

ДІАГНОСТИКА ВІРУСІВ І ЗБУДНИКА БАКТЕРІАЛЬНОГО РАКУ ВИНОГРАДУ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ

Мілкус Б.Н., Конуп Л.О., Ліманська Н.В., Жунько І.Д.

Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
вул. Дворянська 2, Одеса, 65026, Україна
ОАО "Украгро" (ЗАТ "Одеський кон'ячний завод"),
вул. Мельницька 13, Одеса, 65005, Україна
E-mail: limmy@mail.ru

Через вірусні і бактеріальні хвороби винограду великих збитків зазнають усі регіони з розвинутим виноградарством, в тому числі – південь України. Вперше в Україні нами було проведене комплексне тестування рослин винограду на наявність широкого ряду небезпечних патогенів, а саме – вірусів коротковузля (GFLV), скручування листя (GLRaV, 1-й і 3-й серотипи), мармуровості (GFkV), а також збудника бактеріального раку - *Agrobacterium vitis* - за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

ПЛР для діагностики бактеріального раку проводили згідно Naas et al. (1995). Агробактерії з лози, коренів винограду попередньо виділяли на напівселективному середовищі Рой і Сасера (Roy, Sasser, 1983).

Реакційну суміш та зразки для детекції вірусів готували згідно Rowhani et al. (2000). Використовували наступні пари праймерів: CPV і CPC (GLRaV-1), C 547 і H 229 (GLRaV-3), oligoC1 і oligoV1 (GFLV), RD1 та RD2 (GFkV) (Beaino et al., 2001; Minafra et al., 1994; Rowhani et al., 1993, 1995). Зворотню транскрипцію проводили у термостаті при 52°C протягом 30 хвилин. Ампліфікація включала 35 циклів (94°C – 30 сек, 56°C – 45 сек, 72°C – 60 сек), а час елонгації в останньому циклі - 7 хвилин (Rowhani A., особисте повідомлення).

Деякі параметри ПЛР, а саме температури відпалу для окремих праймерів і зміст реакційних сумішей, були модифіковані з метою поліпшення результатів ампліфікації.

Досліджували матеріал винограду господарств України і Республіки Молдова. Встановити наявність збудника бактеріального раку безпосередньо у пасоці за допомогою ПЛР не виявилось можливим, що співпадає з даними попередніх дослідників (Szegedi, Bottka, 2002). Для діагностики бактеріального раку за допомогою пасоки досліджуваних рослин проводили попереднє виділення агробактерій на середовище Рой і Сасера. Тестування прищепних і підщепних лоз, а також коренів саджанців окремих сортів показало наявність латентної інфекції бактеріального раку у 6 – 32% зразків в залежності від сорту винограду.

Дослідження лози та коренів винограду на інфікованість фітовірусами вказало на поширеність вірусів GFLV, GLRaV-1 і GLRaV-3 на виноградниках України. Вірус мармуровості виявлявся в Україні рідше, хоча матеріал винограду, відібраний у Республіці Молдова, у ряді випадків демонстрував стовідсоткову інфікованість.