

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Российский научно-исследовательский институт информации  
и технико-экономических исследований по инженерно-  
техническому обеспечению агропромышленного комплекса»  
(ФГБНУ «Росинформагротех»)

**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ  
ОЗДОРОВЛЕННОГО ОТ ВИРУСОВ  
ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА  
ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР**

**Методические указания**

Москва 2013

УДК 634.1.03  
ББК 42.3  
Т 38

Под научной редакцией академика Россельхозакадемии  
**И.М. Куликова**

Методические указания подготовили:

**М. Т. Упадышев**, д-р с.-х. наук; **К. В. Метлицкая**, канд. биол. наук;  
**В.И. Донецких**, канд. физ.-мат. наук; **А.А. Борисова**, д-р с.-х. наук  
(ГНУ Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства  
и питомниководства Россельхозакадемии);  
**В.Г. Селиванов**, канд. техн. наук; **О.А. Пискунов**, канд. с.-х. наук;  
**С.Н. Юдина** (ФГБНУ «Росинформагротех»)

**Рецензенты:**

д-р биол. наук **А.С. Зейналов**, д-р биол. наук **Н.Д. Романенко**

Т 38 **Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур: метод. указания.** – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2013. – 92 с.

**ISBN 978-5-7367-0996-0**

Рассмотрены и рекомендованы к публикации учеными советами ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии (протокол № 4 от 16.04.2013 г.) и ФГБНУ «Росинформагротех» (протокол № 3 от 03.07.2013 г.).

---

Т 38 **A Technology for producing virus-free planting material of fruit and berry crops: guidelines.** – Moscow: FGBNU «Rosinformagrotekh 0187, 2013. – 92 pp.

The guidelines are discussed and recommended for publication by the academic councils of GNU VSTISP of the Russian Agricultural Academy (minutes No 4 of 16.04.2013) and FGBNU «Rosinformagrotekh» (minutes No 3 of 03.07.2013).

УДК 634.1.03  
ББК 42.3

ISBN 978-5-7367-0996-0

© ФГБНУ «Росинформагротех», 2013

---

---

## ВВЕДЕНИЕ

---

---

Вирусные и фитоплазменные болезни в силу хронического характера и высокой вредоносности становятся постоянным фактором, сдерживающим повышение урожайности плодовых, ягодных культур и винограда. Основными направлениями борьбы с этими болезнями являются перевод питомниководства на безвирусную основу и введение системы сертификации посадочного материала по образцу большинства европейских стран.

В России в 70-80-е годы прошлого столетия были достигнуты существенные успехи в получении и размножении оздоровленного посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда, но в 90-е и в начале 2000-х годов, это направление и отрасль питомниководства в целом находились в определенной стагнации, что привело к спаду производства здорового посадочного материала. Последнее в немалой степени было обусловлено недостаточной разработанностью необходимой законодательной базы, регламентирующей производство, сертификацию и реализацию посадочного материала на территории Российской Федерации, а также слабой поддержкой отрасли со стороны государства.

Первоочередным этапом для улучшения ситуации является принятие нормативных документов по получению посадочного материала высших категорий качества. В последние годы усилиями ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии и других профильных учреждений совместно с Минсельхозом России разработан ряд нормативных документов по питомниководству, в том числе национальные стандарты ГОСТ Р 53044-2008 «Материал плодовых и ягодных культур посадочный. Термины и определения», ГОСТ Р 53135-2008 «Посадочный материал плодовых, ягодных, субтропических, орехоплодных, цитрусовых культур и чая. Технические условия», ГОСТ Р 54051-2010 «Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия»; методические указания «Производство и сертификация посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда в России. Контроль качества. Ч. 1. Ягодные культуры» (2009); «Стратегия развития садоводства и питомниководства в Российской Федерации на период до 2020 года».

Последние достижения фитовирусологии по разработке инновационных методов экспресс-диагностики вирусов и способов оздоровления от них растений позволили подготовить качественно новые рекомендации по получению оздоровленного посадочного материала плодовых и ягодных культур.

Разработка новых нормативных документов обусловлена также необходимостью унификации отечественных технологий и терминологии с общеевропейскими. В 1990 г. Европейской организацией защиты растений (ЕРРО) была принята новая схема производства и сертификации оздоровленных и тестированных на вирусы плодовых деревьев и подвоев, а в 1994 г. – аналогичные схемы для земляники, малины и смородины. В 2004 г. ЕРРО определен протокол, регламентирующий методы диагностики вируса шарки сливы. Эти схемы, являющиеся обязательными для всех стран, входящих в ЕРРО, предусматривают введение новых терминов вместо прежних, включают в себя расширенные списки регламентируемых вирусов, вирусоподобных агентов и их переносчиков, описывают рекомендуемые методы тестирования растений на наличие этих патогенов и т.д. Вышеназванные схемы легли в основу данных методических указаний, но с учетом особенностей питомниководства в Российской Федерации и достижений отечественных ученых.

---

---

## 1. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

---

---

**Оздоровленный посадочный материал садовых культур** – это растения или их органы, свободные от основных (наиболее распространенных и вредоносных) вирусов (а также фитоплазм, виридов и других вирусоподобных болезней), которые в естественных условиях присутствуют на данной культуре в Российской Федерации, и протестированный на наличие вирусов и возбудителей названных болезней рекомендуемыми методами. Оздоровленный посадочный материал должен быть также свободен от ряда других опасных трудноискоренимых вредителей и болезней, регламентируемых данной сертификационной схемой.

Материал, полученный от оздоровленного посадочного материала путем вегетативного размножения в условиях, исключающих вторичное заражение, также может считаться оздоровленным.

Импортируемый материал должен быть проверен рекомендованными методами на наличие основных вирусов, которые в естественных условиях присутствуют на данной культуре не только на территории Российской Федерации, но и за ее пределами.

Для последовательных этапов получения, размножения и сертификации оздоровленного посадочного материала согласно ГОСТ Р 53044-2008 «Материал плодовых и ягодных культур посадочный. Термины и определения» введена следующая терминология.

**Исходное растение плодовой [ягодной] культуры:** выделенное по помологическим, физиологическим качествам и продуктивности растение плодовой [ягодной] культуры, протестированное на наличие вирусных, грибных, бактериальных заболеваний и вредителей и в случае их наличия оздоровленное в соответствии с международными нормами.

**Базисное растение плодовой [ягодной] культуры:** растение плодовой [ягодной] культуры, полученное от исходного растения способами вегетативного размножения, исключающими нарушение генетической стабильности, возникновение мутаций и химер, ежегодно проверяемое и тестируемое на наличие наиболее вредоносных для данной культуры вирусов, болезней и вредителей.

**Сертифицированное растение плодовой [ягодной] культуры:** растение плодовой [ягодной] культуры, полученное от базисного растения способами вегетативного размножения и соответствующее нормативным требованиям сортовой, вирусной и фитосанитарной чистоты.

**Репродукция сертифицированных растений плодовой [ягодной] культуры:** потомство сертифицированных растений, полученное посредством последовательного размножения с понижением категории и предназначенное для закладки маточного насаждения или выращивания посадочного материала соответствующей категории качества\*.

---

\*Максимальное число репродукций для сертифицированных растений плодовых и ягодных культур – три.

---

---

## 2. СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР

---

---

Производство сертифицированного посадочного материала плодовых и ягодных культур осуществляется по следующей схеме:

1. Отбор по помологическим признакам отдельных растений каждого сорта. Эти растения должны быть индивидуально оценены на типичность сортовых признаков, урожайность, энергию роста и отсутствие симптомов заражения вредными организмами. Такие растения считаются кандидатами в исходные растения.

2. Тестирование выделенных растений-кандидатов в исходные растения на наличие вирусов, вирусоподобных агентов и других вредных организмов. При отсутствии здоровых растений – освобождение их от патогенов методами термотерапии, культуры *in vitro*, хемотерапии и их комбинирования с обязательным повторным тестированием.

3. Содержание исходных растений (включая растения, полученные отбором и тестированием) в условиях, исключающих их перезаражение пылью, воздушными или почвообитающими векторами вирусов, и с регулярным соответствующим ретестированием.

4. Получение базисных растений путем вегетативного размножения исходных растений и содержание маточников в условиях защиты от заражения с соответствующим ретестированием.

5. Передача потомства базисных растений из научных центров по оздоровлению и первичному размножению растений и его размножение в базовых питомниках с целью получения сертифицированных растений.

6. Передача сертифицированного посадочного материала первой репродукции в питомники, производящие сертифицированный посадочный материал, и тиражирование данного посадочного материала до третьей репродукции.

Сертификация посадочного материала проводится в установленном порядке органами по сертификации ФГУ «Российский сельскохозяйственный центр».

---

---

### 3. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА СЕМЕЧКОВЫХ КУЛЬТУР

---

---

#### 3.1. Вредные организмы, требующие проверки на семечковых культурах для производства оздоровленного посадочного материала

##### **Яблоня**

##### **Вирусы:**

- вирус хлоротической пятнистости листьев яблони (*Apple chlorotic leafspot trichovirus*);
- вирус мозаики яблони (*Apple mosaic ilarvirus*);
- вирус борозчатости древесины яблони (*Apple stem grooving capillovirus*);
- вирус ямчатости древесины яблони (*Apple stem pitting foveavirus*).

**Фитоплазма** пролиферации яблони (*Apple proliferation phytoplasma*).

##### **Вирусоподобные болезни:**

- мелкоплодность яблони (*Chat fruit*);
- зеленая морщинистость плодов, бугорчатость плодов, Бен-Девис, подковообразное повреждение плодов, опробковение кожицы плодов, звездчатое растрескивание плодов (*Green crinkle, Bumpy fruit of Ben Davis, Horseshoe wound, Rough skin, Star crack*);
- кольцевая пятнистость плодов яблони (*Apple ringspot disease*);
- размягчение древесины, плоскость ветвей (*Rubbery wood, Flat Limb*);
- кольцевая борозчатость плодов (*Russet wart*);
- эпинастии и отмирания Спай (*Spy epinasty and decline*), шелушение коры Платикарпы (*Platycarpa scaly bark*).

##### **Вириды:**

- рубцеватость кожицы плодов яблони (*Apple scar skin viroid*);
- морщинистость плодов яблони (*Apple fruit crinkle viroid*).

## **Груша**

### **Вирусы:**

- вирус хлоротической пятнистости листьев яблони;
- вирус мозаики яблони;
- вирус борозчатости древесины яблони;
- вирус ямчатости древесины яблони.

**Фитоплазма** истощения груши (*Pear decline phytoplasma*).

### **Вирусоподобные болезни:**

- растрескивание коры, некроз коры, раннее опробковение коры (*Bark split, Bark necrosis, Rough bark*);
- размягчение древесины (гуттаперчевость) (*Rubbery wood*).

### **Вириод:**

- пузырчатый рак коры груши (*Pear Blister canker viroid*).

У растений яблони и груши не должно быть болезней и вредителей, передающихся с посадочным материалом:

- корневого рака (*Agrobacterium tumefaciens* Conn.);
- млечного блеска (*Ghondrostereum purpureum* Fr.);
- бактериального ожога плодовых (*Erwinia amylovora* Winsl.) – карантинный объект;
- обыкновенного рака коры (*Nectria galligena* Bres.);
- калифорнийской щитовки (*Quadraspidiotus perniciosus* Comst.) – карантинный объект.

## **3.2. Отбор кандидатов в исходные растения**

Отбор проводится специалистами-вирусологами вместе со специалистами-помологами. Последние оценивают растения на типичность сортовых признаков, урожайность и энергию роста. Желательно также оценить, дают ли выделенные растения выравненное вегетативное потомство. Одновременно растения осматривают с целью выявления симптомов вирусных болезней и зараженности другими вредными организмами. Осмотр проводят двукратно за вегетационный сезон: весной – при полном развитии трех-четырех листьев и летом – в начале созревания плодов.

При первом обследовании выявляют болезни, вызываемые вирусами мозаики яблони и хлоротической пятнистости листьев яблони на листьях больных деревьев.



При втором – проявляются симптомы пролиферации яблони, пожелтения жилок и красной пятнистости листьев груши, комплекса болезней плодов яблони и коры груши.

Данные результатов обследований и сведения о выделенных деревьях заносят в журнал и отмечают на плане для последующего отбора и тестирования.

На выделенных деревьях отбирают черенки или почки и прививают их на здоровые подвои. Семенные подвои всех видов яблони, груши и айвы считаются безвирусными. Допускается также получение корнесобственных растений.

Кандидаты в исходные растения переносят в карантин, обеспечивающий их защиту от заражения через корни, пыльцу, воздушными и почвообитающими переносчиками. Карантином могут служить пространственно изолированный от других плодовых участков, непроницаемый для тлей вегетационный домик, изолированный бокс зимней обогреваемой теплицы. Почва обязательно должна быть проверена на наличие нематод-переносчиков вирусов согласно методике, изложенной в прил.1. После этого кандидаты в исходные растения подвергают тестированию с целью выделения экземпляров, свободных от основных вирусов.

### **3.3. Получение исходных растений**

Мировой опыт свидетельствует, что выделение исходных растений целесообразно проводить в два этапа:

первый – предварительное тестирование методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР);

второй – основное тестирование с использованием комплекса методов.

#### ***Предварительное тестирование методами ИФА и ПЦР***

Метод ИФА позволяет в сжатые сроки выявить на яблоне и груше наиболее широко распространённые вирусы: хлоротической пятнистости листьев яблони, мозаики яблони, бороздчатости и ямчатости древесины яблони. Методика применяемого для диагностики фитопатогенных вирусов сэндвич-варианта ИФА изложена в прил. 2.

Метод ИФА позволяет начать тестирование выделенных растений непосредственно в условиях насаждений. Затем повторно тестируют растения, содержащиеся в карантине-изоляторе. В качестве тест-образцов для анализа используют листья и цветки растений яблони и груши. В условиях открытого грунта средней полосы европейской части РФ для эффективного выявления вирусов наиболее целесообразно тестировать лепестки цветков в мае (начало – середина цветения) и листья у основания побега в мае- начале июня. В условиях закрытого грунта наиболее высокая концентрация вирусов наблюдается обычно в фазе начала интенсивного роста растений или через 20-25 дней после распускания листьев.

Для подтверждения результатов ИФА, а также выявления вирусов, на которые отсутствуют антитела, применяют полимеразную цепную реакцию (ПЦР), методика которой изложена в прил. 3.

Клоны, оказавшиеся свободными от вирусов по результатам проверки методами ИФА и ПЦР, подвергают основному тестированию.

#### *Основное тестирование растений яблони и груши на наличие вирусов*

Основное тестирование должно осуществляться несколькими методами и охватывать все вирусные и вирусоподобные болезни, регламентируемые данной схемой для оздоровленного или протестированного посадочного материала. Методы, рекомендуемые для выявления и идентификации вирусов и вирусоподобных агентов на яблоне и груше, представлены в табл. 1, 2. Тест на древесных индикаторах считается обязательным. Выбор индикаторов определяется погодными-климатическими условиями зоны, но их набор должен обеспечивать выявление всех вирусов и вирусоподобных агентов.

При наличии диагностических наборов для ИФА ко всем сокопереносимым вирусам появляется возможность отказаться от тепличного теста на травянистых индикаторах. Методика проведения теста на травянистых индикаторах представлена в прил. 4.

Таблица 1

**Рекомендуемые методы выявления  
и идентификации вирусов  
и вирусоподобных агентов на яблоне**

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус хлоротической пятнистости листьев яблони	+	+	<i>Chenopodium quinoa</i> , 5-кр.*, 20 дн.**	<i>Malus platycarpa</i> , <i>M. sylvestris</i> R12740 7A, 5-кр., 1 г.	<i>M. platycarpa</i> , <i>M. sylvestris</i> R 12740 7A, 3-кр., 2 г.
Вирус мозаики яблони	+	+	<i>Cucumis sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 1 г.	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 2 г.
Вирус борозчатости древесины яблони	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 1 г.	<i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 3 г.
Вирус ямчатости древесины яблони	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>M. sylvestris</i> Spy-227, <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 5-кр., 1 г.	<i>M. sylvestris</i> Spy-227, <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 2 г.
Фитоплазма пролиферации яблони	-	+	-	<i>M. domestica</i> Golden Delicious, <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 5-кр., 1 г.	<i>M. domestica</i> Golden Delicious, <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 5-кр., 2 г.
Размягчение древесины яблони, плоскость ветвей яблони	-	+	-	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 1 г.	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 3 г.

Продолжение табл. 1

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Эпинастии и отмирание Спай, шелушение коры Платикарпы	–	–	–	<i>M. sylvestris</i> Spy-227, <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 5-кр., 1 г.	<i>M. sylvestris</i> Spy-227, <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 2 г. <i>M. domestica</i>
Кольцевая пятнистость плодов яблони, бугорчатость плодов яблони Бен-Девис, зелёная морщинистость яблони, подковообразное повреждение плодов, опробковение кожицы плодов, кольцевая бородавчатость плодов, звёздчатое растрескивание плодов	–	–	–	<i>Golden Delicious</i> , 3-кр., 1 г.	<i>Golden Delicious</i> , 3-кр., 3 г.
Мелкоплодность яблони	–	–	–	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 1 г.	<i>M. domestica</i> Lord / Lambourne, 5-кр., 3 г.

\*5-кр. – 5-кратная повторность.

\*\* 20 дн., 1 г. – продолжительность теста (дн. – дней, г. – годы).

Таблица 2

**Рекомендуемые методы выявления и идентификации вирусов  
и вирусоподобных агентов на груше**

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус хлоротической пятнистости листьев яблони	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>Pyrus communis</i> Nouveau Poiteau, 3-кр., 1 г.	<i>Cydonia oblonga</i> C 7/1, <i>P. communis</i> Beurre Hardy, 3-кр., 2 г.
Вирус борозчатости древесины яблони	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 1 г.	<i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 2 г.
Вирус ямчатости древесины яблони	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>M. sylvestris</i> Virginia crab, Pyronia veitchii, <i>P. communis</i> Nouveau Poiteau, Beurre Bosc, 3-кр., 1 г.	<i>M. sylvestris</i> Virginia crab, Pyronia veitchii, <i>P. communis</i> A20, <i>P. communis</i> Jules d'Airolles, Beurre Bosc, Durondeau, 3-кр., 2 г.
Вирус мозаики яблони	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 1 г.	<i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., <i>M. sylvestris</i> Virginia crab, 3-кр., 2 г.

Продолжение табл. 2

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Фитоплазма истощения груши	–	+	–	<i>P. communis</i> Doyenne du Comicem, 3-кр., 1 г.	<i>P. communis</i> Doyenne du Comicem, 3-кр., 2 г.
Размягчение древесины (гуттаперчевость)	–	+	–	<i>C. oblonga</i> C 7/1, <i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 1 г.	<i>C. oblonga</i> C 7/1, <i>M. domestica</i> Lord Lambourne, 5-кр., 3 г.
Растрескивание коры груши, раннее опробковение коры, некроз коры груши	–	–	–	<i>P. communis</i> Beurre Hardy, <i>P. communis</i> Williams, 3-кр., 1 г.	<i>P. communis</i> Beurre Hardy, <i>P. communis</i> Williams, 3-кр., 2 г.
Вироид пузырчатого рака груши	–	+	–	<i>P. communis</i> A 20, 3-кр., 1 г.	<i>P. communis</i> A 20, 3-кр., 2 г.

При создании необходимых условий (обогреваемые теплицы, климакамеры и др.) возможно частичное сокращение полевого теста за счет проведения тепличного теста на древесных индикаторах. Оба теста проводятся по аналогичной методике: на однолетние растения-индикаторы прививают по четыре-шесть глазков или щитков коры исследуемого образца, повторность 3- или 5-кратная (см. табл. 1-2), дополнительно оставляют два-три неинокулированных растения-индикатора для контроля. При недостаточном числе растений-индикаторов в полевом тесте можно использовать метод двойной окулировки семенных подвоев: в июле-августе окулируют глазок индикатора (на 5-7 см выше корневой шейки), через неделю

ниже глазка индикатора прививают один-два глазка исследуемого растения, один индикатор остается без заражения в качестве контроля.

Растения, оказавшиеся по результатам тестирования свободными от вирусов и других регламентируемых патогенов, являются исходными клонами. В случае выявления инфекции растения отбраковывают или подвергают оздоровлению.

***Оздоровление растений яблони и груши  
от вирусов и вирусоподобных агентов***

Основным методом освобождения растений яблони и груши от фитопатогенных вирусов является суховоздушная термотерапия. На вегетирующих растениях в горшечной культуре она проводится в специальных термокамерах различной конструкции, позволяющих создать заданный режим температуры, влажности и освещенности.

Режим и продолжительность обработки:

температура в камере  $38 \pm 1^\circ\text{C}$ ;

влажность не менее 70%;

освещенность не менее 3000 лк/м<sup>2</sup>;

продолжительность освещения 16 ч в сутки;

длительность обработки 4-8 недель.

Перед термообработкой растения выращивают один год в горшках, затем после зимнего покоя (февраль-апрель) их устанавливают в термокамеру.

Продолжительность термотерапии зависит от присутствующих в растениях патогенов. Для оздоровления от относительно термолабильных патогенов (вируса мозаики яблони, возбудителей пролиферации и гуттаперчевости) достаточна экспозиция термотерапии в четыре-пять недель. При наличии термотолерантных вирусов (хлоротической пятнистости листьев яблони, бороздчатости и ямчатости древесины яблони) термообработку необходимо увеличить до семи-восьми недель. При этом термотерапия обычно позволяет освободить от вирусов только верхушки побегов размером 1-2 см, которые прививают врасщеп на безвирусные семенные подвои в теплице по следующей методике: верхушку подвоя срезают и делают продольный разрез, в который помещают привой с клиновид-

ным срезом с обработанного растения величиной не более 1-2 см. Место прививки обматывают пленкой или хлопчатобумажной ниткой, сверху надевают полиэтиленовый пакет для создания влажности. Затем прививки содержат в помещении при температуре воздуха не более 24°C. Через две недели колпачок снимают, обвязку удаляют после образования сосудистой связи между подвоем и привоем.

Горшки с прижившимися верхушками помещают в теплицу и проверяют отрастающий побег на наличие вирусов по описанной ранее схеме.

Еще более высокая эффективность оздоровления от вирусов достигается сочетанием суховоздушной термотерапии и культуры *in vitro*. Состав питательных сред необходимо корректировать или обрабатывать применительно к породе и помологическому сорту. В перспективе широкое применение могут найти методы термотерапии *in vitro*, микропрививки, хемотерапии и магнитотерапии *in vitro*, позволяющие отказаться от трудо- и энергоемкого метода термотерапии *in vivo* (Упадышев и др., 2009).

Следует отметить, что получаемые в результате термотерапии или культуры *in vitro* растения следует рассматривать как кандидаты в исходные растения и в обязательном порядке подвергать комплексному тестированию и проверке на соответствие генотипу.

#### **3.4. Содержание исходных растений**

Исходные растения необходимо содержать в условиях, обеспечивающих их защиту от повторного заражения путем соприкосновения корней, через пыльцу, воздушными и почвообитающими переносчиками. Для этих целей наиболее подходят специально оборудованные непроницаемые для тлей вегетационные домики или изолированные боксы в зимних теплицах. При наличии необходимых условий резервный банк исходных растений рекомендуется содержать параллельно в культуре *in vitro* с максимальным числом пассажей культивирования, равным 12 (ГОСТ Р 54051-2010).

Хранят только ограниченное число (два-три) растений каждого вида, сорта или типа подвоя. При необходимости исходное растение размножают, чтобы обеспечить достаточное количество экземпляров для хранения.



Вначале хранят все выделенные исходные растения данного сорта, но после помологической оценки и отбора наиболее ценных клонов количество их может быть уменьшено.

Исходные растения ежегодно визуально проверяют на наличие симптомов вирусных заболеваний, других патогенов, возможных мутаций. Один раз в два года их ретестируют методами ИФА или ПЦР на наличие вирусов. Если появляются новые антисыворотки, индикаторы или лучшие технологии тестирования, то все растения проверяют с их помощью. Цветение у исходных растений не допускается.

### **3.5. Получение и содержание базисных растений**

Базисные растения получают путем вегетативного размножения исходных растений: прививкой на безвирусные семенные или оздоровленные клоновые подвои и укоренением черенков. При размножении *in vitro* необходима проверка на генетическую стабильность и отсутствие химер. С этой целью растения высаживают на изолированные участки для проверки их продуктивности и помологических качеств.

Маточники базисных растений закладывают в научно-исследовательских учреждениях (НИУ), их опытных хозяйствах и в базовых питомниках, находящихся под методическим руководством научных центров. Маточники размещают на участках, свободных от нематод-переносчиков вирусов (см. прил. 1) и пространственно изолированных от прочих насаждений семечковых и косточковых культур (на расстоянии не менее 2 км от плодоносящих промышленных насаждений) (Метод. указания, 2001). Допускается также содержание маточников в пленочных или сетчатых теплицах-изоляторах.

Количество растений каждого сорта в маточнике определяется потребностью в черенках.

Цветение растений в маточнике не допускается и предотвращается ежегодной сильной обрезкой. Сортовую апробацию проводят на второй-третий год после посадки и затем ежегодно, удаляя растения с отклонениями от сорта и случайные сортовые примеси. Оценка фитосанитарного состояния маточных растений проводят ежегодно путем тщательного осмотра, удаляя экземпляры с симп-

томами заражения вирусными и вирусоподобными болезнями. Один раз в два года базисные растения ретестируют методами ИФА или ПЦР на наличие вирусов. Растения в маточниках должны также быть свободны от заражения другими вредителями и болезнями, что достигается регулярными осмотрами и обработкой пестицидами в соответствии со схемой защитных мероприятий (Метод. указания «Усовершенствованная система фитосанитарии в питомниководстве», 2001).

Срок эксплуатации базисного маточника яблони и груши 10-12 лет. Этот срок может быть как продлен при условии хорошего фитосанитарного состояния маточника, так и сокращен из-за плохого фитосанитарного состояния, значительных выпадов растений или резкого снижения выхода черенков.

### **3.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций**

Потомство базисных растений тиражируется в питомниках, производящих сертифицированный посадочный материал.

В этих питомниках оздоровленные привои необходимо прививать только на семенные или оздоровленные клоновые подвои. Оздоровленный посадочный материал следует размещать на обособленных участках с предварительной проверкой почвы на наличие нематод-переносчиков вирусов (см. прил. 1).

На протяжении всего цикла размножения оздоровленного посадочного материала в соответствии с действующим законодательством осуществляется регулярный контроль за происхождением и количеством оздоровленных растений на основе полевых проверок и записей в документах, предоставляемых специалистами питомника. Два-три раза за вегетационный период и перед выкопкой саженцев проводится оценка их фитосанитарного состояния и качественных показателей на соответствие требованиям действующей нормативно-технической документации.

При положительных результатах экспертизы производителю выдается сертификат качества на выращенную партию посадочного материала с точным указанием количества саженцев (черенков, отводков) по каждому сорту.

---

---

## 4. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР

---

---

### 4.1. Вредные организмы, требующие проверки на косточковых культурах для производства оздоровленного посадочного материала

#### **Вишня и черешня**

##### **Вирусы:**

- вирус шарки сливы (*Plum pox potyvirus*) – карантинный объект;
- вирус мозаики яблони (*Apple mosaic ilarvirus*);
- вирус карликовости сливы (*Prunus dwarf ilarvirus*);
- вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых (*Prunus necrotic ringspot ilarvirus*);
- вирус зеленой кольцевой крапчатости черешни (*Cherry green ring mottle virus*);
- вирус хлоротической пятнистости листьев яблони (*Apple chlorotic leafspot trichovirus*);
- вирус скручивания листьев черешни (*Cherry leaf roll nepovirus*);
- вирус мозаики резухи (*Arabis mosaic nepovirus*);
- вирус кольцевой пятнистости малины (*Raspberry ringspot nepovirus*);
- вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (*Strawberry latent ringspot virus*);
- вирус черной кольцевой пятнистости томата (*Tomato black ring nepovirus*).

##### **Вирусоподобные болезни:**

- мелкоплодность черешни (*Little cherry*);
- некротическая ржавая крапчатость (*Necrotic rusty mottle*);
- ржавая крапчатость (*Rusty mottle*);
- остановка роста Широфуген (*Shirofugen stunt*).

#### **Слива, алыча, абрикос и персик**

##### **Вирусы:**

- вирус хлоротической пятнистости листьев яблони;
- вирус мозаики яблони;

- вирус шарки сливы;
- вирус карликовости сливы;
- вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых;
- вирус латентной кольцевой пятнистости Миробалана (*Myrobalan latent ringspot virus*).

**Фитоплазма** хлоротического скручивания листьев абрикоса (*Apricot chlorotic leafroll phytoplasma*).

**Вирусоподобная болезнь** (только на абрикосе и персике):

- астероидная пятнистость персика (*Peach asteroid spot agent*).

**Виرويد** латентной мозаики персика (*Peach latent mosaic viroid*) – карантинный объект.

Растения также должны быть свободны от болезней и вредителей, распространяющихся с посадочным материалом:

- корневого рака (*Agrobacterium tumefaciens* Conn.);
- бактериального ожога плодовых (*Erwinia amylovora* Winsl.);
- млечного блеска (*Chondrostereum purpureum* Fr.);
- бактериального рака коры (*Pseudomonas syringae* van Hall pv/ *morsprunorum*, *Xantomonas campestris* Dow. pv *pruni*);
- калифорнийской щитовки (*Quadraspidiotus perniciosus* Comst.) – карантинный объект.

#### 4.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения

Отбор проводится специалистами-помологами, вирусологами, энтомологами и фитопатологами с целью выделения высокоурожайных с типичными сортовыми признаками деревьев, свободных от симптомов заражения вирусами, другими болезнями и вредителями.

Обследования на наличие вирусов проводят дважды за вегетационный сезон: при полном развитии первых трех-четырех листьев и в начале созревания плодов. При первом обследовании выявляют симптомы заражения всех культур иларвирусами, рашпилевидностью листьев и скручиванием листьев – на черешне, шаркой и ленточным узором – на сливе, алыче и абрикосе. При втором обследовании выявляют плоды с симптомами поражения вирусами шарки сливы и хлоротической пятнистости листьев яблони (псевдошарки) и листья с болезнями типа желтух, вызываемых комплексом вирусов.

Данные результатов обследований и сведения о выделенных деревьях заносят в журнал и отмечают на плане для последующего отбора и тестирования.

На выделенных деревьях отбирают черенки или почки и прививают их на здоровые подвои. Если семенные подвои выращены из обычных несертифицированных семян, то они должны быть протестированы методом ИФА на наличие неповирусов, иларвирусов некротической кольцевой пятнистости косточковых и карликовости сливы.

Кандидатов в исходные растения переносят в карантин, обеспечивая их защиту от заражения через корни, пыльцу, воздушными и почвообитающими переносчиками. Карантином могут служить пространственно изолированный от других плодовых культур участок (расстояние не менее 1 км), непроницаемый для тлей вегетационный домик, изолированный бокс зимней обогреваемой теплицы. Почва в обязательном порядке проверяется на наличие нематод-переносчиков вирусов (см. прил. 1).

После этого кандидаты в исходные растения подвергаются тестированию для выделения экземпляров, свободных от вредоносных вирусов.

### **4.3. Получение исходных растений**

#### *Предварительное тестирование методами ИФА и ПЦР*

Метод ИФА позволяет в сжатые сроки выявлять подавляющее большинство вирусов, заражающих косточковые культуры: иларвирусы мозаики яблони, карликовости сливы, некротической кольцевой пятнистости косточковых, потивирус шарки сливы, триховирус хлоротической пятнистости листьев яблони, неповирусы скручивания листьев черешни, кольцевой пятнистости малины, мозаики резухи, черной кольцевой пятнистости томата, латентной кольцевой пятнистости Миробалана, вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (см. прил. 2).

Первоначально тестируют растения в условиях существующих насаждений. Затем повторно тестируют растения, перенесенные в карантин-изолятор.

В качестве тест-образцов для анализа используют почки, молодые листья и цветки растений косточковых культур. Высокая эф-

фективность выявления вирусов достигается при тестировании почек с искусственно пробужденных черенков в зимний период, молодых листьев и цветков в период цветения весной и листьев – в мае-начале июня. Использование для тестирования коры, покоящихся почек, плодов и листьев в летние месяцы не всегда обеспечивает получение достоверных результатов. В условиях обогреваемых теплиц тестирование методом ИФА наиболее целесообразно проводить в феврале-мае.

Клоны, оказавшиеся свободными от вирусов по результатам проверки методами ИФА и ПЦР, подвергаются затем основному тестированию.

**Основное тестирование растений косточковых культур на наличие вирусов**

Методы, рекомендуемые для выявления и идентификации вирусов и вирусоподобных агентов на косточковых культурах, представлены в табл. 3, 4.

Основное тестирование должно осуществляться несколькими методами и охватывать все вирусные и вирусоподобные заболевания, регламентируемые данной схемой для оздоровленного посадочного материала.

Таблица 3

**Рекомендуемые методы выявления и идентификации вирусов и вирусоподобных агентов на вишне и черешне**

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус хлоротической пятнистости листьев яблони	+	+	<i>Chenopodium quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>Prunus persica</i> Elberta, <i>P. persica</i> GF-305, <i>P. tomentosa</i> IR 473/1, R 474/1, 5-кр., 1 г.	<i>Malus platycarpa</i> , 3-кр., 2 г.
Вирус мозаики яблони	+	+	<i>Cucumis sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta, <i>P. persica</i> GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, <i>P. persica</i> GF-305, 5-кр., 1 г.

Продолжение табл. 3

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус карликовости сливы	+	+	<i>C. sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. serrulata</i> Shirofugen, <i>P. tomentosa</i> IR 473/1, IR 474/1, 5-кр., 1 г.	<i>P. avium</i> Bing 3-кр., 3 г., <i>P. serrulata</i> Shirofugen, 3-кр., 1 г.
Вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых	+	+	<i>C. sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. serrulata</i> Shi- rofugen, <i>P. tomentosa</i> IR 473/1, IR 474/1, 5-кр., 1 г.	<i>P. serrulata</i> Shirofugen, 3-кр., 1 г.
Вирус шарки сливы	+	+	<i>C. quinoa</i> , <i>C. foetidum</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta GF-305, <i>P. tomentosa</i> IR 473/1, IR 474/1, 5-кр., 1 г.	–
Вирус зелёной кольцевой крапчатости черешни	–	+	–	<i>P. serrulata</i> KWANZAN, 3-кр., 1 г.	<i>P. serrulata</i> KWANZAN, 3-кр., 2 г.
Вирус скручивания листьев черешни	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. avium</i> Bing, 3-кр., 3 г.
Вирус кольцевой пятнистости малины	+	+	–	<i>P. persica</i> Elberta GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. avium</i> Bing, 3-кр., 3 г.
Вирус латентной кольцевой пятнистости земляники	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. avium</i> Bing, 3-кр., 3 г.

Продолжение табл. 3

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус чёрной кольцевой пятнистости томата	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн	<i>P. persica</i> Elberta GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. avium</i> Bing, 3-кр., 3 г.
Вирус мозаики резухи	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. avium</i> Bing, 3-кр., 3 г.
Мелкоплодность черешни	–	–	–	–	<i>P. avium</i> Sam, <i>P. avium</i> Canindex, 3-кр., 3 г.
Некротическая ржавая крапчатость	–	–	–	–	<i>P. avium</i> Sam, 3-кр., 3 г.
Ржавая крапчатость черешни	–	–	–	–	<i>P. avium</i> Bing, Sam, 3-кр., 3 г.
Остановка роста Широфугена	–	–	–	–	<i>P. serrulata</i> Shirofugen, 3-кр., 2 г.

Таблица 4

**Рекомендуемые методы выявления и идентификации вирусов и вирусоподобных агентов на сливе, алыче, персике и абрикосе**

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус хлоротической пятнистости листьев яблони	+	+	<i>Chenopodium quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>Prunus persica</i> Elberta, GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 5-кр., 1 г.



Продолжение табл. 4

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Вирус мозаики яблони	+	+	<i>Cucumis sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. domestica</i> Ersinger, 3-кр., 2 г.
Вирус карликовости сливы	+	+	<i>C. sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, <i>P. serrulata</i> Shirofugen, <i>P. tomentosa</i> IR-473/1, IR-474/1, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 3-кр., 3 г., <i>P. serrulata</i> Shirofugen, 5-кр., 1 г.
Вирус некротической кольцевой пятнистости косточковых	+	+	<i>C. sativus</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, <i>P. serrulata</i> Shirofugen, <i>P. tomentosa</i> IR-473/1, IR-474/1, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 3-кр., 3 г., <i>P. serrulata</i> Shirofugen, 5-кр., 1 г.
Вирус шарки сливы	+	+	<i>C. quinoa</i> , <i>C. foetidum</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, <i>P. tomentosa</i> IR-473/1, IR-474/1, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 3-кр., 3 г.
Вирус латентной кольцевой пятнистости Миробалана	+	+	<i>C. quinoa</i> , 5-кр., 20 дн.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 3-кр., 3 г.

Продолжение табл. 4

Вирусы и вирусоподобные болезни	ИФА	ПЦР	Тепличный тест		Полевой тест на древесных индикаторах
			на травянистых индикаторах	на древесных индикаторах	
Фитоплазма хлоротического скручивания листьев абрикоса	–	+	–	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. armeniaca</i> Luizet, <i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 3-кр., 3 г.
Астероидная пятнистость персика	–	–	–	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> Elberta, GF-305, 3-кр., 3 г.
Вироид латентной мозаики персика	–	+	–	<i>P. persica</i> GF-305, 5-кр., 1 г.	<i>P. persica</i> GF-305, 3-кр., 3 г.

Тепличный тест на травянистых индикаторах или серологические тесты необходимо сочетать с тестом на древесных индикаторах. При наличии диагностических наборов для ИФА к комплексу сокопереносимых вирусов, а также наборов для ПЦР появляется возможность отказаться от тепличного теста на травянистых индикаторах.

Тепличный тест на древесных индикаторах (сеянцы персика Elberta и GF-305, *P. serrulata* Shirofugen, *P. tomentosa* IR-473/1, IR-474/1), проводимый при определенных условиях (зимние теплицы, климакамеры и т.п.), позволяет выявлять большинство вирусов косточковых культур.

Тест на сеянцах персика проводят по следующей методике: стратифицированные здоровые семена персика сорта *Elberta* или *GF-305* высевают в горшки и устанавливают в теплицу. В возрасте 60 дней на полученные семенные подвои прививают по два-три глазка или щитка коры от проверяемого образца, верхушку сеянца удаляют, два-три сеянца оставляют неинокулированными для контроля; повторность пятикратная, продолжительность теста один год.

Растения других индикаторных клонов инокулируют методом массивированного заражения: на одно-двухлетние растения-индикаторы прививают по четыре-шесть глазков или щитков коры исследуемого образца.

Полевой тест на древесных индикаторах проводят при отсутствии тепличного теста, а также в обязательном порядке – для выявления тех возбудителей, для которых тепличный тест на древесных индикаторах не рекомендован.

Растения, оказавшиеся по результатам тестирования свободными от вирусов и других регламентируемых патогенов, являются исходными. В случае выявления инфекции такие растения отбраковывают или подвергают оздоровлению.

#### ***Оздоровление растений косточковых культур от вирусов и вирусоподобных агентов***

Для оздоровления растений косточковых культур от вирусов наиболее целесообразно сочетать методы суховоздушной термотерапии и культуры *in vitro*.

Технология термотерапии изложена в соответствующем разделе для семечковых плодовых культур. Экспозиция термообработки для косточковых культур составляет четыре-пять недель. После обработки верхушки побегов величиной 1-2 см прививают на здоровые подвои, культивируемые в обогреваемых теплицах или климокамерах.

Для повышения выхода здоровых растений верхушки побегов косточковых культур культивируют на питательных средах *in vitro*. Однако ввиду способности илар- и неповирусов колонизировать меристематические ткани более целесообразно вводить в культуру *in vitro* инициальные экспланты размером 0,3-0,8 мм, индуцируя затем у них пролиферацию микропобегов. После двух-трех месяцев культивирования *in vitro* и образования из экспланта четырех-восьми микропобегов возможно проведение их тестирования методом ИФА на наличие сокопереносимых вирусов для отбраковки зараженных клонов. Для тестирования отбирают по два-три микропобега (общей массой 200 мг) у каждого растения, а остальные микропобеги пересаживают на свежую питательную среду. Растения с сероотрицательной реакцией подвергают дальнейшему раз-

множению, укореняют, адаптируют к нестерильным условиям и ретестируют спустя один год после адаптации.

В зависимости от вирусов, присутствующих в исходных растениях, рекомендуются следующие режимы оздоровления:

1. При зараженности иларвирусами карликовости сливы, некротической кольцевой пятнистости косточковых и мозаики яблони – применять суховоздушную термотерапию (37-38°C на протяжении пяти недель) с последующей прививкой верхушек побегов (не более 1,5-2 см) на здоровые подвои или введением в культуру *in vitro* меристематических апексов величиной не более 0,8 мм.

2. При зараженности вирусами шарки сливы и хлоротической пятнистости листьев яблони – культивировать *in vitro* меристематические апексы величиной не более 0,5-0,6 мм.

3. При комплексной зараженности илар- и неповирусами – практиковать сочетание методов суховоздушной термотерапии и культуры апикальных меристем *in vitro* (апексы величиной не более 0,3-0,4 мм).

Питательные среды, наиболее часто используемые для культуры *in vitro* плодовых и ягодных культур, а также максимально допустимое число пассажей культивирования приведены в прил. 5.

Для оздоровления косточковых культур возможно также применение методов термотерапии *in vitro*, микропрививок, хемотерапии и магнитотерапии *in vitro*.

Растения, получаемые в результате термотерапии или культуры *in vitro*, следует рассматривать в качестве кандидатов в исходные растения и в обязательном порядке подвергать комплексному тестированию и проверке на соответствие сорто типу.

#### **4.4. Содержание исходных растений**

Исходные растения необходимо содержать в условиях, обеспечивающих их защиту от повторного заражения путем соприкосновения корней, через пыльцу, воздушными и почвообитающими переносчиками. Для этих целей наиболее подходят специально оборудованные непроницаемые для тлей вегетационные домики или изолированные боксы в обогреваемых теплицах. Резервный банк исходных растений рекомендуется параллельно хранить в культуре

*in vitro* с максимальным числом пассажей культивирования, равным 10 (ГОСТ Р 54051-2010).

Цветение у исходных растений не допускается.

#### **4.5. Получение и содержание базисных растений**

Базисные растения, полученные от исходных растений путем вегетативного размножения, ежегодно визуально проверяют на наличие симптомов вирусных заболеваний и других патогенов, а также возможных мутаций. Ежегодно такие растения тестируют методом ИФА или ПЦР на вирусы карликовости и шарки сливы, некротической кольцевой пятнистости косточковых, а через каждые два года – на наличие остальных сокопереносимых вирусов.

#### **4.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций**

Потомство базисных растений (семена, почки, черенки, укорененные отводки клоновых подвоев) тиражируется в питомниках, производящих сертифицированный посадочный материал.

В питомниках оздоровленные привои необходимо прививать только на сертифицированные семенные или оздоровленные клоновые подвои.

Маточники размещают на участках, свободных от нематод-переносчиков вирусов (см. прил. 1) и пространственно изолированных от прочих насаждений плодовых культур: маточно-черенковые сады на расстоянии не менее 1 км, маточно-семенные – не менее 3 км. Допускается также содержание маточников в пленочных или сетчатых теплицах-изоляторах. Количество растений каждого сорта в маточнике определяется потребностью в черенках.

Цветение растений в маточно-черенковых садах не допускается и предотвращается ежегодной сильной обрезкой с последующим удалением вручную единичных оставшихся цветков.

Сортовую апробацию проводят на второй-третий год после посадки, а затем ежегодно, удаляя растения с отклонениями от сорта.

Оценку фитосанитарного состояния проводят ежегодно путем тщательного осмотра, удаляя экземпляры с симптомами заражения вирусными и вирусоподобными болезнями. Ежегодно маточные растения ретестируют методом ИФА или ПЦР на наличие вирусов

карликовости сливы, некротической кольцевой пятнистости косточковых и шарки сливы, а один раз в два года – на наличие остальных сокопереносимых вирусов. Растения в маточниках также должны быть свободны от заражения другими вредителями и болезнями, что достигается регулярными обследованиями и комплексом защитных мероприятий в соответствии со схемой (Метод. указания «Усовершенствованная система фитосанитарии в питомниководстве», 2001).

Срок эксплуатации базисного маточно-черенкового сада косточковых культур 10 лет, маточно-семенного – 15.

На протяжении всего цикла размножения оздоровленного посадочного материала в соответствии с действующим законодательством ведется регулярный контроль за происхождением и количеством оздоровленных растений на основе полевых проверок и записей в документах, представляемых специалистами питомника. Два-три раза за вегетационный период и перед выкопкой саженцев проводится оценка их фитосанитарного состояния и качественных показателей на соответствие требованиям действующей нормативно-технической документации (ГОСТ 53135-2008).

При положительных результатах экспертизы (соответствии ГОСТу) производителю выдается сертификат качества на выращенную партию посадочного материала с точным указанием количества саженцев (черенков, отводков) по каждому сорту.

---

---

## **5. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА МАЛИНЫ И ЕЖЕВИКИ**

---

---

### **5.1. Вредные организмы, требующие проверки на малине и ежевике для производства оздоровленного посадочного материала**

**Вирусы:**

- идаеовирус кустистой карликовости малины (*Raspberry bushy dwarf ideovirus*);
- неповирус мозаики резухи (*Arabis mosaic nepovirus*);

- неповирус кольцевой пятнистости малины (*Raspberry ringspot nepovirus*);
  - неповирус черной кольцевой пятнистости томата (*Tomato black ring nepovirus*);
  - неповирус скручивания листьев черешни (*Cherry leafroll nepovirus*);
  - вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (*Strawberry latent ringspot virus*);
  - вирус желтой сетчатости *Rubus* (*Rubus yellow net virus*);
  - кукумовирус огуречной мозаики (*Cucumber mosaic cucumovirus*);
  - рабдовирус хлороза жилок малины (*Raspberry vein chlorosis rhabdovirus*);
  - вирус некроза черной малины (*Black raspberry necrosis virus*);
  - иларвирус мозаики яблони (*Apple mosaic ilarvirus*).
- Фитоплазма** израстания малины (*Rubus stunt phytoplasma*).
- Растения также должны быть свободны от болезней и вредителей, распространяющихся с посадочным материалом:
- корневого рака (*Agrobacterium tumefaciens* Conn.);
  - фитофтороза малины (*Phytophthora fragariae* var. *rubi*) – карантинный объект;
  - ложной мучнистой росы (*Peronospora rubi*);
  - малинной побеговой галлицы (*Resseliella theobaldi* Hbst.);
  - малинного листового-почкового клеща (*Phyllocoptes gracilis* Nal.).

## **5.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения**

Отбор производится специалистами-помологами, вирусологами, энтомологами и фитопатологами с целью выделения высокоурожайных с типичными сортовыми признаками растений, без симптомов заражения вирусами, другими болезнями и вредителями.

Обследования на наличие вирусов проводят трижды за вегетационный период: в начале распускания листьев, в период цветения и в конце августа - начале сентября. В ходе обследований отбирают растения, не имеющие симптомов мозаики, хлороза жилок, израстания, рассыпухи ягод, карликовости, кольцевой пятнистости.

Выделенные растения пересаживают в горшки с почвенным субстратом, проверенным на наличие нематод-переносчиков вирусов и возбудителя фитофтороза, и содержат в карантине. Карантин может служить непроницаемый для тлей вегетационный домик или изолированный бокс зимней теплицы. В ходе последующего культивирования растений необходимо соблюдать комплекс мер по предотвращению заражения их тлями, малинной цикадкой, галлицами, клещами, корневым раком, ложной мучнистой росой, другими вредителями и болезнями. Цветение растений не допускается.

На следующий год после посадки растения-кандидаты в исходные растения подвергают тестированию.

### **5.3. Получение исходных растений**

#### *Предварительное тестирование методами ИФА и ПЦР*

Метод ИФА позволяет в сжатые сроки выявлять сокопереносимые вирусы, заражающие малину и ежевику: вирусы мозаики резухи, кольцевой пятнистости малины, черной кольцевой пятнистости томата, скручивания листьев черешни, латентной кольцевой пятнистости земляники, мозаики яблони, огуречной мозаики и кустистой карликовости малины.

Оптимальными сроками проведения тестирования в условиях средней полосы России являются май - начало июня – в открытом грунте и март - начало апреля – для обогреваемых теплиц. В полевых условиях хорошие результаты дает также тест в начале осени, когда происходит накопление сокопереносимых вирусов в корневых отпрысках малины. В летние месяцы проведение теста нежелательно ввиду возможного обратимого снижения концентрации вирусных антигенов ниже уровня чувствительности ИФА.

На малине и ежевике наиболее высокая концентрация сокопереносимых вирусов обычно отмечается в молодых (но полностью развернувшихся) листьях в верхней части побегов, а также в бутонах и цветках в начале цветения этих культур. Использование для тестирования почек, завязей и плодов не всегда обеспечивает получение достоверных результатов.

Для подтверждения результатов ИФА используют ПЦР.



**Основное тестирование растений ежевики и малины  
на наличие вирусов**

Методы, рекомендуемые для выявления и идентификации вирусов и фитоплазмы израстания на малине и ежевике, представлены в табл. 5.

Таблица 5

**Рекомендуемые методы выявления  
и идентификации вирусов и фитоплазмы израстания  
на малине и ежевике**

Возбудители	ИФА	ПЦР	Тепличный тест	
			на травянистых индикаторах	на индикаторных клонах Rubus
Вирус некроза чёрной малины	-	+	-	<i>Rubus occidentalis</i>
Вирус жёлтой сетчатости Rubus	-	+	-	<i>R. idaeus</i> сорта Malling Promise, <i>R. occidentalis</i>
Вирус хлороза жилок малины	-	+	-	<i>R. idaeus</i> сорта Norfolk Quant, визуально
Вирус огуречной мозаики	+	+	<i>Nicotiana chlevelandii</i>	-
Вирус мозаики резухи	+	+	<i>Chenopodium quinoa</i>	-
Вирус кольцевой пятнистости малины	+	+	<i>C. quinoa</i>	-
Вирус латентной кольцевой пятнистости земляники	+	+	<i>C. quinoa</i>	-
Вирус черной кольцевой пятнистости томата	+	+	<i>C. quinoa</i>	-
Вирус скручивания листьев черешни	+	+	<i>C. quinoa</i>	-

Продолжение табл. 5

Возбудители	ИФА	ПЦР	Тепличный тест	
			на травянистых индикаторах	на индикаторных кломах Rubus
Вирус мозаики яблони	+	+	<i>Cucumis sativus</i>	-
Вирус кустистой карликовости малины	+	+	<i>C. quinoa</i>	-
Фитоплазма израстания малины	-	+	-	<i>R. occidentalis</i> , <i>R. idaeus</i> сортов Norfolk Quant и Malling Landmark

Основное тестирование должно осуществляться не менее чем двумя методами и охватывать все патогены, регламентированные данной схемой для оздоровленного посадочного материала.

Тепличный тест на травянистых индикаторах или серологические тесты необходимо сочетать с тестами на индикаторных кломах растений рода *Rubus*. При наличии диагностических наборов для ИФА к комплексу сокопереносимых вирусов возможен отказ от тепличного теста на травянистых индикаторах.

Методика теста на травянистых индикаторах изложена в прил. 3.

Для выявления непереносимых соком вирусов и фитоплазмоза израстания используют одно-двухлетние здоровые вегетативно размноженные растения малины *R. idaeus* сортов *Norfolk Quant*, *Malling Landmark*, *Malling Promise*, сеянцы и вегетативно размноженные растения *R. occidentalis* (см. табл. 5). Индикаторные клоны *R. idaeus* размножают корневыми черенками или корневой порослью, а *R. occidentalis* – зелеными черенками, верхушечными отводками или семенами. Растения-индикаторы высаживают в горшки с почвой, проверенной на наличие патогенов, и содержат в изолированном боксе, отдельно от растений-кандидатов в исходные растения.

Растения-индикаторы инокулируют методом изолированного побега в модификации «бутылочный тест», который проводят по следующей методике: на побег индикатора прививают вприклад побег тестируемого растения длиной 8-10 см, место прививки изолируют лейкопластырем или клейкой лентой типа «скотч», основа-

ние привитого побега помещают в пробирку или какой-либо другой небольшой сосуд с водой, который жестко закрепляют на опоре. Срастание компонентов прививки обычно происходит через три-четыре недели, после чего сосуд с водой можно удалить. Индикаторы *R. occidentalis* можно прививать также верхушкой побега (длиной 2-6 см) вращающ.

Для тестирования одного исходного растения необходимо использовать по три растения каждого индикатора. Инокуляцию индикаторов проводят в марте-начале апреля в зимних обогреваемых теплицах, продолжительность теста – один год.

Растения, оказавшиеся по результатам тестирования свободными от вирусов, являются исходными клонами. В случае выявления инфекции такие растения отбраковывают или подвергают оздоровлению.

#### ***Оздоровление растений малины и ежевики от вирусов и фитоплазмы израстания***

Для получения исходных клонов малины наиболее широко применяются такие методы оздоровления, как суховоздушная термотерапия, культура *in vitro*, хемотерапия *in vitro*. Вирусы малины и ежевики существенно различаются термотолерантностью и способностью колонизировать меристематические ткани, что обуславливает необходимость корректировки режимов оздоровления в зависимости от их присутствия.

##### ***1. Израстание малины.***

Высокоэффективное оздоровление растений от израстания достигается одним из следующих способов:

а) суховоздушной термотерапией при 37-38°C в течение 60-80 дней с последующим отделением и укоренением *in vitro* или *in vivo* верхушек побегов прогретых растений длиной 1-1,5 см;

б) путем введения в культуру *in vitro* меристематических верхушек размером от 0,3 до 1 мм как в сочетании с предшествующей суховоздушной термотерапией, так и без нее;

в) введением в состав питательных сред антибиотика тетрациклин концентрацией 80 мг/л.

2. Вирусы огуречной мозаики, пятнистости листьев малины, крапчатости листьев малины, некроза черной малины.

Для инактивации этих термолабильных вирусов достаточно проведение суховоздушной термотерапии (37-38°C на протяжении 30-45 дней) с последующим введением в культуру *in vitro* эксплантов размерами 0,5-1 мм или укоренением *in vivo* верхушек побегов длиной до 1,5 см.

3. Вирусы хлороза жилок малины и желтой сетчатости *Rubus*. Эти вирусы не искореняются методом суховоздушной термотерапии. Для получения оздоровленных растений необходимо применять культуру *in vitro*, используя инициальные экспланты размером не более 0,5-0,7 мм из апикальных или латеральных почек. Проведение предварительной термотерапии необязательно.

4. Неповирусы и вирус кустистой карликовости малины. Характеризуются термотолерантностью и способностью проникать в меристематические ткани. Оздоровление от них возможно только путем обязательного сочетания суховоздушной термотерапии (37-38°C на протяжении не менее 40 дней) и культуры *in vitro* с использованием эксплантов размером не более 0,3-0,4 мм исключительно из апикальных почек прогретых побегов. Для получения исходных растений малины и ежевики можно также применять методы термотерапии *in vitro*, хемотерапии *in vitro* и магнитотерапии *in vitro*.

Растения, получаемые в результате термотерапии или культуры *in vitro*, следует рассматривать в качестве кандидатов в исходные растения и в обязательном порядке подвергать комплексному тестированию.

#### 5.4. Содержание исходных растений

Исходные растения необходимо содержать в условиях, обеспечивающих их защиту от повторного заражения путем соприкосновения корней, через пыльцу, воздушными и почвообитающими переносчиками. Для этих целей наиболее подходят непроницаемые для тлей вегетационные домики, где растения содержат в сосудах типа лизиметров, и изолированные боксы зимних теплиц, где растения содержат в горшках.

Число растений каждого вида и сорта ограничено (до десяти). Резервный банк исходных растений рекомендуется параллельно культивировать и хранить в культуре *in vitro* с максимальным чис-

лом пассажей культивирования, равным восьми (ГОСТ Р 54051-2010).

Исходные растения культивируют в почве, свободной от нематод-переносчиков вирусов и возбудителя фитофтороза (см. прил. 1, 5). Ежегодно их осматривают на наличие симптомов вирусных болезней, других патогенов и возможных мутаций. Через каждые два года растения повторно индивидуально тестируют на наличие вирусов и других регламентируемых патогенов. Если появляются новые антисыворотки, индикаторы или более эффективные технологии тестирования, то все растения проверяют с их помощью.

Цветение у исходных растений не допускается. Для контроля сортовой подлинности и отсутствия симптомов кустистой карликовости материал, взятый от растения-кандидата в исходное растение, может быть допущен к плодоношению (при использовании опыления вручную) на изолированном участке или в отдельном вегетационном домике.

#### **5.5. Получение и содержание базисных растений**

Корневые отпрыски, зеленые или корневые черенки, отобранные от исходных растений, а также регенеранты, полученные путем клонального микроразмножения исходного растения, после выполнения всех необходимых процедур по установлению сортовой чистоты и тестированию являются базисными растениями. Базисные растения в количестве до 10 шт. каждого сорта содержат в условиях, аналогичных тем, в которых содержат исходные растения.

Потомство базисных растений идет на закладку корнеотпрысковых маточников малины, на которых удаляются все побеги предыдущего года и культивируются только побеги текущего года, или маточников черенкового типа (в случае ежевики и малино-ежевичных гибридов). Происхождение растений следует отмечать, чтобы было известно, какое сертифицированное растение происходит от какого базисного растения.

#### **5.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций**

Потомство базисных клонов (отводки, укорененные зеленые или одревесневшие черенки) тиражируется в питомниках, производящих сертифицированный посадочный материал. На участках, отво-

димых под маточники, растения рода *Rubus* не должны выращиваться на протяжении трех предшествующих лет. Пространственная изоляция маточников от несертифицированных неплодоносящих насаждений ежевики и малины должна составлять не менее 500 м, от плодоносящих промышленных насаждений – не менее 2000 м (Метод. указания «Производство и сертификация посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда в России. Контроль качества. Ч. 1. Ягодные культуры», 2009). Почва участков должна быть свободна от нематод-переносчиков вирусов и возбудителя фитофтороза.

Срок эксплуатации маточника малины не более четырех лет, ежевики – не более пяти. Допускаются три цикла репродукции сертифицированных растений путем переноса корневых отпрысков или укорененных черенков на другой участок. Размножаемые клоны ежегодно обследуют на наличие симптомов вирусов с удалением подозрительных и больных растений.

Ежегодно в соответствии с действующим законодательством осуществляется регулярный контроль за происхождением и количеством оздоровленных растений, а также их фитосанитарным состоянием. При соответствии показателей требованиям действующей нормативно-технической документации производителю выдается сертификат качества на выращенную партию посадочного материала с указанием количества саженцев по каждому сорту.

---

---

## **6. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА СМОРОДИНЫ И КРЫЖОВНИКА**

---

---

### **6.1. Вредные организмы, требующие проверки на смородине и крыжовнике для производства оздоровленного посадочного материала**

***Вирусы:***

- вирус реверсии черной смородины (*Blackcurrant reversion virus*) – только на смородине;
- вирус рябухи черной смородины (*Wildfire of black currant*);
- вирус окаймления жилок крыжовника (*Gooseberry vein banding virus*);

- неповирус мозаики резухи (*Arabis mosaic nepovirus*);
- неповирус кольцевой пятнистости малины (*Raspberry ringspot nepovirus*);
- неповирус черной кольцевой пятнистости томата (*Tomato black ring nepovirus*);
- вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (*Strawberry latent ringspot virus*);
- кукумовирус огуречной мозаики (*Cucumber mosaic cucumovirus*).

**Вирусоподобные болезни:**

- желтуха черной смородины (*Black currant yellows*) – только на черной смородине.

Растения также должны быть свободны от заражения черносмородинным почковым клещом (*Cecidophyopsis ribis Westw.*), галловым почковым красносмородиновым клещом (*Cecidophyopsis selachdon*), галловым малым клещом (*Cecidophyopsis spicata*), галловым почковым крыжовниковым клещом (*Cecidophyopsis grossulariae*), калифорнийской щитовкой (*Quadraspidiotus perniciosus Comst.*), другими вредителями и болезнями согласно требованиям ГОСТ Р 53135-2008.

## **6.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения**

Отбор производится специалистами-помологами, вирусологами, энтомологами и фитопатологами с целью выделения высокоурожайных с типичными сортовыми признаками растений, без симптомов заражения вирусами, другими болезнями и вредителями.

Обследования на наличие вирусов проводят 3 раза за вегетационный сезон: в период массового цветения, в третьей декаде мая и июня.

При первом обследовании диагностируют симптомы реверсии на цветках и выявляют растения, зараженные черносмородинным галловым клещом.

В третьей декаде мая на молодых, но достаточно сформировавшихся листьях наиболее отчетливо проявляются симптомы заражения вирусом огуречной мозаики (зеленая крапчатость), неповирусами (хлоротические крапчатость, пятнистость, кольца и т.д.), вирусом окаймления жилок.

С выделенных растений отбирают отводки, зеленые или одревесневшие черенки, укореняют их и высаживают в контейнеры с почвенным субстратом, проверенным на наличие нематод-пере-

носчиков вирусов. Контейнеры с растениями помещают в карантин, которым может служить непроницаемый для тлей вегетационный домик или изолированный бокс зимней теплицы. В ходе последующего культивирования растений необходимо соблюдать комплекс мер по предотвращению их заражения тлями, галлицами, мучнистой росой, черносмородинным почковым и обыкновенным паутинным клещами, другими вредителями и болезнями. Цветение растений не допускается.

На следующий год после посадки растения-кандидаты в исходные растения подвергают тестированию.

### **6.3. Получение исходных растений**

#### *Предварительное тестирование методом ИФА*

Метод ИФА позволяет с высокой эффективностью выявлять сокопереносимые вирусы, заражающие смородину и крыжовник: кукумовирус огуречной мозаики, неповирусы мозаики резухи, кольцевой пятнистости малины и черной кольцевой пятнистости томата, вирус латентной кольцевой пятнистости земляники.

Выделенные растения целесообразно сначала протестировать в полевых условиях, а повторно – в карантине.

Оптимальные сроки проведения ИФА приходятся на начало вегетации: май - начало июня для открытого грунта и февраль - апрель – для обогреваемых теплиц. Почки смородины в открытом грунте можно тестировать также в апреле. В летние месяцы (начиная со второй половины июня) проведение теста нежелательно ввиду возможного обратимого снижения концентрации вирусных антигенов ниже уровня чувствительности ИФА.

В качестве тест-образцов на смородине пригодны покоящиеся почки и листья. В случае тестирования почек необходимо отбирать средние образцы из вегетативных почек на верхушках побегов и генеративных (цветочных) почек. В период активного роста следует готовить средние образцы из листьев разного возраста, а в период затухания роста – отбирать листья со средней части побегов.

На крыжовнике в период активного роста для тестирования рекомендует использовать листья у основания побегов, а после закладки верхушечных почек – листья со средней части побегов. У этой культуры непригодны для тестирования почки, кора и камбий.



**Основное тестирование растений смородины  
и крыжовника на наличие вирусов**

Методы, рекомендуемые для выявления и идентификации вирусов и вирусоподобных агентов на смородине и крыжовнике, представлены в табл. 6.

Таблица 6

**Рекомендуемые методы выявления и идентификации вирусов  
и вирусоподобных агентов на смородине и крыжовнике**

Возбудители	Тестируемая культура	ИФА	ПЦР	Тепличный тест	
				на травянистых индикаторах	на индикаторных клонах Ribes
Вирус реверсии черной смородины	Смородина чёрная, красная	–	+	–	<i>Ribes nigrum</i> сортов Amos Black, Baldwin, Ожебун, Катюша, Лунная
Вирус рябухи	Смородина чёрная	–	+	–	<i>R. nigrum</i> сортов Голубка, Чёрная Лисавенко, Baldwin
Желтуха	Смородина чёрная	–	–	–	<i>R. nigrum</i> Amos Black, Baldwin, Загадка
Вирус окаймления жилок крыжовника	Смородина чёрная, красная	–	+	–	<i>R. rubrum</i> сортов Голландская красная, Йонхер ванн Тетс, <i>R. nigrum</i> сорта Amos Black
	Крыжовник	–	+	–	<i>Grossularia reclinata</i> сортов Leveller, Смена, Родник, сеянцы сорта Финик
Кукумовирус огуречной мозаики	Смородина, крыжовник	+	+	<i>Nicotiana chlevelandii</i>	–
Вирусы мозаики резухи, кольцевой пятнистости малины, латентной кольцевой пятнистости земляники, черной кольцевой пятнистости томата	Смородина, крыжовник	+	+	<i>Chenopodium quinoa</i>	–

Основное тестирование должно проводиться не менее чем двумя методами и охватывать все патогены, регламентируемые данной схемой для оздоровленного посадочного материала. Тепличный тест на травянистых индикаторах или серологические тесты необходимо сочетать с тестом на индикаторных клонах *Ribes*. При наличии диагностических наборов для ИФА к комплексу сокопереносимых вирусов возможен отказ от тепличного теста на травянистых индикаторах.

Методика теста на травянистых индикаторах изложена в прил. 3.

Для выявления непереносимых соком вируса окаймления жилок крыжовника, возбудителей реверсии, рябухи и желтухи смородины следует практиковать тест на одно-двухлетних здоровых вегетативно размноженных растениях ряда сортов смородины и крыжовника, перечисленных в табл. 6. Эти растения-индикаторы высаживают в горшки с проверенной на наличие патогенов почвой и содержат в изолированном боксе, отдельно от растений-кандидатов в исходные растения и исходных растений.

Для выявления каждого патогена необходимо использовать не менее двух индикаторных клонов.

Растения-индикаторы из числа сортов красной и черной смородины инокулируют прививкой верхушками побегов врасщеп или щитком коры побегов, а индикаторные клоны крыжовника – прививкой верхушками побегов. На каждое растение-индикатор прививают по две-три верхушки побега или три-четыре щитка коры тестируемого растения. Прививки осуществляют в феврале - марте в зимних обогреваемых теплицах или в мае – в вегетационных домиках. Для тестирования одного исходного растения необходимо использовать по три растения каждого индикатора. Продолжительность теста два года.

Растения, оказавшиеся по результатам тестирования свободными от вирусов, являются исходными клонами. В случае выявления инфекции такие растения отбраковывают или подвергают оздоровлению.

#### ***Оздоровление растений смородины и крыжовника от вирусов***

Из существующих методов оздоровления для получения оздоровленных клонов смородины и крыжовника наиболее широко применяются суховоздушная термотерапия и культура *in vitro*. Их

режимы необходимо корректировать в зависимости от выявленных патогенов.

1. *Кукумовирус огуречной мозаики, реверсия, желтуха и рябуха смородины.*

Оздоровление растений от этих патогенов достигается суховоздушной термотерапией (37-38°C) при экспозиции 30-40 дней с последующим отделением и укоренением *in vitro* верхушек побегов прогретых растений длиной 1-1,5 см, либо введением в культуру *in vitro* после термотерапии меристемных апексов размером до 1 мм.

2. *Вирус окаймления жилок крыжовника.*

Не искореняется методом суховоздушной термотерапии. Для оздоровления от него растений следует использовать культуру *in vitro*, высаживая на питательные среды меристематические апексы величиной от 0,3 до 0,8 мм из латеральных и апикальных почек побегов.

3. *Неповирусы.*

Характеризуются термотолерантностью и способностью проникать в меристематические ткани. Регенеранты, свободные от этих патогенов, могут быть получены в результате сочетания суховоздушной термотерапии (37-38°C на протяжении 30-40 дней) с введением в культуру *in vitro* меристематических апексов величиной 0,5-1 мм и их культивированием не более чем в пяти субкультурах.

Для получения свободных от основных вредоносных вирусов клонов смородины и крыжовника можно также применять методы термотерапии *in vitro* и хемотерапии *in vitro*.

Растения, получаемые в результате термотерапии или культуры *in vitro*, следует рассматривать в качестве кандидатов в исходные растения и в обязательном порядке подвергать последующему тестированию, проверке на продуктивность и соответствие помологическим качествам сорта.

#### **6.4. Содержание исходных растений**

Исходные растения необходимо содержать в условиях, обеспечивающих их защиту от повторного заражения путем соприкосновения корней, через пыльцу, воздушными и почвообитающими переносчиками. Для этих целей наиболее подходят непроницаемые

для тлей вегетационные домики и изолированные боксы зимних теплиц.

Содержат только ограниченное число (до десяти) растений каждого клона и сорта. Резервный банк исходных растений рекомендуется параллельно хранить в культуре *in vitro* с максимальным числом пассажей культивирования, равным восьми (ГОСТ Р 54051-2010).

Растения культивируют в почве, свободной от нематод-переносчиков вирусов. Ежегодно растения осматривают на наличие симптомов вирусных заболеваний, других патогенов и возможных мутаций. Через каждые два года растения повторно индивидуально тестируют на наличие всех вирусов и вирусоподобных агентов. Если появляются новые антисыворотки, индикаторы или более эффективные технологии тестирования, то все растения проверяют с их помощью.

Цветение у исходных растений не допускается. Для контроля подлинности сорта и отсутствия симптомов реверсии два-три растения могут быть доведены до плодоношения (при использовании опыления вручную) на изолированном участке или в отдельном вегетационном домике.

### **6.5. Получение и содержание базисных растений**

Одревесневшие или зеленые черенки и отводки, отобранные от исходных растений, а также регенеранты, полученные путем клонального микроразмножения исходного растения, после установления сортовой чистоты, оценки продуктивности и тестирования (при отсутствии вирусов и других опасных патогенов и вредителей) являются базисными растениями. Такие растения (до 10 шт. каждого сорта) содержат в условиях, обеспечивающих защиту от заражения, – непроницаемых для тлей вегетационных домиках и изолированных боксах зимних теплиц.

Черенки, взятые от базисного растения, можно также рассматривать в качестве базисного растения в том случае, если их выращивали в тех же самых условиях и индивидуально тестировали на наличие всех регламентированных патогенов. Резервный банк базисных растений рекомендуется параллельно хранить в культуре *in vitro*. После хранения *in vitro* часть растений должна высаживаться

в условия теплицы или открытого грунта и доводиться до плодоношения с целью установления отсутствия отклонений от сортотипа и оценки продуктивности.

Происхождение растений следует отмечать, чтобы было известно, какое сертифицированное растение от какого базисного растения происходит.

#### **6.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций**

Потомство размножаемых клонов (отводки, укорененные зеленые или одревесневшие черенки) тиражируется в питомниках, производящих сертифицированный посадочный материал. Допускается получение трех репродукций такого материала.

На участках, отводимых под закладку маточника сертифицированных клонов, растения рода *Ribes* не должны выращиваться на протяжении трех предшествующих лет.

Маточники закладывают на участках, свободных от нематод-переносчиков вирусов и пространственно изолированных от несертифицированных растений рода *Ribes* на расстояние не менее 1000 м, от плодоносящих промышленных насаждений – не менее 1500 м (Метод. указания «Производство и сертификация посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда в России. Контроль качества. Ч. 1. Ягодные культуры», 2009). Расстояние между рядами и внутри рядов в маточниках должно обеспечивать возможность тщательной инспекции. Ежегодно весной и в начале лета размножаемые клоны обследуют на наличие симптомов вирусных и вирусоподобных болезней с удалением подозрительных и больных растений. На маточниках осуществляют комплекс мероприятий, препятствующих развитию вредителей и болезней в соответствии со схемой (Метод. указания «Усовершенствованная система фитосанитарии в питомниководстве», 2001).

Срок эксплуатации маточников не должен превышать пяти лет. Посадочный материал, полученный с маточника первой репродукции, служит для закладки маточника сертифицированных клонов второй репродукции. Посадочный материал, полученный с маточника второй репродукции, служит для закладки маточника сертифицированных клонов третьей репродукции.

Ежегодно в соответствии с действующим законодательством осуществляется регулярный контроль за происхождением и количеством оздоровленных растений, а также их фитосанитарным состоянием. При соответствии показателей требованиям действующей нормативно-технической документации производителю выдается сертификат качества на выращенную партию посадочного материала с указанием количества саженцев по каждому сорту.

---

---

## 7. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЗЕМЛЯНИКИ

---

---

### 7.1. Вредные организмы, требующие проверки на землянике для производства оздоровленного посадочного материала

**Вирусы:**

- рабдовирус морщинистости земляники (*Strawberry crinkle rhabdovirus*);
- вирус слабого пожелтения краёв жилок (*Strawberry mild yellow-edge virus*);
- вирус крапчатости земляники (*Strawberry mottle virus*);
- каулимовирус окаймления жилок земляники (*Strawberry vein-banding caulimovirus*);
- неповирус мозаики резухи (*Arabis mosaic nepovirus*);
- неповирус кольцевой пятнистости малины (*Raspberry ringspot nepovirus*);
- неповирус черной кольцевой пятнистости томата (*Tomato black ring nepovirus*);
- вирус латентной кольцевой пятнистости земляники (*Strawberry latent ringspot virus*).

**Фитоплазма** позеленения лепестков земляники (*Strawberry green petal phytoplasma*).

Импортируемые растения должны быть также протестированы на наличие следующих патогенов: вирус ложного слабого пожелтения краёв листьев (*Strawberry pseudo mild yellow-edge virus*), ассоциативный вирус паллидозиса (*Strawberry pallidosis-associated*

virus), латентный вирус С земляники (*Strawberry latent C virus*), неповирус кольцевой пятнистости томата (*Tomato ringspot nepovirus*), вирус штриховатости табака (*Tobacco streak virus*), фитоплазму желтухи астр (*Aster yellow phytoplasma*), фитоплазму желтухи (*Yellows phytoplasma*), фитоплазму летального увядания (*Lethal decline phytoplasma*), риккетсию желтухи (*Yellows rickettsia*), а также на наличие болезней с неизвестными этиологией и векторами: хлоротическую крапчатость (*Chlorotic fleck*), скручивание листьев (*Leafroll*), ведьмины метлы (*Witches broom*), многоверхушечность (*Multiplier plant*), перистость листьев (*Feather-leaf*).

Растения должны быть свободны от заражения стеблевой нематодой (*Ditylenchus dipsaci*), земляничной нематодой (*Aphelenchoides fragariae*), хризантемной нематодой (*Aphelenchoides ritze-mabosi*), рисовым афеленхоидом (*Aphelenchoides besseyi*), земляничным прозрачным клещом (*Phytonemus pallidus*), возбудителями фитофтороза (*Phytophthora fragariae var. fragariae*, *Ph. cactorum*), антракноза (*Golletotrichum acutatum*) и вертициллеза (*Verticillium albo-atrum*).

## 7.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения

Отбор производится специалистами-помологами, вирусологами, энтомологами и фитопатологами с целью выделения высокоурожайных с типичными сортовыми признаками растений, свободных от симптомов заражения вирусами, другими вредителями и болезнями.

Обследования на наличие вирусов проводят трижды за вегетационный сезон: в середине мая, в периоды массового цветения и усообразования. Эти обследования позволяют выявить симптомы заражения неповирусами (хлоротические крапчатость, пятнистости, мозаика), фитоплазмой позеленения лепестков, а также земляничным прозрачным клещом, стеблевой и листовыми-почковыми нематодами, фитофторозом, другими вредителями и грибными болезнями.

С выделенных растений отбирают розетки, которые высаживают в горшки с почвенным субстратом, проверенным на наличие нематод-переносчиков вирусов, северной галловой нематоды, грибов-возбудителей гнилей корней и трахеомикозов. Горшки с расте-

ниями помещают в карантин, которым может служить непроницаемый для тлей вегетационный домик или изолированный бокс зимней теплицы. В ходе последующего культивирования растений необходимо соблюдать меры по предотвращению их заражения комплексом вредителей и болезней. Цветение растений не допускается.

На следующий год после посадки кандидаты в исходные растения подвергают тестированию.

### **7.3. Получение исходных растений**

#### **Предварительное тестирование методом ИФА**

Метод ИФА позволяет высокоэффективно выявлять на землянике сокопереносимые неповирусы мозаики резухи, кольцевой пятнистости малины и черной кольцевой пятнистости томата, вирус латентной кольцевой пятнистости земляники. Методика ИФА изложена в прил. 2.

Выделенные растения целесообразно протестировать непосредственно в полевых условиях и повторно – в карантине.

Оптимальными сроками проведения ИФА являются май - начало июня – для условий открытого грунта и март - апрель – для зимних теплиц. В качестве тест-образцов необходимо использовать молодые, но уже полностью развернувшиеся листья, а также бутоны и цветки растений земляники.

#### ***Основное тестирование растений земляники на наличие вирусов***

Методы, рекомендуемые для выявления и идентификации вирусов на землянике, представлены в табл. 7.

Основное тестирование должно проводиться не менее чем двумя методами и охватывать все патогены, регламентируемые данной схемой. Тепличный тест на травянистых индикаторах или серологические тесты необходимо сочетать с тестом на индикаторных клонах лесной земляники (*Fragaria vesca*). При наличии диагностических наборов для ИФА к комплексу сокопереносимых вирусов возможен отказ от тепличного теста на травянистых индикаторах.

Методика теста на травянистых индикаторах изложена в прил. 3.



Таблица 7

**Рекомендуемые методы выявления и идентификации вирусов  
и фитоплазмы на землянике**

Возбудители	ИФА	ПЦР	Тепличный тест на травянистых индикаторах	Индикаторные клоны <i>F. vesca</i>
Рабдовирус морщинистости земляники	–	+		ИС-4, ИС-5, ЕМК, Alpina, FV-72
Вирус слабого пожелтения краев листьев земляники	–	+		ИС-4, ИС-5, ИС-6, Alpina, E-12
Вирус крапчатости земляники	–	+		ИС-4, ИС-5, ИС-10, Alpina, FV-72
Каулимовирус окаймления жилок земляники	–	+		ИС-4, ИС-6, ИС-12, ЕМК, E-12
Неповирус мозаики резухи	+	+	<i>Chenopodium quinoa</i>	
Неповирус кольцевой пятнистости малины	+	+	<i>C. quinoa</i>	
Вирус латентной кольцевой пятнистости земляники	+	+	<i>C. quinoa</i>	
Неповирус чёрной кольчатости томата	+	+	<i>C. quinoa</i>	
Фитопlasма пожелтения лепестков земляники	–	+	–	<i>Fragaria x ananassa</i> сорта Royal Sovereign

Тесты на индикаторных клонах *F. vesca* проводят в зимних теплицах. Розетки от маточных растений-индикаторов высаживают в горшки с проверенной на наличие патогенов почвой и содержат в изолированном боксе. Растения-индикаторы инокулируют прививкой по следующей методике: у проверяемого растения берут центральную долю листа с черешком, укороченным до 1 см и срезанным клинообразно; долю листа также укорачивают на 2/3; готовый компонент прививки вставляют в разрез черешка центральной доли листа растения-индикатора; место прививки скрепляют лейкопластырем. На каждое растение-индикатор прививают по два-три лис-

та проверяемого растения, все остальные листья у индикатора удаляют. Привитые растения помещают в боксы из полиэтилена, учет приживаемости прививок проводится через две недели.

Для выявления каждого вируса необходимо использование не менее двух индикаторных клонов из перечисленных в табл. 7. Повторность теста – трехкратная, завершение теста – по истечении одного года.

#### ***Оздоровление растений земляники от вирусов и других патогенов***

Для оздоровления растений земляники от вирусов наиболее целесообразно использовать сочетание методов сушевоздушной термотерапии (37-38°C на протяжении 30-40 дней) и культуры *in vitro* (меристемы величиной 0,3-0,5 мм из почек или кончиков усов).

При культивировании *in vitro* инициальных эксплантов не более 0,5 мм возможно получение регенерантов, свободных от нематод, земляничного прозрачного клеща, грибных и бактериальных возбудителей болезней.

Растения, получаемые в результате термотерапии или культуры *in vitro*, следует рассматривать в качестве кандидатов в исходные растения и в обязательном порядке подвергать последующему тестированию.

#### **7.4. Содержание исходных растений**

Исходные растения содержат в горшках с обеззараженной почвой в непроницаемых для тлей вегетационных домиках или в изолированных боксах обогреваемых теплиц. Продолжительность их культивирования – не более одного года. От каждого растения отбирают по десять розеток для создания клона исходного растения при условии, что они будут индивидуально протестированы на наличие *Ph. fragariae* и комплекс вирусов. По пять-восемь розеток от каждого растения отбирают так же, как образцы для тестирования на наличие стеблевой и листовых почковых нематод (методика выявления *Ph. fragariae* и нематод изложена в прил. 5, 6, 7).

Для получения розеток кончики усов от исходного растения прищипывают в отдельные горшки со стерильным субстратом. В целях предотвращения переноса почвенных и корневых патогенов при поливе горшки, в которых укореняют кончики усов, содержат

на более высоком уровне, чем горшки с исходными растениями. После укоренения усы отделяют от исходного родительского растения.

Резервные исходные растения могут содержаться в культуре *in vitro* на питательной среде без гормонов при температуре 2°C в течение трех-четырех лет или в течение более длительного периода с субкультурами через каждые два года с максимальным числом пассажей культивирования, равным 6 (ГОСТ Р 54051-2010). Если такие клоны в дальнейшем используют для размножения, то они должны быть проверены на соответствие сортотипу.

Цветение у исходных растений не допускается. В порядке контроля сортотипа и наличия симптомов позеленения лепестков материал, взятый от исходного растения, может быть допущен к плодоношению на изолированном участке или в отдельном вегетационном домике.

### **7.5. Получение и содержание базисных растений**

Розетки, отобранные от исходных растений, а также регенеранты, полученные путем клонального микроразмножения исходного растения (не более шести субкультивирований), после прохождения цикла необходимого тестирования, проверки на продуктивность и соответствие сорту являются базисными растениями. Их используют для закладки маточников в обогреваемых теплицах, вегетационных домиках или каркасах, покрытых полиэтиленовой пленкой или мелкоячеистой сеткой, с почвой, свободной от нематод – переносчиков вирусов и возбудителей фитофтороза (см. прил. 1, 5).

Растения базисного клона проверяют на наличие *Ph. fragariae*, земляничного прозрачного клеща, стеблевой и листовых-почковых нематод перед отделением розеток, а также симптомов вирусных болезней, с удалением выявленных подозрительных и больных растений. На маточнике осуществляется комплекс мероприятий, препятствующих распространению вредителей и болезней. Продолжительность эксплуатации маточника один год.

Розетки, отобранные от растений базисного клона, идут на закладку маточников сертифицированных клонов в открытом грунте.

### **7.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций**

Потомство базисных клонов тиражируется в питомниках, производящих сертифицированный посадочный материал.

Маточники сертифицированных растений размещают на участках, свободных от нематод-переносчиков вирусов, возбудителей фитофторозов и удаленных на расстояние не менее 1500 м от несертифицированных неплодоносящих насаждений земляники, от плодоносящих промышленных насаждений – не менее 2000 м (Метод. указания «Производство и сертификация посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда в России. Контроль качества. Ч. 1. Ягодные культуры», 2009). Срок эксплуатации маточника один год.

Ежегодно в соответствии с действующим законодательством в оптимальные сроки осуществляется регулярный контроль за происхождением и количеством оздоровленных растений, а также их фитосанитарным состоянием. При соответствии показателей требованиям действующей нормативно-технической документации производителю выдается сертификат качества на выращенную партию посадочного материала с указанием количества рассады по каждому сорту.

Сертифицированные растения (рассада) могут содержаться на один-два месяца перед реализацией в холодильнике или на грядах доращивания, но под тем же контролем, что и за маточником сертифицированных клонов.

**8. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КАРТЫ И РАСЧЕТ  
СЕБЕСТОИМОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ИСХОДНЫХ РАСТЕНИЙ  
ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР**

**Расчет себестоимости получения оздоровленных  
исходных растений яблони и груши (десять растений), руб.**

Виды затрат	Яблоня и груша
Зарплата сотрудников и лаборантов с начислениями	18169
Стоимость исходного растительного материала и индикаторов	400
Оплата электроэнергии	4000
Оплата водоснабжения	210
Стоимость диагностических наборов:	
для ИФА	2400
для ПЦР	6000
Стоимость субстрата (почвенная смесь) и питательной среды	310
Оплата отопления зимней теплицы	400
Стоимость малоценного инвентаря	1710
Амортизационные отчисления	1300
Итого прямых затрат	34899
Накладные расходы (70 %)	24429
Всего затрат	59328
Выход растений категории БК	10
Себестоимость одного исходного растения	5932,8

**Технологическая карта на получение оздоровленных исходных растений яблони и груши**

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>1. Отбор и содержание исходных обеззараживаемых растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,2	-«-	5,0	0,04
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	20	-«-	1500	0,02
Отбор растений – кандидатов в исходные клоны, выкопка их и доставка в теплицу	шт.	20	-«-	Повременная	0,50
Высадка отобранных растений в горшки, обрезка побегов, этикетирование	шт.	20	-«-	200	0,10
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,30
			Старший лаборант	-«-	3,20

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. дни
<i>II. Термотерапия</i>					
Подготовка растений перед установкой в термокамеры (обрезка, подкормка, рыхление и т.д.)	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,13
			Старший лаборант	-«-	0,39
Установка растений в термокамеры и их прогревание в течение 45 дней термотерапии	шт.	20	Научный сотрудник	-«-	0,45
			Старший лаборант	-«-	1,30
<i>III. Культура апикальных меристем</i>					
Введение апикальных меристем в культуру <i>in vitro</i> , регенерация микрорастений	шт.	30	Научный сотрудник	Повременная	0,70
Микроразмножение и укоренение	шт.	50	То же	-«-	2,30
Адаптация пробирочных растений к нестерильным условиям в зимней теплице	шт.	50	-«-	-«-	0,35
<i>IV. Выращивание адаптированных растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. дни
Дезинфекция почвенной смеси путем автоклавирования	т	0,2	Старший лаборант	0,3	0,67
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	50	То же	1500	0,03
Пересадка адаптированных растений в горшки	шт.	50	-«-	200	0,25
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	50	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	-«-	4,0
<i>V. Выращивание индикаторов для прививки после термотерапии</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,2	-«-	5,0	0,04
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	20	-«-	1500	0,02
Отбор древесных индикаторов и посадка в горшки	шт.	20	-«-	Повременная	0,50



Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. дни
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,30
<i>VI. Тестирование</i>					
Индексация оздоровленных клонов на растениях-индикаторах методом двойной окулировки	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	1,5
			Старший лаборант	-«-	1,5
Уход и наблюдение за индикаторными растениями в течение 15 месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	-«-	2,5
			Старший лаборант	-«-	3,5
Двукратное тестирование оздоравливаемых растений методом ИФА	шт.	10	-«-	-«-	0,85
					0,39
Тестирование методом ПЦР	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	2,00
Всего затрат					28,66

**Расчёт себестоимости получения оздоровленных исходных растений  
вишни и сливы (десять растений), руб.**

Виды затрат	Вишня и слива
Зарплата сотрудников и лаборантов с начислениями	16739
Стоимость исходного растительного материала и индикаторов	1000
Оплата электроэнергии	3800
Оплата водоснабжения	200
Стоимость диагностических наборов:	
для ИФА	3000
для ПЦР	7500
Стоимость субстрата (почвенная смесь) и питательной среды	310
Оплата отопления зимней теплицы	400
Стоимость малоценного инвентаря	1500
Амортизационные отчисления	1300
Итого прямые затраты	35749
Накладные расходы (70 %)	25024
Всего затрат	60773
Выход растений категории БК	10
Себестоимость одного исходного растения	6077,30

**Технологическая карта на получение оздоровленных  
исходных растений вишни и сливы**

Наименование этапов и перечень работ	Единица измере- ния	Объ- ем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>I. Отбор и содержание исходных обеззараживаемых растений</i>					
Просеивание торфяно- го субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвен- ной смеси фунгицида- ми	т	0,2	-«-	5,0	0,04
Заправка готовой сме- сью горшков и уста- новка их на стеллажи	шт.	20	-«-	1500	0,02
Отбор исходных рас- тений, выкопка их и доставка в теплицу	шт.	20	-«-	Повре- менная	0,50
Высадка отобранных растений в горшки, обрезка побегов, кор- ней, этикетирование	шт.	20	-«-	200	0,10
Уход и наблюдение за высаженными расте- ниями в течение семи месяцев	шт.	20	Научный сотрудник	Повре- менная	0,30
			Старший лаборант	То же	3,20
<i>II. Термотерапия</i>					
Подготовка растений перед установкой в тер- мокамеры (обрезка, под- кормка, рыхление и т.д.)	шт.	20	Научный сотрудник	Повре- менная	0,13
			Старший лаборант	То же	0,39
Установка растений в термокамеры и их про- гревание в течение 30 дней термотерапии	шт.	20	Научный сотрудник	-«-	0,30
			Старший лаборант	-«-	0,90

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>III. Культура апикальных меристем</i>					
Введение апикальных меристем в культуру <i>in vitro</i> , регенерация микрорастений	шт.	30	Научный сотрудник	Повременная	0,70
Микроразмножение и укоренение	шт	50	То же	То же	1,70
Адаптация пробирочных растений к нестерильным условиям в зимней теплице	шт.	50	-«-	-«-	0,20
<i>IV. Выращивание адаптированных растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси путем автоклавирования	т	0,2	-«-	0,3	0,67
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	50	-«-	1500	0,03
Пересадка адаптированных растений в горшки	шт.	50	-«-	200	0,25
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	50	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	4,0

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>V. Размножение растений-индикаторов методом зеленого черенкования и их выращивание</i>					
Заготовка черенков от маточных растений-индикаторов	шт.	200	Старший лаборант	Повременная	0,3
Подготовка теплицы для зеленого черенкования с накрытием пленкой	шт.	1	Сельскохозяйственный рабочий	240	0,26
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	м <sup>3</sup>	0,4	Старший лаборант	4,0	0,10
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	м <sup>3</sup>	0,4	То же	6,3	0,06
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	м <sup>3</sup>	0,4	-«-	5,0	0,08
Нарезка и высадка черенков в грунт	шт.	200	-«-	1500	0,13
Уход и наблюдение за высаженными черенками в течение трех месяцев	шт.	200	Научный сотрудник	Повременная	0,50
			Старший лаборант	То же	0,80
Выкопка черенков и закладка на хранение	шт.	100	То же	-«-	0,36
<i>VI. Тестирование</i>					
Индексация оздоровленных клонов на растениях-индикаторах	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	1,5
			Старший лаборант	То же	1,5
Уход и наблюдение за индикаторными растениями в течение 15 месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	-«-	2,5
			Старший лаборант	-«-	3,5

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
Двукратное тестирование оздоравливаемых растений методом ИФА	шт.	10	Научный сотрудник	Повременная	0,85
			Старший лаборант	То же	0,39
Тестирование методом ПЦР	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	2,00
Всего затрат					28,98

**Расчёт себестоимости получения оздоровленных исходных растений смородины и крыжовника (десять растений), руб.**

Виды затрат	Смородина и крыжовник
Зарплата сотрудников, лаборантов и сельскохозяйственных рабочих с начислениями (38,5%)	15528
Стоимость исходного растительного материала и индикаторов	500
Оплата электроэнергии	3000
Оплата водоснабжения	180
Стоимость диагностических наборов: для ИФА	2400
для ПЦР	7500
Стоимость субстрата (почвенная смесь) и питательной среды	310
Оплата отопления зимней теплицы	400
Стоимость малоценного инвентаря	1500
Амортизационные отчисления	1300
Итого прямые затраты	32618
Накладные расходы (70 %)	22833
Всего затрат	55451
Выход растений	10
Себестоимость одного исходного растения	5545,1

**Технологическая карта на получение оздоровленных  
исходных растений смородины и крыжовника**

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. -дни
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,2	-«-	5,0	0,04
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	20	-«-	1500	0,02
Отбор исходных растений, выкопка их и доставка в теплицу	шт.	20	-«-	Повременная	0,5
Высадка отобранных растений в горшки, обрезка побегов, корней, этикетирование	шт.	20	-«-	200	0,10
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	2,8
<i>II. Термокамерная</i>					
Подготовка растений перед установкой в термокамеры (обрезка, подкормка, рыхление и т.д.)	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,1
			Старший лаборант	То же	0,3

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. -дни
Установка растений в термокамеры и их прогревание в течение 30 дней термотерапии	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,3
			Старший лаборант	То же	0,9
<i>III. Культура апикальных меристем</i>					
Введение апикальных меристем в культуру <i>in vitro</i> , регенерация микро-растений	шт.	30	Научный сотрудник	Повременная	0,70
Микроразмножение и укоренение	шт	50	То же	То же	1,70
Адаптация пробирочных растений к нестерильным условиям в зимней теплице	шт.	50	-«-	-«-	0,20
<i>IV. Выращивание адаптированных растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси путем автоклавирования	т	0,2	-«-	0,3	0,67
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	50	-«-	1500	0,03
Пересадка адаптированных растений в горшки	шт.	50	-«-	200	0,25



Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. -дни
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	50	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	4,0
<i>V. Размножение и выращивание растений-индикаторов</i>					
Заготовка черенков от маточных растений-индикаторов	шт.	100	Старший лаборант	Повременная	0,3
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,4	То же	2,4	0,17
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,4	-«-	6,3	0,06
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,4	-«-	5,0	0,08
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	100	-«-	1500	0,07
Высадка черенков растений- индикаторов в горшки	шт.	100	-«-	Повременная	0,36
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	То же	0,20
			Старший лаборант	-«-	3,00
<i>VI. Тестирование</i>					
Индексация путем прививки щитком коры оздоровленных клонов на растениях-индикаторах	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	1,5
			Старший лаборант	То же	1,5

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел. -дни
Уход и наблюдение за индикаторными растениями в течение 9 месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	3,5
Двукратное тестирование оздоравливаемых растений методом ИФА	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	0,85
			Старший лаборант	-«-	0,39
Тестирование методом ПЦР	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	2,00
Всего затрат					28,39

**Расчёт себестоимости получения оздоровленных исходных растений малины и ежевики (десять растений), руб.**

Виды затрат	Малина и ежевика
Зарплата сотрудников, лаборантов и сельскохозяйственных рабочих с начислениями (38,5%)	15496
Стоимость исходного растительного материала и индикаторов	1000
Оплата электроэнергии	3000
Оплата водоснабжения	180
Стоимость диагностических наборов:	
для ИФА	3000
для ПЦР	7500
Стоимость субстрата (почвенная смесь)	310
Оплата отопления зимней теплицы	400
Стоимость малоценного инвентаря	1500
Амортизационные отчисления	1300
Итого прямые затраты	33686
Накладные расходы (70%)	23580
Всего затрат	57266
Выход исходных растений	10
Себестоимость одного исходного растения	5726,60

**Технологическая карта на получение оздоровленных исходных клонов ежевики и малины**

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>1. Отбор и содержание исходных обеззараживаемых растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,2	-«-	5,0	0,04
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	20	-«-	1500	0,02
Отбор исходных растений, выкопка их и доставка в теплицу	шт.	20	-«-	Повременная	0,5
Высадка отобранных растений в горшки, обрезка побегов, корней, этикетирование	шт.	20	-«-	200	0,10
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев		20	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	2,8

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>II. Термотерапия</i>					
Подготовка растений перед установкой в термокамеры (обрезка, подкормка, рыхление и т.д.)	шт.	20	Научный сотрудник	Поврежденная	0,1
			Старший лаборант	То же	0,3
Установка растений в термокамеры и их прогревание в течение 30 дней термотерапии	шт.	20	Научный сотрудник	-«-	0,3
			Старший лаборант	-«-	0,9
<i>III. Культура апикальных меристем</i>					
Введение апикальных меристем в культуру <i>in vitro</i> , регенерация микрорастений	шт.	30	Научный сотрудник	Поврежденная	0,70
Микроразмножение и укоренение	шт.	50	То же	То же	1,70
Адаптация пробирочных растений к нестерильным условиям в зимней теплице	шт.	50	-«-	-«-	0,20
<i>IV. Выращивание адаптированных растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
Дезинфекция почвенной смеси путем автоклавирования	т	0,2	Старший лаборант	0,3	0,67
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	50	То же	1500	0,03
Пересадка адаптированных растений в горшки	шт.	50	-«-	200	0,25
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	50	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	4,0
<i>V. Размножение и выращивание растений-индикаторов</i>					
Заготовка черенков от маточных растений-индикаторов	шт.	100	Старший лаборант	Повременная	0,3
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,4	То же	2,4	0,17
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,4	-«-	6,3	0,06
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,4	-«-	5,0	0,08
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	100	-«-	1500	0,07
Высадка черенков растений-индикаторов в горшки	шт.	100	-«-	Повременная	0,36

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	0,20
			Старший лаборант	То же	3,00
<i>VI. Тестирование</i>					
Индексация методом «бутылочного теста» оздоровленных клонов на растениях-индикаторах	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	1,5
			Старший лаборант	То же	1,5
Уход и наблюдение за индикаторными растениями в течение девяти месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	-«-	0,5
			Старший лаборант	-«-	3,5
Двукратное тестирование оздоравливаемых растений методом ИФА	шт.	10	-«-	-«-	0,85
					0,39
Тестирование методом ПЦР	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	2,00
Всего затрат					28,31

**Расчёт себестоимости получения оздоровленных исходных растений  
земляники (десять растений), руб.**

Виды затрат	Земляника
Зарплата сотрудников, лаборантов и сельскохозяйственных рабочих с начислениями (38,5%)	16298
Стоимость исходного растительного материала и индикаторов	250
Оплата электроэнергии	2800
Оплата водоснабжения	150
Стоимость диагностических наборов: для ИФА	2400
для ПЦР	10500
Стоимость субстрата (почвенная смесь) и питательной среды	240
Оплата отопления зимней теплицы	400
Стоимость малоценного инвентаря	1500
Амортизационные отчисления	1000
Итого прямые затраты	35538
Накладные расходы (70%)	24877
Всего затрат	60415
Выход исходных растений	10
Себестоимость одного исходного растения	6041,5

**Технологическая карта на получение исходных  
оздоровленных растений земляники**

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
<i>1. Отбор и содержание исходных обеззараживаемых растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,2	Старший лаборант	5	0,04
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	20	То же	1500	0,02
Отбор исходных растений, выкопка их и доставка в теплицу	шт.	20	-«-	Повременная	0,5
Высадка отобранных растений в горшки, обрезка побегов, этикетирование	шт.	20	-«-	200	0,10
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	2,8
<i>II. Термотерапия</i>					
Подготовка растений перед установкой в термокамеры (обрезка, подкормка, рыхление и т.д.)	шт.	20	Научный сотрудник	Повременная	0,1
			Старший лаборант	То же	0,3
Установка растений в термокамеры и их прогревание в течение 30 дней термотерапии	шт.	20	Научный сотрудник	-«-	0,3
			Старший лаборант	-«-	0,9
<i>III. Культура апикальных меристем</i>					
Введение апикальных меристем в культуру <i>in vitro</i> , регенерация микрорастений	шт.	30	Научный сотрудник	Повременная	0,70
Микроразмножение и укоренение	шт.	50	То же	То же	1,70



Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
Адаптация пробирочных растений к нестерильным условиям в зимней теплице	шт.	50	Научный сотрудник	Повременная	0,20
<i>IV. Выращивание адаптированных растений</i>					
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,2	Старший лаборант	2,4	0,08
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,2	То же	6,3	0,03
Дезинфекция почвенной смеси путем автоклавирования	т	0,2	-«-	0,3	0,67
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	50	-«-	1500	0,03
Пересадка адаптированных растений в горшки	шт.	50	-«-	200	0,25
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	50	Научный сотрудник	Повременная	0,5
			Старший лаборант	То же	4,0
<i>V. Размножение и выращивание растений-индикаторов</i>					
Высадка маточных растений-индикаторов и уход за ними	шт.	20	Старший лаборант	Повременная	2,3
Просеивание торфяного субстрата и песка через грохот	т	0,4	То же	2,4	0,17
Составление смеси из торфяного субстрата и песка с двукратным перелопачиванием	т	0,4	-«-	6,3	0,06

Продолжение

Наименование этапов и перечень работ	Единица измерения	Объем работ	Исполнитель	Нормы выработки	Затраты труда, чел.-дни
Дезинфекция почвенной смеси фунгицидами	т	0,4	Старший лаборант	5,0	0,08
Заправка готовой смесью горшков и установка их на стеллажи	шт.	100	То же	1500	0,07
Высадка растений-индикаторов в горшки	шт.	100	-«-	Повременная	0,36
Уход и наблюдение за высаженными растениями в течение семи месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	То же	0,20
			Старший лаборант	-«-	3,00
<i>VI. Тестирование</i>					
Индексация оздоровленных клонов на растениях-индикаторах	шт.	100	Научный сотрудник	Повременная	1,5
			Старший лаборант	То же	1,5
Уход и наблюдение за индикаторными растениями в течение девяти месяцев	шт.	100	Научный сотрудник	-«-	0,5
			Старший лаборант	-«-	3,5
Двукратное тестирование оздоравливаемых растений методом ИФА	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	0,85
			Старший лаборант	-«-	0,39
Тестирование методом ПЦР	шт.	10	Научный сотрудник	-«-	2,00
Всего затрат					30,31

## ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 53044-2008 Материал плодовых и ягодных культур посадочный. Термины и определения. – М.: Стандартиформ, 2009. – 11 с.
2. ГОСТ Р 53135-2008 Посадочный материал плодовых, ягодных, субтропических, орехоплодных, цитрусовых культур и чая. Технические условия. – М.: Стандартиформ, 2009. – 41 с.
3. ГОСТ Р 54051-2010 Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия. – М.: Стандартиформ, 2011. – 12 с.
4. Производство и сертификация посадочного материала ягодных культур и винограда в России. Контроль качества. Ягодные культуры (метод. указания). – М.: ВСТИСП, 2009. – Ч. 1. – 164 с.
5. Технология получения сертифицированного посадочного материала плодовых и ягодных культур: методические указания / А.А. Борисова, М.Т. Упадышев, Н.Н. Мельникова и др. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2009. – 84 с.
6. Усовершенствованная система фитосанитарии в питомниководстве (метод. указания) / О.З. Метлицкий, А.Н. Аристов, С.Е. Головин, А.С. Зейналов и др. – М.: ВСТИСП, 2001. – 155 с.
7. **Упадышев М.Т., Приходько Ю.Н., Петрова А.Д.** и др. Хемотерапия вирусов плодовых и ягодных культур *in vitro*. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2009. – 72 с.
8. OEPP/EPPO Certification scheme for virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks. Parts I to IV // Bulletin OEPP/EPPO, 1991, 21, p. 267-277; 1992, 22, p. 255-263, 265-275, 277-283.
9. OEPP/EPPO Certification scheme № 10. Pathogen-tested material of *Rubus* // Bulletin OEPP/EPPO, 1994. – Vol. 24, № 4. – P. 857-864.
10. OEPP/EPPO Standards. Diagnostic protocols for regulated pests. *Plum pox potyvirus* // Bulletin OEPP/EPPO, 2004. – № 34. – P. 247-256.
11. OEPP/EPPO Standards. Testing method for viruses of fruit trees present in the EPPO region, virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks // Certification Schemes. – 1998. – PM 4/26. – P. 14-22.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

### Методика анализа почвы на наличие нематод-переносчиков вирусов

На участках, отводимых под посадку базисных размножаемых и сертифицированных клонов, необходимо отбирать образцы почвы для проверки на наличие следующих нематод-переносчиков вирусов: *Xiphinema diversicaudatum* (векторы ArMV и SLRSV), *L. elongatus* (векторы RpRSV, TBRV) и *L. attenuatus* (вектор TBRV).

Образцы следует отбирать с глубины 10-30 см лопатой или полуцилиндрическими пробниками с минимальным диаметром 25 мм. Винтовые пробники или буры меньшего диаметра использовать не рекомендуется из-за риска повреждения нематод при отборе проб.

Образцы отбирают по схеме решетки согласно принятым ранее стандартам (I): 20 субобразцов с участка до 0,2 га и 40 субобразцов с участков от 0,2 до 4 га. Другой возможной схемой отбора образцов (более трудоёмкой, но значительно более тщательной) являются разделение участка на субучастки по 0,2 га и отбор по 60 субобразцов на каждом из этих субучастков. Дополнительные образцы следует отбирать из любых живых изгородей, окружающих участок.

Субобразцы объединяют и тщательно перемешивают, после чего отбирают усредненную пробу массой 1-2 кг. Пробу помещают в пакет из полиэтиленовой пленки и снабжают этикеткой. Пробы желательно поместить в темное прохладное место и как можно скорее доставить на анализ.

Выделение нематод из образцов почвы осуществляют методом Флегга (2), который почти не требует применения специального оборудования. Образец почвы осторожно, но тщательно перемешивают, отбирают из него два субобразца объёмом 250 мл каждый, которые помещают в стеклянные цилиндры или банки и смешивают с водой, доводя общий объём суспензии до 500 мл. Почву замачивают в воде в течение 1-3 ч, промывают сквозь сито с ячейками размером 4 мм в 10-литровое ведро, которое заполняют водой почти до верхнего уровня. Тщательно и осторожно перемешивают содержимое ведра, чтобы перевести почву в суспензию, оставляют на 25 с и затем промывают через батарею из трёх сит с ячейками размером 150 мкм. Вновь заполняют ведро водой, повторно перемешивают, отстаивают в течение 15 с и промывают через эту же батарею сит. Собранный на ситах осадок сливают на сито с ячейками 110 мкм. Сито помещают в стеклянную воронку, на раструб которой надет кусочек рези-

нового шланга с пружинным зажимом Мора. Воронку заполняют водой так, чтобы она чуть покрывала осадок на поверхности сита. Через 24 ч, открыв зажим, из воронки сливают 20-25 мл жидкости в пробирку или другой стеклянный сосуд. Каждый образец снабжают этикеткой, которую сначала вкладывают в воронку, а затем переносят в пробирку. Подсчет и идентификацию нематод проводят в специализированных лабораториях.

При необходимости полученный образец консервируется формалином. Для этого пробирки с нематодами помещают на 2-4 мин в водяную баню при 50-55°C и заливают формалином из расчёта одна часть 40%-ного формальдегида на 10-20 частей суспензии нематод.

#### Литература

1. Методические указания по выявлению и учёту паразитических нематод ягодных культур. – М.: Колос, 1975. – 39 с.
2. **Flegg J.J.M.** Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique // Ann. appl. Biol. – 1967. – V. 60.

### **Методика проведения иммуноферментного анализа (ИФА)**

Далее приводится методика наиболее часто используемого для диагностики вирусов сэндвич-варианта ИФА с поликлональными и моноклональными антителами и конъюгатами антител с щелочной фосфатазой в модификациях М. Clark, А. Adams (1977) и С. Flegg, М. Clark (1979).

#### **Проведение теста в модификации М. Clark, А. Adams (1977)**

1. Адсорбция иммуноглобулинов.

В лунки микроплат вносят по 100 мкл иммуноглобулинов, разведенных покрывающим буфером. Микроплаты инкубируют в течение 16-18 ч при 4-6°C. Затем осуществляют трёхкратную промывку лунок: содержимое лунок выливают, микроплаты тщательно стряхивают, заполняют лунки промывающим буфером и оставляют на 3 мин. После последней промывки микроплаты тщательно стряхивают и подсушивают на фильтровальной бумаге.

2. Добавление тестируемых образцов.

В лунки микроплат вносят по 100 мкл сока тестируемого образца (по две лунки на образец), гомогенизированного с экстрагирующим буфером в соотношении 1 г образца на 1,5 мл буфера, микроплаты инкубируют в течение 16-18 ч при 4-6°C. Затем осуществляют процедуру промывки микроплат (четырёхкратно), как описано ранее.

3. Внесение конъюгата.

В лунки микроплат вносят по 100 мкл конъюгата, разведенного экстрагирующим буфером. Микроплаты инкубируют в течение 2 ч при 37°C, затем осуществляют стандартную процедуру их промывки (трехкратно).

4. Внесение субстратного буфера.

В каждую лунку вносят по 100 мкл субстратного буфера с 4-нитрофенилфосфатом. Инкубируют при 25-30°C до появления светло-жёлтой окраски. Результаты реакции оценивают с помощью фотометра при длине волны 405 нм.

#### **Проведение теста в модификации С. Flegg, М. Clark (1979)**

1. Адсорбция иммуноглобулинов осуществляется аналогично описанной выше.

2. Внесение конъюгата и тестируемых образцов.

В лунки микроплат вносят по 100 мкл конъюгата, разведенного экстрагирующим буфером, затем по 100 мкл каждого тестируемого образца

(по две лунки на образец), гомогенизированного с экстрагирующим буфером в соотношении 1:15. Микроплааты инкубируют в течение 16-18 ч при 4-6°C, после чего осуществляют стандартную процедуру их промывки.

3. Внесение субстратного буфера и оценка результатов реакции осуществляются аналогично с модификацией М. Clark, А. Adams (1977).

Целесообразность использования той или иной модификации ИФА, а также оптимальные разведения иммуноглобулинов и конъюгатов должны сообщать фирмы и лаборатории, производящие диагностические наборы. В случае отсутствия этих сведений необходимо провести предварительные эксперименты по подбору оптимальной модификации и разведений реагентов тест-набора.

Состав буферов для ИФА:

1. Покрывающий буфер (рН 9,6):  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – 1,59 г,  $\text{NaHCO}_3$  – 2,93 г,  $\text{NaN}_3$  – 0,2 г в 1 л дистиллированной воды.

2. Промывающий буфер (PBS, рН 7,4):  $\text{NaCl}$  – 8,0 г,  $\text{KC1}$  – 0,2 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$  – 2,9 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,2 г, твин-20 – 0,05 % в 1 л дистиллированной воды.

3. Экстрагирующий буфер (он же буфер для конъюгата). Возможны следующие варианты:

а) промывающий буфер + поливинилпирролидон (ПВП) – 2% + яичный или бычий сывороточный альбумин – 0,2%;

б) промывающий буфер + ПВП (2%) + ДИЕКА (0,01 М);

в) промывающий буфер + ПВП (2%) + магний хлористый (0,005 М).

4. Субстратный буфер (рН 9,8): 97 мл диэтанолamina, 800 мл дистиллированной воды, 0,2 г азида натрия. Доводят 1н соляной кислотой до рН 9,8 и добавляют дистиллированную воду до 1 л.

### Литература

1. **Clark M.F., Adams A.N.** Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses // *J. Gen. Virol.* – 1977. – Vol. 34. – № 3. – P. 475-483.

2. **Flegg C., Clark M.** The detection of apple chlorotic leaf spot virus by a modified procedure of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) // *Ann. appl. biol.* – 1979. – Vol. 91. – P.61-65.

### Методика проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Методика проведения анализа с использованием метода ОТ-ПЦР включает в себя следующие этапы:

- выделение РНК из анализируемого образца;
- обратная транскрипция РНК;
- амплификация специфических фрагментов ДНК;
- детекция продуктов амплификации.

#### Выделение РНК

На данной стадии проведения анализа проба подвергается специальной обработке, в результате которой происходят лизис клеточного материала, удаление белковых и полисахаридных фракций и получение раствора ДНК или РНК, свободного от ингибиторов и готового для дальнейшей амплификации. Выбор методики выделения ДНК (РНК) в основном определяется характером обрабатываемого материала.

1. Берут навеску 0,1 г в соотношении 1:15 с гуанидинтиоцианатным буфером, в который добавляют по 20 мг/образец ГПБК.
2. В промаркированные пробирки (эппендорфы) добавляют по 600 мкл растертого образца + 120 мкл СДС, тщательно перемешивают и термостатируют на термошейкере при 70°C в течение 10 мин.
3. Перемещают пробирки на лед на 5-10 мин.
4. Центрифугируют в течение 10 мин при частоте вращения 13000 мин<sup>-1</sup>.
5. Маркируют необходимое количество чистых пробирок.
6. Отцентрифугированный образец в количестве 300 мкл переносят в чистые пробирки.
7. Добавляют по 300 мкл натрий йода + 150 мкл абсолютного этанола + 50 мкл силики (тщательно перемешанной).
8. При комнатной температуре центрифугируют в течение 20 мин на термошейкере при частоте вращения 1400 мин<sup>-1</sup>.
9. Центрифугируют 1 мин при частоте вращения 6000 мин<sup>-1</sup>.
10. Готовят смесь 1:1 из абсолютного спирта и буфера STE.
11. Промывают вышеуказанной смесью образцы (наносят по 500 мкл смеси), центрифугируют 1 мин при частоте вращения 6000 мин<sup>-1</sup>, надосадочную жидкость сливают.
12. Пункт 11 повторяют.
13. К осадку добавляют 150 мкл воды, перемешивают на вортексе.
14. Термостатируют в течение 4 мин при 70°C.



15. Образцы центрифугируют в течение 5 мин при частоте вращения 13000 мин<sup>-1</sup>.

16. Образец РНК готов для проведения обратной транскрипции.

#### **Обратная транскрипция РНК**

Обратную транскрипцию проводят с применением готовых наборов, предложенных компанией «Агродиагностика». Для этого готовят ОТ-смесь: в отдельной пробирке смешивают 2,0 x (N+1) мкл ОТ-буфера; 1,0 x (N+1) мкл ОТ-дНТФ и 0,5 x (N+1) MMLV обратной транскриптазы, где (N +1) – количество анализируемых образцов с запасом на один образец. В промаркированные пробирки по 0,6 мл вносят по 3,5 мкл ОТ-смеси, после чего пробирки переносят в зону пробоподготовки. В пробирки вносят по 16,6 мкл образца, встряхивают на вортексе 3-5 с, осаждают капли кратковременным центрифугированием. Термостатируют пробирки при 40°C в течение 40 мин, затем инактивируют обратную транскриптазу прогреванием при 95°C в течение 10 мин. Далее осаждают капли кратковременным центрифугированием. Полученный образец кДНК готов к внесению в реакционную смесь для постановки ПЦР.

#### **Аmplификация специфических фрагментов ДНК**

На данной стадии происходит накопление коротких специфических фрагментов ДНК в количестве, необходимом для их дальнейшей детекции. В большинстве методик определения специфических фрагментов генома используется так называемый «классический» вариант направленной ПЦР.

Для постановки ПЦР применяют набор реагентов «ПЦР-ядро» компании «Биоком». В необходимое количество промаркированных пробирок вносят по 5 мкл смеси праймеров (концентрация 0,1-0,5 мкМ), 10 мкл ПЦР растворителя, 5 мкл готовой кДНК. В качестве отрицательного контроля следует использовать бидистиллированную воду. Во все пробирки добавляют по 20 мкл минерального масла. Переносят пробирки в термоблок программируемого термостата «Терцик» с выбранной в соответствии с таблицами программой. Далее представлены режимы амплификации для некоторых вирусов.

### Режимы амплификации

Температура	Время	Число циклов
<i>При выполнении ОТ-ПЦР на вирус PPV</i>		
94°C	1 мин 30 с	1
94°C	20 с	5
64°C	5 с	
72°C	1 с	
94°C	1 с	40
64°C	1 с	
72°C	1 с	
10°C	Хранение	-
<i>При выполнении ОТ-ПЦР на вирус ASGV</i>		
94°C	2 мин	1
94°C	30 с	35
60°C	45 с	
72°C	1 мин	
10°C	Хранение	-
<i>При выполнении ОТ-ПЦР на вирус ACLSV</i>		
92°C	5 мин	1
92°C	20 с	40
52°C	20 с	
72°C	40 с	
10°C	Хранение	-

### Детекция продуктов амплификации

В большинстве методик на данном этапе проводится разделение смеси продуктов амплификации, полученной на второй стадии, методом горизонтального электрофореза в агарозном геле.

Для приготовления агарозного геля в буфер TBE добавляют 1,5-2% агарозы и помещают на 2-3 мин в микроволновую печь для растворения агарозы. После охлаждения агарозного геля до 50-60°C в него добавляют 2,5 мкл (в расчете на 50 мл геля) раствора бромистого этидия, образующего с двухцепочечными фрагментами ДНК прочные соединения. Гель заливают на подложку в камеру для электрофореза, в которую предварительно устанавливают формирователь лунок. После застывания геля в камеру заливают буфер TBE так, чтобы он покрыл гель сверху на 2-3 мм. Наносят образцы в количестве 5 мкл в лунки. Дополнительно в лунки наносят отрицательный и положительный контроль, а также маркер молеку-

лярных масс. Осуществляют электрофорез при режиме 100 В, 200 мА в течение 15 мин. Помещают гель на стекло трансиллюминатора. Соединения бромистого этидия с фрагментами ДНК под действием УФ-облучения способны флуоресцировать, что регистрируется в виде оранжево-красных светящихся полос на трансиллюминаторе и фиксируется с помощью видеосистемы или цифрового фотоаппарата.

#### Литература

1. **Упадышев М.Т.** и др. Диагностика вирусов семечковых и косточковых культур методами ИФА и ПЦР. – М.: ВСТИСП, 2008. – 35 с.
2. **Menzel W., Jelkmann W., Maiss E.** Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays of plant mRNA as internal control // J. Virol. Meth. – 2002. – Vol. 99. – P. 81-92.
3. **Rwahnih Al M., Turturo C., Minafra A.** et al. Molecular variability of *Apple chlorotic leaf spot virus* in different hosts and geographical regions // J. Plant Pathol. – 2004. – Vol. 86, № 2. – P. 117-122.

**Методика тепличного теста на травянистых растениях-индикаторах**

Для проведения теста растения-индикаторы выращивают в зимних теплицах в сосудах с простерилизованной почвой. Индикаторы *Chenopodium quinoa* и *C. foetidum* инокулируют в возрасте четырех-шести листьев, *Nicotiana chlevelandii* – трех-четырёх, *Cucumis sativus* – в стадии семядолей до распускания первого листа. Перед инокуляцией и сразу после неё растения в течение суток целесообразно содержать в темноте. Для тестирования одного образца необходимо использовать пять растений-индикаторов, дополнительно одно контрольное растение обрабатывают дистиллированной водой. Растительный материал гомогенизируют в соотношении 1:5 – 1:6 с экстрагирующим буфером в ступке. Сок отжимают через три-четыре слоя стерильной марли и втирают с помощью стеклянного шпателя, марли или руки в предварительно опылённые карборундом листья индикаторов. После инокуляции остатки сока смывают с листьев дистиллированной водой. Экстрагирующий буфер и ступки перед использованием необходимо охладить до 2-4°C.

Для проведения теста рекомендуется использовать следующие экстрагирующие буферы:

1. Ягодные кустарники и земляника (тест-органы – молодые листья и цветки):

- 2%-ный водный раствор никотин-основания;
- 2%-ный раствор поливинилпирролидона (ПВП) в 0,02-0,05 М фосфатном буфере, рН 7,4-7,6.

2. Семечковые культуры (тест-органы: цветки или камбий):

- 0,01 М трис/НСl буфер, рН 7,5 (или 0,1 М боратный буфер, рН 9,0) + MgSO<sub>4</sub> (0,005М) + Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (0,1%) + аскорбиновая кислота (0,1%) + никотин-основание (1,0%).

3. Косточковые и семечковые культуры (тест-органы – молодые листья):

- 0,03 М фосфатный буфер, рН 8,5 + ДИЕКА (0,015 М) + дифенилди-тиомочевина (0,015 М)+ кофеин (0,03 М);
- 0,02 М Гепес-буфер, рН 8,0 + ПВП (1%);
- 0,02 М калийфосфатный буфер, рН 8,0 + ДИЕКА (0,014 М) + никотин-основание (2,5%) + полиэтиленгликоль (2%) + меркаптоэтанол (0,02 М) + кофеин (0,4).

Оптимальная температура воздуха для проведения теста 18-22°C, продолжительность теста 25-30 дней.

**Минеральный состав питательных сред,  
наиболее часто используемых для клонального микроразмножения  
плодовых и ягодных культур**

Компоненты	Питательная среда, мг/л				
	Мура- сиге- Скуга	WPM	Ли и де Фоссарда	Андер- сона	Пиерика
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650	400	800	400	206
$\text{KN0}_3$	1900	-	1011	480	950
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	-	386	-	-	-
$\text{Mg SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370	370	370	370	185
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440	96	294	440	220
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170	170	-	-	85
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	-	-	63,9	-	-
$\text{K}_2\text{SO}_4$	-	990	-	-	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	-	-	156	380	-
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	22,3	12,1	22,3	22,3
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	8,6	5,7	8,6	8,6
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6,2	6,2	3,1	6,2	6,2
KI	0,83	-	0,42	0,3	0,83
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,25	0,025	0,025	0,025
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	-	0,12	0,025	0,025
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,8	27,8	13,9	55,7	27,8
$\text{Na}_2\text{ЭДТА} \times 2\text{H}_2\text{O}$	37,3	37,3	18,6	74,5	37,3

Согласно ГОСТ Р 54051-2010 установлено следующее максимальное число пассажей культивирования: семечковые культуры – 12, косточковые – 10, ягодные кустарники – 8, земляника – 6.

**Методика выявления *Phytophthora fragariae*, *P. cactorum***

*P. fragariae* выявляют весной, используя тест-метод Дункана (1). С тестируемых растений отбирают кончики корней длиной 2-2,5 см и смешивают их с торфо-песчаной смесью (торф + песок в соотношении 3:1). Смесью помещают в пластиковые горшки Ø 10-12 см, в каждый горшок высаживают по одному растению *Fragaria vesca* var. *Semperflorens* сорта Барон Солемахер или *F. vesca* ИС-5.

Перед посадкой с этих растений удаляют все сердечки (кроме одного) и старые листья. Горшки помещают на стеллаж, оборудованный поддоном для сбора дренажной воды из горшков с целью минимализации возможного распространения инфекции. Контрольные растения выращивают в чистом субстрате и размещают рендомизированно среди тест-растений. После пяти недель корни каждого ловчего растения анализируют на наличие типичных симптомов фитофтороза (покраснение центрального цилиндра корня) и ооспор возбудителя.

Выявление *P. cactorum* проводят по следующей методике (2). С каждого тестируемого растения отбирают по три центральных листочка, которые помещают в чашки Петри и покрывают водой или стерильной почвой. Листья инкубируют на свету при комнатной температуре (20-25°C) и ежедневно в течение трех дней анализируют на наличие спорангиев гриба. Для выявления *P. fragariae* var. *rubi*, *P. cactorum* из почвы рекомендуется использовать разработанные во ВСТИСП методы биоприманок (3, 4).

Диагностику почвы на наличие *P. fragariae* var. *rubi* осуществляют по следующей методике (3). Образец тестируемой почвы массой 20-30 г помещают в чашку Петри Ø 9 см, выравнивают на дне чашки и заливают водой таким образом, чтобы вода покрывала анализируемую почву слоем 10 мм. С поверхности воды удаляют органическую фракцию почвы и помещают молодые листья малины, малино-ежевичных гибридов или ежевики так, чтобы они касались воды верхней стороной, а не тонули. После пяти дней инкубации на рассеянном свету при 17-19°C листья приманки просматривают на наличие некрозов. После того, как некротизированными оказывается 25-30% площади листьев, их просматривают под микроскопом на наличие ооспор *P. fragariae* var. *rubi*.

Для диагностики почвы на наличие *P. cactorum* в качестве приманки используют лепестки цветков различных растений: земляники лесной и садовой, вишни, сливы, яблони, груши, малины, калины, спиреи японской (4). В чашку Петри помещают образец тестируемой почвы массой 20-30 г и равномерно распределяют её по дну. Затем наливают воду таким образом, чтобы она покрывала почву слоем 2-3 мм. На поверхность воды по-

мешают лепестки приманки и инкубируют в течение трех дней на свету при комнатной температуре. После развития на лепестках некрозов их анализируют под микроскопом на наличие зооспорангиев гриба.

#### Литература

1. **Dunkan J.M.** A technique for detecting red stele (*Phytophthora fragariae*) infection of strawberry stocks before planting // Plant Disease. – 1980. – Vol. 64. – P. 1023-1025.
2. Pathogen-tested strawberry. Certification scheme N 11 OEPP // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. – 1994. – Vol. 24. – P. 875-889.
3. **Головин С.Е.** Фитофторозная гниль корней малины: причины возникновения, диагностика и меры борьбы // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ ВСТИСП. – 1995. – Т. II. – С. 203-209.
4. **Дроздовский Э.М., Барбатунова-Корнацкая Г.А., Острейко С.А.** Удобный способ выделения фитофторовых грибов из почвы // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ ВСТИСП. - 1994. - С. 110 - 115.

### **Методика выделения нематод из растений земляники**

Анализ проводят по ранее апробированной в России методике (1). Зелёные части растений земляники (почки, усы, цветоносы, листья) измельчают скальпелем или ножницами на кусочки длиной 10-15 мм. После перемешивания отбирают навески массой 5-10 г и рассыпают их тонким слоем на плоские металлические или пластиковые сита Ø 10-12 см с ячейками размером 0,5-2 мм. Сито со всем содержимым помещают в стеклянную или полиэтиленовую воронку Ø12-15 см, на раструб которой надет кусочек резинового шланга длиной 10-15 см с пружинным зажимом Мора на конце. Воронку заливают водой так, чтобы она покрывала растительную массу на сите. Через 48 ч, открыв зажим, из воронки сливают 15-20 мл жидкости в пробирку или другой стеклянный сосуд. Подсчет и идентификацию нематод проводят в специализированных лабораториях.

При необходимости полученный образец консервируют формалином. Для этого пробирки с нематодами помещают на 2-4 мин в водяную баню при 50-55°C и заливают формалином из расчёта одна часть 40%-ного формальдегида на 10-20 частей суспензии нематод.

### **Литература**

Методические указания по выявлению и учёту паразитических нематод ягодных культур. – М.: Колос, 1975. – 39 с.



## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	3
1. Термины и определения .....	4
2. СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР .....	6
3. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА СЕМЕЧКОВЫХ КУЛЬТУР .....	7
3.1. Вредные организмы, требующие проверки на семечковых культурах для производства оздоровленного посадочного материала.....	7
3.2. Отбор кандидатов в исходные растения.....	8
3.3. Получение исходных растений.....	9
3.4. Содержание исходных растений .....	16
3.5. Получение и содержание базисных растений.....	17
3.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций .....	18
4. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР .....	19
4.1. Вредные организмы, требующие проверки на косточковых культурах для производства оздоровленного посадочного материала.....	19
4.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения.....	20
4.3. Получение исходных растений.....	21
4.4. Содержание исходных растений .....	28
4.5. Получение и содержание базисных растений.....	29
4.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций .....	29
5. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА МАЛИНЫ И ЕЖЕВИКИ... ..	30
5.1. Вредные организмы, требующие проверки на малине и ежевике для производства оздоровленного посадочного материала .....	30
5.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения.....	31
5.3. Получение исходных растений.....	32
5.4. Содержание исходных растений .....	36
5.5. Получение и содержание базисных растений.....	37
5.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций .....	37
6. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА СМОРОДИНЫ И КРЫЖОВНИКА .....	38

6.1. Вредные организмы, требующие проверки на смородине и крыжовнике для производства оздоровленного посадочного материала..	38
6.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения.....	39
6.3. Получение исходных растений.....	40
6.4. Содержание исходных растений .....	43
6.5. Получение и содержание базисных растений.....	44
6.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций.....	45
7. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВ- ЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЗЕМЛЯНИКИ .....	46
7.1. Вредные организмы, требующие проверки на землянике для производства оздоровленного посадочного материала.....	46
7.2. Отбор растений-кандидатов в исходные растения.....	47
7.3. Получение исходных растений.....	48
7.4. Содержание исходных растений .....	50
7.5. Получение и содержание базисных растений.....	51
7.6. Тиражирование сертифицированных растений первой-третьей репродукций.....	52
8. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КАРТЫ И РАСЧЕТ СЕБЕСТОИМОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ИСХОДНЫХ РАСТЕНИЙ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР .....	53
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	76

**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО  
ОТ ВИРУСОВ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ПЛОДОВЫХ  
И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР**

*Методические указания*

Редактор *В.И. Сидорова*  
Художественный редактор *Л.А. Жукова*  
Обложка художника *П.В. Жукова*  
Компьютерная верстка *Т.В. Морозовой*  
Корректор *В.А. Белова*

[fgnu@rosinformagrotech.ru](mailto:fgnu@rosinformagrotech.ru)

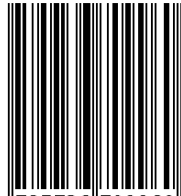
---

Подписано в печать 16.09.2013      Формат 60x84/16  
Печать офсетная    Бумага офсетная    Гарнитура шрифта Times New Roman  
Печ. л. 5,75    Тираж 500 экз.    Изд. заказ 119    Тип. заказ 456

---

Отпечатано в типографии ФГБНУ “Росинформагротех”,  
141261, пос. Правдинский Московской обл., ул. Лесная, 60

ISBN 978-5-7367-0996-0



9 785736 709960