

ОЦЕНКА НА ВИРУСНИЯ СТАТУС И ЧУВСТВИТЕЛНОСТТА НА ЧЕРЕШОВИ СОРТОВЕ КЪМ ЦИЛИНДРОСПОРИОЗА *Blumeriella jaapii* (Rehm)

АНЕЛИЯ БОРИСОВА, МАРИЯ БОРОВИНОВА
Институт по земеделие, Кюстендил

Evaluation of Viral Status and Susceptibility of Sweet Cherry Cultivars to Cherry Leaf Spot *Blumeriella jaapii* (Rehm)

A. Borisova, M. Borovinova

Institute of Agriculture, Kyustendil, Bulgaria

E-mail: 1 - anelija@gmail.com; 2 - mariaborovinova@abv.bg

Abstract

The aim of this study is to assess the viral status and susceptibility to *Blumeriella jaapii* of ten new to the region of Kyustendil cherry cultivars grafted on Gisela 5. The investigations were carried out in demonstration cherry orchard at the Institute of Agriculture – Kyustendil, which was planted in spring of 2003 by direct import from Germany of certified virus-tested /vt/ propagated material. In total 65 cherry trees were tested by DAS-ELISA for infection with *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV), *Plum pox virus* (PPV), *Cherry leaf roll virus* (CLRV), *Raspberry ringspot virus* (RpRSV) and *Apple mosaic virus* (ApMV) in the spring of 2013. For detection of *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) was applied Coctail-ELISA method. The susceptibility of cultivars to *B. jaapii* is determined by counting the degree of infestation of leaves. The rate of attack was calculated using the formula of Townsend, Heuberger. ACLCV was identified in 4.6% of tested samples. No infection of PNRSV, PDV, CLRV, RpRSV, PPV and ApMV in tested cultivars was detected. All studied cherry cultivars were susceptible to fungal diseases cherry leaf spot caused by *B. jaapii*. The highly susceptible cultivar is Kordia.

Key words: cherry, cultivars, viruses, *Blumeriella jaapii*, susceptibility

Използването на чист свободен от вируси посадъчен материал за създаване на нови овощни градини е най-ефективната форма на вирусен контрол при костилковите овощни видове. В европейските държави са разработени т. нар. сертификационни схеми за поддържане и производство на *свободен от вируси* (СВ) и тестван за вируси (ТВ) посадъчен материал (ЕРРО 1991; 1992; 1992а; 1992b). Директиви за организиране на тяхното прилагане са възприети в националните законодателства на всички страни членки на ЕС, включително и на България (Наредба № 81, ДВ, бр. 57 от 2006 г.) При черешата като СВ се определя посадъчният материал, който е свободен от всички известни досега причинители на болести с вирусно и вирусоподобно естество по черешата (ЕРРО, 2000). Изискването за категорията ТВ е посадъчният материал да бъде свободен от вирусите *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV) и *Raspberry ringspot virus* (RRV). Сериозни икономически щети на черешопроизводителите нанася и гъбната болест цилиндроспориоза, която за първи път е установена в България през 1961 г. За опазване на насажденията у нас от тази болест се провеждат от 2 до 5 пръскания в зависимост от метеорологичните условия през годината и чувствителността на отглежданите сортове (Величкова, 1975; Георгиев и др., 2007). Jenser, Véghelyi (2003) – по Holb (2009) и Holb, Veisz, 2005 – по Holb (2009) съобщават, че за условията на Унгария са необходими от 5 до 7 фунгицидни пръскания за периода от „окапване на

венчелистчетата” до окапване на листата през есента. Броят на пръсканията срещу *Blumeriella jaapii* може да се намали чрез засаждане на устойчиви или слабо чувствителни на болестта черешови сортове. Данните от проведени проучвания върху чувствителността на черешовите сортове към *B. jaapii* показват, че сортовете се различават значително по чувствителността си към патогена (Боровинова, Христов, 1996; Blažková, 2004; Ostojic et al., 2010; Schuster, 2004; Schuster, Tobutt 2004; Király, Szentpéteri, 2006; Christov et al., 2008). Според Janes, Kahu (2000) при черешата няма напълно устойчив сорт – по Holb (2009). Има съобщения за редица сортове като Merton premier, Linda, Germersdof, Вик, които са много слабо чувствителни на цилиндроспориоза и могат да се отглеждат с по-малък брой пръскания (Király, Szentpéteri, 2006; Георгиев и др., 2007; Ostojic et al., 2010).

Целта на настоящето изследване беше да се направи оценка на вирусния статус и чувствителността на нови за района на Кюстендил черешови сортове към *B. jaapii*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са проведени в демонстрационно черешово насаждение на територията на Институт по земеделие в Кюстендил, създадено с финансовата помощ на проект на GTZ № 03.2160.4-001.00 „Насърчаване на овощарството и лозарството в България и на планински регион Ловеч” (проект „Фамад”). Градината е създадена през пролетта на 2003 г. чрез директен внос от Германия на серти-

Таблица 1. Диагностицирани вируси чрез DAS-ELISA метода в изследваната градина
Table 1. Tested viruses by DAS-ELISA method in the investigated orchard

Сорт/подложка	Проби, брой			Инфекция						
	тести- рани	инфек- тирани	%	PNRSV	PDV	ACLSV	ApMV	RpRSV	PPV	CLRV
Регина/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Съмит/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Сънбърст/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Корализе/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Каталин/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Намаре/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Хеделфингелска/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Хеделфингелска/Максма 14	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Мерчант/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Кордия/Гизела 5	5	3	60	0	0	3	0	0	0	0
Напруми/Гизела 5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Бигаро Бюрла/Максма 14	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Кордия/Максма 14	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общо	65	3	4,6	0	0	3	0	0	0	0

Таблица 2. Инфекциозни периоди на *B. jaarpil* през периода 2010 – 2012 г.
Table 2. Periods of infection of *B. jaarpil* during 2010 – 2012

Година	Месец	Инфек- циозни периоди, общо	Степен на инфекция, брой		
			слаба	средна	силна
2010	IV	1	-	1	-
	V	6	2	1	3
	VI	6	2	1	3
	VII	4	1	1	2
	VIII	2	-	1	1
Общо	19	5	5	9	
2011	IV	1	1	-	-
	V	4	-	3	1
	VI	5	3	2	-
	VII	4	2	-	2
	VIII	2	1	-	1
	Общо	16	7	5	4
	IX	2	-	1	1
Общо	18	7	6	5	
2012	IV	2	-	1	1
	V	9	4	3	2
	VI	6	3	3	-
	VII	1	-	1	-
	VIII	2	-	2	-
	Общо	20	7	10	3
	IX	3	1	1	1
Общо	23	8	11	4	

фициран *тестван за вируси* (ТВ) посадъчен материал. Обект на изследване са дърветата от сортовете Регина, Съмит, Сънбърст, Корализе, Каталин, Намаре, Хеделфингенска, Мерчант, Кордия и Напруми, присадени върху подложката Гизела 5 и Бигаро Бюрла, Хеделфингенска и Кордия, присадени върху Максма 14. Дърветата са засадени на разстояние 4 x 2,50 m. Почвената повърхност се поддържа в черна угар чрез периодични почвообработки. Изградена е система за капково напояване.

Серологични анализи. Обект на серологичен анализ са 65 черешови дървета от посочените в табл. 1 сортоподложкови комбинации. Материалът за лабораторния анализ е вземан през пролетта на 2013 г. от листа във фенофаза „разпукване на листната пъпка” от всяко изследвано дърво за тестване на вирусите PNRSV (Prunus necrotic ringspot virus), PDV (Prune dwarf virus), CLRV (Cherry leaf roll virus), RpRSV (Raspberrу ringspot virus), ACLSV (Apple chlorotic leaf spot virus) и ApMV (Apple mosaic virus). Пробите за тестване на PPV (Plum rox virus) са събирани по-късно при пълното формиране на младите листа. Серологичните тестове са проведени чрез DAS –ELISA метод по Clark, Adams (1977) за вирусите PNRSV, PDV, CLRV, RpRSV, PPV и ApMV. Използвани са специфични за вирусите китове (гамаглоблин IgG, алкално-фосфатазен IgG конюгат), закупени от немската фирма Loewe Phytodiagnostica GmbH. При тестването на ACLSV е приложен Cocktail – ELISA метод (Flegg, Clark, 1979) с китове на фирма Loewe.

Отчитания за степента на нападение от *B. jaarpil*. Чувствителността на сортовете към *B. jaarpil* е определена чрез отчитания за степента на нападение на листата, провеждани през периода 28. VIII – 17. IX в продължение на три последователни години (2010 – 2012). За целта от всеки сорт, присаден на Гизела 5 са отчитани по 200 листа, взети от по 4 дървета. Степента на нападение е изчислена по формулата на Townsend, Heuberger (Kremer, Unterstenhofer, 1967). Данните за чувствителността на сортовете към цилиндроспориоза са обработени по метода на дисперсионния анализ за установяване статистическата значимост на установените разлики (Манева, 2007).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Вирусен статус

Резултатите от серологичните анализи на сортовете, включени в демонстрационната черешова градина показват, че всички тествани дървета са свободни от вирусите PNRSV, PDV, CLRV, RpRSV, PPV и ApMV с изключение на три дървета Кордия,

Таблица 3. Фунгицидни третирания през периода 2010 – 2012 г.
Table 3. Treatments with fungicides during 2010 – 2012

Брой пръскания						Фунгицид	
2010		2011		2012		Активно вещество	Търговско наименование и концентрация
общо	от тях срещу <i>B. jaarii</i>	общо	от тях срещу <i>B. jaarii</i>	общо	от тях срещу <i>B. jaarii</i>		
2		1		2		Copper hydroxide	Фунгуран ОН 50 ВП 0,4%
		1				Copper hydroxide	Шампион ВП 0,4%
				1	1	Tebuconazol	Фоликур 250 ЕВ 0,075%
						Cineb	Пероцин 75 Б 0,3%
						Chlorothalonil	Банко 500 0,3%
1	1					Dodin	Силит 40 СК 0,15%
2	2	3	3	1	1	Tebuconazol + Trifloxystrobin	Флнт макс ВГ 0,03%
1		1				Cyprodinil	Хорус 50 ВГ 0,045%
6	3	6	3	4	2		

Таблица 4. Степен на нападение от *B. jaarii* на листа на черешови сортове през периода 2010 – 2012 г.
Table 4. Rate of attack of leaves of cherry cultivars by *B. jaarii* during 2010 – 2012

Сорт	Степен на повреда, %			
	2010	2011	2012	средно
Регина	2,9 ---	10,48+++	4,1 ---	5,83 ns
Съмйт	7,9 ---	7,52 +++	5,6 ---	7,01 ns
Съмбърст st	10,8 с	0,96 с	7,8 с	6,52 с
Корализе	7,3 ---	4,32 +	6,0 --	5,87 ns
Каталин	6,3 ---	12,72 +++	5,3 ---	8,11 ++
Намаре	5,3 ---	7,84 +++	5,9 ---	6,35 ns
Хеделфингенска	8,5 --	4,08 +	7,7 ns	6,76 ns
Мерчант	7,8 ---	7,36 +++	7,4 ns	7,52 +
Кордия	12,6 +	16,8 +++	9,2 ++	12,86+++
Напруми	5,5 ---	7,36 +++	5,7 ---	6,19 ns
LSD 0,5	1,449	2,685	1,036	0,988
0,1	1,958	3,598	1,4	1,323
0,01	2,609	4,749	1,865	1,746

присадени на Гизела 5, при които е диагностициран ACLSV (табл. 1). В разсадниците и овощните градини ACLSV се разпространява основно чрез използването на заразен посадъчен материал (калеме и вегетативни подложки). Липсват сведения за пренасяне чрез прашец, семена и достоверни данни за естествени вектори, преносители на вируса (Lister, 1970; Yoshikawa, 2001). Градината е създадена със сертифициран тестван за вируси посадъчен материал внос от Германия. Съобразно немското законодателство сертифициран virus-tested (vt) черешов и вишнев посадъчен материал е материалът, който е свободен от вирусите PDV, PNRSV, RPRSV и Little Cherry Virus (LChV) (Bundesgesetzblatt Jahrgang, 1998). Дърветата са били тествани за четирите вируса и не са тествани за ACLSV, което обяснява наличието на този вирус в трите дървета Кордия още при тяхното засаждане, тъй като не може да бъде осъществена инфекция чрез прашец или вектор преносител.

Общият процент вирусна инфекция в обследваната градина е 4,6%. От предходни наши изследвания (Христов, Борисова, 2002; Milusheva, Borisova, 2004; Christov et al., 2008) е установено наличие на

PDV и PNRSV инфекция в съседни черешови градини. Въпреки че демонстрационната градина се намира в непосредствена близост до тях, инфекцията от преносимите с полен Илар вируси (Gilmer, Way, 1961; Cameron et al., 1973; Amari et al., 2007) не е осъществена при нито едно от тестваните дървета. Ниският процент на обща вирусна инфекция в изследваната градина за 10-годишния период на вегетация показва изключително важната роля на използването на сертифициран материал при създаването на насаждението.

Чувствителност на сортовете към *B. jaarii*

Метеорологичните условия и по-точно валежите, влажността и температурата на въздуха, от стойностите на които се определят инфекциозните периоди за заразяване на листата с *B. jaarii* (Eisensmith, Jones, 1981) са благоприятни и през трите години на изследване. За периода април-август през трите години на опита са регистрирани от 16 до 20 периода със слаба, средна и силна степен на инфекция (табл. 2). През 2010, 2011 и 2012 г. периоди със силна степен на инфекция, след които са провеждани третирания, са съответно 9, 4, 3. За опазване на дърветата от цилиндроспориоза са проведени по 3 третирания през 2010 и 2011 г. и две – през 2012 г. (табл. 3). Последното третиране срещу *B. jaarii* е извършвано 12-15 дни преди беритбата или непосредствено след нея в зависимост от регистрираните инфекциозни периоди. До средата на август листата при всички сортове са много добре опазени от цилиндроспориоза и само по единични листа са наблюдавани симптоми на болестта. След този период също има условия за развитие на патогена и в края на август и началото на септември повредите по листата се увеличават, което дава възможност да се направят отчитания за определяне степента на нападение на листата от *B. jaarii*.

Всички изследвани сортове се нападат от причинителя на цилиндроспориозата и степента им на нападение е от 0,96% при Съмбърст през 2011 г. до 16,8% при Кордия през същата година (табл. 4). През две от годините на изследване и при средната стойност за трите години с най-ниска степен на нападение е сорта Регина. Разликите между степента на нападение на листата на Регина и останалите сорто-

ве са доказани статистически през 2010 и 2012 година. С най-висока степен на нападение и през трите години е сорт Кордия. Разликите между степента на нападение на листата на Кордия и останалите сортове имат висока степен на доказаност.

Получените данни може да се сравнят с тези за сорта Бинг, който е широко застъпен в черешовите насаждения в нашата страна и при дългогодишните наблюдения и отчитания се установи, че този сорт е един от най-силно чувствителните на цилиндроспориоза. При същия брой пръскания степента на нападение на листата на Бинг (отглеждан в друго опитно насаждение) през септември на 2010, 2011 и 2012 г. е съответно 31,52%, 11,36% и 41,3%. При сравняване на тези резултати с получените от проведеното изследване може да се направи заключение, че изследваните нови за района на Кюстендил сортове са от слабо до средно чувствителни на цилиндроспориоза.

ИЗВОДИ

ACLCV е диагностициран при 4,6% от тестираните проби. Вирусите PNRSV, PDV, CLRV, RpRSV, PPV и ArMV не са установени при нито едно от тестираните дървета на десет интродуцирани черешови сорта.

Използването на сертифициран посадъчен материал при създаването на черешови градини е гарант за добър здравен вирусен статус.

Всички десет черешови сорта, интродуцирани и отглеждани в района на Кюстендил, са чувствителни към причинителя на цилиндроспориозата по черешата *V. jaapii*. От проучените сортове с най-висока чувствителен към болестта е сорт Кордия.

ЛИТЕРАТУРА

Боровинова, М., Н. Христов. 1995. Някои биологични и стопански качества и чувствителност към цилиндроспориоза (*Coscomyces hiemalis* Higgins) на десет черешови сорта. Съвременна растителна защита. (Сборник доклади, октомври 1995 г. София), 120-123

Величкова, С. 1975. Цилиндроспориозата – икономически важна болест по черешата и вишњата и борбата с нея. –В: Сб. „Нови технологии в черешопроизводството“, Кюстендил, 251-268

Георгиев, В., Боровинова, М., Колева, А. 2007. Череша, МАТКОМ, София, 351 с.

Манева, С. 2007. Математически модели в растителната защита. Дисертация. ИЗР, Костинброд, 201 с.

Наредба № 81 (ДВ, бр. 57 от 2006 г.) за определяне на условията и въвеждане на списъка с изисквания за здравето състояние на посадъчния материал от овощни видове, който се предлага на пазара на ЕС.

Христов, Н., Борисова, А. 2002. Оценка и перспективи на нови черешови сортове. Сб. доклади от V научнопрактическа конференция с международно участие на младите научни работници и специалисти. Кюстендил, 15 октомври, 2002, 32-35

Amari, K., Burgos, L., Pallás, V., Sánchez-Pina, M. A. 2007. Prunus necrotic ringspot virus early invasion and its effects on apricot pollen grain performance. *Phytopathology*, 97: 892-899

Blaž ková, J. 2004. Resistance to abiotic and biotic stressors in sweet cherry rootstocks and cultivars from the czech republic. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, vol. 12, Special ed.

Bundesgesetzblatt Jahrgang. 1998. Teil I Nr. 36, ausgegeben zu Bonn am 23. Juni 1998, 1322-1353

Cameron, H. R., Milbrath, J. A. and Tate, L. A. 1973. Pollen transmission of Prunus ringspot virus in prune and sour cherry orchards. *Plant Dis. Rep.*, 57: 241-243

Christov, N., Borovinova, M. and Borisova, A. 2008. Results of the study of new sweet cherry cultivars and elites in Kyustendil region, Bulgaria. *Acta Hort. (ISHS)*, 795: 97-102

Clark, M. F., Adams, A. N. 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme – linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, 34: 475-483

Eisensmith, S. P., A. L. Jones. 1981. A model for detecting infection periods of *Coscomyces hiemalis* on sour cherry. *Phytopathology*, 71, 728-732

EPPO. 1991. Certification scheme. Virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks. Part I-Basic scheme and its elaboration. Bulletin 21, 267-277

EPPO. 1992. Certification scheme. Virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks. Part II – Tables of viruses and vectors. Bulletin 21, 255-263

EPPO. 1992a. Certification scheme. Virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks. Part III-Testing methods for viruses of fruit trees present in the EPPO region. Bulletin, 265-275

EPPO. 1992b. Certification scheme. Virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks. Part IV. Technical appendices and tables of contents. Bulletin 22, 277-283

EPPO. 2000. Certification scheme for cherry. PM 4/29 (1) Bulletin 31, 447-462

Flegg, C. L. and Clark, M. F. 1979. The detection of apple chlorotic leafspot virus by a modified procedure of enzyme – linked immunosorbent assay. *Ann. Appl. Biol.*, 91: 61-65

Gilmer, R. M. and Way, R. D. 1961. Pollen transmission of necrotic ringspot and prune dwarf viruses in cherry. *Tidsskr. Planteavl.*, 65:111-117

Holb, I. J. 2009. Some biological features of cherry leaf spot (*Blumeriella jaapii*) with special reference to cultivar susceptibility. *International Journal of Horticultural Science*, 15 (1–2): 91-93

Király, K., Szentpéteri, T. 2006. Blumeriella jaapii (Rehm) v. (Arx) infection of some sweet cherry cultivars in two years with different precipitation conditions. *International Journal of Horticultural Science*, 12 (3): 37-39

Kremer, Fr., Unterstenhofer, G. 1967. De l' emploi de la metode de Townsend et Heuberger dans l'interpretation de results d'essais phytosanitaires. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer*, 4: 625-628

Lister, R. M. 1970. Apple chlorotic leaf spot virus. C.M.I./A.A.B. Description of plant viruses № 30.

Milusheva, S., Borisova, A. 2004. The incidence of Prunus necrotic ring spot (PNRS) and Prune dwarf (PDV) viruses in Prunus species in South Bulgaria. *Biotechnol. & Biotechnol. Equipmnet*, 19, 2, 42-45

Ostojic, S., Telfser, J., Spornberger, A., Keppel, H. 2010. Suitability of sweet cherry cultivars for organic production in Eastern Austria. In: Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) , Proceedings for the Conference from February 22nd to February 24th, 2010 at the University of Hohenheim, Germany, 250-253; ISBN: 978-3-00-030214-5

Schuster, M. and Tobutt, K. R. 2004. Screening of cherries for resistance to leaf spot, *Blumeriella jaapii*. *Acta Hort.* (ISHS), 663: 239-244

Schuster, M. 2004. Investigation on resistance to leaf spot disease (*Blumeriella jaapii*) in cherries. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, vol. 12.

Yoshikawa, N. 2001. Apple chlorotic leafspot virus. Description of plant viruses. www.dpwwed.net/dpv/showadvp.php.