилающего слоя глазка привоя комплексом плесневых грибов зачаточных органов побегов (точек роста), прирост не развивался, что увеличивало выход привитых черенков с круговым каллусом, но мертвым глазком. Таким образом, защитные мероприятия необходимо проводить с первых дней стратификации привитых черенков открытым способом «на воде».

Согласно рекомендациям А.Г. Мишуренко [118], В.Г. Николенко [128] в период стратификации периодически проводили проветривания

стратификационной камеры для воздухообмена внутри каркаса с пленкой. Этот прием позволяет насытить воздух кислородом, что важно для каллусогенеза, и создает неблагоприятные условия для развития патогенов.

Наиболее интенсивно была заселена поверхность древесины: были выделены все патогены, за исключением, *Botrytis cinerea* и *Mycelia sterilia* (интенсивность развития патогенов от 4,3 до 26,8%). На раневых поверхностях (механические повреждения древесины) встречались пять патогенов, в том числе *Botrytis cinerea* и *Mycelia sterilia* – слабой степени (2,2-2,8%) (таблица 14). *Penicillium spp.*, *Trichotecium roseum* и *Alternaria spp.* встречались в средней степени, распространенность составила 8,5-9,9%.

Минимальный видовой состав патогенов был отмечен на зеленом приросте привоя и на постилающем слое почки, соответственно два и три вида грибов. *Botrytis cinerea* и *Pythium spp.* были распространены в средней степени (5,8-12,2%). Распространение патогенов *Trichotecium roseum*, *Gonatobotrys flava* составило 4,2 и 2,7%, соответственно.

Таблица 14 – Распространенность грибных патогенов на разных органах привитых черенков в период стратификации открытым способом, «на воде», 2013-2015 гг. (6 блоков)

Патоген	Интенсивность распространения патогенов на разных органах привитых черенков			
	Зеленый прирост привоя	Поверхность древесины	Почка, подстилающий слой	Механические повреждения древесины
<i>Alternaria spp</i>	-	13,4	-	9,6
<i>Aspergillus sp.</i>	-	5,6	-	-
<i>Botrytis cinerea</i>	12,2	-	5,8	2,2
<i>Cladosporium herbarum</i>	-	18,6	-	-
<i>Mycelia sterilia</i>	-	-	-	2,8
<i>Gonatobotrys flava</i>	-	4,3	2,7	-
<i>Penicillium spp.</i>	-	9,1	-	9,9
<i>Pythium sp.</i>	8,6	4,3	-	-
<i>Phomopsis viticola</i>	-	26,8	-	-
<i>Trichotecium roseum</i>	-	16,3	4,2	8,5

В результате двухлетних исследований (2013-2014 гг.), было установлено, что при отсутствии защитных мероприятий в период стратификации закрытым способом во влагоудерживающем материале развиваются следующие патогенны (частота встречаемости, %): *Alternaria spp.* 21,1%, *Trichotecium roseum*, 11,1%, *Botrytis cinerea*, 15,3%, *Penicillium sp.*, 8,2%, *Phomopsis viticola*, 16,4%, *Mycelia sterilia*, 1,0% (таблица 15).

При проведении исследований отмечено, что в механических повреждениях и трещинах лозы активно развивались: *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp.*, *Mycelia sterilia*, *Trichotecium roseum*, *Alternaria spp.*

У основания глазка встречались патогенные грибы – *Alternaria spp.*, *Cladosporium herbarum*; на глазках привоя – *Botrytis cinerea*, *Gonatobotrys flava*.

Таблица 15 – Основной видовой состав фитопатогенной микрофлоры при стратификации во влагоудерживающем материале, 2013-2014 гг., (4 блока)

№ п/п	Грибной патоген	Интенсивность распространения грибов при стратификации закрытым способом, %
1	<i>Alternaria spp</i>	21,1
2	<i>Phomopsis viticola</i>	16,4
3	<i>Botrytis cinerea</i>	15,3
4	<i>Trichotecium roseum</i>	11,1
5	<i>Penicillium spp.</i>	8,2
6	<i>Mycelia sterilia</i>	1,0

Развитие *Botrytis cinerea* на зеленом приросте отмечено на низком уровне. При полном поражении зеленого прироста, из замещающей почки развивался новый побег, однако интенсивность роста и длина его была меньше загнившего. После загнивания зеленого прироста круговой каллус в месте спайки продолжал нарастать. Частота встречаемости прививок с загнившим приростом составляла 5,0-9,0%.

Развитие *Botrytis cinerea* на зеленом приросте отмечено на низком уровне. При полном поражении зеленого прироста, из замещающей почки развивался новый побег, однако интенсивность роста и длина его была меньше загнившего.

После загнивания зеленого прироста круговой каллус в месте спайки продолжал нарастать. Частота встречаемости прививок с загнившим приростом составляла 5,0-9,0%.

При проведении исследований отмечено, что в механических повреждениях и трещинах лозы активно развивались: *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp.*, *Mycelia sterilia*, *Trichotecium roseum*, *Alternaria spp.*

У основания глазка встречались патогенные грибы – *Alternaria spp.*; на глазках привоя – *Botrytis cinerea*, *Gonatobotrys flava* (таблица 16).

Таблица 16 – Интенсивность распространения грибных патогенов на разных органах привитых черенков в период стратификации закрытым способом, в торфе, 2013-2014 гг., (4 блока)

№ п/п	Патоген	Интенсивность распространения патогенов на разных органах привитых черенков, %			
		Зеленый прирост привоя	Поверхность древесины	Почка, подстилающий слой	Механические повреждения древесины
1	<i>Alternaria spp</i>	-	9,1	6,1	5,9
2	<i>Botrytis cinerea</i>	2,3	3,2	6,0	2,2
3	<i>Mycelia sterilia</i>	-	-	-	1,0
4	<i>Penicillium spp.</i>	-	3,1	-	5,1
5	<i>Phomopsis viticola</i>	-	16,4	-	-
6	<i>Trichotecium roseum</i>	-	7,5	3,6	-

Таким образом, установлено, что в период стратификации открытым способом «на воде» развивались следующие патогены (частота встречаемости, %): *Cladosporium herbarum* (18,6%), *Trichotecium roseum* (16,3%), *Phomopsis viticola* (13,9%), *Alternaria spp.* (13,4%), *Penicillium sp.* (9,1%), *Aspergillus sp.* (5,6%), *Pythium sp.* (4,3%), *Gonatobotrys flava* (4,3%), *Mycelia sterilia* (2,8%), *Botrytis cinerea* (2,2%). При стратификации закрытым способом (во влагоудерживающем субстрате) развивался следующий видовой состав патогенов (частота встречаемости, %): *Penicillium spp.* (21,1%), *Phomopsis viticola* (16,4%), *Botrytis cinerea* (15,3%), *Trichotecium roseum* (11,1%), *Alternaria spp.* (8,2%), *Mycelia sterilia* (1,0%).

После стратификации проводят закалку привитых черенков – мероприятия по постепенному снижению температуры воздуха и относительной влажности воздуха с целью подготовки растений к жестким условиям окружающей среды. В период закаливания привитые черенки поражались серой гнилью *Botrytis cinerea* и сапрофитной грибной инфекцией.

### **3.4. Биологическая эффективность защитных мероприятий от грибной патогенной микрофлоры на разных этапах выращивания привитого посадочного материала винограда**

#### **3.4.1 Биологическая эффективность биопрепаратов при обеззараживании черенков привоя и подвоя**

Эффективность проведенных мероприятий по обеззараживанию привоя от комплекса плесневых грибов непосредственно перед закладкой их на хранение в варианте с использованием Дерозала к.э., 0,15% составила 88,9%. Эффективность применения биофунгицидов Триходермин 0,5% и Гуапсин 0,2% была ниже, чем на эталоне, на 6,5% и 11,2%, соответственно. Эффективность применения Дерозала против возбудителя *Phomopsis viticola* составила 84,6%, в вариантах с использованием препаратов Гуапсин и Триходермин эффективность была существенно, на 37,2% и 51,3%, ниже, чем на эталонном варианте (таблица 17).

Интенсивность развития комплекса плесневых грибов на 30 день хранения на эталонном варианте составила 7,9%. Данный показатель был ниже аналогичного на контроле в 5,3 раза. Показатели развития комплекса плесневых грибов на вариантах с применением биологических фунгицидов были выше, чем на эталоне, 1,2-1,5 раза. Разница с контролем была значительной и составила более 4,3 раза.

Развитие возбудителя *Phomopsis viticola* на эталоне было ниже, чем на контроле, в 3,8 раза. На вариантах III-IV снижение уровня развития *Phomopsis viticola* было не таким значительным и составило, по сравнению с контролем, 1,3-

1,5 раза. Данная разница между эталоном и вариантами с применением биофунгицидов, на наш взгляд вызвана тем, что препарат Дерозал является системным фунгицидом, и, проникая внутрь тканей черенка, угнетает развитие патогена изнутри.

Таблица 17 – Эффективность обеззараживания черенков привоя в среднем за 2012-2014 гг. (3 блока исследований при хранении, приложения В-1, В-2, В-3)

Вариант опыта	Патогены	После проведения обеззараживания		День с момента закладки на хранение					
				30		60		90	
		R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	32,3	-	41,7	-	50,5	-	56,8	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,8	-	9,5	-	11,8	-	14,3	-
II. Эталон (Дерозал к.э., 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	3,6	88,9	7,9	81,1	11,5	77,2	14,2	75,0
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,2	84,6	2,5	73,7	4,1	65,3	6,2	56,6
III. Гуапсин, 0,2 %	Комплекс плесневых грибов	5,7	82,4	9,8	76,5	13,2	73,9	18,8	66,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,1	47,4	6,2	34,7	8,1	31,4	10,3	28,0
IV. Триходерм ин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	7,2	77,7	9,5	77,2	13,6	73,1	19,4	65,8
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,2	33,3	7,5	21,1	9,6	18,6	11,9	16,8

Примечание: R, % – развитие патогена; Б.Э., % – биологическая эффективность действия защитных мероприятий; комплекс плесневых грибов *Trichotecium roseum*, *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium herbarum* и др.

На 90 день хранения на контроле развитие комплекс плесневых грибов составило 56,8%, разница с вариантом, в котором применяли Дерозал, 0,15%, была существенной, и составила 4 раза. Развитие комплекса плесневых грибов в вариантах с использованием биологических фунгицидов было ниже в 2,9-3,0 раза по сравнению с контролем. Развитие *Phomopsis viticola* на эталоне было ниже, чем

в контрольном варианте, в 2,3 раза. В вариантах с использованием биофунгицидов развитие *Phomopsis viticola* было также незначительным, и ниже, чем на контрольном варианте, в 1,2-1,3 раза.

На 30 день хранения эффективность защитных мероприятий от комплекса плесневых грибов на вариантах II-IV была высокой и составила 76,5-81,1%. Эффективность защиты от черной пятнистости на всех вариантах снизилась, однако на эталоне оставалась достаточно высокой (73,7%), и была в 2,1 и 3,5 раза выше, чем с применением Гуапсина, 0,2% и Триходермина, 0,5%.

На 60 и 90 день хранения эффективность защитных мероприятий против комплекса плесневых грибов снижалась, по сравнению с предыдущими учетами, и составила перед снятием с хранения в варианте с использованием химического системного фунгицида Дерозал, 0,15% (эталон) 75,0%. В вариантах III-IV эффективность защитных мероприятий была ниже, чем на эталоне, на 8,1% и 9,2%, соответственно. Биологическая эффективность препарата Дерозал, 0,15% против возбудителя черной пятнистости снизилась, по сравнению с двумя предыдущими учетами, и составила 56,6%. В вариантах с использованием биопрепаратов Гуапсин, 0,2%, и Триходермин, 0,5%, эффективность была на низком уровне – в 2,0 и 3,3 раза ниже, чем на эталоне.

Проведенными трехлетними исследованиями было установлено, что использование для обеззараживания черенков привоя биофунгицидов Гуапсин, 0,2% концентрации рабочего раствора и Триходермин, 0,5% концентрации, позволяет сдерживать развитие комплекса плесневидных грибов на 90 день хранения на экономически неощутимом уровне – до 19%. Разница с контролем (56,8%) – более чем в 2,9 раза. Разница с эталоном – 1,4 раза. Интенсивность развития черной пятнистости *Phomopsis viticola* при снятии черенков с хранения на вариантах III-IV составила 10,3-11,9%. Разница с эталоном – в 1,7-1,9 раза, с контролем – 1,2-1,4 раза. Эффективность защиты от комплекса плесневых грибов на вариантах с использованием биофунгицидов оставалась высокой на протяжении всего периода хранения черенков и составила на 90 день 65,8-66,9%. Данные показатели позволяют рекомендовать использовать экологически

безопасные средства защиты биофунгициды Гуапсин, 0,2% и Треходермин, 0,5% на этапе хранения черенков. Против черной пятнистости данные фунгициды могут быть рекомендованы к использованию только при слабом и среднем развитии заболевания на начальном этапе, перед закладкой на хранение.

Результаты, представленные в данном разделе, опубликованы в специализированном издании:

Странишевская, Е.П. Видовой состав фитопатогенных организмов на черенках привоя и подвоя в период хранения / Е.П. Странишевская, В.А. Володин // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. – № 1. – С. 10-11.

#### **3.4.2 Биологическая эффективность защитных мероприятий от грибной патогенной микрофлоры при стратификации привитых черенков**

Отсутствие защитных мероприятий в период стратификации при температурном режиме 28-26-25 °С способствовало интенсивному развитию патогенов. Так, на 7-й день стратификации развитие комплекса плесневых грибов составило на контроле 18,3%, а *Phomopsis viticola* – 9,8%. На 21-й день стратификации развитие комплекса плесневых грибов увеличилось на 11,2 %, и было на уровне 29,5%, а развитие *Phomopsis viticola* увеличилось в 2 раза и составляло 18,8% (таблица 18).

Проведение обработок фунгицидом и биофунгицидом угнетает развитие возбудителей грибных болезней. На эталонном варианте (Топсин М, 0,15%) развитие комплекса плесневых грибов на 7, 14 и 21-й день было в 15,3, 12,8 и 7,8 раз ниже, чем на контроле. Развитие *Phomopsis viticola* на 7, 14 и 21-й день сдерживалось на низком уровне, и было ниже, чем на контроле, в 5,4 , 5,7 и 5,9 раза.

Таблица 18 – Эффективность применения защитных мероприятий при стратификации привитых черенков винограда открытым способом «на воде», 6 блоков, 2013-2015 гг. (приложения Г-1, Г-2, Г-3, Г-4, Г-5, Г-6)

Вариант опыта		День, после закладки прививок на стратификацию					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I. Контроль (без обработо к)	Комплекс плесневых грибов	18,3	-	24,3	-	29,5	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	9,8	-	14,3	-	18,8	-
II. Эталон, (Топсин, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	1,2	93,4	1,9	92,2	3,8	87,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,8	81,6	2,5	82,5	3,2	83,0
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,2	88,0	3,2	86,8	4,5	84,5
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,9	39,8	9,3	35,0	12,8	31,9
IV. Триходер мин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,5	86,3	3,4	86,0	6,8	76,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,7	41,8	9,6	32,9	13,5	28,2

Примечание: R, % – развитие патогена; Б.Э., % – биологическая эффективность действия защитных мероприятий; комплекс плесневых грибов *Trichotecium roseum*, *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium herbarum* и др.

В варианте опыта с применением биофунгицида Гуапсин, 0,2% концентрации, развитие комплекса плесневых патогенов с 7-го дня стратификации до 14-го увеличилось в 1,5 раза, и составило 3,2%. Данный показатель был ниже, чем на контроле в 8,3 раза. Разница с эталоном – не существенна, в пределах ошибки опыта. На 21-й день стратификации развитие комплекса плесневых патогенов увеличилось, по сравнению с первым учетом, в 2,1 раза и составило 4,5%. Развитие *Phomopsis viticola* отмечали во время всех трех учетов. С 7-го дня стратификации до 21-го дня данный показатель увеличился с 5,9 до 12,8 %, однако был ниже, чем на контроле, на 21 день проведения исследований, в 5,9 раза. Разница с эталоном на 14 и 21-й день проведения стратификации не существенна.

В варианте с использованием препарата Триходермин, 0,5% концентрации, развитие *Phomopsis viticola* на 7-й день стратификации было ниже, чем в

контрольном варианте в 1,7 раза, развитие комплекса плесневых грибов – в 7,3 раза. Начиная с 14-го дня стратификации наблюдались отличия с эталонным вариантом. На 21-й день стратификации развитие *Phomopsis viticola* составило 13,5 % и было в 4,2 раза выше, чем на эталоне. Развитие комплекса плесневых грибов было в 1,8 раза выше, чем на эталоне. Разница с вариантом III (Гуапсин, 0,2%) составляет 2,3% и была не существенной. Разница с контролем по развитию комплекса плесневых грибов – 4,3 раза, развитию черной пятнистости – 1,4 раза.

Биологическая эффективность вариантов с использованием биопрепаратов Гуапсин, 0,2%, и Триходермина, 0,5%, при защите от комплекса плесневых грибов составила на 7 день 88,6% и 86,3%, соответственно. На 14 день эффективность снизилась на 1,2% и 0,3%, и составила 86,0-86,8%. На 21 день эффективность оставалась высокой и составляла, 84,5% и 76,9%, соответственно. Разница с эталонным вариантом была не существенной.

Эффективность защиты от *Phomopsis viticola* на вариантах с применением экологически безопасных средств была низкой во время проведения всех трех учетов и составила на 7 день – 39,8% и 41,8%, на 14 день – 35,0 и 32,9%, на 21 день – 31,9 и 28,2%. Эффективность Топсина М, 0,15%, в защите от *Phomopsis viticola*, на 7, 14 и 21 день проведения стратификации, оставалось высокой, и составила 93,2, 92,2 и 87,1%. Разница с вариантами III-IV была существенной во все три срока проведения исследований.

При проведении стратификации закрытым способом во влагоудерживающем материале (в торфе) в варианте опыта с использованием препарата Гуапсин, 0,2% развитие комплекса плесневых грибов на седьмой день хранения было выше, чем на эталоне, в 1,8 раза, на четырнадцатый – в 1,6 раза. Развитие *Phomopsis viticola* с 7 на 14 дни стратификации в варианте с использованием Гуапсина, 0,2% увеличилось с 2,1 до 2,9%, и было выше, чем на эталоне, в 1,5 раза. Разница с вариантом, на котором использовали Триходермин, 0,5%, несущественна (таблица 19). Разница с контролем на 14 день стратификации составила по показателю развития комплекса плесневых грибов – 6,2 раза, показателю развития черной пятнистости – 3,4 раза.

Таблица 19 – Эффективность применения защитных мероприятий при стратификации привитых черенков винограда во влагоудерживающем субстрате (2013-2014 гг., 4 оборота) (приложения Д-1, Д-2, Д-3, Д-4)

Вариант опыта		День, после закладки прививок на стратификацию					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	18,3	-	24,3	-	29,5	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	9,8	-	14,3	-	18,8	-
II. Эталон (Топсин М, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	1,4	90,2	2,2	87,5	3,3	86,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,2	75,0	1,9	70,8	2,4	74,7
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,3	83,9	3,9	77,8	5,2	78,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	2,1	56,3	2,9	55,4	4,5	52,6
IV. Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,9	79,7	4,2	76,1	7,6	67,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,9	60,4	2,8	56,3	4,3	54,7

Примечание: R, % – развитие патогена; Б.Э., % – биологическая эффективность действия защитных мероприятий; комплекс плесневых грибов *Trichotecium roseum*, *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium herbarum* и др.

На 21-й день стратификации во влагоудерживающем субстрате в варианте с использованием препаратов Гуапсин, 0,5%, и Триходермин, 0,5%, развитие комплекса плесневых грибов было на 1,6 и 2,3 % выше, чем в варианте с эталоном; развитие *Phomopsis viticola* было в 1,8-1,9% раза выше, чем при использовании Топсина М, 0,15%. Разница с контролем на вариантах с применением биофунгицидов Гуапсин, 0,2%, Триходермин, 0,5%, и Топсин М, 0,15% была существенной, выше в 3,9-5,7 раза при учете развития комплекса плесневых грибов и 4,2-4,4 раза – при развитии *Phomopsis viticola*.

Биологическая эффективность защитных мероприятий с использованием Топсина М, 0,15% против комплекса плесневых грибов и *Phomopsis viticola* на 21 день стратификации снизилась на 4,1% и 0,3%, по сравнению с 7 днем стратификации и составила 86,1 и 74,7%. Эффективность защитных мероприятий против плесневых грибов на 21 день в варианте с использованием препарата Гуапсин, 0,5% была на 26% выше, чем в варианте с использованием Триходермина, 0,5% и составила 78,1%. Разница с эталоном – 10%.

Эффективность защитных мероприятий против *Phomopsis viticola* в вариантах с использованием Гуапсина, 0,2% и Триходермина, 0,5%, была ниже в 1,4 раза, чем на эталоне.

Таким образом, в период стратификации «на воде» биологическая эффективность биофунгицидов Гуапсин в концентрации 0,2%, и Триходермин в концентрации 0,5%, составила: против комплекса плесневых грибов 84,5 и 76,9%; против черной пятнистости – 31,9 и 28,2%, соответственно.

При стратификации во влагоудерживающем материале биологическая эффективность биофунгицидов Гуапсин в концентрации 0,2%, и Триходермин в концентрации 0,5%, составила: против комплекса плесневых грибов 78,1 и 67,9; против черной пятнистости 52,6 и 54,7%, соответственно.

Изученные биофунгициды могут быть рекомендованы для использования на этапе стратификации привитых черенков для защиты от комплекса плесневых грибов и черной пятнистости при низком и среднем исходном уровне развития грибных заболеваний.

Странишевская Е.П. Использование биофунгицидов Гуапсин и Триходермин при производстве привитого посадочного материала на этапе стратификации привитых черенков винограда / Е. П. Странишевская, В. А. Володин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2016. – №07(121). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/07/pdf/104.pdf>

### **3.5 Выход и качественные показатели привитых черенков винограда**

Главным критерием, определяющим эффективность питомниководства является выход привитых черенков с круговым каллусом и набухшим глазком после стратификации и общий выход привитых саженцев из виноградной школки.

При проведении биометрических учетов роста и развития привитых черенков отмечено, что результаты проведения стратификации в каждом варианте

были разные. Это подтверждает результаты, полученные Громаковским И.К. [46] о том, что при разных условиях стратификации на процессы роста и развития привитых черенков влияют неодинаковые условия образования и дальнейшего развития каллуса в месте спайки, ризогенез на базальной части подвоя, рост и развитие побегов на привое.

По окончании стратификации была проведена сортировка привитых виноградных черенков (таблица 20).

Таблица 20 – Выход и качественные показатели привитых виноградных черенков после стратификации «на воде», 2013-2015, гг.

Вариант опыта	Выход привитых черенков винограда, %		
	с круговым каллусом, набухшим глазком	без кругового каллуса, с набухшим глазком	без кругового каллуса и набухшего глазка
I. Контроль (без обработок)	73,3	16,7	10,0
II. Эталон (Топсин М, 0,15%)	80,0	13,3	6,7
III. Гуапсин, 0,2%	80,0	13,3	6,7
IV. Триходермин, 0,5%	76,7	20,0	3,3

Анализ данных таблицы показывает, что на вариантах с использованием экологически безопасных средств защиты самый высокий выход привитых черенков с круговым каллусом и набухшим глазком (80,0%) был на варианте с применением биофунгицида Гуапсин, 0,2%. Показатель был на уровне эталонного варианта, где для обеззараживания привитых черенков в период стратификации использовали химический фунгицид Топсин М, 0,15%.

В варианте с использованием биофунгицида Триходермин, 0,5%, процент привитых черенков с круговым каллусом, набухшим глазком был ниже на 3,3%, чем в вариантах II и III.

В контрольном варианте выход привитых черенков с круговым каллусом, набухшим глазком составил 73,3%, что на 9,1% ниже, чем на вариантах II и III

(биофунгицид Гуапсин, 0,2%) и на 4,6% ниже, чем на варианте IV (биофунгицид Триходермин, 0,5%).

У привитых виноградных черенков без кругового каллуса, с набухшим глазком образование каллуса в месте спайки происходит фрагментами, вследствие чего их (привитые черенки) отправляются на достратификацию с целью образования кругового каллуса в месте спайки. Этот показатель на вариантах III и II был одинаковым и составил 13,3%, а на вариант IV выше, чем на вариантах II-III и контроле, соответственно, на 50,4 и 19,8%. Выход брака на варианте IV был существенно ниже, чем на контроле и вариантах II и III.

В период стратификации привитых черенков во влагоудерживающем субстрате создаются более «мягкие» условия для процессов образования каллуса в месте спайки прививки. Выхода брака (прививок без кругового каллуса и набухшего глазка) по вариантам опыта не отмечено (таблица 21).

В контрольном варианте выход прививок с круговым каллусом, набухшим глазком составил 86,7%, а без кругового каллуса, с набухшим глазком – 13,3%.

Наибольший выход (93,3%) привитых черенков с круговым каллусом, набухшим глазком был в IV варианте (биофунгицид Триходермин, 0,5%). В варианте III, с использованием биофунгицида Гуапсин, 0,2%, выход привитых черенков с круговым каллусом, набухшим глазком был ниже, чем на варианте IV на 3,5%. Однако полученные значения были выше, чем на эталонном варианте II (химический фунгицид Топсин М, 0,15%) на 7,4%.

Таблица 21 – Выход и качественные показатели привитых виноградных черенков после стратификации закрытым способом, 2013-2014, гг.

Вариант опыта	Выход привитых черенков винограда, %		
	с круговым каллусом, набухшим глазком	без кругового каллуса, с набухшим глазком	без кругового каллуса и набухшего глазка
I. Контроль (без обработок)	86,7	13,3	0
II. Эталон (Топсин М, 0,15%)	83,3	16,7	0
III. Гуапсин, 0,2%	90,0	10,0	0
IV. Триходермин, 0,5%	93,3	6,7	0

Таким образом, трехлетними исследованиями показано, что применение биофунгицидов Гуапсин в концентрации 0,2% и Триходермин в концентрации 0,5%, повышает приживаемость, биометрические показатели роста и выход привитых черенков с круговым каллусом и набухшим глазком при стратификации открытым и закрытым способами на 4,6-9,1% и 3,8-7,6%, соответственно, по сравнению с контролем.

Выход брака, привитых черенков без кругового каллуса и набухшего глазка, после стратификации «на воде» с применением биофунгицидов Гуапсин, 0,2% и Триходермин, 0,5% был на уровне эталона, и меньше на контроле, чем на 33 и 67%, соответственно. При стратификации закрытым способом выхода привитых черенков без кругового каллуса и набухшего глазка на всех вариантах отмечено не было.

### **3.6 Биологическая эффективность биопрепаратов и регуляторов роста растений при выращивании привитого посадочного материала**

После стратификации привитые черенки проходят процесс закалки (5-7 дней) после чего их высаживают в виноградную школку, где в месте спайки привитых черенков продолжается дифференциация раневой ткани, формирование сосудистой системы. На базальной части привитых черенков проходят два процесса: окоренение и укоренение. Прирост глазков привоя интенсивно растет и развивается. На листочках, содержащих хлорофилл, протекают процессы фотосинтеза, вследствие чего органические вещества накапливаются и поступают в растение.

В течение 30 дней после высадки можно судить о приживаемости привитых черенков, поскольку основное их количество гибнет в первые дни после высадки в школку (рисунок 19).

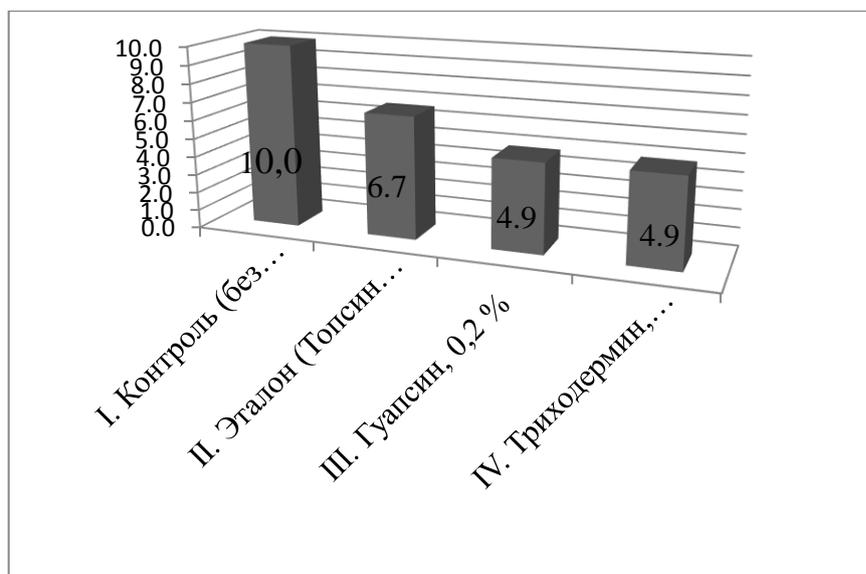


Рисунок 19 – Гибель привитых черенков в виноградной школке.  
на 30 день после высадки, %, 2013-2014 гг.

Основными факторами, влияющими на приживаемость привитых черенков, особенно в первое время после высадки в виноградную школку являются, помимо температуры и относительная влажность воздуха и почвы, технологические условия при производстве привитых черенков, наличие брака в месте спайки, а также резерв инфекции.

Установлено, что использование экологически безопасных средств защиты растений биофунгицидов Гуапсин, 0,2% и Триходермин, 0,5%, которые помимо защитных свойств против комплекса грибных заболеваний, обладают и выраженным стимулирующим действием, положительно влияет на ростовые процессы, протекающие в растениях на этапе стратификации и в период выращивания в школке. Гибель привитых черенков после высадки их в школку на 30 день составила на контроле 10,0%, на эталоне (Топсин М, 0,15%) – 6,7%. На вариантах III и IV гибель привитых растений была ниже, чем на контроле и эталоне на 51,0 и 26,9%, соответственно.

В общем комплексе агротехнических мероприятий по выращиванию саженцев винограда особое место должно принадлежать приемам, снижающим влияние патогенной микрофлоры и абиотических факторов на молодое неокрепшее растение. Такими приемами являются обработки привитых черенков средствами защиты и регуляторами роста растений.

Оценку эффективности биофунгицидов в защите от комплекса грибных заболеваний, развивающихся в школке, изучение влияния биологически активных веществ (регуляторов роста растений) на процессы роста и развития привитых черенков и увеличения выхода привитых стандартных саженцев проводили по схеме опыта III, представленной в разделе 2.2.

Анализ данных научной литературы за последние 20 лет по результатам фитосанитарного мониторинга состояния виноградных насаждений, проведенных сотрудниками Национального института винограда и вина Магарач, в предгорной зоне Крыма позволяет сделать вывод, что доминирующей грибной болезнью является ложная мучнистая роса (*Plasmopara viticola*). Условия для развития милдью в предгорной зоне складываются в 1-3 декадах июня. В третьей декаде июля – первой декаде августа, при выпадении осадков, обычно начинается эпифитотия листовой формы милдью. На виноградных насаждениях, на которых защитные мероприятия не проводились, к моменту сбора урожая развитие болезни на листьях может составлять 99% [111, 168, 196, 209].

Отсутствие защитных мероприятий против милдью может привести к преждевременному опадению листьев, неполному вызреванию побегов, и гибели растения винограда. Поэтому, начиная с конца мая необходимо проводить фитосанитарные обследования виноградных насаждений, в зависимости от особенностей климатических условий текущего года, а защитные мероприятия целесообразно проводить с 1 декады июня, основываясь на результатах анализа данных фитосанитарного мониторинга.

В хозяйстве обработки виноградной школки против милдью совмещают с проведением основного опрыскивания промышленных насаждений согласно следующей схеме: до цветения винограда; после цветения винограда; стадия «мелкой горошины»; «рост ягод» и «начало созревания ягод».

Согласно изучаемой системе защиты, опрыскивания виноградной школки проводились каждые 14 дней: в I-II декада июня, III декада июня, I-II декада июля, III декада июля – I декада августа, II-III декада августа, I-II декада сентября.

Для анализа полученных данных применяемые препараты по действию были разбиты на три блока: химический препарат – Фольпан, 0,15%; биологические препараты – Гуапсин, 0,2%, Триходермин, 0,5%; стимуляторы роста – Атоник Плюс, 0,02%, Гумисол, 0,01%. Контроль – вариант без проведения защитных мероприятий против основного комплекса грибных болезней и обработок биологически активными веществами.

В последнее время возрастает роль биологически активных веществ (регуляторов роста) среди средств защиты растений. Кроме своего основного действия – положительного влияния на процессы роста и развития растений, они проявляют также антистрессовое действие, которое возникает в случае попадания растения в критические погодные условия. В некоторой степени действие регуляторов роста влияет на устойчивость растений к грибным патогенам.

Учеты развития милдью проводили 3 раза за вегетационный период: первый – через неделю после первой обработки, после появления первых визуальных признаков ложной мучнистой росы; второй и третий – через 30 дней.

На 30 день после высадки прививок в школку был проведен первый учет развития милдью (таблица 22).

Таблица 22 – Интенсивность развития грибных патогенов в виноградной школке, 2013-2014 гг.

Вариант опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора, %)	Интенсивность развития болезни (R, %), день после высадки прививок		
	30	60	90
I. Контроль (прививки без обработок)	3,7	11,4	17,6
II. Эталон (Фольпан, 0,15%)	0,2	1,6	3,4
III. Гуапсин, 0,2%	0,7	2,3	4,2
IV. Триходермин, 0,5%	0,6	2,4	4,5
V. Атоник Плюс, 0,02%	1,0	3,6	5,9
VI. Гумисол, 0,01%	1,0	3,8	5,6
VII. Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%	0,5	1,9	3,9

На 30 день после высадки прививок на контрольном варианте развитие составило 3,7%. В вариантах с использованием биофунгицидов Гуапсин, 0,2%, и Триходермин, 0,5%, развитие было значительно, в 5,3 и 6,2 раз ниже. Разница с эталоном (0,2%) – не существенная.

В вариантах с использованием только биостимуляторов роста Атоник Плюс и Гумисол развитие милдью было ниже, чем на контроле, в 3,7 раза, и составило 1,0%. Разница с эталоном (вариант II) в пределах ошибки опыта.

На 60 и 90 день после высадки саженцев в школку на контроле развитие милдью составило 11,4 и 17,4%, соответственно.

В эти же периоды развитие милдью на обрабатываемых вариантах опыта сдерживалось на низком уровне и составило на вариантах с использованием биофунгицидов 2,3-2,4%, на вариантах с использованием регуляторов роста растений – 3,6-3,8%. Разница с контролем в первой группе препаратов – 5,0-7,1 раза, во второй группе – 2,9-3,2 раза. По сравнению с эталонным вариантом развитие заболевания на вариантах III-IV было выше в 1,4-1,5 раза. На вариантах V-VI, где использовались только регуляторы роста растений, интенсивность развития милдью была выше, чем на эталоне, в 2,3-2,4 раза. В варианте VII (Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%) совместное использование биологического препарата Гуапсин и регулятора роста Атоник Плюс, сдерживало развитие заболевания на очень низком уровне – 1,9%. Разница с эталоном – 1,2 раза. Полученные результаты были более чем в 1,9 раза ниже, чем на вариантах III и IV, где использовались только биофунгициды.

Данные об эффективности защитных мероприятий, проведенных в школке, представлены в таблице 23.

На 30 день после высадки в школку эффективность защитных мероприятий на всех вариантах, на фоне слабого развития заболевания на контроле, была высокой и составила от 73,0 до 94,6%. На 60 день изучаемый показатель на всех вариантах незначительно снизился. На вариантах с применением химических и биологических фунгицидов, и с комплексным применением биофунгицидов и регуляторов роста растений, эффективность составила 78,8-86,0%. Интересными

представляются данные, полученные на вариантах V и VI, где для стимулирования роста растений и защиты от милдью использовали только биологически активные вещества. Эффективность защитных мероприятий была ниже, чем на эталоне, но оставалась достаточно высокой – 66,7-68,4%.

Таблица 23 – Эффективность защитных мероприятий от милдью, в среднем за 2013-2014 гг., приложения (Е-1, Е-2)

Вариант опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора, %)	Биологическая эффективность защитных мероприятий, %, на день после высадки привитых черенков		
	30	60	90
I. Контроль (прививки без обработок)	-	-	-
II. Эталон (Фольпан, 0,1%)	94,6	86,0	80,7
III. Гуапсин, 0,2%	81,1	79,8	76,1
IV. Триходермин, 0,5%	83,8	78,9	74,4
V. Атоник Плюс, 0,02%	73,0	68,4	66,5
VI. Гумисол, 0,01%	73,0	66,7	68,2
VII. Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%	86,5	83,3	77,8

Таким образом, можно сделать вывод о том, что стимуляторы роста обладают фунгистатическим и иммуностимулирующим действием, и при слабом и среднем развитии заболевания, эффективно сдерживают уровень распространения и развития милдью.

В период проведения третьего учета эффективность защитных мероприятий с использованием химических и биологических средств защиты составила 80,7 и 74,4-76,1%, соответственно.

Обработки регуляторами роста влияют на активизацию защитных реакций организма, наступающих при контакте растения с патогеном. В результате развитие инфекции замедляется и локализуется, при определенных условиях растение выздоравливает. Биологическая эффективность биостимуляторов Атоник Плюс и Гумисол на 90 день после высадки в школку, на фоне среднего

развития заболевания на контроле (17,6%) составила 66,5-68,2%. На варианте VII эффективность защиты была на уровне эталонного варианта и составила 77,8%.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что экологизированная система защитных мероприятий, включающая обработки биофунгицидами Гуапсин в концентрации 0,2% и Триходермин, в концентрации 0,5%, позволяет эффективно сдерживать развитие милдью на низком уровне. Биологическая эффективность была на уровне эталонного варианта и составила 74,4-83,8%.

Достоверно установлено, что стимуляторы роста обладают фунгистатическим и иммуностимулирующим действием, и при слабом и среднем развитии милдью, эффективно сдерживают уровень распространения и развития заболевания – биологическая эффективность составила 66,5-73,0%.

Результаты, представленные в данном разделе, опубликованы в специализированном издании:

Странишевская, Е.П. Экологизация защитных мероприятий в виноградной школке / Е.П. Странишевская, Н.И. Шадура, В.А. Володин // Новации в горном и предгорном садоводстве: материалы международной научно-практической конференции, посвященной памяти известного ученого в области защиты растений к.с.х.н., Заслуженного агронома РСФСР и КБР Алексеевой Светлане Алексеевне (25-26 ноября 2015 г.). – Нальчик, 2015. – С. 201-205.

Странишевская, Е.П. Биологическая эффективность биофунгицидов Гуапсин и Триходермин, регуляторов роста растений Атоник Плюс и Гумисол при выращивании привитого посадочного материала / Е.П. Странишевская, В.А. Володин// Современные технологии: актуальные вопросы, достижения и инновации: сборник статей Международной научно-практической конференции / Под общ. ред. Г.Ю. Гуляева. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2016. – с. 73-79.

### 3.7 Качество привитого посадочного материала после выкопки из виноградной школки

После выкопки привитых саженцев винограда из школки была проведена оценка их биометрических и количественных показателей согласно ГОСТ 31783-2012 «Посадочный материал винограда (саженцы). Технические условия». Результаты оценки полученного посадочного материала представлены на рисунках 20, 21, 22.

Важным агробиологическим показателем развития привитого саженца является площадь листовой поверхности (рисунок 20). Варьирование размеров листовой площади влияет на степень поглощения солнечной энергии и, как результат, накопления органических веществ. Листовая поверхность влияет на закладку почек, на интенсивность роста и вызревания лозы.

Анализ данных рисунка 20 показывает, что разница между вариантами опыта с применением биофунгицидов Гуапсин, 0,2% раствор, Триходермин 0,5% раствор, и эталоном Фольпан, 0,15% раствор, составила 0,2-0,3 м<sup>2</sup>, соответственно.

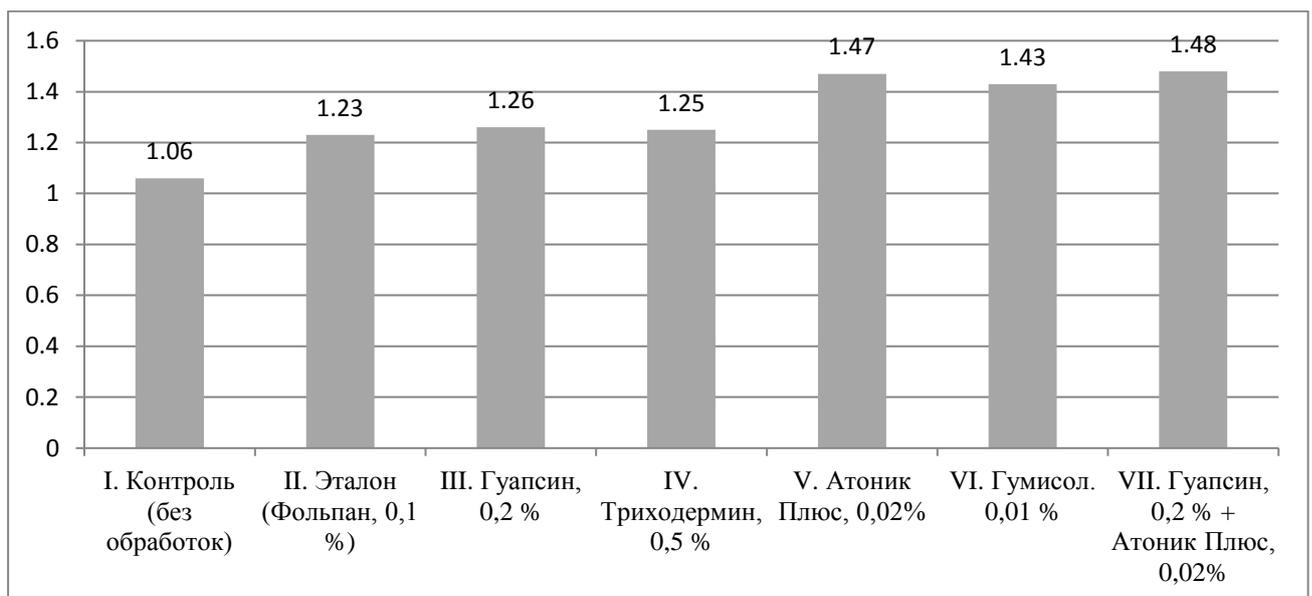


Рисунок 20 – Площадь листовой поверхности привитых саженцев по вариантам опыта, м<sup>2</sup>

Полученные показатели также были выше, чем в контрольном варианте. Разница была существенной и составила 17,9-18,9%. Увеличение площади листового аппарата в вариантах с применением Гуапсина, 0,2%, и Триходермина, 0,5%, с нашей точки зрения, вызвано еще и тем, что действующее вещество используемых биофунгицидов стимулирует ростовые процессы в растениях.

Биологически активные вещества кроме основного действия – положительного влияния на ростовые процессы, являются антистрессантами и снижают негативное влияние высоких температур воздуха и низкой влажности воздуха на молодое растение, повышая устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды. Поэтому наибольшая площадь листовой поверхности отмечена в вариантах с применением регуляторов роста Атоник Плюс, 0,02%, и Гумисол, 0,01% - 1,43-1,48 м<sup>2</sup>. Разница с эталоном – более 16%, с контрольным вариантом – более 35%. Разница между вариантами V, VI и VII не существенна.

Совместное применение биофунгицида и регулятора роста растений увеличивает листовую поверхность, по сравнению с эталоном, на 20%, по сравнению с вариантами, где использовались только биофунгициды, более чем на 18%.

Прирост саженцев винограда является важным показателем, который характеризует состояние развития виноградного растения в виноградной школке. Зеленый побег несет на себе листья, в которых происходят важные процессы – фотосинтез, дыхание и транспирация. На узлах прироста закладываются комплексные глазки, являющиеся составной частью виноградной лозы, от качества которых будет зависеть формирование куста и скорость вступления в плодоношение.

Результаты замеров диаметра, общей и вызревшей части виноградной лозы представлены на рисунке 21.

Средняя длина прироста в вариантах с использованием биофунгицидов Гуапсин в концентрации 0,2%, и Триходермин в концентрации 0,5% составила 58,5 и 57,7%. Разница с контролем – 3,7 и 2,3%, соответственно.

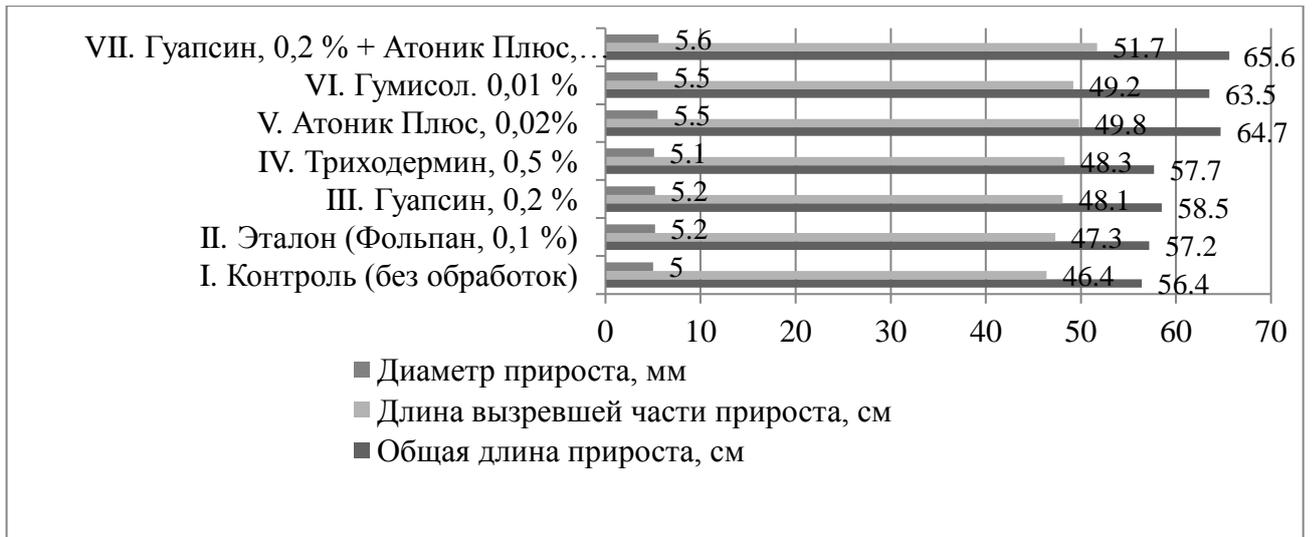


Рисунок 21 – Диаметр, общая длина прироста и вызревшая часть побега по вариантам опыта, см

В вариантах с применением биологически активных веществ Атоник плюс, 0,02%, Гумисол, 0,01%, и Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%, показатели общей длины побегов составили 63,5-64,7 и 65,6 см. Разница с контролем, 12,6-14,7 и 20,5%, соответственно.

Разница по длине вызревшей части побегов привитых саженцев в вариантах с применением биофунгицидов Гуапсин, 0,2%, и Триходермин, 0,5%, в сравнении с контролем и эталоном была выше на 1,9-2,1 см (3,7-4,1%) и 0,8-1,0 см (1,7-2,1%), соответственно.

По диаметру прироста разница между обрабатываемыми вариантами и контролем составила от 4,0 до 12,0%. Лучшие показатели были получены на вариантах V-VII, с применением регуляторов роста растений. Разница с эталоном – более 5,8%. Разница между вариантами II (эталон) и III-IV была незначительной.

Сила роста привитого саженца обусловлена рядом факторов, основным из которых является энергия роста корневой системы (таблица 24).

Таблица 24 – Влияние применяемых биопрепаратов и регуляторов роста на развитие корневой системы в виноградной школке

Варианты опыта	Показатели развития корней в виноградной школке		
	диаметр, мм	длина, см	Количество, шт
I.Контроль (без обработок)	3,5	12,3	5,1
II.Эталон (Фольпан, 0,1%)	3,4	12,5	5,2
III.Гуапсин, 0,2%	3,3	12,7	5,3
IV.Триходермин, 0,5%	3,4	12,8	5,3
V.Атоник Плюс, 0,02%	4,3	14,6	5,5
VI.Гумисол, 0,01%	4,2	13,9	5,5
VII.Гуапсин, 0,2%+ Атоник Плюс, 0,02%	4,3	13,5	5,6

В вариантах с совместным применением регуляторов роста (V и VI) и биофунгицида и регулятора роста Атоник Плюс, 0,02% (VII) среднее количество корней составило 5,5 и 5,6, а длина 14,5, 13,9 и 13,5 см, соответственно. Разница с эталоном – 5,8-7,7%, с контролем – 7,8-9,8%.

В вариантах с использованием биофунгицидов показатель средней длины корней выше на 2,4 и 1,6%, чем в варианте с эталоном.

Между вариантами I-IV существенных различий по показателю диаметр корней не отмечено. Положительное достоверное влияние на диаметр корней оказали обработки регуляторами роста растений. Разница с контролем на вариантах V-VII составила 20,0-22,9%, с эталоном – 26,5%. С вариантами, в которых применялись биофунгициды, также была существенно, и составила 27,3-30,3%.

Наиболее важным показателем при выращивании посадочного материала винограда является выход качественных привитых саженцев. Однако этот показатель напрямую зависит от количества прижившихся привитых черенков, высаженных в виноградную школку (таблица 25).

Таблица 25 – Показатели приживаемости и общего выхода привитых саженцев из виноградной школки, %

Варианты опыта	Количественные показатели выхода привитых саженцев из школки	
	приживаемость, 30 день после высадки привитых черенков в школку, %	выход от прижившихся привитых черенков, %
I.Контроль (без обработок)	90,0	66,6
II.Эталон (Фольпан, 0,1%)	93,3	80,0
III.Гуапсин, 0,2%	95,1	80,0
IV.Триходермин, 0,5%	95,1	80,0
V.Атоник Плюс, 0,02 %	96,6	86,6
VI.Гумисол, 0,01%	96,6	86,6
VII.Гуапсин, 0,2%+ Атоник Плюс, 0,02%	96,6	90,0

На 30 день после высадки в виноградную школку в вариантах с использованием Триходермин, 0,5% и Гуапсин, 0,2% показатели прижившихся саженцев и общего выхода были на уровне эталона и составили 95,1% и 80,0%, соответственно. В вариантах с использованием регуляторов роста Атоник Плюс, 0,02%, Гумисол, 0,01% и Гуапсин, 0,2%+ Атоник Плюс, 0,02% количество прижившихся привитых саженцев было одинаковым 96,6%.

На момент выкопки общий выход привитых саженцев в варианте с совместным применением биофунгицида Гуапсин, 0,2% и регулятора роста Атоник Плюс, 0,02% был на 3,4% выше, чем в вариантах с использованием регуляторов роста Атоник Плюс, 0,02 % и Гумисол, 0,01%. Разница между вариантами с использованием биофунгицидов и контролем по выходу привитых виноградных саженцев после выкопки из школки составила 16,8%.

С целью предупреждения возможного распространения вирусной и бактериальных инфекций после выкопки из виноградной школки привитых саженцев выполнена молекулярная диагностика латентной (скрытой) стадии основных вирусных и бактериальных инфекций: GFLV, GLRaV, RWC, *Agrobacterium tumefaciens*. Методика проведения исследований аналогична, изложенной в разделе 3.1.2 данной диссертационной работы. В результате выполненного тестирования латентная стадия основных вирусных и бактериальных инфекций не обнаружена.

Таким образом, установлено, что в вариантах с применением биофунгицидов Триходермин в концентрации 0,5% и Гуапсин в концентрации 0,2%, приживаемость и общий выход привитых саженцев были на уровне эталона и составили 95,1% и 80,0%, соответственно.

Средняя длина прироста в вариантах с использованием биофунгицидов Гуапсин в концентрации 0,2%, и Триходермин в концентрации 0,5%, составила 57,7 и 58,5 см, что на 2,3 и 3,7% больше, чем на эталонном варианте. Разница с контрольным вариантом составила 6,4 и 9,0%, соответственно.

Показатель длины вызревшей части в вариантах III и IV был на 3,7-4,1% больше, чем в контроле, диаметр прироста – более чем на 4%.

Длина корней превышала показатель, полученный на контроле на 3,2-4,1%, количество корней – на 1,9-3,9%.

Площадь листовой поверхности в контрольном варианте была ниже, чем на вариантах с использованием биофунгицидов Гуапсин и Триходермин, на 17,9 и 18,9 %.

Достоверно установлено, что применение регуляторов роста растений Атоник Плюс, 0,02% и Гумисол, 0,01% положительно влияет на агробиологические показатели, характеризующие развития привитого саженца.

Полученные результаты достоверно превышали как контрольный, так и эталонный варианты, и были выше значений, полученных на вариантах с использованием только одних биофунгицидов.

### **3.8 Экономическая эффективность усовершенствованной технологии выращивания привитых саженцев винограда на основе использования экологически безопасных средств защиты в условиях Крыма**

Выращивание привитого посадочного материала является достаточно затратной отраслью сельского хозяйства. Фундаментом питомниководства является производство привитых саженцев, свободных от возбудителей инфекционных болезней. Для этого необходимо проводить профилактические (отбор и предварительное тестирование латентной стадии вирусных и бактериальных инфекций методами ИФА, ПЦР, ОТ-ПЦР в черенках винограда) и защитные мероприятия (в наших исследованиях при хранении, стратификации, в виноградной школке применяли биофунгициды Гуапсин, 0,2%, Триходермин, 0,5% и биостимуляторы роста Гумисол, 0,01% и Атоник Плюс, 0,02%).

Наиболее объективными критериями, определяющими целесообразность и экономический эффект любой технологии выращивания посадочного материала являются такие показатели экономической эффективности, как общий выход саженцев, чистая прибыль, себестоимость, уровень рентабельности.

Для экономической оценки экологизированной системы защиты производства привитых саженцев необходимо провести сравнение затрат на проведение приемов и эффекта от полученного результата. Расчет экономической эффективности проводится с использованием средних данных за период проведения исследований.

Себестоимость полученной продукции является отношением производственных затрат к количеству произведенных саженцев. Производственными затратами является сумма затрат на препараты и приготовление рабочего раствора с последующим проведением обработок.

Общий выход привитых саженцев – показатель, характеризующий количество полученных саженцев от сделанных прививок. Так, в контроле выход привитых черенков с круговым каллусом, набухшим глазком и привитых черенков без кругового каллуса, с набухшим глазком после стратификации

составил 90%, после выкопки 66,6%. Таким образом, общий выход привитых саженцев составил 594 шт.

В эталонном варианте общий выход привитых черенков после стратификации составил 93,7%, после выкопки привитых саженцев - 80%, таким образом, общий выход составил 749 шт.

Аналогичный показатель в вариантах с использованием Гуапсина, 0,2%, Триходермина, 0,5% и Гуапсина, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02% составил 749, 773 843 привитых саженцев, соответственно.

Анализируя данные влияния биопрепаратов Триходермин и Гуапсин на развитие патогенной микрофлоры на привитых черенках в процессе их стратификации по сравнению с воздействием эталона, установлено, что вымачивание черенков в растворах этих препаратов перед закладкой на хранение, а также последующая обработка привитых черенков в период стратификации подавляет развитие патогенной микрофлоры, и, как следствие, способствует повышению выхода стандартных саженцев (таблица 26).

Таблица 26 – Экономическая эффективность от внедрения препаратов как элемента защитных мероприятий технологии выращивания привитого посадочного материала винограда

Показатели	Ед. изм.	Значения показателей				
		Контроль (обработка и водой)	Эталон	Гуапсин, 0,2%	Триходермин, 0,5%	Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс 0,02%
Выход стандартных привитых саженцев с 1000 привитых черенков винограда	шт.	594	749	749	773	843
Стоимость валовой продукции, полученной с 1 000 привитых черенков винограда	руб.	14 850	18 725	18 725	19 325	21 075
Общие затраты на 1 000 привитых саженцев	руб.	8 400	10 116	10 288	10 512	10 324
Себестоимость 1000 привитых саженцев	руб.	14,14	13,50	13,73	13,59	12,24
Чистый доход	руб.	6 450	8 609	8 437	8 813	10 751
Уровень рентабельности	%	76,8	85,1	82,0	83,8	104,1

Использование этих препаратов, а также регулятора роста растений Атоник Плюс, 0,02% в школке, на этапе выращивания привитых виноградных саженцев, способствует созданию благоприятных условий для роста и развития виноградных растений – снижает уровень развития грибных заболеваний и стимулирует ростовые и защитные функции саженцев.

Производственные затраты:

I. Контроль = 8 400 руб.

II. Эталон = 1840 + 276 + 8 400 = 9 116 руб.

III. Гуапсин, 0,2% = 1840 + 448 + 8 400 = 9 288 руб.

IV. Триходермин, 0,5% = 1840 + 672 + 8 400 = 9 512 руб.

V. Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02% = 1840 + 448 + 8 400 + 36 = 9 548руб

Себестоимость составляет:

$$\frac{8400}{594} = 14,14 \text{ руб. – Контроль;}$$

$$\frac{10\,116}{749} = 13,5 \text{ руб. – Эталон;}$$

$$\frac{10\,288}{749} = 13,73 \text{ руб. – Гуапсин,0,2%;}$$

$$\frac{10512}{773} = 13,59 \text{ руб. – Триходермин, 0,5%;}$$

$$\frac{10\,324}{843} = 12,24 \text{ руб. – Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%.}$$

Важным показателем, характеризующим эффективность производства саженцев является чистый доход – это разность между стоимостью валовой продукции и производственными затратами.

Уровень рентабельности, % отражает отношение чистого дохода к производственным затратам.

Анализ данных экономической эффективности показывает, что наиболее рентабельным по сравнению с контролем является вариант с применением биофунгицида Гуапсин, 0,2% и регулятора роста Атоник Плюс 0,02%. На котором, не смотря на повышение производственных затрат, уровень рентабельности был

выше эталонного варианта на 22,3%, контрольного варианта – на 32,4%, за счет большего выхода привитых саженцев из школки (на 28,7%).

Уровень рентабельности в вариантах с применением биофунгицидов Гуапсин, 0,2% и Триходермин, 0,5% был выше контроля на 6,3-8,4%, но ниже эталона на 3,1 и 1,3%, что связано со стоимостью биопрепаратов. Однако в этом случае следует учитывать социальный и экологический эффекты от применения экологически безопасных биофунгицидов.

Таким образом, полученные результаты достоверно показывают, что наиболее рентабельным является вариант с применением биофунгицида Гуапсин, 0,2%, и регулятора роста Атоник Плюс, 0,02%, уровень рентабельности был выше эталонного варианта на 22,3%.

Уровень рентабельности в вариантах с применением биофунгицидов Гуапсин, 0,2% и Триходермин, 0,5% ниже эталона на 3,1 и 1,3%, что связано со стоимостью биопрепаратов. Однако в этом случае следует учитывать социальный и экологический эффекты от применения экологически безопасных биофунгицидов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

1. Установлено, что на участке заготовки виноградных лоз привойного сорта (Алиготе) наиболее часто встречались симптомы болезней короткоузлия (GFLV), скручивания листьев винограда (GLRaV), и в меньшей степени – комплекса борозчатости (RWC), соответственно, 5,0, 4,8 и 0,2%. Среди грибных заболеваний доминировали: *Plasmopara viticola*, *Phomopsis viticola*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria spp.* Растения с классическими внешними признаками бактериального рака *Agrobacterium tumefaciens*, фитоплазменных инфекций не обнаружено.

2. Среди насаждений подвойного сорта Кобер 5ББ не обнаружено растений с внешними признаками вирусных болезней. Так же, как на участке отбора лоз сорта Алиготе, не обнаружены растения с классическими внешними признаками бактериального рака и фитоплазменных инфекций

3. Тестирование латентной стадии основных вирусных и бактериальных болезней методами ИФА, ОТ-ПЦР, ПЦР в образцах растений, предполагаемых для заготовки черенков, позволило установить в исследуемых образцах сорта Алиготе наличие латентной стадии вирусов короткоузлия (GFLV), комплекса борозчатости древесины (*RSPaV* и *GVA*) и скручивания листа, штамм 1 (*GLRaV-1*). При этом в 2 образцах обнаружена смешанная инфекция *GVA* + *GLRaV-1*. Показано отсутствие вирусов *GLRaV-2,-3*, *GVB*, бактериального рака и фитоплазменной инфекции в исследуемых образцах.

4. По результатам оценки фитосанитарного состояния растений на участках отбора лоз привойного и подвойного сортов по внешним признакам, и на основе молекулярной диагностики, растения, показавшие наличие каких-либо патогенов, были исключены из дальнейшего эксперимента. Черенки для получения привитых саженцев заготовлены со здоровых растений. Полученные результаты позволяют предложить включить молекулярную диагностику скрытой стадии фитопатогенов, как элемент технологии производства привитого посадочного материала.

5. Установлено, что на черенках привоя в период хранения развиваются 8 грибковых фитопатогенов, из которых наиболее часто встречаются: *Phomopsis viticola* – 78,3%, *Alternaria spp.* – 56,7%, *Cladosporium herbarum* – 50,1%, *Trichotecium roseum* – 43,1%, *Botrytis cinerea* – 30,0%. Доминируют по интенсивности развития *Phomopsis viticola* – 26,7%, *Trichotecium roseum* – 12,4%. *Botrytis cinerea* – 8,4%, *Alternaria spp.* – 7,6%.

6. Установлено, что на черенках подвоя интенсивность развития патогенной микрофлоры к концу хранения, при отсутствии защитных мероприятий, составляет: *Phomopsis viticola* – 9,2%, *Alternaria spp.* – 4,4%, *Mycelia sterilia* – 3,1%, *Trichotecium roseum* – 1,8%. Проведенное перед закладкой на хранение обеззараживание снижает интенсивность развития заболевания в 1,4-5,6 раза по сравнению с исходной.

7. Установлено, что условия проведения стратификации открытым способом («на воде») способствуют развитию грибных патогенов. На привитых черенках выявлено 10 видов, среди которых по частоте встречаемости доминировали: *Cladosporium herbarum* – 18,6%, *Trichotecium roseum* – 16,3%, *Phomopsis viticola* – 13,9%, *Alternaria spp.* – 13,4%. Интенсивность распространения *Botrytis cinerea* – 2,2%, была наименьшей. Условия стратификации закрытым способом во влагоудерживающем материале (в торфе) способствуют как уменьшению видового состава патогенов, так и интенсивности их развития. Доминирующими из 6 встречающихся были: *Alternaria spp.* – 21,1%, *Phomopsis viticola* – 16,4% и *Botrytis cinerea* – 15,3%.

8. Установлено, что в условиях Крыма основным грибным заболеванием при выращивании привитых черенков в школке, как и на участках отбора привойных черенков, является *Plasmopara viticola*.

9. Впервые, при производстве привитых саженцев, для расширения ассортимента фунгицидов проведена оценка эффективности и показана перспективность использования двух экологически безопасных биопрепаратов: Гуапсин, 0,2% концентрации, Триходермин, 0,5% концентрации, как средства для снижения интенсивности распространения и развития грибных заболеваний.

Установлено, что их использование в системе защитных мероприятий на разных этапах производства посадочного материала винограда, позволяет сдерживать интенсивность развития патогенов на уровне, не оказывающем негативного влияния на выход и качественные показатели привитых черенков и привитых саженцев. В период стратификации процент развития плесневых грибов не превышал 19,0%, *Phomopsis viticola* – 12,0%; интенсивность развития *Pl. viticola* в школке снизилась, по сравнению с контролем, в 3,9-6,2 раза, и не превышала 4,5%.

10. Установлено, что по окончании хранения биологическая эффективность обеззараживания черенков привоя биопрепаратами была на уровне химического фунгицида (75,0%) и составила в защите от комплекса плесневых грибов 66,9% и 65,8%, соответственно. Отмечено существенное снижение эффективности, до 16,8% (Триходермин 0,5%) – 28,0% (Гуапсин 0,2%), по сравнению с химическим фунгицидом (56,6%) при защите черенков привоя от *Phomopsis viticola*. При этом интенсивность развития патогена сдерживалась на уровне, не влияющим на приживаемость прививки при производстве привитых черенков.

11. Установлено, что условия стратификации влияют на интенсивность развития патогенов и биологическую эффективность проводимых защитных мероприятий. В период стратификации открытым способом «на воде» биологическая эффективность биофунгицидов Триходермин 0,5% и Гуапсин, 0,2%, против комплекса плесневых грибов была на уровне химического фунгицида (87,1%) и составила 76,6 и 84,5%, соответственно. При защите против *Phomopsis viticola* эффективность биофунгицидов была в 2,9-2,6 раза ниже, чем на эталоне и составила 28,2 и 31,9%, что не повлияло на выход привитых черенков. Развитие грибных патогенов при стратификации закрытым способом «в торфе» на вариантах с использованием биофунгицидов сдерживалось на уровне 4,3-7,6%, биологическая эффективность защитных мероприятий составила 52,6-78,1% (Гуапсин, 0,2%) и 54,7-67,9% (Триходермин, 0,5%).

12. Показано, что повышению приживаемости, выходу привитых черенков способствует комплексное применение экологически безопасных биофунгицидов Гуапсин, 0,2% раствор и Триходермин, 0,5% раствор, на этапах «обеззараживания

черенков подвоя и привоя перед закладкой на хранение» и «стратификации привитых черенков». Усовершенствованная технология позволила увеличить выход качественных привитых черенков на 3,8-9,1% по сравнению с необработанным контролем и снизить количество брака в 1,3-3,0 раза (более чем на 33%).

13. Разработанные элементы экологически безопасной технологии производства привитого посадочного материала с использованием биофунгицидов и биологически активных веществ увеличивают приживаемость привитых черенков, после высадки в школку, на 5,7-7,3%, выход стандартных привитых саженцев на 20,0-35,1%.

14. Установлено, что использование биофунгицидов на этапе выращивания привитых саженцев в школке влияет на их биометрические и количественные показатели: площадь листовой поверхности увеличилась на 17,9-18,9%; общая длина прироста и его вызревшей части – на 2,3-3,7 и 3,7-4,1%, соответственно; диаметр прироста – более чем на 4,0%.

15. Показано, что использование биологически активных веществ Атоник Плююс, 0,02% и Гумисол, 0,01% не только увеличивает биометрические показатели (площадь листовой поверхности более чем на 35%, общую длину прироста и его вызревшей части – на 12,6-20,5 и 6,0-18,1%, диаметр прироста – на 10-12,5%, количество корней – более чем на 7,8%) но, и как следствие, выход стандартных саженцев – на 35,1%.

16. Применение биофунгицидов на основных этапах производства привитого посадочного материала позволяет стабилизировать фитосанитарное состояние привитых черенков после стратификации и привитых саженцев в школке и увеличить экономические показатели производства привитого посадочного материала. Общий выход привитых саженцев в вариантах с применением Гуапсина, 0,2% и Триходермина, 0,5% был на уровне эталона, или выше на 3,2%. Уровень рентабельности производства привитого посадочного материала по сравнению с контролем увеличился на 6,8-9,1% за счет увеличения объема продукции (выхода стандартных привитых саженцев с 1000 привитых черенков винограда), но был ниже эталонного варианта на 1,3-3,1%.

17. Установлено, что наиболее рентабельным по сравнению с контролем является вариант с применением биофунгицида Гуапсин, 0,2% и регулятора роста Атоник Плюс 0,02%. Уровень рентабельности был выше эталонного варианта на 22,3%, контрольного варианта – на 32,4%. Увеличение получено за счет большего выхода привитых саженцев из школки (на 28,7%).

## РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Для получения посадочного материала, свободного от основных вирусных, бактериальных и фитоплазменных болезней, рекомендуется использовать метод визуального обследования по внешним симптомам как начальный этап оценки фитосанитарного состояния привоя и подвоя на участках заготовления виноградных лоз. В связи с широким распространением скрытой (латентной) формы вирусных, бактериальных и фитоплазменных инфекций рекомендуем включить в технологию производства привитого посадочного материала этап молекулярной диагностики в целях получения здоровых привойных и подвойных лоз для заготовки черенков и контроля их фитосанитарного состояния в школке и после выкопки.

2. Для увеличения выхода саженцев из школки и повышения рентабельности производства применять, как элемент технологии на основных этапах производства привитого посадочного материала экологически безопасные биофунгициды Гуапсин, 0,2% раствор и Триходермин, 0,5% раствор и биологически активные вещества Атоник Плюс, 0,02% и Гумисол, 0,01% по разработанной схеме:

- обеззараживание черенков подвоя и привоя перед закладкой на хранение проводить биофунгицидами Гуапсин, 0,2% или Триходермин, 0,5% с экспозицией: черенки привоя 12 часов, черенки подвоя – 16 часов;

- обеззараживание привитых черенков в период проведения стратификации биофунгицидами Гуапсин, 0,2% и Триходермин, 0,5%: в соответствии с предложенной схемой: при стратификации во влагоудерживающим материале «в торфе» - однократно, до начала стратификации; при стратификации «на воде» в зависимости от интенсивности нарастания каллуса проводить 7-8 обработок биофунгицидами с интервалом 3 дня, первое – до начала стратификации;

- опрыскивания виноградной школки проводить каждые 14 дней баковой смесью биофунгицида Гуапсин, 0,02% и Атоник Плюс, 0,02% в следующие сроки:

I-II декада июня, III декада июня, I-II декада июля, III декада июля – I декада августа, II-III декада августа, I-II декада сентября.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

GFLV – вирус короткоузлия винограда

GLRaV – вирус скручивания винограда

RWC – комплекс бороздчатости древесины винограда

GVA – вирус А винограда (ямчатость древесины Кобера)

GVB – вирус В винограда (вирус опробковения коры)

RaSPV – вирус бороздчатости древесины *Rupestris*

GFkV – вирус мраморности винограда

КФХ – крестьянско-фермерское хозяйство

ГТК – гидротермический коэффициент

ИФА (ELISA) – иммуно-ферментный анализ (англ. enzyme-linked immunosorbent assay)

ОТ ПЦР - полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

ПЦР – полимеразная цепная реакция

кДНК – комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеотидная кислота

КОЕ – колониеобразующие единицы

Б.Э. – биологическая эффективность защитных мероприятий

## СПИСОК ТЕРМИНОВ

1. биологическая защита растений: Система мероприятий по защите растений и продукции растительного происхождения от вредных организмов путем применения биологических препаратов или использования регуляторной и истребительной деятельности естественных врагов вредных организмов, а также раздел науки о защите растений.
2. биологический препарат для защиты растений; биопрепарат: Препарат, в котором действующим началом является микроорганизм или продукт его жизнедеятельности.
3. болезнь растений: Нарушение нормального обмена веществ клеток, органов и целого растения под влиянием фитопатогена, неблагоприятных условий окружающей среды или их сопряженного воздействия.
4. виноградная школка: Участок земли, предназначенный для выращивания саженцев винограда.
5. выход саженцев винограда: Количество стандартных саженцев винограда, полученных с единицы площади или по отношению к числу высаженных черенков.
6. выход черенков винограда: Количество стандартных черенков винограда, полученных с единицы площади маточника винограда или одного маточного куста.
7. обратная транскрипция, ОТ: синтез ДНК с матрицы РНК с использованием фермента обратной транскриптазы в сочетании с ОТ-праймером в присутствии дезоксирибонуклеотидтрифосфатов.
8. ОТ-ПЦР: метод, состоящий из двух реакций: обратной транскрипции (ОТ) РНК в ДНК и последующей ПЦР.
9. показатели качества посадочного материала винограда: Совокупность визуальных, линейных, количественных, анатомических, селекционных и фитосанитарных характеристик посадочного материала винограда, которые регламентированы требованиями нормативных документов и должны удостоверяться сопроводительными документами.

10. полимеразная цепная реакция; ПЦР: ферментативная реакция, позволяющая амплифицировать ДНК *in vitro*. ПЦР-ELISA: метод обнаружения ПЦР-продуктов в жидкой фазе после их иммобилизации на твердой фазе, например, в лунках микропланшета.
11. прививка: Искусственное соединение для срастания подвоя с привоем.
12. прививочный комплекс винограда: Структурная часть виноградного питомника, где осуществляется производство привитых черенков, включающая в себя помещения для хранения черенков и саженцев, предпрививочной подготовки черенков, прививки, стратификации, закалки, а также бытовые помещения и сооружения для энергетического обеспечения.
13. привитой черенок винограда: Черенок винограда, на который сделана прививка, находящийся в стадии после настольной прививки до укоренения.
14. привитый черенок винограда: Черенок винограда, который привит и находится в стадии после настольной прививки до укоренения.
15. саженец винограда: Молодое растение винограда до двух лет, полученное вегетативным размножением и предназначенное для использования в качестве посадочного материала.
16. фитопатоген [фитопатогенный микроорганизм]: Организм, вызывающий заболевание растений.
17. черенок винограда: Отрезок однолетнего вызревшего или зеленого побега винограда различной длины, предназначенный для вегетативного размножения.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аджиев, А.М. Агрэкологические основы и технологические параметры привитого виноградарства / А.М. Аджиев [и др.] – Махачкала, 2003. – 296 с.
2. Арестова, Н.О. Видовой состав вредных организмов в маточнике базовых растений винограда в условиях нижнего Придонья / Н.О. Арестова, И.О. Рябчун // Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ. – 2015. – Т. 8. – С. 200-204.
3. Арестова, Н.О. Возможность применения биологически активных веществ для уменьшения пестицидной загрузки на виноградниках / Н.О. Арестова, И.О. Рябчун // Инновационные технологии и тенденции в развитии и формировании современного виноградарства и виноделия. – ГНУ Анапская ЗОСВиВ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии. – 2012. – С. 77-81.
4. Арестова, Н.О. Вредоносность бактериального рака на виноградниках Нижнего Придонья [Text] / Н.О.Арестова, В.Ф. Бурдинская // Виноделие и виноградарство. – 2010. – № 1. – С.36-37.
5. Арестова, Н. О. Защита оздоровленных базовых растений винограда от вредных организмов / Н.О. Арестова, И.О. Рябчун // Защита и карантин растений. – 2015. – № 4. – С. 18-20.
6. Арестова, Н.О. Бактериальные болезни на виноградниках Ростовской области. // Обеспечение устойчивого производства виноградовинодельческой отрасли на основе современных достижений науки: материалы междунар. дистанц. науч.-практ. конференц. посвящ. 125-летию проф. Мержаниана / ГНУ Анапская ЗОСВиВСКЗНИИСиВ. – Анапа: 2010. – С. 98-102.
7. База данных: Распространение вирусных фитопатогенов винограда *Vitis vinifera* L. на территории Крым.
8. Батукаев, А.А. Адаптация растений винограда в условиях *in vitro* / А.А. Батукаев // Садоводство и виноградарство 21 века: матер. междунар. науч.-практ. конф., 7 – 10 сентября 1999 г. – Краснодар, 1999. – С. 84 – 86.

9. Батукаев, А.А. Совершенствование технологии ускоренного размножения и оздоровления посадочного материала винограда методом *in vitro* / А.А. Батукаев. – Москва: Издательство МСХА. – 1998. – 223 с.
10. Березовська, О.О. Захист виноградників від грибних хвороб / О.О. Березовська, І.М. Козар, М.С. Константинова // Виноград. Вино. – 2006. – № 6. – С. 20-21.
11. Биологическая защита виноградников на Украине / Ю. К. Самойлов [и др.] // Защита и карантин растений. – 2009. – № 5. – С. 21-22.
12. Биологическая защита растений: учебник / М.В. Штерншис [и др.]; под ред. М. В. Штерншис. – М.: Колос, 2004. – 264 с.
13. Биопрепараты в защите растений: учебное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск, 2003. – 140 с.
14. Биопрепараты в сельском хозяйстве. (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) / И.А. Тихонович [и др.] – М.: ГНУ ВНИИСХМ, 2005. – 154 с.
15. Болгарев, П. Т. Виноградарство – Симферополь: Крымиздат, 1960. – 574 с.
16. Борисенко, М.Н. Влияние озонированной воды на микофлору, образующуюся при производстве виноградных прививок / М.Н. Борисенко [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2016. – № 1. – С. 4-6.
17. Боровиков, Г.А. Анатомия и физиология прививки у виноградной лозы. – Харьков: Держгоспвидав, 1935. – 80 с.
18. Будак, Н.С. Стратификация виноградных прививок без влагоудерживающего материала в камерах из полиэтиленовой пленки / Н.С. Будак, И.Н. Тихвинский // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1967. – № 4. – С. 38-41.
19. Букатарь, П.И. Стратификация виноградных прививок на воде / П.И. Букатарь // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1967. – № 4. – С. 41-42.
20. Бурдинская, В.Ф. Бактериозы виноградной лозы / В.Ф. Бурдинская, Н.О. Арестова // Защита и карантин растений. – 2012. – № 8.

21. Бурдинская, В.Ф. Болезни и вредители винограда и меры борьбы с ними / В.Ф. Бурдинская, В.Е. Пойманов; ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко. – Новочеркасск, 2009. – 72 с.
22. Ванюшин, Б.Ф. Молекулярные механизмы действия фитогормонов / Б.Ф. Ванюшин // Сельскохозяйственная биология. – 1985. – № 5. – С. 112 – 114.
23. Васелашку, Е.Г. Болезни при стратификации прививок / Е.Г. Васелашку // Питомниководство - решающий фактор развития виноградарства. – Кишинев, 1985. – С. 83-85.
24. Васелашку, Е.Г. Болезни черенков виноградной лозы в период хранения // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1971. – № 7. – С. 47-49.
25. Васелашку, Е.Г. О причинах низкого выхода привитых виноградных саженцев // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1978. – № 7. – С. 31-33.
26. Ведь, И.П. Климатический атлас Крыма // Таврия-плюс: 2000. – Симферополь. – 120 с.
27. Вердеревская, Т.Д. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда / Т.Д. Вердеревская, В. Г. Маринеску. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 236 с.
28. Вердеревский, Д.Д. Милдью винограда / Д.Д. Вердеревский, К.А. Войткович. – Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1970. – 160 с.
29. Верновский, Э.А. Технология возделывания и использование винограда / под ред. Э.А. Верновского. – М.: Агропромиздат, 1990. – 303 с.
30. Вещицкий, В.А. Проблеми застосування регуляторів росту рослин при вирощуванні садивного матеріалу деревних порід [Електронний ресурс] / В.А. Вещицкий, П.Г. Дульнев, В.В. Сірик // Наукові доповіді НАУ. – 2006 № 4 (5). – С. 1 – 121. – Режим доступу до журн. : <http://www.nbu.gov.ua/e-Journals/nd/2006-4/06wawsar.pdf44>
31. Вильчинский, В.Ф. Стратификация прививок с помощью локального электрического обогрева // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1978. – № 2. – С. 31-33.

32. Вильчинский, В.Ф. Разработка метода выращивания привитых виноградных саженцев в полиэтиленовом бандаже и его биологические основы: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.08. – Симферополь, 1981. - 18 с.
33. Виноградарство / К.В. Смирнов [и др.]. – М.: МСХА, 1998. – 287 с.
34. Виноградарство России: настоящее и будущее / Е.А. Егоров [и др.]. – Махачкала: Новый день, 2004. – 440 с.
35. Виноградный кадастр Украины / [разработчики: Мельник Ю.Ф. та ін.]. – Київ, 2009. – 94 с.
36. Власов, В.В. Научное обеспечение устойчивого ведения виноградарства на юге Украины [Питомниководство, сортимент, расширение площадей, новые технологии] // Проблемы устойчивого ведения виноградарства: сб. тр. / Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия. - Новочеркасск, 2004. – С. 52-61.
37. Возняк, В.И. Биопрепараты для защиты виноградной лозы // Защита и карантин растений. – 2007. – № 4. – С. 32.
38. Волков, Я.А. Распространение вирусных и бактериальных фитопатогенов на виноградниках юго-западной зоны Крыма / Я.А. Волков, В.И. Рисованная, С.М. Гориславец и др. // Магарац. Виноградарство и виноделие.- 2015.- № 4.- С. 27-28.
39. Волков, Я.
40. А. Формирование и основные направления использования микробиологической коллекции фитопатогенных организмов виноградного растения // Магарац. Виноградарство и виноделие. – 2001. – № 4. – С. 16-18.
41. Володин, В.А. Методы фенотипирования устойчивости винограда к грибным болезням / Володин В.А., Рисованная В.И., Шадура Н.И // Магарац. Виноградарство и виноделие.- 2014.- № 3.- С. 11-13.
42. Выскварко, Г.Г. Методы определения поражения виноградного посадочного материала болезнями / Пособие по контролю за качеством виноградного посадочного материала. – Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1974. – С. 15-19.

43. Гешеле, Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции. – М.: «Колос», 1964. – 200 с.
44. Гнутова, Р.В. Разнообразие вирусов растений в Восточноазиатском регионе России: итоги 50-летнего изучения // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 5. – С. 15-27.
45. Гориславец, С.М. Адаптация методики экстракции и оценки ДНК винограда / С. М. Гориславец, В. И. Рисованная, N. Nicot [и др.] // Виноградарство и Виноделие.- 2007.- Т. 3.- С. 6-8.
46. ГОСТ Р 53025-2008: Посадочный материал винограда (саженцы). Технические условия. Введ. 2010-01-01. – М.: Стандартинформ, 2009. – 8 с.
47. Громаковский, И.К. Выращивание виноградного посадочного материала / Новое в виноградном питомниководстве ВНР и МССР. – Кишинев, 1984. – С. 94-134.
48. Громаковский, И.К. Технология производства виноградного посадочного материала винограда на питательной основе. – Кишинев, 1976. – С. 42-50.
49. Дерфлинг, К. Гормоны растений. Системный подход.- М.: Мир. – 1985. – 304 с.
50. Дженеев, С.Ю. Примерные технологические карты выращивания привитых виноградных саженцев / С.Ю. Дженеев, В.И. Светличный, С.Г. Утенина. – Ялта: ВНИИВиПП «Магарач», 1985. – 48 с.
51. Дикань, А.П. Виноградарство Крыма. – Симферополь: «Полипресс», 2004 г. – 405 с.
52. Дикань, О.П. Виноградарство: навчальний посібник. – Сімферополь: Бізнес-Інформ, 2002. – 208 с.
53. Дорошенко, Н.П. Современная технология производства базисного посадочного материала / Н.П. Дорошенко, Л.В. Кравченко; Питомниководство винограда. – Краснодар, 2004. – С. 51-59.
54. Драновский, В.А. Аэрация прививок винограда во время стратификации и закалки на воде / В.А. Драновский, Л.А. Чекмарев // Виноделие и виноградарство СССР. – 1981. – № 1. – С. 30-32.

55. Дробот, К.О. Влияние фитосанитарного состояния исходных маточных насаждений на качество виноградного посадочного материала // Наука Кубани. – 2005. – № 2. – С. 167-168.
56. Дучак, А.Н. Чорна плямистість на виноградниках / А. Н. Дучак, Т. Ф. Черкасова // Захист рослин. – 2003. – № 6. – С. 11.
57. Егоров, Е.А. Состояние и перспективы научного обеспечения устойчивого развития виноградарства / Е.А. Егоров, К.А. Серпуховитина, В.С. Петров // Виноделие и виноградарство. – 2008. – № 3. – С. 6-8.
58. Ждамарова, А.Г. Ризогенез у прививок при различных способах их стратификации // Приемы выращивания винограда и привитого посадочного материала: труды КСХИ. – Краснодар, 1977. – Вып. 180 (208). – С. 51-56.
59. Жуков, А.И. Привитая культура винограда / А.И. Жуков, Н.Н. Перов, О.М. Ильяшенко. – М.: Росагропромиздат, 1989. – 160 с.
60. Заманиди, П.К. Влияние субстратов на регенерацию прививок во время стратификации // Труды КСХИ. Вып. 269. – 1986. — С. 52-57.
61. Замета, О.Г. Сравнительная характеристика стимуляторов корнеобразования Гумисол и Риверм при производстве привитых вегетирующих саженцев винограда / О.Г. Замета, М.Н. Борисенко, В.А. Володин // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2012. – № 1. – С. 11 – 12.
62. Замотайлов, А.С. История и методология биологической защиты растений: электронный курс лекций / А.С. Замотайлов. – Краснодар, 2012. – 237 с.
63. Захаренко, В.А. Тенденции и перспективы химической и биологической защиты растений // Защита и карантин растений. – 2011. – № 3. – С. 6-10.
64. Защита виноградников от болезней и вредителей: рекомендации / А.И. Талаш [и др.]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ. – 2009. – 85 с.
65. Зейналов, А.С. Контроль качества и сертификация посадочного материала - основа эффективного садоводства // Современное садоводство. – 2011. – № 1 (3). – С. 1-5.
66. Зеленянська, Н.М. Ефективні прийоми виробництва високоякісних саджанців винограду / Н.М. Зеленянська // Стан та перспективи розвитку

рослинницької галузі в умовах змін клімату: зб. тез IV міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, 1 – 3 липня 2009 р. – Харків: Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва, 2009. – С. 118 – 120.

67. Израильский, В.П. Бактериальные болезни растений /под.ред. В.П. Израильского. – М.: Колос, 1979. – 228 с.

68. Калинин, Ф.Л. Биологически активные вещества в растениеводстве / Ф.Л. Калинин – К. : Наукова думка, 1984. – 320 с.

69. Карпун, Н.Н. Защита растений / Методика обследования насаждений: методические указания к проведению летней учебной практики для студентов специальности 250203 «Садово-парковое и ландшафтное строительство». – Сочи: РИЦ СГУТиКД, 2010. – 44 с.

70. Кефели, В.И. Факторы регулирования роста и органообразования / В.И. Кефели // Биология развития растений. – М. : Наука, 1975. – С. 89 – 110.

71. Кефели, В.И. Фитогормоны и поиск новых регуляторов продуктивности растений / В.И. Кефели // Сельскохозяйственная биология. – 1987. – № 12. – С. 81– 85.170

72. Кискин, П.Х. Филлоксера. – Кишинев: изд-во «Штиинца», 1977. – 209 с.

73. Коваленков, В.Г. Технология фитосанитарного оздоровления виноградного агроценоза / В.Г. Коваленков, С.А.Косилов, К.М. Тарадин // Защита и карантин растений.– 2010. – № 6. – С.20-23.

74. Кожемяков, А.П. Разработка и перспективы использования биопрепаратов комплексного действия / А.П. Кожемяков, С.В. Тимофеева, Т.А. Попова // Защита и карантин растений. – 2008. – № 2. – С. 42-43.

75. Козар, І.М. Мікофлора виноградних чубуків і ефективність фунгіцидів в боротьбі з нею / І.М. Козар, О. О. Березовська // Виноградарство і виноробство. – Одеса: Друк, 2004. – С. 54-65.

76. Козар, І.М. Фітосанітарний стан виноградників України // Виноградарство і виноробство. – Одеса: Друк., 2004. – Вип. 41. – С. 5-21.

77. Козарь, И.М. Болезни и вредители винограда, меры борьбы / И.М. Козарь. – Одесса, 2005. – 64 с.

78. Козарь, И.М. Фитосанитарное состояние виноградников на Украине и перспективы защиты их от вредителей и болезней / И.М. Козарь [и др.] // Виноградарство и виноделие. – К.: Урожай, 1981. – Вып. 24. – С. 64-67.
79. Колесник, Л.В. Агротехника выращивания привитых виноградных саженцев // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1961. – № 4. – С. 42-43.
80. Колесник, Л.В. Виноградарство / «Карта Молдовеняскэ». – Кишинев, 1968. – 440 с.
81. Константинова, М.С. Защита виноградного питомника от вредителей и болезней // Научно-прикладные аспекты развития виноградарства и виноделия на современном этапе: материалы Междунар. науч.-практ. конф./ ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко. – Новочеркасск, 2009. – С. 176-180.
82. Конуп, Л.А. Бактериальный рак винограда в Украине / Л.А. Конуп, А.Е. Гайдай, Б.Н. Милкус // Вісник ОНУ, 2001. – Т.6, выпуск 4. – С. 181-183.
83. Конуп, Л.А. Испытание отечественных антимикробных препаратов против возбудителя бактериального рака – биотип 3 (*Agrobacterium vitis*) в условиях *in vitro* и *in vivo* / Л.А. Конуп, О.А. Бойко, А.И. Конуп // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. «Магарач». Том XXXVIII. – Ялта, 2008. – С. 35-37.
84. Концепция развития виноградарства и виноделия в Российской Федерации на период 2016-2020 гг. и плановый период до 2015 г. – Проект Симферополь, 2015. – 50 с.
85. Костюк, П.Н. Вредная флора виноградной лозы в Украинской ССР / Одесское областное издательство. - Одесса: 1949. – 184 с.
86. Коченко, З.И. Черная пятнистость винограда // Защита растений. – 1986. – № 7. – С. 38-39.
87. Кравченко, Л.В. Система производства посадочного материала винограда высших категорий качества: дисс. ... д-ра с.-х. наук: 06. 01. 08 ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко. – Новочеркасск, 2006. – 311 с.
88. Кравченко, Л.В. Современное состояние и основные тенденции развития виноградарства и виноделия в РФ // Агротехнологические и экологические аспекты развития виноградовинодельческой отрасли: материалы науч.-практ.

конференция посвященная 100-летию Е.И. Захаровой. (Новочеркасск, 23-25 мая 2007 г.). – Новочеркасск, 2007. – С. 3–31.

89. Курапина, Н.В. Оптимизация режима орошения и удобрения виноградной школки // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 1-1. – С. 120-125.

90. Кучер, Г.М. Ефективність застосування мікродобрива Сізам на технологічних етапах виробництва саджанців винограду / Г.М. Кучер, М.М. Артюх, Є.В. Нікульча // Виноградарство і виноробство : міжвід. темат. наук. зб. – Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2012. – Вип. 49. – С. 101 – 106.

91. Кучер, Г.М. Ефективність застосування суперабсорбенту Аквасорб у виробництві виноградних саджанців / Г.М. Кучер, Н.М. Зеленянська, Н.А. Новицька-Боровська // Виноградарство і виноробство : міжвід. темат. наук. зб. – Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2007. – Вип. 44. – С. 49 – 58.

92. Кучер, Г.М. Ефективність застосування фізіологічно активних речовин в технології розмноження винограду / Г.М. Кучер, М.М. Артюх // Инновационные технологии в развитии столового виноградарства : матер. междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов, 30 августа 2011 г. – Одесса, 2011. – С. 62 – 68.

93. Кучер, Г.М. Роль біопрепарату Валміцин в технологічних етапах виробництва саджанців винограду / Г.М. Кучер, М.М. Артюх, Є.Ю. Нікульча // Виноградарство і виноробство : між від. темат. наук. зб. – Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2011. – Вип. 48. – С. 107 – 110.

94. Лафон, Ж. Болезни и вредители винограда и борьба с ними / Ж. Лафон, П. Куйо. – М.: Сельхозгиз, 1959. – 230 с.

95. Леманова, Н.Б. Бактериальный рак винограда и способы борьбы с ним. - Кишинев: Штиинца, 1988. – 100 с.

96. Леманова, Н.Б. Фитосанитарный контроль посадочного материала продуктивности виноградных насаждений / Н.Б. Леманова, А.Я. Земшман // Новации и эффективность производственных процессов в виноградарстве и виноделии: материалы науч.-практ. конф. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2005. - Т. 1. – С. 263-266.

97. Леманова, Н.Б. Рекомендации по проведению фитосанитарного контроля и мерам борьбы с бактериальными заболеваниями винограда / Н.Б. Леманова, О.Д. Султанова. – Кишинев: Молгипрозем, 1987. – 20 с.
98. Леманова, Н.Б. Рекомендации по проведению фитосанитарного контроля и мерам борьбы с бактериальными заболеваниями винограда / Н.Б.Леманова, О.Д. Султанова.- Кишенев: «Молгипрозем», 1987. –20 с.
99. Липецкая, А.Д. Вредители и болезни виноградной лозы / А.Д. Липецкая, К.С. Рузаев. – М., 1958. – 247 с.
100. Макаревская, Е.А. Влияние холодного предпрививочного хранения на выход виноградных прививок // Сообщения АН Грузинской ССР. – 1946. – Т. VII. – № 8. – С. 535-541.
101. Макаревская, Е.А. Значение физиологического состояния черенков для процессов регенерации у виноградной лозы // Труды Тбилисского ботанического института. – 1946. – Т. IX. – С. 209-220.
102. Малтабар, Л.М. Виноградный питомник: теория и практика / Л.М. Малтабар, Д.М. Козаченко. – Краснодар, 2009. – 290 с.
103. Малтабар, Л.М. Влияние регуляторов роста – экзуберона и гетероауксина на регенерацию черенков подвойных сортов винограда / Л.М. Малтабар, Л.И. Мельник [Электронный ресурс] // Научный журнал Куб. ГАУ. – 2004. – № 4 (02). – С. 1 – 10. – Режим доступа к журн. : <http://ej.kubagro.ru/2004/02/pdf/04.pdf>.
104. Малтабар, Л.М. Влияние регуляторов роста на регенерационные свойства черенков винограда / Л.М. Малтабар, А.А. Гугучкин, Е.Н. Котова // Виноделие и виноградарство : сб. науч. тр. – 2002. – № 2. – С. 36 – 37.
105. Малтабар, Л.М. Оценка качества привитых виноградных саженцев / Пособие по контролю за качеством виноградного посадочного метериала. – Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1974. – С. 64-66.
106. Малтабар, Л.М. Состояние и пути дальнейшего развития виноградарства в Краснодарском крае / Л.М. Малтабар, Д.М. Козаченко; Совершенствование сортимента, производство посадочного материала винограда. – Краснодар, 2002. – С. 27-40.

107. Малтабар, Л.М. Технология производства привитого виноградного посадочного материала: учебное пособие для студентов с.-х. инст. и слушат. курсов повыш. квалиф. Часть I. – Краснодар, 1981. – 72 с.
108. Мелешко, Н.И. Эффективность различных способов стратификации и закалки прививок винограда без влагоудерживающего материала // Виноградарство и виноделие. – 1982. – Вып. 25. – С. 28-30.
109. Мержаниан, А.С. Виноградарство. – М., 1968. – 464 с.
110. Методические рекомендации по агротехническим исследованиям в виноградарстве Украины / В.И. Иванченко [и др.]; под ред. А.М. Авидзба – Ялта: НИВиВ "Магарач", 2004. – 264 с.
111. Методические рекомендации по защите виноградников интенсивного типа от болезней древесины / Э.А. Асриев [и др.]. – Ялта: Магарач. – 16 с.
112. Методические рекомендации по применению фитосанитарного контроля в защите промышленных виноградных насаждений юга Украины от вредителей и болезней / Н.А. Якушина [и др.]. – Симферополь: Полипресс, 2006. – 24 с.
113. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве; под редакцией Долженко В.И.- СПб.: 2009.- 321 с.
114. Методическое и аналитическое обеспечение организации и проведения исследований по технологии производства винограда; под ред. К.А. Серпуховитиной. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. – 182 с.
115. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений / пер. с нем. К.В. Попковой, В.А. Шмыгли. – М.: Агропромиздат, 1987. – 224 с.
116. Микроорганизмы - возбудители болезней растений / под ред. В.И. Билай. – Киев: Наук. Думка, 1988. – 550 с.
117. Милкус, Н.В. Вирусные и бактериальные болезни винограда / Н. В. Милкус, И. Д. Жунько, Л.А. Конуп. – Одесса, 2012. – 57 с.
118. Михалків, Л.М. Регуляція процесів азотфіксації та фотосинтезу в люцерни препаратами цитокінінової і ауксинової природи за різного водозабезпечення /

- Л.М. Михалків, С.Я. Коць, Д.А. Кірізії [та ін.] // Физиология и биохимия культурных растений. – 2002. – Т. 34. – № 4. – С. 317 – 325.
119. Мишуренко, А.Г. Виноградный питомник / А.Г. Мишуренко, М.М. Красюк. – М.: Агропромиздат, 1987. – 268 с.
120. Мишуренко, А.Г. Выращивание привитых саженцев винограда в Украинской ССР. – К., 1962. – 228 с.
121. Мілкус, Б.Н. Вірусні та бактеріальні хвороби винограду // Б.Н. Мілкус, Н.В. Ліманська, І.Д. Жунько, Л.А. Конуп, О.В. Агєєва.- Одесса: Одеський державний аграрний університет, 2012. – 157 с.
122. Монастырский, О.А. Современные проблемы и решения создания биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных культур от возбудителей болезней / О.А. Монастырский, Т.В. Першакова // Агро XXI. – 2009. – № 7-9.
123. Мулюкина, Н.А. Вирусные болезни и бактериальный рак винограда / ННЦ «ИВиВ им. В.Е. Таирова». - Одесса, 2005. – 147 с.
124. Мулюкіна, Н.А. Методи оздоровлення від вірусів винограду із застосуванням культури *in vitro* / Н. А. Мулюкіна [та ін.] // Виноградарство і виноробство. – 2013. – Вип. 50. – С. 198-204.
125. Мулюкіна, Н.А. Система санитарного контролю у виноградних розсадниках України: дис... д-ра с.-г. наук: 06.01.08.- Одеса, 2008 р. – 560 с
126. Надежкина, Н.Д. К вопросу о борьбе с болезнями прививок в период стратификации / Питомниководство – решающий фактор развития виноградарства. – Кишинев, 1985. – С. 85-86.
127. Недов, П.Н. Теоретические основы болезни виноградных насаждений от болезней и вредителей // Труды научного центра виноградарства и виноделия. – Ялта: ИВиВ "Магарач", 2000. – Т. 2, книга 1. – С. 8-14.
128. Никкел, Л.Д. Регуляторы роста растений. Применение в сельском хозяйстве. – М. : Колос, 1984. – 192 с.
129. Николенко, В.Г. Стратификация и закалка прививок пакетноподобным способом // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1977. – № 1. – С. 36-40.

130. Никольский, М.А. Определение скрытых дефектов места спайки привитых саженцев винограда // Параметры адаптивности многолетних культур в современных условиях развития садоводства и виноградарства: материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых. – Краснодар: СКЗНИИСиВ; 2008. – С. 109-113;
131. Никольский, М.А. Определение строения анатомо-морфологических структур черенков винограда программно-техническими методами / М.А. Никольский // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – 2016. – № 37. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/16/01/09.pdf>.
132. Никольский, М.А. Роль регуляторов роста растений в повышении эффективности производства привитых виноградных саженцев / М.А. Никольский [и др.] // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – 2013. – № 24 (06). – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/13/06/04.pdf> 1.
133. Никольский, М.А. Совершенствование приёмов активизации корнеобразования у подвоев и сортов винограда при производстве саженцев: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. с.-х. наук : спец. 06.01.07 «Плодоводство, виноградарство» / М.А. Никольский. – Краснодар, 2009. – 24 с.242
134. Олейников, Н.П. Влияние стимуляторов роста Биовитрекс и Торфовит на показатели качества и выход стандартных корнесобственных саженцев винограда / Н.П. Олейников, А.И. Захаренко // Виноградарство и виноделие: сб. науч. тр. – 2011. – Т. ХLI. – Ч. 2. – С. 13 – 15.
135. Олефир, А.В. Экономическая эффективность применения фитоприемов на школке саженцев винограда // Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ РАСХН. – 2015. – Т. 8. – С. 180-182.
136. Основы научных исследований в агрономии: учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений / В.Ф. Мойсейченко [и др.]. – М.: Колос, 1996. – 336 с.

137. Павлюченко, Н.Г. Основные болезни и вредители виноградной школки / Защита и карантин растений. – 2015. – № 4. – С. 5-8.
138. Палеха, А.Г. Способ борьбы с грибными болезнями прививок винограда при их стратификации / А.Г. Палеха, Ю.В. Воинов, А.Д. Лысенко; Виноградарство і виноробство. – Одеса: ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2006. – С. 121-125.
139. Панкин, М.И. Методы диагностики физиологического и микробиологического состояния семян, лозы и ягод винограда / М.И. Панкин [и др.] // Вклад фундаментальных исследований в развитие современной инновационной экономики Краснодарского края: тезисы конференции. – Краснодар, 2006. – С. 159-160.
140. Панова, М.Б. Влияние регуляторов роста на продуктивность и качество винограда европейско-американского происхождения в условиях Ростовской области / М.Б. Панова // Инновационные технологии и тенденции в развитии и формировании современного виноградарства и виноделия : матер. междунар. дист. науч.-практ. конф. – Анапа, 2013. – С. 38 – 42.
141. Перелович, В.Н. Влияние регуляторов роста и способов предпосадочной подготовки одревесневших черенков винограда на корнеобразование / В.Н. Перелович, М.С. Трофимова // Инновационные технологии и тенденции в развитии и формировании современного виноградарства и виноделия : матер. междунар. дистанц. науч.-практ. конф., посвященной 90-летию со дня образования ГНУ Анапская зональная опытная станция виноградарства и виноделия СКЗНИИСиВ, Анапа, 2013. – С. 94 – 100.
142. Перстнев, Н.Д. Виноградарство. – Кишенёв, 2001. – 538 с.
143. Перстнев, Н.Д. Технология выращивания привитых саженцев винограда окулировкой / Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1973. – № 5. – С. 41-43.
144. Петров, В.С. Рекомендации по технологии производства сертифицированного посадочного материала винограда / В.С. Петров [и др.]; Технологии производства элитного посадочного материала и виноградной продукции, отбора лучших протоклонов винограда. – Краснодар, 2005. – С. 4-14.

145. Пидопличко, Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. / Определитель: в 3 т. – Т.1. Грибы совершенные. – Киев: Наукова думка, 1977. – 296 с.
146. Пидопличко, Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. / Определитель: в 3 т. – Т.2. Грибы несовершенные. – Киев: Наукова думка, 1977. – 300 с.
147. Пидопличко, Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. / Определитель: в 3 т. – Т.3. Пикнидиальные грибы. — Киев: Наукова думка, 1978. – 301 с.
148. Политова, З.С. Изучение влияния обработки биопрепаратами на биологическую продуктивность надземной части саженцев винограда // Альманах мировой науки. – 2016. – № 1-1. – С. 38-41.
149. Пономаренко, С.П. Регуляторы роста растений / С. П. Пономаренко. – Киев, 2003. – 319 с.
150. Попушой, И.С. Микозы виноградной лозы: мировая сводка / И.С. Попушой, Л.А. Маржина. – Кишинев: Штиинца, 1989. – 241 с.
151. Поротикова, Е.В. Молекулярная диагностика бактериальных и вирусных фито-патогенов винограда, актуальных для сельского хозяйства Крыма / Е.В. Поротикова, С.В. Виноградова, Ю.Д. Дмитренко // Магарач. Виноградарство и виноделие.- 2015.- № 3.- С. 19.
152. Поротикова, Е.В. Распространение вирусов скручивания листьев винограда 1 и 3 (grapevine leafroll-associated viruses-1 и -3) на территории Крыма / Е.В. Поротикова, В.И. Рисованная, Я.А. Волков // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология.- 2016.- № 2.- С. 13-16.
153. Производство привитых виноградных саженцев / В. Г. Николенко [и др.]. – Симферополь: Таврия, 1980. - 71 с.
154. Пузанова, Л.А. Биологический контроль мучнистой росы яблони, винограда и овощных культур.– Краснодар, 2003. – 200 с.
155. Рабаданов, Г.Г. Концепция интегрированной экологизированной системы защиты виноградных насаждений от болезней и вредителей // Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ. – 2013. – Том 2. – С. 29-33.
156. Радчевский, П.П. Влияние Радикса Плюс на регенерационную способность виноградных черенков сорта Виорика / П.П. Радчевский, И.А. Кулько,

Д.С. Осипова [и др.] // Инновационные технологии и тенденции в развитии и формировании современного виноградарства и виноделия : матер. междунар. дистанц. науч.-практ. конф., посвященной 90-летию со дня образования ГНУ Анапская зональная опытная станция виноградарства и виноделия СКЗНИИСиВ, Анапа, 2013. – С. 110 – 113.

157. Радчевский, П. П. Влияние физиологически активных веществ на выход и качество виноградных саженцев / П.П. Радчевский, К.О. Печкуров, А.Е. Дух // Совершенствование сортимента, производство посадочного материала винограда : сб. тр. КубГАУ. – Краснодар, 2002. – Вып. 394 (422). – С. 120 – 125.

158. Радчевский, П.П. Инновационные технологии производства посадочного материала винограда: учебно-метод. пособие. – Краснодар: КубГАУ, 2015. – 92 с.

159. Радчевский, П.П. Новации виноградарства России. 24. Применение биологически активного вещества «Радикс» при выращивании посадочного материала винограда [Электронный ресурс] / П.П. Радчевский, В.С. Черкунов, Л.П. Трошин // Научный журнал КубГАУ. – 2010. – № 60 (06). – С. 1 – 21. – Режим доступа к журн. : <http://ej.kubagro.ru/2010/06/pdf/26.pdf>.

160. Радчевский, П.П. Особенности протекания регенерационных процессов у черенков винограда сорта Молдова в зависимости от их толщины [Электронный ресурс] / П. П. Радчевский // Научный журнал КубГАУ. – 2014. – № 97 (03). – С. 1 – 20. – Режим доступа к журналу:<http://ej.kubagro.ru/2013/07/pdf/106.pdf>.

161. Рисованная, В.И. Изучение генетических ресурсов винограда Украины в рамках международных проектов / В.И. Рисованная, С.М. Гориславец, Э.Ш. Меметова, В.А. Володин // Виноградарство и виноделие. Сборник научных трудов. - 2014. – С. 10-13.

162. Рисованная, В.И. Тестирование латентной стадии фитоплазменной инфекции винограда / В.И. Рисованная, С.М. Гориславец, В.А. Володин // Магарач. Виноградарство и виноделие. - 2013.- № 4.- С. 6-8.

163. Светов, В.Г. Грибная инфекция при производстве виноградных прививок / В.Г. Светов, Э.А. Асриев, В.А. Драновский // Виноделие и виноградарство СССР. – 1981. – № 7. – С. 40-42.

164. Светов, В.Г. Микофлора виноградной лозы и ее роль при выращивании посадочного материала // Микология и фитопатология. – 1980. – Том 14. – Вып. 2. – С. 132-137.
165. Серпуховитина, К.А. Питомниководство и продуктивное виноградарство // Питомниководство винограда. – 2004. – С. 3-7.
166. Серпуховитина, К.А. Принципы формирования и применения ресурсосберегающих технологий в современном виноградарстве // Виноделие и виноградарство. – 2008. – № 1. – С. 30-32.
167. Странишевська, О.П. Гнилі винограду - шкодочинність, особливості захисту // Агроном. – 2006. – № 3. – С. 124-127.
168. Странишевская, Е.П. Вирусные заболевания винограда на юге Украины / Е.П. Странишевская, Н.А. Якушина // Виноградарство и виноделие. – Ялта, 2003. – С. 56-62.
169. Странишевская, Е. П. Влияние основных болезней винограда на урожай и его качество / Е.П. Странишевская [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. – Т. 45. – С. 50-55.
170. Странишевская Е.П. Использование биофунгицидов Гуапсин и Триходермин при производстве привитого посадочного материала на этапе стратификации привитых черенков винограда / Странишевская Е.П., Володин В.А. // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2016. – №07(121). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/07/pdf/104.pdf>
171. Странишевская, Е.П. Эффективность биозащиты винограда от болезней препаратами Трихофит и Гуапсин / Е.П. Странишевская, Я.А. Волков // Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ. – 2013. – Т.2. – С. 154-160.
172. Странишевская, Е.П. Эффективность фунгицида Полар 50 против оидиума на винограде / Е.П. Странишевская [и др.] // Защита и карантин растений. – 2015. – № 11. – С. 37.

173. Странишевская, Е.П. Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем / Е.П. Странишевская, Я.А. Волков // Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ РАСХН 2013. – Том: 2. – с. 154-160
174. Странишевская, Е.П. Видовой состав фитопатогенных организмов на черенках привоя и подвоя в период хранения / Е. П. Странишевская, В. А. Володин // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. – № 1. – С. 10-11.
175. Странишевская, Е.П. Экологизация защитных мероприятий в виноградной школке / Е.П. Странишевская, Н.И. Шадура, В.А. Володин // Новации в горном и предгорном садоводстве: материалы международной научно-практической конференции, посвященной памяти известного ученого в области защиты растений к.с.х.н., Заслуженного агронома РСФСР и КБР Алексеевой Светлане Алексеевне (25-26 ноября 2015 г.). – Нальчик, 2015. – С. 201-205
176. Странишевська, О.П. Удосконалена система захисту винограду від мілдью / О.П. Странишевська, Н.І. Шадура // Аграрна наука виробництву: науково-інформаційний бюлетень завершених наукових розробок. – 2009. – № 3 (49). – С. 5.
177. Субботович, А.С. Новый метод выращивания привитых саженцев винограда / А.С. Субботович, Н.Д. Перстнев, Е.А. // Морошан. – Кишинев: «Картя Молдовеняскэ», 1977. – 156 с.
178. Талаш, А.И. Карантин и система контроля при производстве виноградных саженцев // Питомниководство винограда. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2004. – С. 43-50.
179. Талаш, А.И. Методы управления патосистемами виноградных агроценозов / А.И. Талаш, К.О. Дробот, Е.А. Евдокимова // Новации и эффективность производственных процессов в виноградарстве и виноделии. – Краснодар, 2005. – Т. 1. – С. 277-283.
180. Талаш, А. И. Прогноз развития болезней виноградной лозы в зависимости от условий вегетационного периода / А.И. Талаш, К.О. Дробот, Е.А. Евдокимова // Сборник материалов по основным итогам научных исследований за 2007 год. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2008. – С. 302-306.

181. Талаш, А.И. Пути снижения пестицидной нагрузки на виноградниках Краснодарского края / А.И. Талаш, А.Б. Евдокимов, Е.Г. Юрченко // Новации и эффективность производственных процессов в виноградарстве и виноделии. – Том 1. Виноградарство. – Краснодар. – 2005. – С. 272-277.
182. Талаш, А.И. Роль фитосанитарного состояния виноградников в реализации потенциала продуктивности // Критерии и принципы формирования высокопродуктивного виноградарства: материалы Международной научно-практической конференции АЗОСВиВ. – Анапа, 2007. – С. 238-242.
183. Терещенко, А.П. Производство привитого посадочного материала винограда. – Симферополь: «Таврия», 1992. – 102 с.
184. Технологія виробництва безвірусного садивного матеріалу плодкових, ягідних культур і винограду//Союзплодрозсадник. – 1989. – 168 с.
185. Титова, Л.А. Воздействие микроэлементов на привитые саженцы винограда в школке // Русский виноград. – 2016. – № 3. – С. 94-97.
186. Турецкая, Р.Х. Вегетативное размножение растений с применением стимуляторов роста / Р.Х. Турецкая, Ф.Я. Поликарпова. – М. : Наука, 1968. – 94 с.
187. Турецкая, Р. Х. Физиология корнеобразования у черенков и стимуляторы роста. – Москва: Изд-во Академии наук СССР, 1961. – 280 с.
188. Унгуряну, С.И. Выход виноградных саженцев в зависимость от исходной влажности подвойных черенков // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1980. – №9. – С. 34-37.
189. Унтилова, А.И., Стратификация и закалка виноградных прививок на воде: (методические указания) / А.И. Унтилова, Г.И. Кирсей. - М.: Колос, 1982. – 13 с.
190. Усовершенствованная система фитосанитарии в питомниководстве: методические указания / О. З. Метлицкий [и др.]. – М., 2001. – 154 с.
191. Феделеш-Гладинец, М.И. Защита винограда от болезней с использованием микробиологических препаратов / М. И. Феделеш-Гладинец, И.И. Кошевский, Е.Р. Канарский // Биоресурсы и природопользование. – 2014. – № 1-2. – С. 58-62.

192. Федоренко, В.П. Достижения и перспективы развития биологического метода защиты растений в Украине / В.П. Федоренко, А.Н. Ткаленко, В.П. Конверская // Защита и карантин растений. – 2010. – № 4. – С. 12-15.
193. Федоренко, В.П. Потепління і фтосанітарний стан агроценозів / В.П. Федоренко [та ін.] // Карантин і захист рослин. – 2008. – № 5. – С. 2-5.
194. Хисамутдинов, А.А. Получение привитых черенков и выращивание из них саженцев при восстановлении кустов винограда / А.А. Хисамутдинов // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – 2010. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/10/04/08.pdf>
195. Чайлахян, М.Х. Регуляторы роста у виноградной лозы и плодовых культур / М.Х. Чайлахян, М.М. Саркисова. – Ереван: Издательство АН АССР, 1980. – 187 с.
196. Шадура, Н.И. Распространение и развитие милдью на виноградниках Южной Степи Украины / Н.И. Шадура, Е.П. Странишевская // Современные достижения в виноградарстве и виноделии: материалы Международной конференции, посвящённой памяти член-корр. АНМ Петра Унгурияна (1894-1975). – Кишинев, 2008. – С. 112-113.
197. Шадура, Н.И. Вредоносность милдью и сортовая устойчивость на сортах винограда с различной степенью восприимчивости в условиях южнобережного агроклиматического района Республики Крым (Юг России) / Н.И.Шадура, Е.П. Странишевская, В.А. Володин // Проблемы развития АПК региона №1 (25). – Ч.1. – 2016. – С. 95-99.
198. Шерер, В.О. Вирощування виноградних саджанців / В.О. Шерер, Н.М. Зеленьянська: ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова». – Одеса, 2010. – 96 с.
199. Шматковская, Е. Болезни многолетней древесины в агроценозах виноградников Северного Причерноморья и особенности их развития // Știința agricolă. – 2014. – № 2. – С. 46-50.
200. Штеренберг, П.М. Загнивание проростков виноградных прививок, вызываемое питиевыми грибами, и меры его предупреждения / П. М. Штеренберг, Е.Г. Подгорный, Е.П. Нагорная, Е.А. Березовская // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1977. – № 6. – С. 36-38.

201. Штерншис, М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012. – № 2 (18). – С. 92-100
202. Экологические основы интегрированной защиты растений: учебник для вузов по агрономическим специальностям / под ред. М.С. Соколова, В.А. Чулкиной. – М.: Колос, 2007. – 568 с. – (Гр. МСХ РФ).
203. Юрченко, Е.Г. Антифунгальная активность химических препаратов в отношении возбудителя альтернариоза винограда *Alternaria tenuissima* (Kunze ex Nees et T. Nees: Fries) / Е.Г. Юрченко, Н.П. Грачева // Материалы международной научно-практической конференции «Агрометод в защите растений», КГАУ.– Краснодар, 2011.– С. 135-138.
204. Юрченко, Е.Г. Возможность биотехнологической оптимизации производства саженцев винограда / Е.Г. Юрченко, Н.П. Грачева, З.С. Политова, В.А. Ярошенко // Биологическая защита растений: успехи проблемы, перспективы. – 2013. – 121-124.
205. Юрченко, Е.Г. Изучение влияния грибов арбускулярной микоризы на показатели биологической продуктивности и стандартность саженцев винограда в школке / Е.Г. Юрченко [и др.] // Достижения, проблемы и перспективы развития отечественной виноградо-винодельческой отрасли на современном этапе. – 2013. – С. 180-185.
206. Юрченко, Е.Г. Изучение влияния обработки биопрепаратами на основе ассоциативных почвенных микроорганизмов на показатели роста виноградных саженцев / Е.Г. Юрченко, З.С. Политова // Инновационные технологии и тенденции в развитии и формировании современного виноградарства и виноделия – ГНУ Анапская ЗОСВиВ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии, 2012. – С. 56-61.
207. Юрченко, Е.Г. Биологизация систем защиты винограда от оидиума на основе использования грибного и бактериального фунгицидов / Е.Г. Юрченко // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – 2014. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/11/06/14.pdf>

208. Якушина, Н.А. Эффективность защитных мероприятий против чёрной пятнистости при различных сроках проведения химических опрыскиваний / Н.А. Якушина, Ю.А. Цибульняк // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2008. – № 1. – С. 17-19.
209. Якушина, Н.А. Эффективность защиты виноградной школки в зависимости от полевой выносливости сортов винограда к милдью / Н.А. Якушина, А.С. Ощипок // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. – № 3. – С. 68-70.
210. Якушина, Н.А. Защита винограда от милдью, оидиума, серой гнили в годы эпифитотийного развития / Н.А. Якушина, Е.П. Странишевская, Я.Э. Гыренкова, А.С. Скориков // Труды научного центра виноградарства и виноделия. – 2000. – Т. II, кн. 1. – С. 69-76.
211. Antcliff, A.J. A comparison of 182 Sultana clones selected for yield / A. J. Antcliff, R. C. Woodham, K.M. Cellier // Australian Journal Agricultural Research – 1979. – 30. – P. 1111 – 1122.
212. Bazzi, C. Hot-water treatment of dormant grape cuttings: its effects on *Agrobacterium tumefaciens* and on grafting and growth of vine / C. Bazzi [et al.] // Vitis. – 1991. – 30. – P. 177-187.
213. Bertazzon, N. Genetic variability and pathological properties of grapevine leafroll-associated virus 2 isolates / N. Bertazzon, M. Borgo, S. Vanin, E. Angelini // European Journal Plant Pathology. – 2010. – Vol. 127. – P. 185–197.
214. Bokulich, N.A. Next-generation sequencing reveals significant bacterial diversity of botrytized wine[Text] / N. A. Bokulich, C. M. Joseph, G. Allen, A. K Benson., D. A. Mills // PLoS One. 2012. – 7(5). – P.336-357.
215. Boscia, V. Gravi casi di accartocciamento fogliare su cultivar ad uva da tavola di recente intriduzione in Puglia / M. Digiario, D. Boscia, V. Simeone [et al.] // Informatore Fitopatologico. – 1997. – 47. – 18 p.
216. Botrytis: Biology, Pathology and Control / Y. Elad [et al.] // Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. – 403 p.

217. Chomczynski, P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction [Text] / P. Chomczynski, N Sacchi // *Anal Biochem*. – 1987. – Vol.162(1). – P.156-159.
218. Christoffel, F.M. Characterisation and detection of *Pythium* and *Phytophthora* species associated with grapevines in South / F.M. Christoffel, A. Mazzola, McLeod // *Africa European Journal of Plant Pathology*. – 2011. – Vol. 131(1). – P. – 103-119.
219. Clark, MF. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses // *Journal of General Virology*. – 1977. – Vol. 34. – 475-483.
220. Clarke, K. Survival of *Phomopsis viticola* in grapevine cuttings after hot water treatment / K. Clarke [et al.] // *Australasian Plant Pathology*. – 2004. – Vol. 33. – P. 317-319.
221. Crous, P.W. The effect of hot-water treatment on fungi occurring in apparently healthy grapevine cuttings / P. W. Crous, L. Swart, S. Coertze // *Phytopathologia Mediterranea*. – 2001. – Vol. 40. – P. 464-466.
222. Damm, U. Development of a cost-effective protocol for molecular detection of fungal in soil / U. Damm, P. H. Fourie // *South African Journal of Science*. – 2005. – Vol. 101. – P. 135-139.
223. Di Marco, S. Applications of *Trichoderma* to prevent *Phaeomoniella chlamydospora* infections in organic nurseries / S. Di Marco, F. Osti // *Phytopathologia Mediterranea*. – 2007. – Vol. 46(1). – P. 73-83.
224. Di Marco, S. Experiments on the control of esca by *Trichoderma* / S. Di Marco, F. Osti., A. Cesari // *Phytopathol. Mediterr.* – 2004. – Vol. 43. – P. 108-115.
225. Eichmeier A. First report on molecular detection of fungal trunk pathogens in grapevine wood focusing on moravian certified rootstock mother plants / A. Eichmeier [et al.] // *Mitteilungen Klosterneuburg*. – 2016. – № 66. – P. 153-163.
- 226.** Faggioli, F. Harmonization and validation of diagnostic protocols for the detection of grapevine viruses covered by phytosanitary / F. Faggioli [et al.] // *Advances in Horticultural Science*. – 2013. – №27 (3). – P. 107-108.

227. Fourie, P.H. Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens / P.H. Fourie, F. Halleen // *European Journal of Plant Pathology*. – 2006. – Vol. 116. – P. 255–265.
228. Gadoury, D. M. Climate-based modeling of ontogenic resistance to major fungal diseases of grapevine / D.M. Gadoury, A. Ficke, W.F. Wilcox, R.C. Seem // *Phytopathology*. – 2005. – Vol. 95(6). – P. 33.
229. Genbank [Интернет ресурс] / Режим доступа <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
230. Gessler, C. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management / C. Gessler, I. Pertot, M. Perazzolli // *Phytopathologia Mediterranea*. – 2011. – Vol. 50. – P. 3-44.
231. Ghanem-Sabanadzovic, N. A putative new ampelovirus associated with grapevine leafroll disease / *Archives of Virology*. – 2010. – Vol. 155.– P.1871-1876.
232. Giménez-Jaime, A. Occurrence of fungal pathogens associated with grapevine nurseries and the decline of young vines in Spain / A. Giménez-Jaime [et al.] // *Journal of Phytopathology*. – 2006. – № 15. – P. 598-602.
233. Goheen, A.C. Grape pathogens and prospects for controlling grape diseases // *Grape Wine Centenn. Symp., Davis, 1982.: proceedings*. – Davis, 1982. – P. 24 – 27.
234. Goheen, A.C. Leafroll and its effects on vine growth, fruit quality and yields // *American Journal Enology Viticultural*. – 1959. – 10. – P. 173 – 181.
235. Gramaje, D. Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation process / D. Gramaje [et al.] // *Crop Protection*. – 2009. – Vol. 28. – P. 1091-1097.
236. Gramaje, D. Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies / D. Gramaje, J. Armengol // *Plant Disease*. – 2011. – Vol. 95 (9). – P. 1040-1055.
237. Gramaje, D. Identifying practices likely to have impacts on grapevine trunk disease infections: a European nursery survey / D. Gramaje, S. Di Marco // *Phytopathologia mediterranea*. – 2015. – Vol. 54 (2).– P. 313-324

238. Gramaje, D. Effect of hot-water treatments in vitro on conidial germination and mycelial growth of grapevine trunk pathogens / D. Gramaje [et al.] // *Annals of Applied Biology*. – 2010. – Vol. 156. – P. 231-241.
239. Gregori, M.T. Effect of the mycelium, diffused substances and extracts of the fungus *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link on the in vitro and in vivo growth of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon / M. T. Gregori, R. Tizio // *Vitis*. – 1997. – Vol. 36. – P. 61-65.
240. Gugerli, P. 25 years of serological identification of grapevine leafroll-associated viruses: antiserum and monoclonal antibodies to GLRaV-1 to GLRaV-9 [Text] // *Extended Abstract 16th Meeting of ICVG, Dijon, France*. – 2009. – P.24-28.
241. Gugerli, P. Grapevine leafroll and related viruses / P. Gugerli // 14<sup>th</sup> Meet. ICVG, Locorotondo (Bari), 12-17.09 : extended abstracts. – Bari, 2003. – P. 25-31.
242. Gurunathan, S., DNA vaccines: immunology, application, and optimization. [Text] / S. Gurunathan, D. M. Klinman, R. A. Seder, // *Annual Review Immunology*. – 2000. – Vol. 18. – P.927-974.
243. Hallen, F. Fungi associated with healthy grapevine cuttings in nurseries, with special reference to pathogens involved in the decline of young vines / F. Hallen, P. W. Crous, O. Petrini // *Australian Plant Pathology*. – 2003. – Vol. 32. – P. 47-52.
244. Hammami, I. Biocontrol of *Botrytis cinerea* with essential oil and methanol extract of *Viola odorata* L. flowers / I. Hammami, N. Kamoun, A. Rebay // *Archives of Applied Science Research*. – 2011. – № 3. – P. 44-51.
245. Harman, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. // *Phytopathology*. – 2006. – Vol. 96. – P. 190-194.
246. Jelkmann, W. Molecular characterization and taxonomy of Grapevine leafroll-associated virus [Text] / W. Jelkmann et. al // *Archives of Virology*. – 2012. – Vol.157. – P. 359- 362.
247. Jooste, A. Identification and distribution of multiple virus infections in Grapevine leafroll diseased vineyards / A. Jooste, N. Molenaar, H. J Maree, R. Bester, L. Morey, W. C De Koker, J. T Burger/ *European Journal of Plant Pathology* . – 2015. - № 142(2). – 127-144 pp.

248. Kado, C.I. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* / C.I. Kado, M. G. Heskete // *Phytopathology*.- 1970.- № 60.- p. 969-976.
249. König, H. Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine / H. König, G. Uden, J. Fröhlich. – Heidelberg: WMX Design GmbH, 2009. – 522 p.
250. Kotze, C. Evaluation of biocontrol agents for grapevine pruning wound protection against trunk pathogen infection // *Phytopathologia Mediterranea*. – 2011. – Vol. 50. – P. 247-263.
251. Krake, L.R. Characterization of grapevine leafroll disease by symptomatology / L.R. Krake // *Australian & New Zeland Wine Industry Journal*. – 1993. – 81. – P. 40 – 44.
252. Kriel, G.J. Symptomatology and anatomy of stem-grooving (*legno riccio*) in the grape vine / G.J. Kriel, R. Orffer, E.F. Beukmann // *South African Journal Enology Viticultural*. – 1980. – № 1 (2). – P. 85-101.
253. Lazar, J. Detection of some nepoviruses (GFV, GFV-YM, GCMV, ArMV) in the seeds and seedlings of grapevine by ELISA / J. Lazar, M. Kölber, J. Lehoczky // *Kertgasdasag*. – 1990. – Vol. 22(4). – P. 58 – 72.
254. Lehoczky J. Spread of *Agrobacterium tumefaciens* in the vessels of the grapevine after natural infection // *Phytopathol. Z.* – 1968. – Vol. 63. – P. 239 – 246. MacKenzie, D. J. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription -polymerase chain reaction / D. J. MacKenzie [et al.] // *Plant diseases*. – 1997. – № 2. – P. 222-226.
255. Maixner, M. Virus and viruslike diseases of grapevine / / COST FA 1003: Training School. - 2013. – 35 p.
256. Maliogka, V.I. Control of Viruses Infecting Grapevine / V. I. Maliogka [et al.] // *Advances in Virus Research*. – 2015. – Vol. 91. – P. 175-227.
257. Martelli, G.P. Nature and physiological effects of grape vine diseases / G.P. Martelli, A. Graniti, G.L. Ercolani // *Experientia*. – 1986. – Vol. 42. – P. 933-942.

258. Mutawila, C. Optimisation of time of application of *Trichoderma* bio-control agents for grapevine pruning wound protection / C. Mutawila, F. Halleen, L. Mostert // IOBC-WPRS Bulletin. – 2013. – Vol. 86. – P. 175-176.
259. Panagopoulos, C.G. Characteristics of Greek Isolates of *Agrobacterium tumefaciens* (E. F. Smith & Townsend) Conn. / C. G. Panagopoulos, P. G. Pallidas // Journal Application Bacteriology.– 1973. – Vol.36. – P. 233-240.
260. Porotikova E.V. Occurrence of Grapevine Viruses on the South of Russia / E. Porotikova [et al.] // Proceedings of the 18th Congress of ICVG, Ankara, Turkey, 7-11 September 2015: Abstracts. – 2015.- OP 38.
261. Recommendation made by EPPO Council in 2010: Certification scheme pathogen-tested material of grapevine varieties and rootstocks. PM 4/1-26 English. Bull. OEPP/EPPO. – 2010.
262. Rego, C. Control of grapevine wood fungi in commercial nurseries / C. Rego [et al.] // Phytopathologia Mediterranea. – 2009. – Vol. 48. – P. 128-135.
263. Rott, M.E. Characterization and detection of several filamentous viruses of cherry, adaptation of an alternative cloning method (DOP-PCR and modification of an RNA extraction protocol [Text] / M.E. Rott, W. Jelkmann // European Journal Plant Pathology. – 2001. – Vol. 107. – P. 411-420.
264. Rowhani, A. Simplified sample preparation method and one-tube RT-PCR for grapevine viruses / A. Rowhani [et al.] // 13 th ICVG Conference (Adelaide, 12-17 March, 2000): Abstracts. – Adelaide, 2000. – P. 148.
265. Rühl, E.H. Effect of minimal pruning and virus inoculation on the carbohydrate and nitrogen accumulation in Cabernet franc vines / E. H. Rühl, P. R. Clingeffer // Am.J.Enol. Vitic. – 1993. – 44. – P. 81 - 85.
266. Sambrook, J. Molecular Cloning: A laboratory manual (2nd ed.) / J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis// Cold Spring Harbor, New York. – 1989. – 694 p.
267. Sawant, S. D. Control of powdery mildew in vineyards by Milastin K, a commercial formulation of *Bacillus subtilis* (KTBS) / S. D. Sawant [et al.] // Journal of Biological Control. – 2011. – Vol. 25. – P. 26-32.

268. Strasser, H. Potential health problems due to exposure in handling and using biological control agents / H. Strasser, M. Kirchmair // *An Ecological And Societal Approach to Biological Control*: Kluwer Academic Pub. – 2006. – P. 275-293.
269. Tanne, E. Transmission of closterovirus-like particles by mealybugs (Pseudococcidae) in Israel / E. Tanne, Y. Ben Dov, B. Raccah. // 9th Meet. ICVG, Kiryat Anavim, Israel, 1987.: proceedings. – Kiryat Anavim, 1989. – P. 71 – 73.
270. The Prokariotes. Third Edition. A handbook on the biology of Bacteria: Proteobacteria: Alpha and Beta subclasses / ed. by M. Dworkin et al.- Springer, 2005. – Volume 5. – 964 p.
271. Thor, V. Detection and partial molecular characterization of Grapevine fleck virus, Grapevinevirus D, Grapevine leafroll-associated virus -5 and -6 infecting grapevines in Brazil Cienc [Text] / V. Thor, F. Martins, M. Eiras; O. Nickel et. Al // Rural no.12 Santa Maria Dec. Epub Oct 23. – 2012. – Vol.42. – p. 26-33.
272. Tsai, C.-W. Transmission of grapevine leafroll viruses: An analysis of virus-vector specificity [Text] / C.-W. Tsai, A. Rowhani, D. A., Golino, K. M. Daane, R. P. P. Almeida // *Phytopathology*. – 2010. – Vol. 100. – P. 830-834.
273. Voller, A. Enzyme immunoassays. In *Alternative Immunoassays* / A. Voller, D. E. Bidwell, Ed. W P Collins// Chichester, UK: John Wiley and Sons.- 1985.- pp. 77-86.
274. Waite, H. Quality matters: Good planting material is an important part of the vine health system / H. Waite // National Wine and Grape Industry Centre, Australia [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.csu.edu.au/research/nwgic/Docs/svhfd/h-waite-qualitymatters>.
275. Waite, H. Soaking grapevine cuttings in water: a potential source of cross contamination by microorganisms / H. Waite [et al.] // *Phytopathologia Mediterranea*. – 2013. – Vol. 52 (2). – P. 359-368.
276. Waite, H. Trunk diseases and vine failure: The costs of poor quality propagating and planting material // *Aust. New Zeal. Grape Wine*. – 2010. – Vol. 555. – P. 21-22.
277. Woo, S. L. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants / S. L. Woo, F. Scala, M. Ruocco, M. Lorito // *Phytopathology*. – 2006. – Vol. 96.- P. 181-185.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2016620355

Распространение вирусных фитопатогенов винограда *Vitis vinifera* L на территории Крыма

Правообладатель: **Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (RU)**

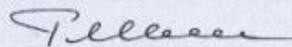
Авторы: **Рисованная Валентина Ивановна (RU), Волков Яков Александрович (RU), Володин Виталий Александрович (RU), Поротикова Елена Владимировна (RU), Гориславец Светлана Михайловна (RU), Странишевская Елена Павловна (RU), Камюнская Анастасия Михайловна (RU), Виноградова Светлана Владимировна (RU)**

Заявка № **2015621539**

Дата поступления **10 декабря 2015 г.**

Дата государственной регистрации  
в Реестре баз данных **17 марта 2016 г.**

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

 **Г.П. Ивлиев**



Директор КФХ «АРИЯ-Н»

\_\_\_\_\_ Радченко Н. А.  
« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 г.

### АКТ

Мы, нижеподписавшиеся, представители КФХ «Ария-Н» - директор Н.А. Радченко, с одной стороны и представители ГБУ РК «ННИИВиВ «МАГАРАЧ» - нач. отдела биологически чистой продукции и молекулярно-генетических исследований Е.П. Странишевская, аспирант В.А. Володин с другой стороны, составили настоящий акт в том, что в период прививочной компании 2015 года на питомниководческом комплексе КФХ «Ария-Н» (с. Некрасово, Красногвардейский район, Республика Крым) были проведены опытно-производственные испытания биофунгицидов «Гуапсин», «Триходермин» и регулятора роста «Атоник Плюс».

Испытания проводились на производственных участках питомниководческого комплекса КФХ «Ария-Н» на 5 000 шт. привитых черенков Алиготе - Кобер 5ББ.

Биологическая эффективность биофунгицида Гуапсин, 0,2% при стратификации составляет 84,5 и 31,9% против комплекса плесневых грибов и *Phomopsis viticola*, соответственно;

- опрыскивание привитых черенков винограда биопрепаратами Гуапсин 0,2% и Триходермин 0,5% в виноградной школке снижает развитие милдью на 76,1-74,4% (при среднем уровне развития заболевания на контроле).

Признаков угнетения и фитотоксического действия при применении данных биофунгицидов и регулятора роста не выявлено.

Акт о результатах внедрения составлен для приложения к диссертационной работе Володина В.А.

Агроном-питомниковод  
КФХ «Ария-Н»

Начальник отдела биологически чистой продукции  
и молекулярно-генетических исследований

ГБУ РК «ННИИВиВ «Магарач»

аспирант

Е.П. Странишевская

В.А. Володин

Приложение В-1

Биологическая эффективность обеззараживания черенков привоя перед закладкой на хранение, 2012-2013 гг.

Вариант опыта	Патогены	После проведения обеззараживания		День с момента закладки на хранение					
				30		60		90	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	31,5	-	44,8	-	54,2	-	60,2	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	8,3	-	9,3	-	12,1	-	15,3	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	3,7	88,3	7,7	82,8	11,5	78,8	14,1	76,6
	<i>Phomopsis viticola</i>	0,8	90,4	1,5	83,9	3,9	67,8	5,3	65,4
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	4,8	84,8	8,8	80,4	13,5	75,1	18,9	68,6
	<i>Phomopsis viticola</i>	3,5	57,8	7,3	21,5	9,2	24,0	10,7	30,1
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	6,8	78,4	10,7	76,1	14,5	73,2	18,6	69,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,6	32,5	8,2	11,8	7,9	34,7	11,5	24,8
HCP <sub>05</sub>		-	-	1,21	-	1,59	-	2,51	-
		2,60	-	1,21	-	1,05	-	2,16	-

Приложение В-2

Биологическая эффективность обеззараживания черенков привоя перед закладкой на хранение, 2013-2014гг

Вариант опыта	Патогены	После проведения обеззараживания		День с момента закладки на хранение					
				30		60		90	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	37,2	-	39,2	-	47,1	-	57,1	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,1	-	8,7	-	11,4	-	13,4	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	4,2	88,7	7,2	81,6	10,8	77,1	13,7	76,0
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,3	81,7	3,3	62,1	3,5	69,3	6,1	54,5
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	5,2	86,0	9,7	75,3	12,4	73,7	18,1	68,3
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,3	39,4	6,2	28,7	8,2	28,1	10,8	19,4
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	7,2	80,6	9,2	76,5	13,4	71,5	19,4	66,0
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,2	40,8	7,1	18,4	10,8	5,3	10,9	18,7
HCP <sub>05</sub>		1,56	-	1,95	-	2,59	-	1,96	-
		1,60	-	2,21	-	1,35	-	2,16	-

Приложение В-3

Биологическая эффективность обеззараживания черенков привоя перед закладкой на хранение, 2014-2015 гг.

Вариант опыта	Патогены	После проведения обеззараживания		День с момента закладки на хранение					
		R, %	Б.Э., %	30		60		90	
				R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	28,9	-	41,2	-	49,9	-	52,5	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,9	-	10,3	-	11,5	-	14,6	-
II. Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	2,8	<b>90,3</b>	8,5	<b>79,4</b>	11,6	<b>76,8</b>	14,5	<b>72,4</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,5	<b>81,0</b>	2,5	<b>75,7</b>	4,7	<b>59,1</b>	6,8	<b>53,4</b>
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	6,8	<b>76,5</b>	10,5	<b>74,5</b>	13,7	<b>72,5</b>	19,8	<b>62,3</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,6	<b>5,1</b>	5,4	<b>47,6</b>	7,2	<b>37,4</b>	9,8	<b>32,9</b>
IV. Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	7,5	<b>74,0</b>	9,4	<b>77,2</b>	12,5	<b>74,9</b>	20,5	<b>61,0</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	6,1	<b>22,8</b>	7,9	<b>23,3</b>	9,8	<b>14,8</b>	13,0	<b>11,0</b>
НСП <sub>05</sub>			-	1,23	-	1,73	-	2,61	-
		2,96	-	2,56	-	1,55	-	2,23	-

Приложение Г-1

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации открытым способом, 2013 г, I блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	19,6	-	32,6	-	32,6	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	10,8	-	19,6	-	19,6	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	0,8	<b>95,9</b>	3,2	<b>90,2</b>	3,2	<b>90,2</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,2	<b>88,9</b>	2,6	<b>86,7</b>	2,6	<b>86,7</b>
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	1,9	<b>90,3</b>	4,3	<b>86,8</b>	4,3	<b>86,8</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,0	<b>35,2</b>	11,6	<b>40,8</b>	11,6	<b>40,8</b>
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,8	<b>85,7</b>	5,9	<b>81,9</b>	5,9	<b>81,9</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,5	<b>49,1</b>	12,7	<b>35,2</b>	12,7	<b>35,2</b>
НСР <sub>05</sub>		1,28	-	1,78	-	1,61	-
		1,96	-	1,75	-	2,23	-

Приложение Г-2

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации открытым способом, 2013 г., II блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	16,2	-	26,3	-	26,3	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,1	-	10,1	-	10,1	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	1,1	93,2	2,9	89,0	2,9	89,0
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,3	81,7	3,2	68,3	3,2	68,3
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,2	86,4	5,4	79,5	5,4	79,5
	<i>Phomopsis viticola</i>	3,5	50,7	7,3	27,7	7,3	27,7
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,7	83,3	6,5	75,3	6,5	75,3
	<i>Phomopsis viticola</i>	3,9	45,1	6,9	31,7	6,9	31,7
НСР <sub>05</sub>		2,28	-	1,53	-	2,61	-
		1,96	-	1,16	-	2,53	-

## Приложение Г-3

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации открытым способом,  
2014 г., III блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	17,3	-	26,6	-	27,9	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	8,9	-	13,2	-	18,6	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15% )	Комплекс плесневых грибов	1,5	<b>91,3</b>	1,5	<b>94,4</b>	3,3	<b>88,2</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	2,3	<b>74,2</b>	3,5	<b>73,5</b>	3,5	<b>81,2</b>
III.Гуапсин , 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,5	<b>85,5</b>	3,8	<b>85,7</b>	3,5	<b>87,5</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,5	<b>38,2</b>	9,1	<b>31,1</b>	12,5	<b>32,8</b>
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,2	<b>87,3</b>	3,5	<b>86,8</b>	6,6	<b>76,3</b>
	<i>Phomopsis viticola</i>	6,8	<b>23,6</b>	9,6	<b>27,3</b>	13,2	<b>29,0</b>
НСР <sub>05</sub>		2,28	-	1,53	-	2,61	-
		1,96	-	1,16	-	2,53	-

## Приложение Г-4

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации открытым способом,  
2014 г., IV блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	14,5	-	17,3	-	24,3	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,5	-	7,5	-	7,8	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15% )	Комплекс плесневых грибов	1,0	93,1	1,7	90,2	3,4	86,0
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,0	86,7	2,8	62,7	2,8	64,1
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,4	83,4	3,5	79,8	7,8	67,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	3,9	48,0	4,2	44,0	5,2	33,3
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,4	83,4	2,0	88,4	7,7	68,3
	<i>Phomopsis viticola</i>	3,4	54,7	4,3	42,7	7,5	3,8
НСР <sub>05</sub>		2,68	-	1,53	-	2,16	-
		1,96	-	1,75	-	2,56	-

## Приложение Г-5

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации открытым способом, 2015 г., V блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	18,4	-	22,1	-	28,3	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	9,8	-	14,8	-	17,8	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15% )	Комплекс плесневых грибов	1,0	94,6	2,2	90,0	4,5	84,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,9	80,6	1,8	87,8	3,2	82,0
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,0	89,1	2,5	88,7	5,4	80,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,9	50,0	8,6	41,9	13,7	23,0
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,7	85,3	2,3	89,6	7,2	74,6
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,9	50,0	10,2	31,1	14,3	19,7
НСР <sub>05</sub>		1,28	-	1,78	-	1,61	-
		1,96	-	1,75	-	2,23	-

## Приложение Г-6

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации открытым способом, 2015 г., VI блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I.Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	15,4	-	18,4	-	22,8	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,9	-	7,1	-	8,6	-
II.Эталон (Дерозал, 0,15% )	Комплекс плесневых грибов	1,4	90,9	3,1	83,2	4,3	81,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,2	79,7	1,8	74,6	3,5	59,3
III.Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	1,9	87,7	2,7	85,3	6,8	70,2
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,1	30,5	5,3	25,4	6,8	20,9
IV.Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,4	84,4	3,3	82,1	8,9	61,0
	<i>Phomopsis viticola</i>	3,1	47,5	5,4	23,9	6,1	29,1
НСР <sub>05</sub>		1,56	-	1,53	-	2,76	-
		1,96	-	1,68	-	2,14	-

## Приложение Д-1

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации закрытым способом, 2013 г., I блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	19,6	-	32,6	-	32,6	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	10,8	-	19,6	-	19,6	-
II. Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	0,8	95,9	3,2	90,2	3,2	90,2
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,2	88,9	2,6	86,7	2,6	86,7
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	1,9	90,3	4,3	86,8	4,3	86,8
	<i>Phomopsis viticola</i>	7,0	35,2	11,6	40,8	11,6	40,8
IV. Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,8	85,7	5,9	81,9	5,9	81,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,5	49,1	12,7	35,2	12,7	35,2
НСР <sub>05</sub>		2,68	-	1,73	-	2,81	-
		1,96	-	2,25	-	2,67	-

## Приложение Д-2

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации закрытым способом, 2014 г., II блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	17,3	-	26,6	-	27,9	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	8,9	-	13,2	-	18,6	-
II. Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	1,5	91,3	1,5	94,4	3,3	88,2
	<i>Phomopsis viticola</i>	2,3	74,2	3,5	73,5	3,5	81,2
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,5	85,5	3,8	85,7	3,5	87,5
	<i>Phomopsis viticola</i>	5,5	38,2	9,1	31,1	12,5	32,8
IV. Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,2	87,3	3,5	86,8	6,6	76,3
	<i>Phomopsis viticola</i>	6,8	23,6	9,6	27,3	13,2	29,0
НСР <sub>05</sub>		2,76	-	1,53	-	2,86	-
		1,96	-	1,36	-	2,43	-

## Приложение Д-3

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации закрытым способом, 2014 г., III блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	18,4	-	22,1	-	28,3	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	9,8	-	14,8	-	17,8	-
II. Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	1,0	94,6	2,2	90,0	4,5	84,1
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,9	80,6	1,8	87,8	3,2	82,0
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,0	89,1	2,5	88,7	5,4	80,9
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,9	50,0	8,6	41,9	13,7	23,0
IV. Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,7	85,3	2,3	89,6	7,2	74,6
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,9	50,0	10,2	31,1	14,3	19,7
НСР <sub>05</sub>		2,36	-	1,56	-	2,01	-
		1,16	-	1,75	-	3,51	-

## Приложение Д-4

Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации закрытым способом, 2014 г., III блок

Вариант опыта		Биологическая эффективность защитных мероприятий при стратификации, %					
		7		14		21	
		R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %	R, %	Б.Э., %
I. Контроль (без обработок)	Комплекс плесневых грибов	17,6	-	20,3	-	26,7	-
	<i>Phomopsis viticola</i>	8,2	-	13,8	-	16,3	-
II. Эталон (Дерозал, 0,15%)	Комплекс плесневых грибов	1,1	93,8	2,3	88,7	4,4	83,5
	<i>Phomopsis viticola</i>	1,7	79,3	1,3	90,6	3,1	81,0
III. Гуапсин, 0,2%	Комплекс плесневых грибов	2,2	87,5	2,2	89,2	5,2	80,5
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,6	43,9	8,5	38,4	13,5	17,2
IV. Триходермин, 0,5%	Комплекс плесневых грибов	2,5	85,8	2,1	89,7	6,9	74,2
	<i>Phomopsis viticola</i>	4,6	43,9	9,8	29,0	13,8	15,3
НСР <sub>05</sub>		2,46	-	1,20	-	1,86	-
		1,52	-	1,35	-	2,86	-

## Приложение Е-1

Биологическая эффективность защитных мероприятий в виноградной школке,  
2013 г.

Вариант опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора, %)	Динамика развития болезней, от дня высадки прививок (R, %), эффективность защитных мероприятий, %					
	30		60		90	
	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I. Контроль (прививки без обработок)	2,9	-	10,7	-	17,2	-
II. Эталон (Фольпан, 0,15%)	0,2	93,1	1,3	87,9	3,6	79,1
III. Гуапсин, 0,2%	0,6	79,3	2,1	80,4	3,8	77,9
IV. Триходермин, 0,5%	0,6	79,3	2,3	78,5	4,2	75,6
V. Атоник Плюс, 0,02%	0,8	72,4	3,1	71,0	5,3	69,2
VI. Гумисол. 0,01%	0,8	72,4	3,1	71,0	5,3	69,2
VII. Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%	0,6	79,3	1,6	85,0	3,5	79,7
НСР <sub>05</sub>	0,41	-	0,88	-	1,32	-

## Приложение Е-2

Биологическая эффективность защитных мероприятий в виноградной школке,  
2014 г.

Вариант опыта (наименование фунгицида, концентрация рабочего раствора, %)	Динамика развития болезней, от дня высадки прививок (R, %), эффективность защитных мероприятий, %					
	30		60		90	
	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%	R, %	Б.Э.,%
I. Контроль (прививки без обработок)	4,4	-	12,3	-	18,2	-
II. Эталон (Фольпан, 0,15%)	0,2	95,5	1,8	85,0	3,2	82,2
III. Гуапсин, 0,2%	0,9	79,5	2,4	80,0	4,5	75,0
IV. Триходермин, 0,5%	0,7	84,1	2,6	78,3	5,1	71,7
V. Атоник Плюс, 0,02%	1,1	75,0	3,9	67,5	6,5	63,9
VI. Гумисол. 0,01%	1,1	75,0	4,6	61,7	6,1	66,1
VII. Гуапсин, 0,2% + Атоник Плюс, 0,02%	0,7	84,1	2,2	81,7	4,2	76,7
НСР <sub>05</sub>	0,41	-	1,45	-	1,53	-