

ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ МОЛДОВЫ

**ДОКТОРСКАЯ ШКОЛА
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ**

На правах рукописи
УДК: 634.8[632+632.7](478)

ХАУСТОВ ЕВГЕНИЙ

**ЗАБОЛЕВАНИЯ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ
ФИТОПЛАЗМЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ**

411.09 ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

Диссертация на соискание учёной степени доктора
сельскохозяйственных наук

Научный руководитель: _____ **Бондарчук Виктор**
доктор сельскохозяйственных наук

Автор: _____ **Хаустов Евгений**

КИШИНЁВ, 2023

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

ȘCOALA DOCTORALĂ

ȘTIINȚE AGRICOLE

Cu titlul de manuscris
C.Z.U.: 634.8[632+632.7](478)

HAUSTOV EVGHENII

BOLILE VIȚEI DE VIE DE ETIOLOGIE FITOPLASMATICĂ

411.09 PROTECȚIA PLANTELOR

Teză de doctor în științe agricole

Conducător științific: _____ **Bondarciuc Victor**

Doctor în științe agricole

Autorul: _____ **Haustov Evghenii**

CHIȘINĂU, 2023

©Evghenii Haustov, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

АННОТАЦИЯ (русский, румынский, английский)	7
СПИСОК ТАБЛИЦ	10
СПИСОК РИСУНКОВ	12
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	14
ВВЕДЕНИЕ.....	15
I. АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ИЗУЧЕННОСТИ ФИТОПЛАЗМЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	22
1.1. Открытие и положение в систематике фитоплазменных заболеваний.....	22
1.2. Классификация фитоплазменных патогенных агентов винограда.....	23
1.3. Биологические характеристики возбудителей фитоплазменных заболеваний.....	25
1.4. Заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии	27
1.4.1. Золотистое пожелтение винограда	28
1.4.2. Почернение древесины винограда.....	29
1.5. Симптомы поражения виноградного растения фитоплазменным заболеванием	30
1.6. Переносчики фитоплазменных заболеваний винограда.....	31
1.6.1. Переносчик Золотистого пожелтения	32
1.6.2. Переносчик Почернения древесины.....	33
1.7. Диагностика возбудителей фитоплазменных заболеваний винограда методом ПЦР...35	
1.8. Мероприятия по предупреждению распространения фитоплазменных заболеваний винограда.....	37
1.9. Методы борьбы с переносчиками фитоплазменных заболеваний	39
1.10. Состояние изученности заболеваний винограда фитоплазменной этиологии в Республике Молдова	41
1.11. Законодательство Республики Молдова по профилактике и борьбе с фитоплазменными заболеваниями и их переносчиками на виноградных насаждениях.....	42
1.12. Выводы к главе 1	43
II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
2.1. Материалы исследования	45

2.2. Методы исследования	46
2.2.1. Обследования виноградных насаждений для выявления поражения заболеванием фитоплазменной этиологии	46
2.2.2. Мониторинг цикад - потенциальных переносчиков фитоплазменных заболеваний..	47
2.2.3. Отбор проб виноградных, сорных, кустарниковых и древесных растений	47
2.2.4. Выделения ДНК из растений и насекомых	48
2.2.5. Диагностика фитоплазменных заболеваний	48
2.3. Схема закладки эксперимента	51
2.4. Экологические рамки проведения исследования	52
2.4.1. Климатические и почвенные условия проведения исследования.....	53
2.5. Выводы к главе 2	62
III. ЗАБОЛЕВАНИЕ ФИТОПЛАЗМЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ПЛАНТАЦИЯХ ВИНОГРАДА РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА.....	64
3.1. Симптомы заболевания фитоплазменной этиологии на кустах винограда	64
3.2. Поражение плантаций винограда заболеванием фитоплазменной этиологии	73
3.3. Расположение поражённых заболеванием фитоплазменной этиологии кустов винограда на плантациях	77
3.4. Идентификация заболевания винограда фитоплазменной этиологии	79
3.5. Выявление цикад переносчиков фитоплазмы возбудителя заболевания винограда	
Почернение древесины - <i>Vois noir</i> в Республике Молдова	86
3.6. Выявление растений-резерваторов фитоплазмы Почернения древесины винограда ...	94
3.7. Идентификация фитоплазмы-возбудителя Почернения древесины	98
3.8. Распространение заболевания Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова	100
3.9. Обсуждение результатов исследований	106
3.10. Выводы к главе 3	109
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ, ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ И ВНЕДРЕНИЕ В ПРОИЗВОДСТВО	110
БИБЛИОГРАФИЯ	113
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	126
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Отличие симптомов поражения виноградной лозы фитоплазменными заболеваниями с симптомами, вызванными вирусной, грибной инфекцией, генетическими аномалиями, химическим составом почвы и повреждением насекомыми.....	127

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Карты-схемы покустных обследований виноградных насаждений на предмет наличия симптомов фитоплазменных заболеваний	131
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Характеристика обследованных виноградных насаждений и результаты поражения их фитоплазмозом в 2018 - 2019 гг.	139
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Журналы отбора растительных образцов для тестирования методом ПЦР на заболевание FD/BN в 2018 и 2019 г.	141
ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Результаты тестирования сортов винограда по районам, методом ПЦР на наличие заболеваний FD/BN с 2018 по 2019 гг.	149
ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Отобранные пробы цикадок для тестирования на наличие в них фитоплазмы FD/BN	153
ПРИЛОЖЕНИЕ 7. Отобранные пробы травянистых, кустарниковых и древесных растений для тестирования на наличие в них фитоплазмы	158
ПРИЛОЖЕНИЕ 8. Вычисление статистических характеристик выборки при изучении качественных признаков.....	162
ПРИЛОЖЕНИЕ 9. Данные метеостанций по районам.	163
ПРИЛОЖЕНИЕ 10. Акт внедрения результатов работы в НПИСВиПТ, выделение инициальных растений винограда сортов: Corceac, Luminița, Muscat de Ialoveni, Alb de Onițcani, Tudor.	164
ПРИЛОЖЕНИЕ 11. Акт внедрения результатов работы в НПИСВиПТ, выделение инициальных растений винограда сортов: Fetească regală, Merlot, Sauvignon blanc.	165
ПРИЛОЖЕНИЕ 12. Акт внедрения результатов работы в НПИСВиПТ, выделение инициальных растений винограда сорта: Saperavi	166
ПРИЛОЖЕНИЕ 13. Акт внедрения результатов работы в SA Combinatul de Vinuri “Cricova”, оценка состояния молодого виноградника	167
ПРИЛОЖЕНИЕ 14. Акт внедрения результатов работы в SRL “DUMBRAVA GIHOL”, отбор и тестирование саженцев винограда	169
ПРИЛОЖЕНИЕ 15. Акт внедрения результатов работы в SRL “HOLOVA-AGRO”, отбор и тестирование саженцев винограда	170
ПРИЛОЖЕНИЕ 16. Акт внедрения результатов работы в SRL “HOLOVA-AGRO”, фитосанитарный контроль виноградной школки	171
ПРИЛОЖЕНИЕ 17. Акт внедрения результатов работы в SRL “RITANDREX”, отбор и тестирование саженцев винограда	172

ПРИЛОЖЕНИЕ 18. Акт внедрения результатов работы в SRL “VIȚIS COJUȘNA”, фитосанитарный контроль виноградной школки	173
ПРИЛОЖЕНИЕ 19. Акт внедрения результатов работы в SRL “VIȚIS COJUȘNA”, отбор и тестирование саженцев винограда	174
ПРИЛОЖЕНИЕ 20. Акт внедрения результатов работы в НПИСВиПТ	175
ДЕКЛАРАЦИЯ ОБ ОТВЕТСТВЕННОСТИ	176
CURRICULUM VITAE	177

АННОТАЦИЯ

Хаустов Евгений. «Заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии», диссертация на соискание учёной степени доктора сельскохозяйственных наук, Кишинёв, 2023.

Структура диссертации: введение, три главы, общие выводы и практические рекомендации, 112 страниц основного текста, 35 рисунков, 22 таблицы, 20 приложений, 243 библиографических источника. Результаты опубликованы в 9 научных работах.

Ключевые слова: фитоплазма, Почернение древесины, Золотистое пожелтение, виноград, симптомы фитоплазменного заболевания, мониторинг, цикадки-переносчики, растение-резерватор фитоплазмы, ПЦР.

Область исследований: Защита растений.

Цель работы: разработать меры борьбы для защиты виноградных насаждений от фитоплазменных заболеваний в Республике Молдова.

Задачи исследования: обследовать виноградные насаждения для определения степени заражения фитоплазменными заболеваниями, идентифицировать фитоплазменных патогенов-возбудителей заболевания винограда и изучить резерваторов и возможных переносчиков фитоплазменных заболеваний в Республике Молдова.

Новизна исследований: впервые в Республике Молдова определено распространение фитоплазменного заболевания во всех виноградарских зонах и установлен возбудитель, переносчики и сорные растения-резерваторы. Составлены рекомендации по мерам борьбы и предотвращению распространения заболевания.

Решённая важная научная проблема: состоит в изучение фитоплазменных заболеваний виноградной лозы, выявлении цикадок переносчиков, а также растений-резерваторов заболевания, что позволило представить рекомендации по мерам борьбы.

Теоретическое значение работы: высокая степень поражения плантаций винограда в Республике Молдова фитоплазменным заболеванием, возможна при наличии источника заболевания, эффективного переносчика и факторов, способствующих заражению виноградного растения.

Практическое значение работы: состоит в представлении научно-обоснованных мер по предупреждению распространения заболевания на плантациях винограда в РМ.

Внедрение научных результатов: результаты внедрены в лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля НПИСВиПТ и применяются в работах по получению фитосанитарных клонов винограда.

ADNOTARE

Haustov Evghenii. «Bolile viței de vie de etiologie fitoplasmatică», teză de doctor în științe agricole, Chișinău, 2023

Structura tezei: introducere, trei capitole, concluzii generale și recomandări, 112 de pagini de text de bază, 35 de figuri, 22 tabele, 20 anexe, bibliografie din 243 titluri. Rezultatele obținute sunt publicate în 9 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: fitoplasma, înnegrirea lemnului, îngălbenirea aurie, viță de vie, simptomele produse de fitoplasmoze, monitorizare, cicadela-vector, plantă-rezervor de fitoplasmă, RPL.

Domeniul de studiu: Protecția plantelor.

Scopul tezei: elaborarea și recomandarea măsurilor de control pentru prevenirea îmbolnăvirii cu fitoplasmoze și protecția generală a plantațiilor viticole în Republica Moldova.

Obiectivele cercetării: investigarea plantațiilor viticole pentru determinarea gradului de infectare cu patogenul de etiologie fitoplasmatică; identificarea agenților patogeni de tip fitoplasma, care declanșează fitoplasmozele viței de vie; studierea plantelor-gazde spontane, rezervoare de fitoplasmă; cercetarea speciilor de cicadele-vectori, cu potențial fiziologic în transmiterea patogenilor de etiologie fitoplasmatică în Republica Moldova.

Noutatea cercetării: pentru prima dată în Republica Moldova a fost determinată aria de răspândire a fitoplasmozelor în zonele viticole industriale și a fost identificat agentul patogen, vectorii și plantele-rezervoare cu fitoplasmă. Au fost elaborate și înaintate recomandări cu referință la măsurile necesare de respectat pentru combaterea și limitarea răspândirii fitoplasmozelor în plantațiile viticole.

Problemă științifică importantă rezolvată: investigarea fitoplasmozelor viței de vie, identificarea speciilor de cicadele-vectori, precum și a plantelor-gazdă alternative purtătoare de fitoplasmă, ceea ce a făcut posibil recomandarea măsurilor și metodelor de combatere a patologiilor fitoplasmatică ale viței de vie.

Semnificația teoretică a lucrării: nivelul ridicat de infectare a plantelor de viță de vie din Republica Moldova cu o boală fitoplasmatică, este posibilă dacă există o sursă semnificativă a patogenului în agrobiotop, un vector eficient pentru vehiculare și factorii climatici favorabili în perioada de vegetație, care împreună contribuie la declanșarea infectării plantelor de viță de vie cu agentul patogen respectiv.

Semnificația practică a lucrării: prezentarea măsurilor și metodelor de prevenire și combatere a patologiilor fitoplasmatică în plantațiile viticole din Republica Moldova bazate pe investigații științifice.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele științifice au fost implementate în plantațiile viticole din gestiunea laboratorului de virologie și control fitosanitar al IȘPHTA și utilizate în tehnologiile de obținere a clonelor fitosanitare de viță de vie libere de patogen.

ABSTRACT

Haustov Evghenii. «Grapevine diseases of phytoplasmic etiology», thesis for the degree of Doctor of Agricultural Sciences, Chisinau, 2023.

Thesis structure: introduction, three chapters, general conclusions and practical recommendations, 112 pages of main text, 35 figures, 22 tables, 20 appendices, 243 bibliographic sources. The results are published in 9 scientific papers.

Key words: phytoplasma, Blackening of wood, Golden yellowing, grapevine, symptoms of phytoplasma disease, monitoring, leafhoppers-vectors, plant - phytoplasma reservoir, PCR.

Research area: Plant protection.

The aim of the work: to develop control measures to protect vineyards from phytoplasma diseases in the Republic of Moldova.

Research objectives: to examine vineyards to determine the degree of infection with phytoplasmic diseases, to identify phytoplasmic pathogens - causative agents of grapevine diseases and to study the reservists and possible carriers of phytoplasmic diseases in the Republic of Moldova.

The novelty of the research: for the first time in the Republic of Moldova, the spread of phytoplasma disease in all viticultural zones was determined, as well as the pathogen, vectors and weeds-reservers. Recommendations were made on measures to control and prevent the spread of the disease.

An important scientific problem solved: is the study of phytoplasmic diseases of the vine, the identification of carriers of leafhoppers, as well as plant-reservers of the disease, which made it possible to provide recommendations on control measures.

The theoretical significance of the work: a high degree of infection of grape plantations in the Republic of Moldova with a phytoplasma disease is possible if there is a source of the disease, an effective vector and factors contributing to the infection of the grape plant.

The practical significance of the work: consists in presenting evidence-based measures to prevent the spread of the disease on grape plantations in the Republic of Moldova.

Implementation of scientific results: the results have been implemented in the laboratory of virology and phytosanitary control of ISPHTA and are used in work on obtaining phytosanitary clones of grapes.

СПИСОК ТАБЛИЦ

- Таблица 2.1. Специфичные праймеры от Qualiplant – стр. 49
- Таблица 2.2. Специфичные праймеры от от CREA, Италия – стр. 49
- Таблица 2.3. Климатические и почвенные параметры в Центральной и Южной климатической зоне Молдовы – стр. 53
- Таблица 2.3.1. Данные метеостанции села Спя – стр. 54
- Таблица 2.3.2. Общая характеристика почв территории Новоаненского района - стр. 55
- Таблица 2.3.3. Данные метеостанции коммуны Вэрзэрешь – стр. 57
- Таблица 2.3.4. Общая характеристика почв Ниспоренского района – стр. 58
- Таблица 2.3.5. Данные метеостанции г. Леова – стр. 59
- Таблица 2.3.6. Общая характеристика почв Леовского района – стр. 60
- Таблица 2.3.7. Данные метеостанции села Александру Иоан Куза – стр. 61
- Таблица 2.3.8. Общая характеристика почв Кагульского района – стр. 62
- Таблица 3.1. Поражение плантаций винограда белых сортов винограда заболеванием фитоплазменной этиологии (2018 и 2019 гг.) – стр. 75
- Таблица 3.2. Поражение плантаций красных сортов винограда заболеванием фитоплазменной этиологии (2018 - 2020 гг.) – стр. 76
- Таблица 3.3. ПЦР-тест проб белых сортов винограда на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии (2018 – 2019 гг.) – стр. 83
- Таблица 3.4. ПЦР-тест проб красных сортов винограда на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии (2018-2019гг.) – стр. 84
- Таблица 3.5. ПЦР-тест проб вегетативного материала из виноградных школок на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии (2018 – 2019 гг.) – стр. 85
- Таблица 3.6. Видовой состав цикадок населяющих плантации винограда в Республике Молдова и их отношение к фитоплазме VN / FD (2018 – 2020 гг.) – стр. 88
- Таблица 3.7. ПЦР диагностика образцов травянистых, кустарниковых и древесных растений, произрастающих на виноградниках и прилегающих территориях – стр. 95
- Таблица 3.8. Идентификация фитоплазмы Почернения древесины методом секвенирования ДНК – стр. 99
- Таблица 3.9. Характеристика виноградных насаждений, включенных в опыт – стр. 100
- Таблица 3.10. Динамика распространения заболевания Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова (2017-2020 гг.) – стр. 101

Таблица 3.11. Сравнительные данные метеостанций по районам за 4-х летний период (2017 - 2020 гг.) – стр. 104

СПИСОК РИСУНКОВ

Рисунок 1.1. Дендрограмма рода «*Candidatus Phytoplasma*» 44 групп фитоплазм – стр. 24

Рисунок 1.2. Прохождение фитоплазменных тел через ситовидные трубки, в проводящих сосудах флоэмы растительной ткани – стр. 26

Рисунок 2.1. Схема закладки эксперимента – стр. 51

Рисунок 3.1. Проявление первых симптомов у белых сортов винограда в виде легкого хлороза – стр. 64

Рисунок 3.2. Симптомы заболевания фитоплазменной этиологии на листьях сорта Шардоне – стр. 65

Рисунок 3.3. Некроз участков листовой пластинки на белых сортах винограда – стр. 66

Рисунок 3.4. Куст винограда сорта Шардоне поражённый заболеванием фитоплазменной этиологии – стр. 66

Рисунок 3.5. Симптомы фитоплазменного заболевания на листьях красных сортов винограда – стр. 67

Рисунок 3.6. Секториальные покраснения листьев красных сортов винограда – стр. 67

Рисунок 3.7. Куст винограда сорта Пино нуар, поражённый заболеванием фитоплазменной этиологии – стр. 68

Рисунок 3.8. Поражённые фитоплазменным заболеванием кусты винограда после первых лёгких заморозков – стр. 69

Рисунок 3.9. «Плачущий вид» кустов винограда, поражённых в сильной степени фитоплазменным заболеванием – стр. 69

Рисунок 3.10. Лоза винограда сорта Рара неагра: слева - побег, поражённый фитоплазменным заболеванием, справа - здоровая лоза – стр. 70

Рисунок 3.11. Симптомы фитоплазмоза на виноградной лозе: слева - пустулы чёрного цвета на поверхности побега, справа - поражённая лоза не вызревает – стр. 70

Рисунок 3.12. Лоза поражённых фитоплазменным заболеванием побегов созревает только у основания – стр. 71

Рисунок 3.13. Симптомы фитоплазменного заболевания на гроздях, листьях и лозе – стр. 72

Рисунок 3.14. Схема визуального обследования плантаций винограда – стр. 74

- Рисунок 3.15. Карта-схема расположения поражённых фитоплазменным заболеванием кустов винограда сорта Каберне-совиньон – стр. 78
- Рисунок 3.16. Маркировка виноградного куста, с которого отобрана проба – стр. 80
- Рисунок 3.17. Проба листьев виноградного растения для лабораторных исследований – стр. 81
- Рисунок 3.18. Проба лозы виноградного растения для лабораторных исследований – стр. 81
- Рисунок 3.19. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами FD9r2 / FD9f3b и STOL11f3 / STOL11r2 – стр. 82
- Рисунок 3.20. Поражение прививок заболеванием фитоплазменной этиологии в виноградной школке – стр. 84
- Рисунок 3.21. Липкая ловушка для отлова цикадок-переносчиков – стр. 87
- Рисунок 3.22. Энтомологический сачок и аспиратор для отлова насекомых – стр. 87
- Рисунок 3.23. Цикадки *Hyalesthes obsoletus*: слева - имаго женского пола; справа - имаго мужского пола – стр. 89
- Рисунок 3.24. Нимфа *Hyalesthes obsoletus* III-ей возрастной стадии – стр. 90
- Рисунок 3.25. Личинки *Hyalesthes obsoletus* V-ой возрастной стадии – стр. 90
- Рисунок 3.26. Цикадки *Scaphoideus titanus*: слева - имаго мужского пола; справа - имаго женского пола – стр. 92
- Рисунок 3.27. Личинки *Scaphoideus titanus* с нижней стороны виноградного листа – стр. 92
- Рисунок 3.28. Личинки *Scaphoideus titanus*: слева - нимфа III-ей возрастной стадии; справа - нимфа V-ой возрастной стадии – стр. 93
- Рисунок 3.29. Травянистые сорные растения, растущие на плантациях винограда: слева - *Chenopodium bonus-henricus* L.; справа - *Convolvulus arvensis* L. – стр. 96
- Рисунок 3.30. Наличие на виноградных насаждениях растений-резерваторов фитоплазмы Почернения древесины - *Cynanchum acutum* L. – стр. 97
- Рисунок 3.31. Наличие на виноградных насаждениях растений-резерваторов фитоплазмы Почернения древесины - *Convolvulus arvensis* L. – стр. 97
- Рисунок 3.32. Инфекционный цикл заболевания Почернение древесины винограда – стр. 103

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- °C – Градус Цельсия
µm – микрометр
BN – Bois noir
“*Ca. P. solani*” – *Candidatus Phytoplasma solani*
“*Ca. P. vitis*” – *Candidatus Phytoplasma vitis*
FD – Flavescence doree
L.– латинское название
NCBI – Национальный центр биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information, с англ.)
ŞP – Şcoala profesională
t – температура
г – грамм
г. – год
га – гектар
гг. – года
ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота
ДТТ – дитиотреитол
ДУ – демонстрационные участки
ЕС – Европейский Союз
Кол-во – количество
м – метр
мл – миллилитр
НБВВ – Национальное Бюро Винограда и Вина
НПИСВиПТ – Научно-Практический Институт Садоводства Виноградарства и Пищевых Технологий
п.о. – пар оснований
ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
ПЦР – Полимеразно Цепная Реакция
Рис. – рисунок
РМ – Республика Молдова
р-н. – район
РНК – Рибонуклеиновая кислота
с. – село
см – сантиметр
стр. – страница
Таб. – таблица
ЦТАБ – бромид цетилтриметиламмония

ВВЕДЕНИЕ

Важность и актуальность темы. Виноградарство является традиционной и приоритетной отраслью в экономике Республики Молдова. Под виноградниками занято 7% земель сельскохозяйственного назначения страны. Увеличение доходности отрасли напрямую связано с повышением продуктивности виноградников. Наряду с расширением площадей, занятых под виноградниками, основным направлением в повышении валового сбора винограда является интенсификация, повышение урожайности существующих и молодых виноградников. Одним из существенных резервов дальнейшего повышения урожайности виноградарства является защита урожая от вредителей и болезней, среди которых важную роль имеют вирусные, бактериальные и фитоплазменные заболевания. Характерной особенностью фитоплазменных инфекций винограда является поражение генеративных органов, вследствие чего урожай на поражённых побегах либо отсутствует, либо обладает плохим качеством, что значительно влияет на количество и качество урожая. Другой особенностью фитоплазмозов виноградной лозы является то, что больной однолетний прирост не вызревает от основания до верхушки и с наступлением низких температур погибает, что, в конечном счете, сказывается на долговечности виноградных кустов. Заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии описаны во всех странах, культивирующих виноград. Наиболее известными из них являются Золотистое пожелтение и Почернение древесины. Симптомы поражения на виноградном растении визуально неотличимы, однако вызываются разными фитоплазмами. Поэтому, для принятия соответствующих мер борьбы, необходимо проводить исследования по определению заболевания, идентификации возбудителя и переносчиков.

Во всём мире фитоплазменные болезни наносят большой экономический ущерб сельскому хозяйству, в частности виноградарству, где фитоплазмоз винограда приводит к потере урожая от 30 и более процентов. Не принятие своевременных защитных мер в источниках появления фитоплазменной инфекции, заболевание распространяется с эпифитотическим характером и за несколько лет инфицирует 70-100% кустов винограда на плантациях. Исходя из вышеизложенного, тема диссертации актуальна, имеет научное и практическое значение для виноградарства Республики Молдова.

Массовый и бесконтрольный импорт посадочного материала в последние десятилетия, способствовал ввозу в страну новых вредителей и возбудителей заболеваний, которые в новых почвенно-климатических условиях и отсутствии естественных

антагонистов, получили благоприятные условия для ускоренного размножения. Одним из таких примеров является фитоплазмоз виноградной лозы в Республике Молдова.

Почвенно-климатические условия Республики Молдова обуславливают сортимент винограда, технологию возделывания, а также растительный покров на виноградниках и прилегающих территориях. Республика Молдова находится в зоне континентального климата, характеризующегося низкими температурами в зимний и довольно высокими температурами в летний период года. В последние 10-15 лет в летний период наблюдаются продолжительные засухи. Данные факторы существенно сказались на развитии биоценозов, как на плантациях винограда, так и прилегающих территориях. Ряд сорняков и кустарников могут служить резерваторами фитоплазм, а также растениями, благоприятными для питания насекомых-переносчиков. Виноградное растение для них может являться случайным или временным в определенный период их жизненного цикла.

В настоящее время в Молдове отсутствуют маточники привойных лоз. Лозу для производства привитых саженцев заготавливают на промышленных плантациях винограда, которые в той или иной степени инфицированы фитоплазменным заболеванием. В данном случае возможно получение изначально инфицированных саженцев, использование которых при закладке плантаций винограда, способствует образованию новых очагов заболеваний. Заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии на плантациях винограда в Республике Молдова встречаются повсеместно, однако каким заболеванием и в какой степени они инфицированы не установлено. Для решения проблемы фитоплазменных заболеваний винограда необходимо в первую очередь провести исследования по определению вида заболевания и идентификации его возбудителя, а также установлению наличия переносчиков и выявления растений-резерваторов инфекции.

Цель исследования: цель работы состояла в определении ареалов распространения и степени поражения плантаций винограда фитоплазменным заболеванием, идентификации возбудителя, а также научного обоснования предложений по предупреждению его распространения в Республике Молдова. Для достижения цели необходимо решить следующие задачи:

1. определить масштабы и степень поражения плантаций винограда фитоплазменными заболеваниями в Республике Молдова;
2. определить вид заболевания виноградной лозы в Республике Молдова;
3. идентифицировать фитоплазму-возбудителя заболевания винограда в Республике Молдова;

4. установить переносчиков фитоплазменных заболеваний винограда в Республике Молдова;
5. выявить растения-резерваторы фитоплазменных заболеваний винограда в Республике Молдова;
6. предложить научно-обоснованные меры по предупреждению распространения фитоплазменных заболеваний винограда в Республике Молдова.

Гипотеза исследования: Заболевания растений фитоплазменной этиологии, в естественных условиях, распространяют цикадки, причём каждое заболевание переносят определённые виды переносчиков. В связи с этим, рабочая гипотеза исследований основывалась на том, что широкое распространение фитоплазменного заболевания винограда в Республике Молдова возможно только при наличии активного переносчика. Поэтому исследования проводили в следующей последовательности: идентификация заболевания, установление цикад-переносчиков, выявление растений-резерваторов фитоплазмы.

Методология научного исследования. В процессе исследований применены следующие научные методы: качественный и количественный анализ, индукция, дедукция, синтез, сравнение, корреляция и регрессия, метод таблиц и хронологического сравнения. Степень поражения плантаций винограда фитоплазменными заболеваниями проводили методом маршрутных визуальных обследований в сроки наиболее четкого проявления симптомов. Мониторинг цикад осуществляли отловом насекомых энтомологическим сачком и липкими ловушками жёлтого цвета. Диагностика фитоплазменных заболеваний выполнена молекулярным методом Вложенной ПЦР. Для получения нуклеотидных последовательностей ДНК фитоплазмы в текстовом виде, использован метод секвенирования по Сэнгеру.

Научная новизна и оригинальность:

- впервые в Республике Молдова диагностировано заболевание виноградной лозы фитоплазменной этиологии Почернение древесины - *Bois noir*. Заболевание обнаружено во всех зонах промышленного возделывания винограда;
- впервые в Республике Молдова идентифицирован возбудитель заболевания Почернение древесины винограда “*Candidatus Phytoplasma solani*”;
- впервые в Республике Молдова выявлены растения-резерваторы фитоплазмы Почернение древесины - *Bois noir*;
- впервые в Республике Молдова выявлены цикады-переносчики фитоплазмы Почернение древесины - *Bois noir*;

- впервые показана роль фактора изменения климата на эффективность распространения фитоплазменного заболевания винограда Почернение древесины в Республике Молдова;

- научно аргументированы предложения по предупреждению распространения заболевания Почернение древесины - *Bois noir* в Республике Молдова.

Важной научной проблемой, решаемой в области исследований, является идентификация возбудителя и растений-резерваторов фитоплазмы, вызывающей у виноградной лозы заболевание фитоплазменной этиологии, а также определение условий способствующие быстрому распространению заболевания на плантациях. Разработка мероприятий, способствующие эффективному предупреждению распространения заболевания на плантациях винограда Республики Молдова.

Информационная база исследования.

Теоретической основой диссертационной работы послужили исследования зарубежных учёных посвящённые вопросам выявления фитоплазменных заболеваний виноградной лозы и их переносчикам: Angelini E. 2001, 2003, 2004; Bertaccini A. 2010, 2018; Boudon-Padieu E. 2005; Contaldo N. 2012, 2013, 2015, 2016; Dermastia M. 2017; Kosovac A. 2016; Maixner M. 2011; Mannini F. 2009; Marcone C. 2019; Namba S. 2017, 2019; Pierro R. 2018, 2020; Quaglino 2013, 2014, 2019; Timus A. 2013; 2015; Weintraub P. 2010; Богоутдинов Д. 2019; Кастальева Т. Б. 2016. Практическая часть работы выполнена согласно тематическому плану исследований лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля при НПИСВиПТ (проект 15.817.05.32А «Tehnologii inovative în viticultură și vinificație-siguranța alimentară a produselor viti-vinicole») и в рамках проекта «FlaveDor» («Flavescence doree / Bois noir - depistare, profilaxie și combatere»), организованного национальным офисом винограда и вина.

Теоретическое обоснование работы: Эпифитотийное распространение и высокая степень поражения плантаций винограда в Республике Молдова фитоплазменным заболеванием, возможно только при наличии источника заболевания и эффективного переносчика. Поэтому исследования для решения данного вопроса были направлены на идентификацию возбудителя заболевания и его переносчиков, определению резерваторов фитоплазмы и факторов, способствующих заражению виноградного растения фитоплазменным заболеванием.

Практическое значение работы: состоит в идентификации заболевания виноградной лозы винограда Почернение древесины - *Bois noir* и его возбудителя фитоплазмы “*Ca. P. Solani*”, растений-резерваторов фитоплазмы и цикад-переносчиков, а

также в представлении научно-обоснованных мер по предупреждению распространения данного заболевания на плантациях винограда Республики Молдова.

Основные научные результаты, представляемые на защиту, состоят из:

- установления заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии Почернение древесины - *Bois noir*;
- идентификации возбудителя заболевания винограда Почернение древесины-*Bois noir*, фитопlasма "*Candidatus Phytoplasma solani*";
- определения цикадок-переносчиков фитоплазмы вызывающих заболевание виноградной лозы Почернение древесины: *Hyalesthes obsoletus* (Signoret), *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson) и *Reptalus quinquecostatus* (Dufour);
- выявления растений-резерваторов заболевания винограда Почернение древесины: *Convolvulus arvensis* L., *Cynanchum acutum* L., *Chenopodium bonus-henricus* L., *Rosa* L., *Ulmus* L.;
- установления роли фактора изменения климата на эффективность распространения заболевания Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова;

Внедрение научных результатов. Результаты исследований применяются в лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля НПИСВиПТ, в работе по получению клонов винограда свободных от фитоплазменной, вирусной и бактериальной инфекций, фитосанитарному контролю плантаций винограда и виноградной школки, фитосанитарному контролю посадочного материала винограда, привойной и подвойной лозы на наличие фитоплазменных заболеваний, а так же на семинарах по обучению инспекторов ANSA: «Investigările în teren boli fitoplasmice, pe teritoriu Institutului Științific Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare», (практическая часть) 12 сентября 2018; «Școlarizarea angajaților ANSA privind depistarea simptomelor maladiilor fitoplasmice și evaluarea plantațiilor viticole la prezența Grapevine flavescence Doree / Bois Noir», (практическая часть), str. Vierul 59, mun. Chișinău, 24 сентября 2019.

Апробацию научных результатов. Диссертация выполнена и обсуждена в рамках комитетов докторской школы партнерства образовательных и исследовательских учреждений в области сельского хозяйства. Результаты были одобрены руководящим комитетом докторской школы Государственного Технического Университета.

Публикации по теме диссертаций. Основные идеи и материалы диссертации опубликованы в 9 печатных работах, из них 7 - в международных научных изданиях: конгресс Международного совета по изучению вирусных и вирусоподобных заболеваний

виноградной лозы: «Survey on grapevine yellows and their vectors in the Republic of Moldova» Congress of the International Council for the study of Virus and Virus-like Diseases of Grapevine. Proceedings of the 19th, 9-12 April, Santiago, Chile, 2018; «Почернение Дровесины – фитоплазменное заболевание винограда в Республике Молдова», Русский виноград, том 12, 33-40, 2020; «Горячая водная терапия в фитосанитарной селекции винограда», Русский виноград, том 13, 16-24, 2020; «Агротехнический метод предупреждения распространения почернения дровесины винограда». Русский виноград. Сборник научных трудов, Том 14. 2020, Новочеркасск; «Распространение почернения дровесины винограда в естественных условиях», «74-a conferință științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor» CE UASM, 15-26 martie 2021, Chișinău; на международном научно-практическом форуме: «Hyalesthes obsoletus is an active vector of Wood blackening in the Republic of Moldova», «Biologization of the Intensification Processes In Horticulture and Viticulture», 21-23 September 2021, North Caucasian Federal Scientific Centre of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Russia, Krasnodar; «Выявление фитоплазмы Candidatus Phytoplasma Solani на плантациях винограда в Республике Молдова», «Sectorul Agroalimentar - Realizări și Perspective» Simpozion Științific Internațional, 19-20 noiembrie 2021, Chișinău; в профильных журналах из Национального реестра 2: Фитоплазмоз виноградной лозы в Молдове, AGROEXPERT, стр. 84-92, №1 Март 2020; Цикадки переносчики фитоплазменного заболевания Почернение дровесины (Bois Noir) в Республике Молдова. Agricultural science, 2023, (1), 66–74.

Объём и структура диссертации определялись целью и задачами работы и включали аннотации на румынском, английском и русском языках, список таблиц, список рисунков, список сокращений, введение, 3 главы, общие выводы и практические рекомендации, библиография, приложения. Содержание диссертации раскрывается на 112 страниц основного текста. Работа содержит 35 рисунков, 25 таблиц, 20 приложений.

Ключевые слова: фитоплазма, Почернение дровесины, Золотистое пожелтение, виноград, симптомы фитоплазменного заболевания, мониторинг, цикадки-переносчики, растение-резерватор фитоплазмы, ПЦР.

Краткое изложение диссертации

Разделы диссертации состоят из введения и трёх основных глав. Введение включает важность и актуальность темы диссертации, цель и задачи исследования, методологию научных исследований, научную новизну результатов, решённую важную научную задачу, описание теоретической и практической значимости работы, апробации результатов и выводы по каждой главе.

Краткое содержание диссертации. *В главе 1. Анализ состояния изученности фитоплазменных заболеваний,* изложен анализ научных трудов, а также синтез накопленных знаний по фитоплазменным заболеваниям. Особое внимание уделено биологическим характеристикам возбудителей фитоплазменных заболеваний, симптомам проявления на виноградной лозе, а также их переносчикам. Анализированы методы идентификации фитоплазменных заболеваний винограда. Освещены мероприятия по предупреждению распространения фитоплазмозов и методы борьбы с переносчиками.

В главе 2. Материалы и методы исследования. Представлены использованные в работе материалы и методы исследования, включая: обследования виноградных насаждений для выявления поражения заболеванием фитоплазменной этиологии, мониторинг цикад-потенциальных переносчиков, отбор проб и выделение ДНК для диагностики и идентификации заболевания, а также изображена схема проведения исследований.

В главе 3. Заболевание фитоплазменной этиологии на плантациях винограда Республики Молдова. Представлены результаты собственных исследований по изучению заболевания фитоплазменной этиологии виноградной лозы. Детально описаны симптомы заболевания на кустах, а также типичность их проявления и определена степень поражения промышленных насаждений в РМ. Представлены результаты идентификации молекулярной диагностикой возбудителя заболевания. Изложены результаты проведения мониторинга лёта, диагностики насекомых и выявления переносчиков заболевания. Описаны выявленные растения резерваты фитоплазменного заболевания на виноградниках и прилегающих территориях в РМ. Проведена идентификация фитоплазмы возбудителя Почернения древесины винограда методом секвенирования ДНК.

I. АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ИЗУЧЕННОСТИ ФИТОПЛАЗМЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

1.1. Открытие и положение в систематике фитоплазменных заболеваний

Заболевания, называемые «желтухами» были известны задолго до идентификации их возбудителя и относились к вирусным заболеваниям. С данным заболеванием сегодня ассоциируют ряд заболеваний: карликовость шелковицы, выявлена с 1603 года в Японии [157], болезнь ведьмины мётлы на павлонии [99], усыхание персиковых деревьев в США [88]. Однако первая идентификация возбудителя, была сделана в Японии исследователем Y. Doi в 1967, который обнаружил инфекцию при помощи электронной микроскопии во флоэмной ткани астры, поражённой желтухой, а также отметил их чувствительность к тетрациклину [67]. В мае следующего года, во Франции, микоплазмо-подобные организмы (МПО), были выявлены на лесной яблоне с симптомами пролиферации [82]. В течение почти 30 лет проводились повторные исследования заболеваний многих растений и их переносчиков на предмет наличия МПО, что в дальнейшем, утвердило данных микроорганизмов в качестве уникальной группы фитопатогенов [112]. Задолго до открытия фитоплазм, ещё в СССР, были известны заболевания растений, такие как: желтуха астровых, столбур паслёновых, ведьмины мётлы люцерны, картофеля и древесных пород, а также карликовость зерновых [212]. Так в исследованиях К.С. Сухова и А.М. Вовка описано впервые в 1946 г. заболевание столбура томатов и картофеля, а также выявлены отличия проявления симптомов на данных культурах [237]. В этот же год был определён видовой состав всех насекомых, которые встречались на томатах и в результате установлен только один переносчик *Hyalesthes obsoletus* (Signoret, 1865) [236]. В институте защиты растений АН Грузинской ССР Э.М. Самуджева, в 1949 г. был выявлен новый переносчик столбура - *Hyalesthes mlokosiewiczzi* (Signoret) [234] и обнаружено растение хозяин *Convolvulus arvensis* L. [233].

Первые схемы распространения заболевания столбура в природе были описаны в 1949 г. [238], со временем вносили корректировки, включая новых переносчиков и растений резерваторов заболевания [219; 220].

Термин «фитоплазма» был принят Международным комитетом систематики бактериологии (ICSB) по таксономии Молекул в 1993 году, а позже отделена таксономическая группа "*Candidatus Phytoplasma*" [153; 152; 68; 96]. На сегодняшний день выявлено около 1000 видов растений поражаемые заболеваниями фитоплазменной этиологии [139; 202; 128].

Таксономическое положение:

Домен: *Bacteria*

Тип: *Tenericutes*

Класс: *Mollicutes*

Порядок: *Acholeplasmatales*

Семейство: *Acholeplasmataceae*

Род: «*Candidatus Phytoplasma*»

1.2. Классификация фитоплазменных патогенных агентов винограда

С развитием методов молекулярной диагностики фитоплазм, представилась возможность их классифицировать в группы и подгруппы, основываясь на генетических критериях. Поскольку изучение биологических и фенологических свойств фитоплазм, как было упомянуто выше, в чистой культуре затруднены, приоритетным отличием для классификации в таксономии, является исторически принятая группировка по анализу консервативного гена *16S* рибосомной ДНК, а также других менее специфичных генов [150; 183; 201]. Для этого, после амплификации исследуемый участок ДНК фитоплазмы, подвергают анализу по полиморфизму длин рестрикционных фрагментов (*ПДРФ*, англ. *Restriction fragment length polymorphism - RFLP*), в итоге получают отрезки ДНК, которые разделяют электрофорезом в полиакриламидном геле и сопоставляют их с уже опубликованными рестрикционными картами [111, 108; 181; 182; 201]. В настоящее время, после амплификации, чаще применяют метод секвенирования с последующим *in silico* (компьютерным моделированием) *ПДРФ*, тем самым разделяя фрагменты ДНК виртуально, что даёт возможность добавлять специфичные маркеры для классификации [208; 164].

Определённые, универсальные участки генов свойственны многим представителям фитоплазменных заболеваний. Для диагностики фитоплазменной подгруппы применяют выявление более специфичных участков рРНК - *16S-23S*, а также используют другие генетические маркеры: *tuf*, *secA*, *secY*, *vmpl*, *map*, *uvrB*, *groEL*, *Stamp* и другие, тем самым определяя конкретные фитоплазменные штаммы [105; 91; 133; 134; 74; 35; 143].

По последним данным фитоплазмы разделены на 44 рибосомных таксономических групп (Рисунок 1.1), [151; 154] и более 100 подгрупп [95; 25].

Мониторинг фитоплазменных болезней в России за последние года выявил шесть таксономических групп: *16SrI*, *16SrII*, *16SrIII*, *16SrVI*, *16SrX*, *16SrXII*. Данные фитоплазмы

были диагностированы как в культурных растениях, так и дикорастущих травянистых, кустарниковых и древесных [226; 85].

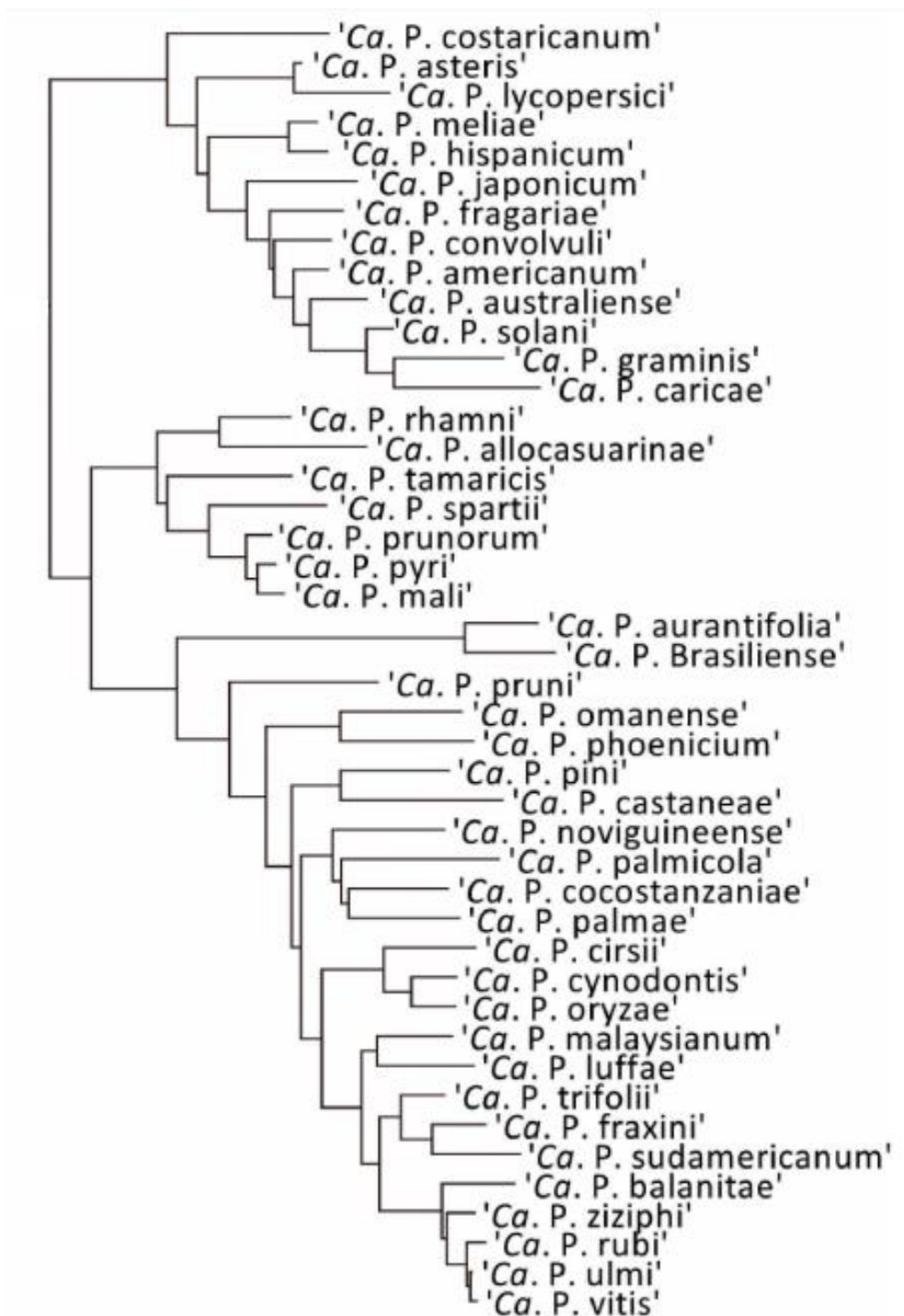


Рисунок 1.1. Дендрограмма рода «*Candidatus Phytoplasma*» 44 групп фитоплазм [154]

Заболевания типа «желтухи винограда» вызывают, по меньшей мере, 24 фитоплазмы, разделённых по следующим филогенетическим группам: *16SrI*, *16SrII*, *16SrIII*, *16SrV*, *16SrIX*, *16SrX*, *16SrXII*, *16SrXXIII*. При поражении виноградного растения

фитоплазмозом, наносимый ущерб зависит от штамма возбудителя. Определённые группы фитоплазм распространены и локализованы в конкретных географических регионах [30; 53; 78]. В зависимости от группы их биология и эпидемиология разнятся, что чаще всего связано с присутствием переносчиков и их количеством, а также наличием растений-хозяев [66].

Распространение фитоплазменных групп ограничивает симбиоз растений – хозяев и насекомых – переносчиков. Для некоторых фитоплазм характерно достаточно большое распространение в природе по причине наличия насекомых полифагов и широкого круга растений-хозяев. А некоторые фитоплазмы ограничены в своём распространении одним растением-хозяином и одним насекомым монофагом. Так одними из самых важных фитоплазменных видов, наносящих вред виноградарской отрасли, являются *Candidatus Phytoplasma vitis* и *Candidatus Phytoplasma solani*. Филогенетически они не связаны, но объединяет их схожее проявление симптомов на виноградном растении.

1.3. Биологические характеристики возбудителей фитоплазменных заболеваний

Для исследования биологии возбудителей фитоплазменных заболеваний применяют методы электронной микроскопии - возможно наблюдение фитоплазменных колоний в заражённом растении или в клетках органов насекомого; диагностику молекулярным анализом, включающим антитела или нуклеиновые кислоты и культивирование патогена на искусственных питательных средах.

Фитоплазма является облигатным внутриклеточным прокариотом [101], состоит из цитоплазмы, рибосом, ДНК и РНК, лишена настоящей клеточной оболочки, клетки ограничены трехслойной цитоплазматической мембраной [18; 154], что позволяет им приобретать различные формы (Рис.1.2).

Размер патогена, составляет 0,05-1µm и состоит из очень маленького генома 550-1500 пар нуклеотидов [114; 11], что и предрасполагает их необходимость в паразитическом существовании.

Фитоплазмы колонизируются в проводящих сосудах флоэмы растений, по которым происходит движение продуктов фотосинтеза [83; 52; 45; 49], а также в органах тела насекомых переносчиков, а именно в желудочно-кишечном тракте, гемолимфе и слюнных железах [187; 44].

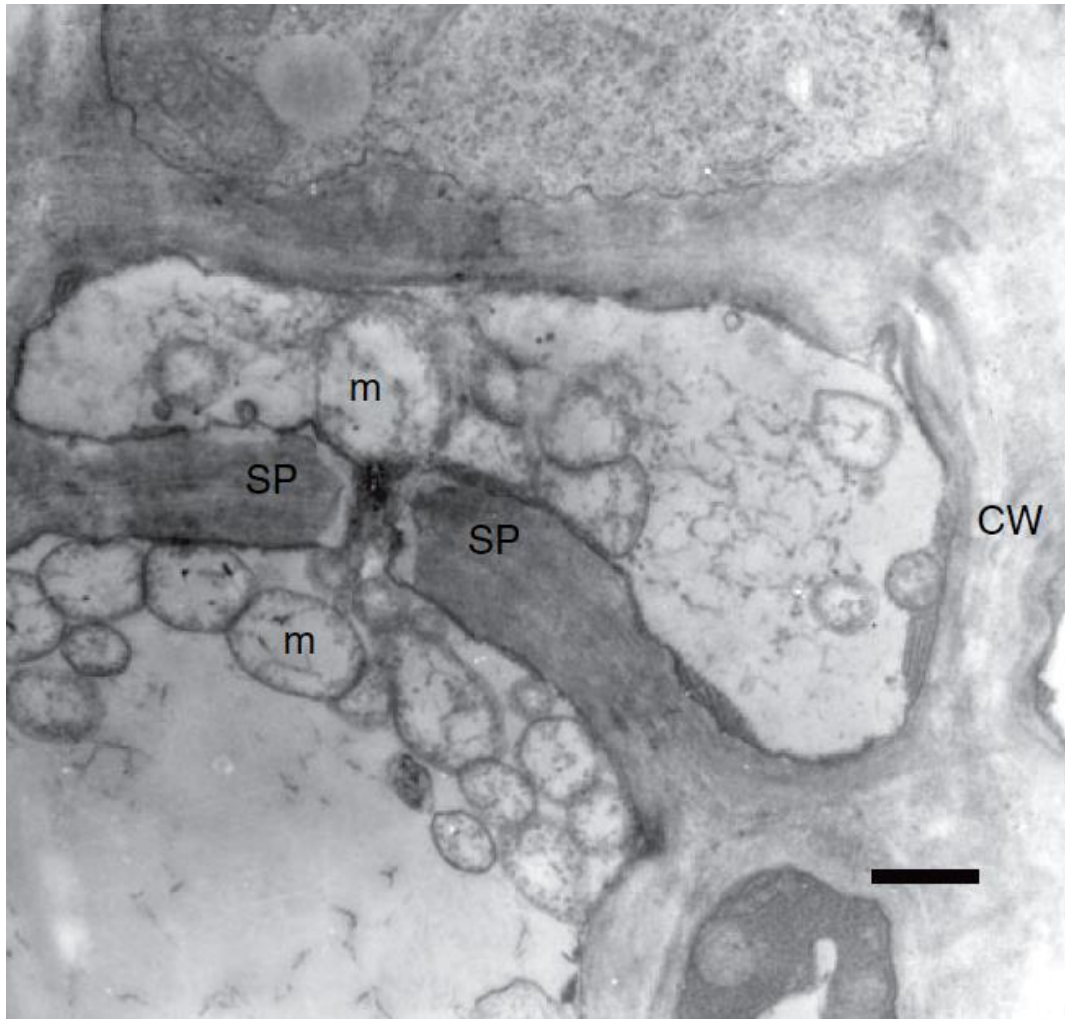


Рисунок 1.2. Прохождение фитоплазмных тел через ситовидные трубки, в проводящих сосудах флоэмы растительной ткани. CW - клеточная стенка; m - фитоплазмные тела; SP - ситовидная трубка. Bar 700 nm [129]

Во время питания на листовой поверхности насекомые-переносчики инокулируют фитоплазму в растение. В большинстве случаев конкретный переносчик ответственен за передачу определённой фитоплазмы, тем не менее, смешанные инфекции в переносчиках также встречаются. Впрочем, вегетативное размножение поражённых заболеванием растений, особенно на большие расстояния, является ещё более значимым и становится возможным посредством прививки, обрезки и микроразмножения [107; 66].

Метаболизм фитоплазм полностью зависит от их носителя. У фитоплазм редуцированы участки генов, отвечающие за синтез нуклеотидов, ранее считалось, что наличие АТФ синтеза является основополагающим для всех живых организмов. Так как фитоплазмы — это внутриклеточные паразиты, то у них нет необходимости синтезировать элементы питания, они получают питательные вещества уже готовые, из клеток растения - хозяина. На сегодняшний день, у фитоплазм выявлены участки генов,

отвечающие за их симбиоз с насекомыми и паразитизм в растении [154]. Наблюдаемые изменения в метаболизме, предполагают, что инфицированные виноградные растения реагируют на патоген выделением салициловой кислоты, тем самым проявляя системную устойчивость [66], но недавние исследования показали способность фитоплазмы *Золотистое пожелтение* снижать защитные механизмы в растении, при инфицировании насекомым *Scaphoideus titanus* [19].

Определённо, что некоторые биологические аспекты фитоплазм остаются неясными. Недавние исследования штаммов микоплазм, доказали их способность к фитопатогенности. Так повсеместно распространённая микоплазма *Acholeplasma laylawii*, является возбудителем заболеваний многих видов растений, что доказано опытами о проникновении патогена из питательной среды в надземную часть растений [218; 40].

Долгое время считалось, что в отличие от микоплазм, фитоплазмы в лабораторных условиях не могут быть культивируемы «*in vitro*» на питательных средах [107; 104], хотя однажды и были получены успешные результаты [82], но повторно они не воспроизведены у Vove и Davis [128]. Работы советских учёных оказали большой вклад в изучение фитопатогенных микоплазм на искусственных питательных средах [235; 219].

В последние десятилетия появились исследования о методах культивирования фитоплазм на бесклеточных питательных средах, данные были подтверждены методом ПЦР, ПДРФ и секвенированием [15; 55; 56; 58], что ознаменовало прорыв в изучении биологии фитоплазм. В результате проведения опытов, учёные выявили, что фитоплазмы восстанавливают независимые метаболические пути [106; 66], благодаря которым они выживают, паразитируя в разнообразной окружающей среде.

1.4. Заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии

Эпидемиология заболеваний, связанных с желтухами винограда, осложняется в случае, когда растения-хозяева являются резерваторами, из которых насекомые приобретают и передают фитоплазмы виноградным лозам. Встречается и замкнутый цикл распространения фитоплазмы от виноградной лозы, посредством переносчика, к виноградной лозе. Так одними из самых важных фитоплазменных видов, наносящих вред виноградарской отрасли, являются “*Ca. P. vitis*” и “*Ca. P. solani*”. Филогенетически они не связаны, но объединяет их схожее проявление симптомов заболеваний, вызванных ими на виноградном растении.

Интенсивность проявления заболевания зависит от устойчивости растений [19]. Метод ПЦР анализа успешно используют в селекции, для выявления растений с

обладанием устойчивости к фитоплазмам [130; 10], что является одним из способов борьбы с распространением фитоплазменных заболеваний. В настоящее время учёные работают над устойчивостью виноградных растений к фитоплазменным заболеваниям или выделяют эндемичные сорта с обладанием резистентности, так в Грузии выделены ряд промышленных сортов характеризующиеся низким уровнем поражения Почернением древесины [43].

Перенос фитоплазмы переносчиком осуществляется следующим образом: цикадка, питаясь на инфицированном растении, абсорбирует фитоплазму с соком растения, попадая в пищевой тракт, а затем в тело насекомого. Фитоплазма в теле насекомого приобретает латентную форму и инкубируется от 1 до 4 недель. За это время фитоплазма размножается и паразитирует большую часть тканей и органов насекомого, далее достигает слюнных желез. Начиная с этого периода цикадка, каждый раз питаясь на здоровом растении, инфицирует его [202; 86].

1.4.1. Золотистое пожелтение винограда

Золотистое пожелтение винограда (*Flavescence doree*, *FD*, с франц.) - вызвано фитоплазменным возбудителем, принадлежащим к виду "*Candidatus Phytoplasma vitis*", и относится к рибосомальной группе *16SrV* [16] - пожелтения вяза (*elm yellows*, с англ.), подгруппам *C* и *D* [136; 28]. Штаммы подгрупп имеют между собой отличия и привязаны к своему возможному географическому происхождению [8; 77; 79; 141]. В марте 2022 года обновлена информация о ситуации по распространению Золотистого пожелтения винограда в мире, которое выявлено в Австрии, Хорватии, Франции, Корсике, Германии, Венгрии, Италии, Португалии, Сербии, Словении и Швейцарии [155]. Данное заболевание эффективно передаётся насекомым *Scaphoideus titanus* (Ball, 1932) [144]. Виноградное растение для данной цикадки является растением хозяином. В эпидемические годы, фитоплазменное заболевание Золотистое пожелтение винограда оказывает влияние на существенные потери урожая [96; 163], но ряд авторов подтверждают, что в зависимости от сорта виноградной лозы, возможно восстановление после поражения [145; 117]. Заболевание - Пфальцские пожелтения винограда (*Palatinate GY*) в Германии, имеют высокое рибосомное сходство по последовательности *16SrV*, со штаммами *FD* [6; 8], но не вызывает эпидемии т.к. виноградное растение является вторичным хозяином переносчика [118; 121; 136].

Фитоплазменные штаммы, относящиеся к *16SrV*, наряду с виноградным растением, были выявлены и в других, произрастающих рядом с виноградником: Оляха чёрная (*Alnus*

glutinosa L.) [121; 125], Айлант высочайший (*Ailanthus altissima* L.), Ломонос виноградолистный (*Clematis vitalba* L.), Лещина обыкновенная (*Corylus avellana* L.) [5; 7; 76; 77; 35].

1.4.2. Почернение древесины винограда

Почернение древесины винограда (*Bois noir*, *BN*, с франц.) - заболевание впервые описано во Франции в 1961 году [36], вызвано фитоплазменным возбудителем, принадлежащим к виду “*Ca. P. Solani*” - фитоплазмам столбура (*STOL*) и относится к рибосомальной группе - *16SrXII*, в более старых источниках к фитоплазмозу *Flavescence doree* относили и *Bois noir*, однако, было доказано, что последний относится к “*Ca. P. solani*” [174]. Подгруппы *A* и *B* соотносятся со своим географическим происхождением, так европейские изоляты принадлежат к подгруппе *A*, а к подгруппе *B* относятся австралийские изоляты (*Australian grapevine yellows*, с англ.; *AGY*). Заболевание эффективно передаётся *Hyalesthes obsoletus* (Signoret, 1865) [118] и виноградное растение является случайным местом кормления в жизненном цикле насекомого [110; 207; 97]. Многие представители семейства *Cixiidae*, включая *Pentastiridius leporinus* (Linnaeus, 1761), *Cixius wagneri* (China, 1942), *Reptalus panzeri* (Löw, 1883), обладают специфической связью с фитоплазмами столбура [212].

Начиная с молекулярной идентификации фитоплазм, с 1995 года заболевание Почернение древесины выявлено в 30 странах мира [17]. Относительно стран ближнего и дальнего зарубежья Республики Молдова, с недавнего времени установлено широкое распространение данного заболевания. В Украине заболевание Почернение древесины выявлено в 2005 г. [141], в Румынии и Чешской Республике в 2013 г. [41; 192], в Грузии в 2014 г. [173], где ранее обнаружен и переносчик *Hyalesthes obsoletus*, в большом количестве [42].

В Европе заболевание Почернение древесины передаётся винограду растению от вьюнка [189] и крапивы [105; 120], впрочем, при произрастании других сорных растений на плантации были зафиксированы случаи распространения инфекции [158; 103].

Фитоплазмы принадлежащие к группе *16SrXII-A* поражают множество культурных растений [81; 142; 143], встречаются в древесных и травянистых растениях. На начальных стадиях переносчики поражают виноградные плантации фитоплазменными инфекциями на границах с лесополосами и ветрозащитными посадками. С годами цикадки распространяют заболевание от куста к кусту, которое за несколько лет приобретает

стихийный характер, что типично для многих виноградарских стран, и говорит о передаче фитоплазменной инфекции от других растений-резерваторов.

1.5. Симптомы поражения виноградного растения фитоплазменными заболеваниями

Причины, приводящие к появлению симптомов, вызванных фитоплазменным заболеванием, относят к физиологическим реакциям чувствительных органов растения. Существуют более или менее чувствительные сорта, причём они проявляют симптомы заболевания с разной интенсивностью [13].

Симптомы поражения виноградного растения фитоплазменным заболеванием характеризуются следующими признаками: задержка распускания почек, неравномерное пожелтение листьев у белых сортов и покраснение у красных. Соцветия усыхают, а если грозди сохраняются, то ягоды сморщиваются [37; 39; 27; 24; 64; 215; 196; 66].

Симптомы являются следствием нарушения проводящих тканей флоэмы. Перед проявлением симптомов происходят изменения на клеточном уровне: осаждение каллозы рядом с ситовидными трубками, в результате чего происходит накопление продуктов фотосинтеза и нарушение их поступления в другие органы, в итоге флоэма некротируется, а внешне листья желтеют и уплотняются [149,148].

У побегов отсутствует лигнификация, на поверхности больных побегов появляются многочисленные пустулы, лоза не вызревает и с наступлением низких температур она погибает [64; 215].

При ежегодном проявлении симптомов, заболевание вызывает прогрессивное ослабление растения, по причине отсутствия накопления запасных питательных веществ в побегах, стебле и корнях [24], а также снижается урожайность, качество вина ухудшается из-за повышенной кислотности и низкого содержания сахара [215].

Инфицируя виноградную лозу, фитоплазме свойственно неравномерное распределение, с низким титром, что иногда может затруднять проявление симптомов и выявление заболевания [27]. Симптомы не всегда проявляются каждый год, они могут присутствовать локализовано на нескольких побегах или всего на одном, к тому же разные сорта по-разному проявляют устойчивость [94; 186].

Бессимптомными хозяевами фитоплазменных заболеваний являются дикие виды *Vitis L.*, а также межвидовые гибриды, которые используют в качестве подвойной лозы [146; 116; 73]. Такие виноградные лозы, при производстве посадочного материала, представляют эпидемиологическую опасность распространения.

Корректная визуальная диагностика симптомов заболевания, вызванного фитоплазменной инфекцией, требует квалифицированной подготовки персонала, так как существуют схожие реакции растения, проявленные по другим причинам.

В связи с тем, что симптомы проявления «*Flavescence doree*» и «*Bois noir*» очень схожи, а на подвойных лозах проявление отсутствует, только молекулярный анализ позволяет достоверно выявить и различить фитоплазмы [59].

1.6. Переносчики фитоплазменных заболеваний винограда

Насекомые переносчики многих фитоплазменных заболеваний винограда, остаются неизвестными, однако список возможных видов постоянно растёт. Основную ответственность за широкое распространение несут насекомые-переносчики, такие как: цикадки, некоторые виды тлей и листоблошек (ксиллиды), они инокулируют ткани флоэмы здорового растения, тем самым передают фитоплазму [191; 4; 92]. Цикадовые (лат. *Auchenorrhyncha*), — это огромный и разнообразный подотряд насекомых из отряда полужесткокрылых (*Hemiptera*). Известно более 40 000 видов, которые распространены по всему миру. Насекомые 92 видов способны инфицировать здоровые растения [202] и длительный период времени способны её передавать, причём некоторые из насекомых могут быть переносчиками нескольких видов фитоплазм. Большинство представителей подотряда *Auchenorrhyncha* питаются из ткани флоэмы растения, но два семейства (*Cicadoidea*: *cicadas*; *Cercopoidea*: *spittlebugs*) и одно подсемейство *Cicadellidae* (*Cicadellinae*) питаются соком ксилемной ткани. Кроме того, большинство видов листовых цикад подсемейства *Typhlocybae* питаются клеточным соком из клеток мезофилла. Поскольку фитоплазмы ограничены флоэмой, только насекомые, питающиеся флоэмой, потенциально могут приобрести и передать патоген [203].

Высокая эффективность цикадок-переносчиков в распространении фитоплазмы, обуславливается следующими характеристиками: 1) неполное превращение: из яйца выходит насекомое, в общем похожее на взрослое, но отличающееся от него главным образом отсутствием крыльев. Нимфы и имаго питаются на одном растении способны передавать фитоплазму, не зависимо от возраста; 2) питаются селективно на определённых растительных тканях; 3) имеют непосредственный и постоянный контакт с фитоплазмами.

В работе Weintraub и Wilson (2010) представлены данные, где все переносчики разделены на группы по подсемействам, так более 75% всех подтвержденных видов-переносчиков фитоплазмы находятся в подсемействе *Deltocephalinae*. *Deltocephalinae* -

крупнейшее подсемейство прыгающих цикадок. Пищевые предпочтения видов в пределах этого подсемейства варьируют от монофаговых до полифаговых, и члены этой группы могут переносить один или несколько различных таксонов фитоплазмы. Большинство видов встречаются в полевых экосистемах, и они могут встречаться в изобилии. Однако семейство *Opsiini*, *Macrostelini*, *Scaphodeini* и *Scaphyopiini* содержат известные виды переносчиков, питание которых не ограничено лишь видами трав. Мало что известно о взаимоотношениях растений-хозяев и большинства видов переносчиков, но вполне вероятно, что они узко олиготрофны [203].

Взаимоотношение между цикадками и фитоплазмой представляется непростым и изменчивым, поскольку существует высокая специфичность насекомых в процессе передачи фитоплазмы растениям. Данная специфичность обусловлена селективной связью между определенной фитоплазмой и видами переносчиков. Вместе с тем некоторые штаммы фитоплазмы передаются различными видами насекомых. Основопологающим фактом в распространении фитоплазмы является отношение между векторами-полифагами с растениями-резерваторами. Взаимодействия переносчик-растение хозяин играют важную роль, как в ограничении, так и расширении распространения фитоплазм [44]. Эффективность распространения заболевания зависит от наличия данного заболевания на той или иной плантации и от плотности популяции насекомых.

1.6.1. Переносчик Золотистого пожелтения

Scaphoideus titanus Ball, 1932, — широко известная как - Американская виноградная цикадка, насекомое происхождения из США и Канады. Этот вектор был ввезён случайно, предположительно во время второй мировой войны или с переходом на американские подвои для борьбы с филлоксерой [38; 162]. В Европе влияние естественных хищников или паразитов не значительно, отсутствие природного антагониста способствует интенсивному распространению насекомого.

Насекомое размером 4-6 мм, коричнево-пёстрого цвета, узкие, с довольно сильно закругленно выступающей головой, переход головы в темя закругленно, темя узкое. Виноградное растение для цикадки является растением хозяином [225]. В эпидемические годы, переносчик Золотистого пожелтения несёт ответственность за существенные потери урожая, а у восприимчивых сортов винограда вызывает гибель [96; 163].

Взрослая особь с крыльями, поэтому насекомое в стадии имаго очень мобильное. После оплодотворения самки насекомого, откладывают яйца в трещинах коры двухлетней лозы и погибают. Личинки имеют 5 возрастных стадий, сходны внешне и по образу жизни

со взрослыми, только не имеют крыльев, могут прыгать, малоподвижны [228]. На сроки отрождения личинок влияют холодные зимние и весенние температуры. Последние десятилетия характеризуются мягкими зимами, что способствует увеличению популяций [48; 178].

Цикадка *S. titanus* — эффективный переносчик, который в значительной степени несет ответственность за распространение заболевания Золотистого пожелтения в Европе. Подтверждено, что цикадка в стадии личинки, как и взрослая особь способны приобретать фитоплазму, также доказано, что мужская особь эффективнее распространяет заболевание, чем женская [184].

Исследования во Франции выявили привлекательность жёлтого, жёлто-зелёного цвета для *S. titanus* в качестве питательной ценности, что связано с наличием молодых, развивающихся побегов на виноградном кусте. Притяжение насекомого к этим цветам имеет решающее значение для распространения *FD*, т.к. золотистые инфицированные листья белых сортов винограда привлекают больше всего, что частично объясняет быстрое распространение болезни [94].

Заболевание Золотистое пожелтение могут переносить на виноградное растение и другие цикадки: *Dictyophara europaea* (Linnaeus, 1767) от заражённого Ломоноса виноградолистного (*Clematis vitalba* L.) [77], а *Oncopsis alni* (Schrank, 1801) от Ольхи чёрной (*Alnus glutinosa* L.) [121], данные подтвердило Европейское Агентство по Безопасности Пищевых Продуктов [69]. В Словении, в результате ПЦР диагностики цикадки *Orientalis ishidae* (Matsumura, 1902), была выявлена фитоплазма *FD* [140].

1.6.2. Переносчик Почернения древесины

Заболевание Почернение древесины (*Bois noir*, с франц.; *BN*) относится к виду *Ca. P. solani* — фитоплазмам столбура (*STOL*) и принадлежит к рибосомальной группе *16SrXII-A* — эффективно передаётся *Hyalesthes obsoletus* (Signoret, 1865) [118]. Виноградное растение является случайным местом кормления в жизненном цикле насекомого [110; 202; 207; 97]. Цикадка передаёт фитоплазму столбура различным сорным и культивируемым травянистым растениям, а также виноградной лозе, где, собственно, и вызывает заболевание Почернение древесины [189; 119].

H. obsoletus — или Вьюнковая цикадка, имаго чёрного цвета, боковые края темени и лба белые, переднеспинка белая, надкрылья прозрачные, молочно-дымчатые, со светлыми жилками, размер: 4,5-5,5 мм [210; 211; 224]. Личинка обычно питается на корнях многолетних травянистых растений: Вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis* L.),

Крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.). Взрослое насекомое полифаг может питаться на многих травянистых растениях из семейства Паслёновых (*Solanaceae* L.). Причём большая эффективность приобретения фитоплазмы от зараженных растений именно в ювенильном возрасте [2].

При обнаружении Почернения древесины в цикадке *H. obsoletus*, методом полимеразной цепной реакции подтверждено, что переносчик питается различными сорными растениями [97; 100; 103].

На начальных стадиях переносчик поражает виноградные насаждения фитоплазменными инфекциями на границах с лесополосами и ветрозащитными посадками. С годами цикадки распространяют заболевание от куста к кусту, которое за несколько лет приобретает стихийный характер, что типично для многих виноградарских стран, и говорит о передаче фитоплазменной инфекции от других растений — резерваторов.

Нимфы живут в земле, имеют мощные роющие передние ноги. Осенью и зимой насекомое находится в личиночной форме и живет в земле. Всего 5 личиночных стадий следуют одна за другой, последняя наступает весной, когда насекомое выходит из-под земли. Переносить фитоплазму могут как личинки, так и взрослые особи [227]. Перед переходом в фазу имаго входят в стадию покоя. Яйца обычно откладывают на корнях сорных растений, которые для этой цели надпиливаются яйцекладом. В европейских странах цикадка имеет одно поколение в году [31], а в Израиле выявляют взрослых особей два раза в год — весной и осенью [190].

Доказано, что уровень заражённых фитоплазмой цикад на винограднике зависит от преобладания растений-хозяев. Так в Германии при наличии Вьюнка полевого, может быть заражено до 80% *H. obsoletus*, если они развиваются на Лютиковых (*Ranunculus spp.*L.) только около 5% заражены [122]. Предпочтительным растением-хозяином в Италии является Крапива двудомная [31].

На винограде установлены альтернативные переносчики Почернения древесины *Reptalus panzeri* (Low, 1883) в Сербии [60] и *Macrosteles quadripunctulatus* (Kirschbaum, 1868) в Испании [12]. Ранее в экспериментальных условиях были выявлены и другие потенциальные переносчики фитоплазменных заболеваний относящиеся к группе столбура: *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson, 1937), *Reptalus quinquecostatus* (Dufour, 1833) [177; 46]. Недавние исследования выявили возможность передачи фитоплазмы группы столбура 16SrXII-A винограду другими переносчиками: *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum, 1858), *Euscelis incisus* (Kirschbaum, 1858), *Dicranotropis hamata*

(Boheman, 1847), *Laodelphax striatella* (Fallén, 1826), *Dictyophara europaea* (Linnaeus, 1767), *Philaenus spumarius* (Linnaeus, 1758), *Aphrodes makarovi* (Zachvatkin, 1948), *Psammotettix alienus / confinis* (Dahlbom, 1850) [172].

В итальянском регионе Тоскана, на виноградниках выявили новый штамм, относящийся к *Ca. Phytoplasma solani*, который ранее диагностировали только у растений хозяев и предполагают его эволюционирование в местной агроэкосистеме и адаптацию к виноградной лозе [14; 166; 167], а также характеризующийся умеренной патогенностью, что связано с растениями хозяевами и установленным переносчиком *Reptalus quinquecostatus* (Dufour, 1833) [165].

1.7. Диагностика возбудителей фитоплазменных заболеваний винограда методом ПЦР

Исследования и контроль над фитоплазменным заболеванием винограда зависят от обнаружения и идентификации возбудителя. Методы обнаружения делят на четыре основные категории: биологические анализы, микроскопия, иммунологические и молекулярные подходы. Из перечисленных методов основным является ПЦР анализ, который применяется в диагностических лабораториях из-за высокой чувствительности и автоматизации.

Успех в исследованиях и диагностике фитоплазмы, молекулярным методом, зависит от извлечения всей фитоплазменной ДНК, которая должна быть хорошего качества. Было опубликовано несколько различных инструкций для полной экстракции ДНК из тканей виноградной лозы, инфицированной фитоплазмой [170; 62; 6] и переносчиков насекомых [137, 197]. Сложность большинства методик извлечения ДНК ограничивает количество тестируемых образцов.

Boudon-Radieu с соавторами сравнили методы выделения ДНК из виноградной лозы и пришли к заключению, что полученные препараты ДНК содержали ингибиторы для ПЦР, не зависимо от использованного метода. Решением для ускорения ПЦР было разбавление концентрации ДНК [26].

Поскольку фитоплазмы колонизируются в проводящих сосудах флоэмы, то для анализа отбирают органы виноградного растения, обязательно, с симптомами заболеваний. Фитоплазменная инфекция имеет неравномерное распределение по растению и обычно присутствует в очень малой концентрации, что затрудняет диагностику. Но когда титры достаточно высоки, то заболевание может быть обнаружено во всех органах виноградного растения: в цветках, тканях ягод, черешках, усиках, лозе,

стволе, корнях [52; 193; 169]. Нуклеиновые кислоты извлекают из свежих или замороженных (-20 или -80 °С) тканей виноградной лозы, используя предпочтительно жилки или черешки листа. В основном для экстракции нуклеиновых кислот применяют метод СТАВ, с различными модификациями [161].

После выделения ДНК следует анализ ПЦР, который выполняется с помощью синтетических, универсальных или специфических праймеров, необходимых для поиска исследуемой группы фитоплазмы. Для идентификации конкретной фитоплазменной группы были разработаны дополнительные групповые праймеры. Специфические праймеры для определения *FD* и *BN* усиливают *16S* рДНК и область спейсера между генами *16S* и *23S* рРНК [109; 111; 118; 131], рибосомальные гены (*Rp*) [113; 135], а также не рибосомальные гены, такие как ген *tuf*, который кодирует фактор удлинения [124], ген *secY*, который кодирует фермент транслоказы [62; 6; 8; 75]. Для идентификации штаммов *FD* и *BN* были проведены анализы нескольких других генов, таких как переменные гены, которые кодируют поверхностные белки *vmp1*, *stol-1H10* [50; 160; 147].

В настоящее время диагностику фитоплазм проводят двумя методами: классический ПЦР или ПЦР в реальном времени. Для определения принадлежности к специфической фитоплазменной группе, методом классического ПЦР, необходим последующий анализ полиморфизма длины рестрикционного фрагмента [136; 209]. Метод ПДРФ использует способность рестрикционных ферментов разрезать нуклеиновые кислоты на уровне конкретных генетических последовательностей, что позволяет идентифицировать виды и таксономическую группу / подгруппу, к которым принадлежат фитоплазмы. В заключении проводят электрофорез образцов амплифицированных с помощью ПЦР или обработанных анализом ПДРФ. Второй тип теста — ПЦР в реальном времени, позволяет повысить чувствительность и скорость анализа, поскольку он не требует ПДРФ и электрофореза, а положительные образцы определяются по флуоресцентной метке уже во время циклов ПЦР.

Данные методы могут применять для идентификации фитоплазмы с помощью системы штрихового кодирования ДНК (база данных Q-банка) [123]. Два штрих-кода, основанных на *16S* рРНК и генах *tuf*, предлагают одновременную идентификацию фитоплазмы из нескольких различных рибосомных групп [57]. Полученный продукт ПЦР можно также проанализировать путем секвенирования.

В диагностировании фитоплазм существуют определённые трудности из-за внутренних особенностей инфекции, такие как локализация патогена во флоэме, особенно

у древесных пород, низкая концентрация и неравномерное распределение микроорганизма в растении [80].

1.8. Мероприятия по предупреждению распространения фитоплазменных заболеваний винограда

Каждая страна-член Европейского Союза подчиняется профильному Министерству, которое регламентирует обязательные стратегии контроля и мониторинга карантинных объектов на виноградниках, включая насаждения подвоя, привоя и виноградные школки.

В соответствии с Международной конвенцией по защите растений (*IPPC, статья IX*) Европейская и средиземноморская организация защиты растений (*EPPO*) является региональной организацией по защите растений (*RPPO*) для европейско-средиземноморского региона (*включает 52 страны*) [70]. Данная организация устанавливает региональные стандарты принятия фитосанитарных мер и средств защиты растений.

Выявление фитоплазменных заболеваний, в странах ЕС, относится к мониторингу карантинных организмов. Во всех странах ЕС заболевание Золотистое пожелтение (*Ca. P. vitis*), в отличие от Почернения древесины, относится к карантинному объекту. Это связано с эпидемическим характером заболевания [155; 156].

Первостепенным мероприятием по выявлению является организация обследований в полевых условиях. После проводят генетический анализ отобранных проб, для подтверждения или опровержения наличия Золотистого пожелтения. В районах, где выявлено данное заболевание, борьба регламентирована и обязательна. В Италии контролируется распространение *FD*, указом об обязательной борьбе от 31.05.2000, Указ № 159 от 10.07.2000 [63].

Согласно Постановлению Правительства Франции от 19 декабря 2013 [9], о борьбе с Золотистым пожелтением винограда и его переносчиком, заражённые растения следует удалить с насаждения до 31 марта следующего года. Своевременное удаление растений с симптомами способствует уменьшению инфекционного фона на винограднике. Удаление больных растений наиболее эффективно на посадках, где растения посажены несмежно. Заражённые растения могут быть полностью удалены или удалены только побеги с симптомами.

На сегодняшний день нет известных эффективных методов борьбы с фитоплазменными заболеваниями винограда. У поражённых растений возможна ремиссия

симптомов, более известная как «выздоровление». Применяя агротехнические методы, такие как обрезка на головку куста, частичное или полное выкорчёвывание, можно обеспечить отсутствие симптомов в последующие годы [179].

Следующая необходимая мера — это контроль над популяциями цикад, так как большие популяции ставят под угрозу заражения даже здоровые насаждения. Что касается мер борьбы с заболеванием Почернение древесины, обработка инсектицидами не применяется, так как переносчики полифаги и их жизненный цикл не зависит от виноградной лозы.

Обязательные зоны проведения защитных мероприятий устанавливаются ежегодно. Фитосанитарное состояние обследованных территорий устанавливают ведомственные комиссии, которые делят территории на 4 зоны, где применяют соответствующие меры борьбы. Участки, относящиеся к красной зоне, подлежат трём обязательным обработкам инсектицидом. На участках, входящие в оранжевые зоны применяют две обработки. Участки в жёлтой зоне необходимо обработать один раз. В зелёной зоне находятся участки вне обязательных мер борьбы. На маточниках привойных и подвойных лоз, а также на школках питомников обязательны 3 обработки инсектицидом.

Обработка горячей водой лозы не требуется в случае отсутствия симптомов заболевания на маточнике, наблюдения за такими участками проводит контролирующий орган. Участок маточника, материал которого не подвергают горячей водной терапии, должен быть на расстоянии более 500 метров от ранее выявленного заражённого растения, на близлежащих насаждениях. Ответственность за определение статуса зоны лежит на Региональном Управлении по защите растений (РУЗР). Собственник виноградного насаждения может запросить данные в РУЗР об эпидемиологической ситуации относительно зоны расположения участка.

На территории Италии, в случае обнаружения *FD* в питомнике, инфицированные растения уничтожают, а размножение материала приостанавливают до тех пор, пока отобранные пробы для тестирования не станут отрицательными в течение двух лет.

Горячая водная терапия виноградной лозы применяется как метод профилактики распространения заболеваний фитоплазменной этиологии. Одним из свойств фитоплазм является чувствительность к теплу, что делает возможным использование термотерапии при лечении поражённых растений [51], а также используется для оздоровления от *Agrobacterium vitis* в Молдове [213].

В целях предупреждения распространения фитоплазменных заболеваний с посадочным материалом применяют горячую водную обработку покоящейся виноградной лозы и саженцев при $t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 мин [127], а также недавно получены успешные результаты, в процессе фитосанитарной селекции винограда в Молдове, при $t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 45 мин и $t = 51\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 45 минут [222].

Карантинный статус вредоносного объекта *Phytoplasma solani*, к которому относится заболевание — Почернение древесины, введен в 8 странах: Канада, США, Парагвай, Бахрейн, Иордания, Израиль, Норвегия [70].

1.9. Методы борьбы с переносчиками фитоплазменных заболеваний

Первоначальным этапом на пути предотвращения распространения фитоплазменных заболеваний являются превентивные методы борьбы, одним из них представляется производство свободного от заболеваний посадочного материала [241], а также избежание транспортировки цикад в новые районы.

С момента возделывания виноградных плантаций ответственную роль занимают питомники. От фитосанитарного состояния подвойно-привойных насаждений зависит качество производимого посадочного материала [214]. На маточниках необходимо проводить тщательную борьбу с насекомыми-переносчиками заболеваний.

Простой способ предупреждения распространения цикадки *S. titanus* с посадочным материалом является уничтожения отложенных яиц под корой методом горячей водной терапией, который применялся издавна во Франции.

Важным шагом в разработке рациональных мер борьбы, направленных на предотвращение распространения фитоплазм является мониторинг переносчиков. Также это единственный способ эффективно контролировать популяции насекомых-переносчиков. Своевременное выявление переносчиков позволяет избирательно применить защитные меры в необходимом месте и в нужное время. Что существенно влияет на целесообразность проведения защитных мероприятий, а также экономит затраты на рабочую силу и пестициды.

Необходимость контроля над переносчиками остаётся постоянной. В случае ремиссии виноградной лозы от фитоплазменного заболевания, наличие инфицированных переносчиков на плантации, приведёт к повторному заражению растений [145].

Наиболее надёжным средством контроля переносчиков фитоплазмы является возделывание культуры с ограничением доступа насекомых к растению, однако применить его возможно только на ограниченно малых площадях [205]. Для этого

применяют различные органические и синтетические мульчирующие материалы. Синтетические мульчи, такие как пластиковая пленка, могут физически ограничивать передвижение переносчиков в почву (*H. obsoletus* откладывает яйца на корнях Вьюнка), тем самым снижается популяция в непосредственной близости к виноградному растению.

В производстве клоновых или инициальных растений рекомендуют предотвращать к ним доступ насекомых посредством защитных материалов. Применяют и покрытие сверху, испытания в туннелях шириной 3 м и высотой 2,7 м показали, что растения активно росли, и фитосанитарные проблемы отсутствовали [22].

Перспективным и неопределимым потенциалом обладает метод симбиотического контроля над переносчиками, который осуществляется путём трансгенных бактерий внедряемых в насекомых [205].

Если не проводить борьбу с переносчиками, количество инфицированных растений увеличивается до 10 раз ежегодно и может достичь 80-100% поражения плантации [34].

Растение - хозяин значительно влияет на локализацию и движение переносчика, так Lessio & Alma (2004) установив ловушки за границей виноградников, отслеживали переносчика Золотистого пожелтения - монофаг *S. titanus*, в результате за границей виноградников отловлено только 3 особи, тогда как внутри плантации 1200 [115].

Резерватором Золотистого пожелтения являются пораженные кусты винограда. Из-за того, что симптомы проявляются в конце вегетации, следует контролировать популяцию переносчиков, так как большое количество переносчиков в среде априори является чрезвычайно опасным. Исследования, проведённые с цикадкой *S. titanus*, показали, что низкие зимние температуры регулируют динамику выхода личинок из яиц [47]. Удаляя с участка собранную кору с многолетних частей куста, как и лозу, после обрезки, можно добиться снижения популяции цикадок на 25% [54].

Борьба с фитоплазменными заболеваниями растений, до настоящего времени осуществлялась, в основном, при помощи применения инсектицидов, с учётом или без учёта определённого вида переносчика.

Влияние окружающей среды на наличие и лёт переносчиков оказывает огромное значение на распространение заболевания. В работе Weintraub & Beanland (2006), путём отлова переносчиков в двухстороннем направлении, на границах виноградников с лесами, демонстрируют основное направление лёта от лесополосы к плантации [202]. Установлено, что чаще заражаются растения по краям виноградников, что говорит о внедрении переносчика извне. Для общего контроля над переносчиками и повышения

результативности защиты растений, Pilkington в соавторстве (2004), предложил обработку системным инсектицидом, только по границам участка возделываемых культур, что показало снижение инфицирования растений [168]. Также, Biedermann & Niedringhaus (2004) рекомендуют обработки по краям территорий, прилегающих к лесополосам [20]. Возможно применение биологических препаратов, так применяют Pyrevert на основе Далматской ромашки, который используют на виноградниках во Франции против *S. titanus* [171].

Из-за высокой мобильности и постоянного притока новых переносчиков, общепринятое применение инсектицидов недостаточно для полной защиты растений от фитоплазменных заболеваний.

Энтомофаги играют значительную роль в подавлении популяций переносчиков, как взрослых особей, так и нимф. В особенности пауки являются очень важными хищниками. Паразитирующие насекомые могут значительно сокращать количество яиц. Сохранение естественных врагов может привести к долгосрочному контролю над вредными насекомыми. Развитие энтомофагов коррелирует с применением пестицидов. Heinrichs (1994) доказал, что после применения пестицидов происходит увеличение популяций цикад из-за сокращения паразитоидов [90]. В Аргентине выявили паразитоидов, которые поражают яйца цикадовых (*Cicadellidae*), что в свою очередь оказывает влияние на динамику популяции цикад [3].

1.10. Состояние изученности заболеваний винограда фитоплазменной этиологии в Республике Молдова

В Республике Молдова, Маринеску и Костишану впервые обнаружили симптомы фитоплазменного поражения на виноградной лозе, в 1984 году, в с. Вэлень Кагульского района, на сорте Шардоне на одном из 1000 обследованных кустов, а в 1987 выявлены четыре поражённых куста из 2400 обследованных, уже в с. Пересечино, Оргеевского района. В последующие годы болезнь на другие кусты не распространилась. Цикадка - переносчик заболевания на поражённых участках не была обнаружена [132; 229].

В 2008 году, Бондарчук с соавторами, описал симптомы заболевания, которые наблюдали практически на всех европейских сортах винограда, возделываемых в Молдове. На поражённых кустах сорта Шардоне отмечена задержка распускания глазков. Установлено отрицательное влияние на общий прирост лозы. Впервые на виноградной плантации, в центральной зоне Республики Молдова, был выявлен переносчик Золотистого пожелтения винограда цикадка *S. titanus* (Ball, 1932). [215]. Ареалы

распространения и степень поражения плантаций винограда фитоплазменным заболеванием не была установлена.

В 2013 году, Тимуш с соавторами, описали жизненный цикл переносчика *S. titanus*, включая фенологический календарь. В условиях Республики Молдова личинки появлялись со второй декады мая и отрождение продолжалось в течении месяца - до начала июня, нимфы развивались в течении июня-июля месяцев, а взрослая особь начинала лёт с последней декады июля и длился до первой декады сентября [194]. В 2015 г. в Молдове исследовали инвазивную энтомофауну с хозяйственно-экологическим воздействием. К тому времени было выявлено 118 видов группы *Hemimetabola*, к которой принадлежал и вид *S. titanus* [195].

1.11. Законодательство Республики Молдова по профилактике и борьбе с фитоплазменными заболеваниями и их переносчиками на виноградных насаждениях

Согласно Постановлению Правительства «№ 209, от 03.04.2019 внесены изменения в нормативные акты Закона № 228/2010 о защите растений и фитосанитарном карантине, в Раздел 3: ввоз и распространение вредного организма «*Flavescence dorée*» запрещено в определённых охранных зонах на территории стран Европейского Союза [223].

Согласно Постановлению Правительства № 356, Приложение № 3, Раздел 3, пункт 11: независимо от страны происхождения растительный материал виноградной лозы, подлежит тестированию и идентификации на наличие вредного организма: «*Grapevine Flavescence dorée MLO*» и другие пожелтения виноградной лозы» [231].

В условиях интенсификации виноградарства и распространения фитоплазменных заболеваний, требования к питомникам повышаются с каждым годом, так в Постановлении Правительства № 1222, от 28.03.19 Технического Регламента «Производство, сертификация, контроль и реализация материала для размножения винограда и виноградного посадочного материала» внесены следующие изменения:

- пункт 45, ежегодному тестированию маточных насаждений на наличие фитоплазменных болезней подвергаются определённое количество кустов в зависимости от категории - «Базисный» - 30%, «Сертифицированный» - 20%, «Стандартный» - 10%»;
- пункт 55, «материал для размножения, до прививки, и вызревший посадочный материал, до реализации, должны подвергаться, в обязательном порядке, термотерапии, согласно действующим рекомендациям»;

- пункт 60, необходимо соблюдать защиту виноградных школок от векторов фитоплазменных заболеваний, а согласно пункту 91², при выявлении *S. titanus* и *S. littoralis* необходимо проведение 2-3 обработок инсектицидом;
- пункт 91³, поражённые кусты подлежат выкорчевке и уничтожению путем сжигания, если лабораторное тестирование подтверждает присутствие фитоплазменных болезней на маточных насаждениях с признаками поражения кустов болезнью до 1%;
- пункт 91⁴, с маточников запрещается заготовка привойной и подвойной лозы для размножения, если степень поражения кустов фитоплазменными болезнями превышает 1%;
- пункт 91⁶, не допускается наличие фитоплазменных болезней в материале для размножения винограда и в виноградном посадочном материале категорий «Предбазисный» и «Базисный», а в категории «Сертифицированный» и «Стандартный» - степень заражения не должна превышать соответственно 5 и 10% [232].

1.12. Выводы к главе 1

1. Заболевания фитоплазменной этиологии широко распространены в Царстве Растений. Описаны фитоплазменные заболевания, которые поражают около 1000 видов растений, возбудители которых относятся к 44 группам фитоплазм.
2. На плантациях винограда описаны два основных заболевания фитоплазменной этиологии: Золотистое пожелтение (*Flavescence dorée*) и Почернение древесины (*Bois noir*). На виноградном растении данные заболевания проявляют идентичные симптомы, однако отличаются фитоплазмами возбудителями и насекомыми переносчиками.
3. Фитоплазма-возбудитель заболеваний растений является облигатным внутриклеточным прокариотом. Клетки фитоплазмы лишены настоящей клеточной оболочки и ограничены трехслойной цитоплазматической мембраной, что позволяет им приобретать различные формы и передвигаться по ситовидным трубкам растений.
4. Диагностика фитоплазм проводится биологическим, электронно-микроскопическим, иммунологическим и молекулярным методами, из которых наибольшее распространение в диагностических лабораториях получил метод ПЦР анализа, из-за высокой чувствительности и автоматизации процесса тестирования, а также возможности идентификации фитоплазмы-возбудителя заболевания с помощью системы штрихового кодирования ДНК.

5. В Республике Молдова еще в 80-е годы были выявлены единичные кусты с симптомами заболевания фитоплазменной этиологии, но вид заболевания, фитоплазма-возбудитель заболевания и цикадка-переносчик не были установлены по настоящее время.
6. Для решения проблемы распространения заболевания фитоплазменной этиологии на плантациях винограда в Республике Молдова необходимо установить вид заболевания, идентифицировать возбудителя и цикад-переносчиков фитоплазмы.

II. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля научно-практического института садоводства виноградарства и пищевых технологий и в Научно-исследовательском Центре CREA, Конеглиано, Италия (Center for Research in Viticulture and Enology Conegliano), в период прохождения научной стажировки, а так же на плантациях винограда, расположенных во всех районах возделывания в Республике Молдова, в рамках проекта «FlaveDor» инициированного национальным офисом винограда и вина.

2.1. Материалы исследования

Материалом для исследований служили инфицированные заболеванием фитоплазменной этиологии кусты винограда, растущие на промышленных плантациях, маточниках привойных и подвойных лоз, а также саженцы с симптомами заболевания на виноградных школках. Общая площадь плантаций, на которых проводились исследования, составляет 1438 гектар. Обследование виноградных насаждений и отбор проб для тестирования проводили в Григориопольском, Бессарабском, Дубоссарском, Кагульском, Каларашском, Кантемирском, Каушанском, Криулянском, Леовском, Ниспоренском, Новоаненском, Страшенском, Теленештском, Чимишлийском, Штефан-Водском, Унгенском, Яловенском районах и в АТО Гагаузия. Для диагностики фитоплазменного заболевания применён коммерческий набор, для проведения Вложенной ПЦР, Qualiplante, Франция [175].

Объектом исследований служили:

- фитоплазма, вызывающая у виноградного растения заболевание Почернение древесины, выделенная из растений винограда, сорных растений и насекомых переносчиков на территории РМ;
- изоляты фитоплазмы: EY-C - Вязовые пожелтения, из группы V-A; LN-p - фитоплазма японской сливы, из группы X-B; SE - Пожелтения сельдерея, из группы XII-A; FD - фитоплазма Золотистого пожелтения, любезно предоставленные доктором Luisa Filippin из Научно-исследовательского Центра CREA, Конеглиано, Италия;
- кусты винограда инфицированные заболеванием фитоплазменной этиологии следующих сортов: Алиготе, Бианка, Виорика, Каберне-совиньон, Кодрянка, Легенда, Мальбек, Молдова, Мускат белый, Мускат Оттонель, Одесский чёрный, Памяти Негруля, Пино-гри, Пино-нуар, Рара нягрэ, Рислинг рейнский, Саперави, Сира, Совиньон-блан,

Сухолиманский белый, Траминер, Фетяска албэ, Фетяска регала, Фетяска нягрэ, Шардоне, Яловенский устойчивый;

- цикадки - отловленные на плантациях винограда и прилегающих к ним территориях;
- сорные растения - произрастающие на плантациях винограда и прилегающих к ним территориях.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Обследования виноградных насаждений для выявления поражения заболеванием фитоплазменной этиологии

Определение степени поражения плантаций винограда заболеванием фитоплазменной этиологии осуществляли методом визуального осмотра кустов. На больших плантациях визуальное обследование проводили по диагонали виноградника. Обследование начинали с края виноградника 1-ой клетки, сдвигаясь по рядам в каждой последующей клетке с таким расчетом, чтобы выйти на противоположный край плантации в последней клетке. В полевом журнале при этом отмечали хозяйство, сорт, площадь, клетка, обследованные ряды, поражённые кусты и выпад.

Степень поражения плантации фитоплазменным заболеванием определяли соотношением количества поражённых кустов к общему количеству кустов, растущих на обследованной части плантации.

Обследования с целью изучения динамики распространения заболевания фитоплазменной этиологии проводили на делянках виноградных насаждений, площадью 2-6 га в период чёткого проявления симптомов заболевания. На таких участках плантаций винограда визуально обследовали все кусты в каждом ряду ежегодно в течение 4-х лет. В полевом журнале обследований отмечали хозяйство, сорт винограда, площадь участка, ряд, пролет, поражённый куст и выпад (отсутствующий куст). Полученные при обследовании данные обрабатывали компьютерной программой Microsoft Office Excel и получали карты-схемы, позволяющие визуально увидеть расположение поражённых заболеванием кустов винограда на участках. Динамику развития заболевания определяли по увеличению (уменьшению) количества поражённых фитоплазменным заболеванием кустов винограда на плантации.

К поражённым фитоплазменным заболеванием относили кусты, проявляющие симптомы заболевания на одном или нескольких побегах.

2.2.2. Мониторинг цикад - потенциальных переносчиков фитоплазменных заболеваний

Мониторинг цикад проводили посредством отлова насекомых на плантациях винограда и прилегающих к ним территориях с помощью энтомологического сачка и липких ловушек жёлтого цвета.

Отлов цикадок энтомологическим сачком (диаметр 30 см) проводили непосредственно с кустов винограда, а также с травянистых растений, растущих на плантации и прилегающих к ним территориях. Один отлов энтомологическим сачком включал 50 кошений. Отлов насекомых данным методом проводили с интервалом в 10 дней.

Отлов цикадок методом ловушек. Отлов цикадок данным методом заключается в установке липких ловушек жёлтого цвета, на средней проволоке шпалеры (1-1,5 м). Ловушки устанавливали, как по краям виноградных плантаций, так и в центре клеток. Смену ловушек осуществляли каждые 10 дней.

Фотографировали цикадок с помощью цифровой камеры для микроскопа. Идентификацию цикадок проводили при помощи стереомикроскопа по морфологическим признакам и экстракции эдеагуса, используя определители: Ануфриев Г.А., Емельянов А.Ф. 1988 [210]; Wilson M. R. & Turner, J. A. 2010 [204]; Bug Guide [32]; Biodiversity Mapa 2021 [21].

Идентифицированные виды цикадок отмечали в журнале отбора проб и фиксировали замораживанием при -20°C , в пробирках типа Eppendorf.

2.2.3. Отбор проб виноградных, сорных, кустарниковых и древесных растений

- проба для лабораторных исследований составляла около 20 листьев с симптомами заболевания;
- листья для проб отбирали с черешками, без некрозов и внешних повреждений, а также без поражения другими патогенами;
- проба лозы с симптомами заболевания состояла из 5 черенков длиной 10-12 см;
- собранные пробы помещали в герметичный пластиковый пакет и маркировали;
- каждую пробу регистрировали в журнале и сопровождали надписью: № пробы, хозяйство, сорт, площадь, клетка, ряд, пролет, куст;
- куст, с которого отобрана проба, отмечали этикеткой и красной клейкой лентой.
- транспортировку проб осуществляли в переносном холодильнике при $t = 4^{\circ}\text{C}$;
- пробы доставляли в лабораторию в день сбора и помещали в холодильник.

На следующий день готовили пробы для тестирования и консервировали: из листьев вырезали жилки, взвешивали, заворачивали в фольгу и помещали в морозильную камеру при $t -20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.2.4. Выделение ДНК из растений и насекомых

Выделение ДНК из растений, для проведения ПЦР анализа, проведено по методу Angelini et al., 2001 [6]. Метод состоит из следующих этапов:

- 1) 1 г замороженных жилок растирали с помощью ступки и пестика, предварительно обработав жидким азотом;
- 2) к полученному гомогенату добавляли в ступку 7 мл 3% буфера ЦТАБ, с добавлением антиоксиданта ДТТ 0,4% или 2-меркаптоэтанолом 0,2% (непосредственно перед экстракцией);
- 3) 1 мл полученного раствора с твёрдой фазой вносили в 2 мл пробирку;
- 4) инкубировали при $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 20 минут, время от времени перемешивая;
- б) после инкубации добавляли 1 мл хлороформа и хорошо перемешивали без встряхивания и центрифугировали при 11000 оборотах в течение 10 минут при комнатной температуре;
- 7) полученный супернатант переносили в чистую 2 мл пробирку, добавляли 1 мл изопропанола, хорошо перемешивали без встряхивания и центрифугировали при 11000 оборотах в течение 15 минут;
- 8) полученный супернатант сливали, а осадок промывали 1 мл 70% этанола;
- 9) после промывки этанол сливали и оставляли пробирку открытой под ламинаром до подсыхания на 30 минут - 1 час;
- 13) к осадку добавляли 100 мкл буфера ТЕ и помещали в холодильник при 4°C .

Таким образом, полученный образец использовали для диагностики.

Выделение ДНК из насекомых проводили согласно рекомендациям научно-исследовательского центра виноградарства (CREA) Конеглиано, Италия.

2.2.5. Диагностика фитоплазменных заболеваний

Диагностику заболевания с 2018 по 2020 гг. выполняли в лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля, НПИСВиПТ, французским официальным методом Вложенной ПЦР (Duplex Nested End - Point PCR - с англ.), коммерческим набором от Qualiplate (*Flavescence dorée / Bois noir* - с франц.) [175], для первой амплификации применяли праймеры: FD9f1 / FD9r1 и STOL11f2 / STOL11r1, для второй амплификации:

Визуализация результатов ПЦР проведена при электрофоретическом разделении молекул ДНК по размеру в 1% агарозном геле, с добавлением флуоресцирующего красителя. Для визуализации продукта ПЦР, применяли фильтр трансиллюминатора, излучающий ультрафиолетовый свет.

Для идентификации видов фитоплазм проводили ПДРФ-анализ ампликонов с рестрикционными ферментами TaqI и Tru91.

Очистка и подготовка амплифицированных проб выполнена в *лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля в НИИСВиПТ*. Работу по очистке ДНК проводили методом спин-колонки с мембраной из силикагеля. Секвенирование выполнено с внутренними праймерами *STOL11f3 / STOL11r2*, в научно-производственной компании «СИНТОЛ» г. Москва, Россия. Полученные нуклеотидные последовательности в текстовом виде сравнили с данными генетической базы NCBI [230].

Статистическую обработку первичного информационного массива данных по диагностике проб винограда проводили по методу Б.А. Доспехова [221].

2.3. Схема закладки эксперимента



Рисунок 2.1. Схема закладки эксперимента

2.4. Экологические рамки проведения исследований

Факторы внешней среды играют важную роль в создании биоценоза на винограднике, влияя на жизненный цикл виноградной лозы, сорных растений, произрастающих на насаждении и прилегающих территориях. Внешние условия остро влияют на цикадок, для которых даже незначительные колебания температур и влаги оказывают воздействие на начало вылета, активность и продолжительность лёта.

Для определения степени поражения виноградников фитоплазмозами обследования проводили в 19 районах страны, расположенные в центральной и южной зоне виноградарства Молдовы, которые благоприятно влияют на процессы роста и плодоношения винограда. Зоны промышленного виноградарства характеризуются большим количеством тепла и света, в зимний период наблюдаются риски заморозков. В течение года период солнечной радиации составляет 2200-2300 часов, что позволяет накопить 115-117 ккал/см² общей солнечной радиации. В последние десятилетия на территории страны наблюдается тенденция к увеличению солнечной радиации на 3,3% за жаркий период года, что провоцирует усиление климатических изменений [188].

Среднемноголетняя температура воздуха для центральной зоны составляет 8,5-9,5 °С и включает две климатические подзоны, которые находятся в ограниченном оптимуме для культуры винограда. Подзона 1 включает среднемолдавские равнины и регион Кодры, а подзона 2 состоит из террасы рек Днестр, Прут, Рэут, Бык и Ботна. Среднемноголетняя температура воздуха для южной зоны составляет 9,5 - 10,0 °С. Сумма температур составляет 3000 – 3350 °С (Таб. 2.3), с продолжительностью вегетационного периода 179 - 189 дней. Холодный период, с температурами ниже 0 °С, в среднем составляет 176 - 196 дней. Солнечных дней в году 310 - 320.

Таблица 2.3. Климатические и почвенные параметры в Центральной и Южной климатической зоне Молдовы [72]

Индикатор	Центр		Юг
	Подзона 1 Среднемолдавской равнины и регион Кодры	Подзона 2 Террасы рек Днестр, Прут, Рэут, Бык, Ботна	Подзона 3 Равнина Юга Молдовы, террасы рек Прут и Днестр в нижнем течении
Сумма $t^{\circ} > 10^{\circ} > C$	3,000-3,150	3,000-3,250	3,100-3,350
Среднегодовая $T^{\circ}C$	8,5-9 $^{\circ}C$	9-9,5 $^{\circ}C$	9,5-10 $^{\circ}C$
Годовое количество осадков, мм	550-600	500-550	450-550
Потенциальное испарение, мм	800-820	800-850	850-900
Коэффициент влажности, К	0,7-0,8	0,6-0,65	0,5-0,6
Количество засух за 10 лет	1-2	2-3	3-4
Высота	200-400 m	50-200 m	50-200 m
Основные типы почв	Бурые и серые почвы	Черноземы обычные	Черноземы обычные, карбонатные и южные

Республика Молдова характеризуется умеренно-континентальным климатом, мягкой и короткой зимой, теплым и продолжительным летом, с относительно небольшим количеством атмосферных осадков. Среднегодовое количество осадков в Центральном районе в основном небольшое 500-600 мм, а в Южном - очень малое 450-550 мм. Климатическая зона определяет повторяемость явления засухи. Если на севере страны сильная засуха бывает раз в 10 лет, то в центре - 2-3 раза, а на юге уже 3-4 раза (Таб. 2.3). В связи с глобальным изменением климата засухи случаются все чаще. Создается большой дефицит влаги в почве и воздухе, последствия которого приводят к существенному снижению урожайности винограда или даже к потере урожая [72].

2.4.1. Климатические и почвенные условия

Метеорологические и почвенные данные любезно предоставлены Национальным Офисом Винограда и Вина, а также Институтом почвоведения, агрохимии и защиты почв «Николае Димо». Представлены проведённые исследования на четырёх участках на территории Леовского района, г. Леова; Кагул, село Александру Иоан Куза; Новые Анены, с. Спея; Ниспорень, коммуна Вэрзрешть, а также результаты восьми метеорологических станций, расположенных на виноградниках Центральной и Южной зоны Республики Молдова (Приложение 9).

Климатическая характеристика территории села Спея, Новоаненский район

Территория села Спя расположена в юго-восточной части Новоаненского района, в центрально-восточной части Республики Молдова. Общая площадь территории составляет 2410,55 га. В силу своего географического положения исследуемая территория входит во II педоклиматическую зону (Таб. 2.4) с недостаточным увлажнением [198]. По статистическим данным среднегодовая температура атмосферного воздуха для II зоны составляет 9,0 - 9,5 °С; сумма температур выше 10 °С составляет 3000 - 3200 °С соответственно; продолжительность вегетационного периода с температурой выше 10 °С составляет 177 - 182 дня. Холодный период (с температурами ниже 0 °С) в среднем составляет 173 - 189 дней. Солнечные дни имеют продолжительность 310 - 320 в году.

Для территории села Спя обработаны материалы месячных климатических показателей за период 1950 - 2006 гг. Самая низкая среднемесячная температура была установлена в феврале 1954 г., минус 12,1 °С, а самая высокая – в июле 2002 г., она составила 25,2 °С. Среднегодовая температура составляет 10,0 °С [33].

По многолетним данным на исследуемой территории среднегодовая сумма осадков составляет 502 мм, а в период с температурами выше 10 °С атмосферные осадки составляют 422 - 631 мм. Количество засух за 10 лет чередуется от 2 до 4 раз. Значение гидротермического коэффициента составляет 0,6-0,8, что свидетельствует о недостаточной влажности воздуха в период вегетации растений.

Таблица 2.3.1. Данные метеостанции села Спя

	Индикаторы	Средне-многолетнее	2018	2019	2020	Среднее за 3 года
1	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,5	0,0	12,6	12,7	-
2	Среднемес. темп. = 01, воздуха, °С	-3,1	0,0	-2,7	1,2	-
3	Абсолютная миним. Темп. воздуха, мес. 01 °С	-30,5	0,0	-11,9	-5,8	-
4	Максим. абсолютная темп. воздуха, мес. 01, °С	15,0	0,0	7,9	12,5	-
5	Сумма эффективных темп. за год, °С	1380,0	1745,6	2001,5	1946,0	1897,7
6	Кол. атмосферных осадков, за год, мм:	509,0	184,0	346,2	461,0	330,4

Обработка многолетних климатических данных показывает, что максимальные среднемесячные атмосферные осадки были обнаружены в июне 1951 г. и составили 227 мм. Минимальное значение было зафиксировано в декабре 2002 г. на 1 мм. Среднемесячное значение за 54 года составляет 41,8 мм с максимальным значением 71,2 мм в июне и минимальным 25,4 мм в марте. В течение 1950 - 2006 годов атмосферные

выпадения имели неравномерный характер. Количество осадков колебалось от 295 мм в 1953 г. до 799 мм в 1980 г. Среднегодовая сумма составляет 502 мм. За этот период установлена положительная динамика количества осадков от 470 мм до 540 мм. [33]. Максимальные атмосферные осадки приходятся на май-июль месяцы, когда самые высокие температуры вызывают очень высокую эвапотранспирацию.

С 2018 по 2020 года количество атмосферных осадков за год значительно уменьшилось и составило в среднем за 3 года 330,4 мм. В тоже время, сумма эффективных температур увеличилась относительно среднегодового показателя - 1380 °С и составила в среднем - 1897,7 °С (Таб. 2.3.1).

Общая характеристика почвенного покрова на территории Новоаненского района

Соответствующая территория входит в зону (III) Южно-равнинной степи, район черноземов обыкновенных, карбонатных и выщелоченных ксерофитной Лесостепи Южно-равнинной возвышенности, район 11 ксерофитной Лесостепи Южно-равнинной возвышенности. Южная холмистая равнина, под степи днестровских террас [198].

Выявлено 67 почвенных контуров, занимающих площадь 2248,13 га. В структуре почвенного покрова преобладают черноземы (89%), где преобладают карбонатные на 45%. На втором месте черноземовидные почвы с долей более 5% и аллювиальные почвы с долей около 5%. Средневзвешенный бонитет почвы составляет 52,7 балла (Таб. 2.3.2).

Таблица 2.3.2. Общая характеристика почв территории Новоаненского района

Название типа почвы	Кол. областей	Площадь, га	% от общей площади почвы	Бонитет почвы	Бонитет взвешенный
Обыкновенный чернозем	17	991,92	44,12	82	72,26
Карбонатный чернозем	31	1012,90	45,05	71	52,15
Типичная черноземовидная почва	9	118,95	5,30	85	83,11
Мягкая аллювиальная почва	1	5,24	0,23	85	85
Слоистая аллювиальная почва	4	102,18	4,55	80	68
Болотистая аллювиальная почва	1	0,00	0,00	25	25
Активные оползни	2	15,93	0,71	0	0
Овраги	1	1,00	0,04	0	0
Всего	66	2248,13	100	-	52,7

По гранулометрическому составу преобладают суглинки на 47%. На втором месте глинистые (33%), за ними песчаные глины - около 12%. Эти почвы обладают умеренной противозерозионной устойчивостью.

Более 37% почв подвержены эрозионной деградации. Преобладают слабосмытые почвы с долей около 54%, среднесмытые около 29% и сильносмытые около 17%. В структуре основных пород преобладают глинистые лёссовидные суглинки (25%) и лёссовидные суглинки (24%). За ними следуют элювиально-делювиальные суглинки (15%), элювиально-делювиальные глины (10%) и аллювиальные отложения (10%). Неогеновые отложения представлены глинами и составляют 0,16% территории.

Климатическая характеристика территории коммуны Вэрзэрешть, Ниспоренского района

Территория коммуны Вэрзэрешть расположена в центральной части района Ниспорень, в центрально-западной части Республики Молдова. Общая площадь территории составляет 5667,5119 га.

На территории коммуны Вэрзэрешть педоклиматическая ситуация сложная. В силу своего географического положения исследуемая территория входит во II и подзону с недостаточным увлажнением [198]. По статистическим данным, среднегодовая температура атмосферного воздуха для зоны II составляет 9,0 - 9,5 °С, сумма температур выше 10 °С составляет 3000 - 3200 °С, продолжительность вегетационного периода с температурами выше 10 °С составляет 177 - 181 день. Холодный период (с температурами ниже 0 °С) в среднем составляет 174 - 188 дней. Солнечные дни имеют продолжительность 290-320 в году.

Для территории коммуны Вэрзэрешть обработаны материалы месячных климатических показателей за период 1950 - 2006 гг. Самая низкая среднемесячная температура воздуха была установлена в январе 1963 г. - минус 12,2 °С, а самая высокая - в августе 1992 г. - 23,8 °С. Среднегодовая температура составляет 9,3 °С. Минимальная средняя температура по годам соответствует январю, минус 3,5 °С, а максимальная - июлю, достигая значения 20,4 °С [33].

По многолетнему значению на определенной территории среднегодовое количество атмосферных осадков составляет 637 мм, а в период с температурой выше 10 °С, атмосферные осадки составляют 363 - 688 мм. Количество засух за 10 лет чередуется от 1 до 3 раз. Значение гидротермического коэффициента составляет 0,6 - 0,8, что связано с недостаточной влажностью.

Обработка многолетних климатических данных показывает, что средние максимальные месячные атмосферные осадки составляют 249 мм. Минимальное значение

зафиксировано в сентябре 1994 г. на 1 мм. Среднемесячное значение за 54 года составляет 47,7 мм с максимальным значением 92,7 мм в июне и минимальном в марте - 34,0 мм.

Максимальные атмосферные отклонения возникают на май-июль месяцы, когда и температура очень высока, что вызывает очень высокую эвапотранспирацию.

В течение 1950-2006 годов атмосферные выпадения имели неравномерный характер. Количество осадков колебалось от 322 мм в 1996 г. до 934 мм в 1980 г. Среднегодовая сумма составляет 637 мм. За этот период установлен положительный тренд количества осадков от 625 мм до 650 мм. С 2018 по 2020 года количество атмосферных осадков за год значительно уменьшилось и составило в среднем за 3 года 449,6 мм. В тоже время, сумма эффективных температур увеличилась относительно среднемноголетнего показателя - 1287 °С и составила в среднем - 1825,4 °С (Таб. 2.3.3).

Таблица 2.3.3. Данные метеостанции коммуны Вэрзэрешть

	Индикаторы	Средне-многолетнее	2018	2019	2020	Среднее за 3 года
1	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,0	9,8	11,9	12,4	-
2	Среднемес. темп. = 01, воздуха, °С	-3,5	-0,8	-2,6	0,2	-
3	Абсолютная миним. Темп. воздуха, мес. 01 °С	-27,1	-15,1	-13,8	-9,0	-
4	Максим. абсолютная темп. воздуха, мес. 01, °С	14,8	9,8	9,1	13,7	-
5	Сумма эффективных темп. за год, °С	1287,0	1741,3	1844,0	1890,9	1825,4
6	Кол. атмосферных осадков, за год, мм:	613,0	411,0	428,0	509,8	449,6

Соответствующая территория входит в зону (II) лесов Плато Кодр, район (4) бурых и сероземных лесов Центрального кодровского плато, район 7 лесов Кодровского плато и район 8 лесов Кодровских холмов [198]. Выявлено 183 почвенных контура, занимающих площадь 5420,09 га. В структуре почвенного покрова преобладают черноземы (33,5%), из них карбонатные на 12%. На втором месте сероземы с долей около 21%. За ними следуют оползневые и составляют 18%. Бурые почвы занимают площадь около 13% территории. Аллювиальные почвы имеют долю 8%, а делювиальные почвы занимают 4%. Чернозёмовидные почвы и илистые отмели составляют около 3%. Средняя оценка взвешенного бонитета почвы составляет 52,2 балла (Таб.2.3.4).

По гранулометрическому составу преобладают суглинки - 59%. На втором месте песчаные глины с долей около 19%, за ними следуют глинистые (12%). Эти почвы обладают умеренной противоэрозионной устойчивостью.

Таблица 2.3.4. Общая характеристика почв Ниспоренского района

Название типа почвы	Кол. областей	Площадь, га	% от общей площади почвы	Бонитет почвы	Бонитет взвешенный
Бурая лесная почва	12	624,73	11,53	72	47,52
Типичная бурая почва	2	63,83	1,18	72	46,8
Типичная серая почва	23	536,70	9,90	68	51,38
Мягкая серая почва	20	594,75	10,97	78	56,63
Выщелаченный чернозём	15	344,36	6,36	18	71,82
Типичный чернозем	13	336,89	6,22	100	80
Обыкновенный чернозем	11	485,14	8,95	82	67,39
Карбонатный чернозем	18	650,44	12,00	71	52,77
Илистая почва	1	3,23	0,06	25	22,5
Типичная чернозёмовидная почва	21	152,36	2,81	85	84,19
Мягкая аллювиальная почва	8	445,87	8,23	85	80,11
Делювиальная охристая почва	6	90,47	1,67	85	73,67
Мягкая делювиальная почва	6	111,21	2,05	85	85
Болотистая аллювиальная почва	1	14,25	0,26	25	16
Активные оползни	19	773,31	14,27	0	0
Стабилизированные оползни	6	189,96	3,50	30	28
Овраги	1	2,37	0,04	0	0
Всего	183	5419,87	100		52,2

Около 40% почв подвержены процессу деградации эрозией. Преобладают слабосмытые почвы с долей около 78% и среднесмытые почвы с долей около 19%. Почвы с высокой степенью эрозии составляют 3% поверхности смытых почв.

В составе основных пород преобладают элювиально-делювиальные суглинки (45%) и глинисто-песчаные отложения оползневой подпочвы (18%). За ними следуют аллювиальные отложения на 8%. Неогеновые отложения представлены суглинками и песками, которые составляют около 12% территории.

Климатическая характеристика территории города Леова, Леовского района

Территория города Леова находится в западной части района Леова, в юго-западной части Республики Молдова. По многолетним данным на исследуемой территории г. Леова, среднегодовое количество осадков составляет 514 мм, а в период с температурами выше 10 °С атмосферные осадки составляют 327-600 мм. Количество засух

за 10 лет чередуется от 1 до 3 раз. Значение гидротермического коэффициента составляет 0,6-0,8, что свидетельствует о недостаточной влажности воздуха в период вегетации растений. Обработка многолетних климатических данных показывает, что среднемесячные максимальные атмосферные осадки в мае 1991 г. составили 231 мм. Минимальное значение было зафиксировано в мае 2000 г. при 0 мм. Среднемесячное значение за 54 года составляет 46,3 мм с максимальным значением 71,1 мм в июне и минимальным 27,9 мм в марте.

Таблица 2.3.5. Данные метеостанции г. Леова

	Индикаторы	Средне-многолетнее	2018	2019	2020	Среднее за 3 года
1	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,7	0,0	12,3	12,7	-
2	Среднемес. темп. = 01, воздуха, °С	-3,1	0,0	-2,7	0,8	-
3	Абсолютная миним. Темп. воздуха, мес. 01 °С	-25,6	0,0	-11,7	-8,5	-
4	Максим. абсолютная темп. воздуха, мес. 01, °С	14,3	0,0	6,9	10,9	-
5	Сумма эффективных темп. за год, °С	1420,0	1741,3	1844,0	1890,9	1825,4
6	Кол. атмосферных осадков, за год, мм:	514,0	269,0	338,2	298,6	301,9

В течение 1950-2006 годов атмосферные выпадения имели неравномерный характер. Количество осадков колебалось от 327 мм в 1952 г. до 773 мм в 1991 г. Среднегодовая сумма составляла 519 мм. За этот период установлен положительный тренд количества осадков от 487 мм до 535 мм [33]. Среднемноголетняя температура воздуха составляет 9,7 °С. С 2018 по 2020 года количество атмосферных осадков за год значительно уменьшилось и составило в среднем за 3 года 301,9 мм. В тоже время, сумма эффективных температур увеличилась относительно среднемноголетнего показателя - 1420 °С и составила в среднем - 1825,4 °С (Таб. 2.3.5).

Общая характеристика почвенного покрова на территории города Леова

Почва регулирует круговороты всех элементов в биосфере и является необходимым, незаменимым звеном всех биогеохимических циклов [199].

Соответствующая территория входит в зону Южно-Равнинной степи, который включает район карбонатных и обыкновенных черноземов Южно-Бессарабской равнинной степи, 13-й район Южно-Бессарабской равнинной степи, подрайон долины Прута, занимающий террасы со средними наклонными склонами, с относительно слабонаклонным рельефом [198].

Таблица 2.3.6. Общая характеристика почв Леовского района

Название типа почвы	Кол. областей	Площадь, га	% от общей площади почвы	Бонитет почвы	Бонитет взвешенный
Обыкновенный чернозем	5	1163,50	40,91	82	67,9
Карбонатный чернозем	36	1011,94	35,58	71	43,3
Типичная чернозёмовидная почва	14	55,59	1,95	85	77,8
Мягкая аллювиальная почва	1	113,38	3,99	85	68,0
Слоистая аллювиальная почва	5	389,45	13,69	80	75,3
Мягкая делювиальная почва	3	32,55	1,14	85	73,7
Болотистая аллювиальная почва	1	31,26	1,10	25	25,0
Активные оползни	4	42,19	1,48	-	-
Овраги	4	4,33	0,15	-	-
Всего	73	2844,19	100	-	58,8

В структуре почвенного покрова преобладают черноземы (76%), где преобладают обычные - 41%. На втором месте аллювиальные почвы, занимающие 19%. Чернозём составляет около 2%. По гранулометрическому составу на 58% преобладают глинистые почвы. На втором месте глинисто-песчаные (26%), за ними следуют суглинистые с 9%. Эти грунты обладают средней противозерозионной устойчивостью. Почвы, подверженные эрозионной деградации, составляют 3,52% от общего количества, среди них преобладают среднесмытые почвы с долей около 40% и слабосмытые почвы с долей около 39%. В структуре основных пород преобладают лёссовидные глины (50%), лёссовидные супеси (24%) и аллювиальные отложения (19%). Элювиально-делювиальные глины составляют 3%. Неогеновые отложения представлены глинами и составляют 12%. Средняя оценка взвешенного бонитета почвы составляет 58,8 балла (Таб. 2.3.6).

Климатическая характеристика территории села Александру Иоан Куза, Кагульского района

Территория села Александру Иоан Куза расположена в юго-восточной части Кагульского района, в южной части Республики Молдова.

В силу своего географического положения исследуемая территория входит в III педоклиматическую зону с недостаточным увлажнением [198]. По статистическим данным, среднегодовая температура атмосферного воздуха для III зоны составляет 9,5 -

10,0 °С; сумма температур выше 10 °С составляет 3200 - 3450 °С соответственно; продолжительность вегетационного периода с температурами выше 10 °С составляет 179 - 189 дней. Холодный период, с температурами ниже 0 °С, в среднем составляет 176 - 196 дней. Солнечных дней в году 310-320.

Таблица 2.3.7. Данные метеостанции села Александру Иоан Куза

	Индикаторы	Средне-многолетнее	2017	2018	2019	2020	Среднее за 4 года
1	Среднегод. темп. воздуха, °С	10,0	11,4	11,5	13,3	13,4	12,4
2	Среднемес. темп. = 01, воздуха, °С	-2,50	0,0	0,0	-0,9	1,4	-
3	Абсолютная миним. Темп. воздуха, мес. 01 °С	-24,90	0,0	0,0	-11,3	-8,8	-
4	Максим. абсолютная темп. воздуха, мес. 01, °С	15,40	0,0	0,0	11,7	11,9	-
5	Сумма эффективных темп. за год, °С	1454,0	1665,0	1819,0	2034,9	2069,9	1897,2
6	Кол. атмосферных осадков, за год, мм	521,0	416,4	430,0	409,4	429,8	421,4

Обработаны материалы месячных климатических показателей для территории села Александру Иоан Куза за период 1950 - 2016 гг. Самая низкая среднемесячная температура воздуха была установлена в феврале 1954 г. минус 11,0 °С, а самая высокая - в июле 2012 г. 26,4 °С. Среднегодовая температура составляет 9,7 °С. Минимальная средняя температура по годам соответствует январю, 2,4 °С, а максимальная - июлю, достигая значения 22,5 °С. В течение 1950 - 2016 годов атмосферные выпадения имели неравномерную тенденцию. Количество осадков колебалось от 307 мм в 2003 г. до 818 мм в 1996 г. Среднегодовое количество осадков составляет 521 мм. За этот период установился отрицательный тренд количества осадков от 550 мм до 525 мм [33].

С 2017 по 2020 года количество атмосферных осадков за год значительно уменьшилось и составило в среднем за 4 года 421,4 мм. В тоже время, сумма эффективных температур увеличилась относительно среднемноголетнего показателя - 1454 °С и составила в среднем - 1897,2 °С. Среднемноголетняя температура воздуха составляет 10 °С, а за последние 4 года составила 12,4 °С (Таб. 2.3.7).

Общая характеристика почвенного покрова Кагульского района

Соответствующая территория входит в зону (III) Южно-Равнинной степи, район карбонатных и обыкновенных черноземов Южно-Бессарабской равнинной степи, 13-й район Южно-Бессарабской равнинной степи, подрайон степной Дунайской равнины,

занимающий террасы Дуная и нижнюю часть бассейна р. Кагул с умеренно пологими склонами [198].

Таблица 2.3.8. Общая характеристика почв Кагульского района

Название почвы	Количество областей	Площадь, га	% от общей площади почвы	Бонитет подтипа	Бонитет взвешенный
Обыкновенный чернозем	12	2655,82	46,71	82	70,28
Карбонатный чернозем	47	1931,54	33,98	71	48,07
Типичная чернозёмовидная почва	7	37,80	0,66	85	76,50
Мягкая аллювиальная почва	2	36,40	0,64	85	68,00
Слоистая аллювиальная почва	2	540,79	9,51	80	76,00
Мягкая делювиальная почва	1	17,96	0,32	48	48,00
Болотистая аллювиальная почва	6	430,51	7,57	85	77,92
Овраги	10	34,73	0,61	0	0
Всего	87	5685,54	100		63,88

В структуре почвенного покрова преобладают черноземы (81%), где преобладают обычные с 47%. На втором месте аллювиальные почвы, занимающие 10%. Пойменные почвы достигают доли около 8%. Чернозёмы составляют около 1%. Средневзвешенный бонитет почвы составляет 63,88 балла (Таб. 2.3.8).

По гранулометрическому составу на 76% преобладают глинистые почвы. На втором месте суглинистые (23%). Эти грунты обладают высокой противозерозионной стойкостью.

Почти треть почв подвержена эрозионной деградации. Среди них преобладают слабосмытые почвы с долей около 64%, среднесмытые почвы около 29% и сильносмытые почвы около 8%. В составе основных пород преобладают лёссовидные глины (67%), лёссовидные суглинки (44%) и аллювиальные отложения (10%). Элювиально-делювиальные глины составляют 8%.

2.5. Выводы к главе 2

1. Материалом для исследований по изучению заболевания виноградной лозы фитоплазменной этиологии служили производственные плантации винограда и виноградные школки, расположенные во всех районах возделывания винограда в Республике Молдова.

2. Объектом исследований служила фитоплазма выделенная, из растений винограда, сорных растений и насекомых переносчиков на территории РМ и вызывающая у виноградного растения заболевание Почернение древесины.
3. Определение степени поражения плантаций винограда заболеванием фитоплазменной этиологии определяли методом визуальных обследований и учета кустов, проявляющих симптомы заболевания. Процент поражения плантации фитоплазменным заболеванием определяли соотношением количества поражённых кустов к общему количеству кустов, растущих на обследованной части насаждения.
4. Мониторинг цикад проводили посредством отлова насекомых на плантациях винограда и прилегающих к ним территориях с помощью энтомологического сачка и липких ловушек жёлтого цвета.
5. Идентификацию заболевания винограда фитоплазменной этиологии проводили тестированием проб виноградной лозы, сорных растений и цикадок собранных с плантаций винограда, произрастающих во всех районах возделывания данной культуры.
6. Диагностику фитоплазмы-возбудителя заболевания винограда проводили методом Вложенной ПЦР, включающим следующие этапы:
 - выделение ДНК из растений и насекомых согласно рекомендациям научно-исследовательского центра виноградарства (CREA) Конеглиано, Италия;
 - амплификация коммерческим набором от Qualiplate (Flavescence dorée / Bois noir - с франц.) [175];
 - электрофорез в агарозном геле с последующей визуализацией в трансиллюминаторе.

III. ЗАБОЛЕВАНИЕ ФИТОПЛАЗМЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ПЛАНТАЦИЯХ ВИНОГРАДА РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

3.1. Симптомы заболевания фитоплазменной этиологии на кустах винограда

В климатических условиях Республики Молдова первые симптомы заболевания проявляются в начале июля. У белых сортов винограда, на листьях одного или нескольких побегов куста, появляется слабый хлороз. (Рис. 3.1.).



Рисунок 3.1. Проявление первых симптомов у белых сортов винограда в виде легкого хлороза

С развитием заболевания листья у таких побегов становятся хрупкими и плотными на ощупь, скручиваются краями вниз и приобретают золотисто-желтую окраску.



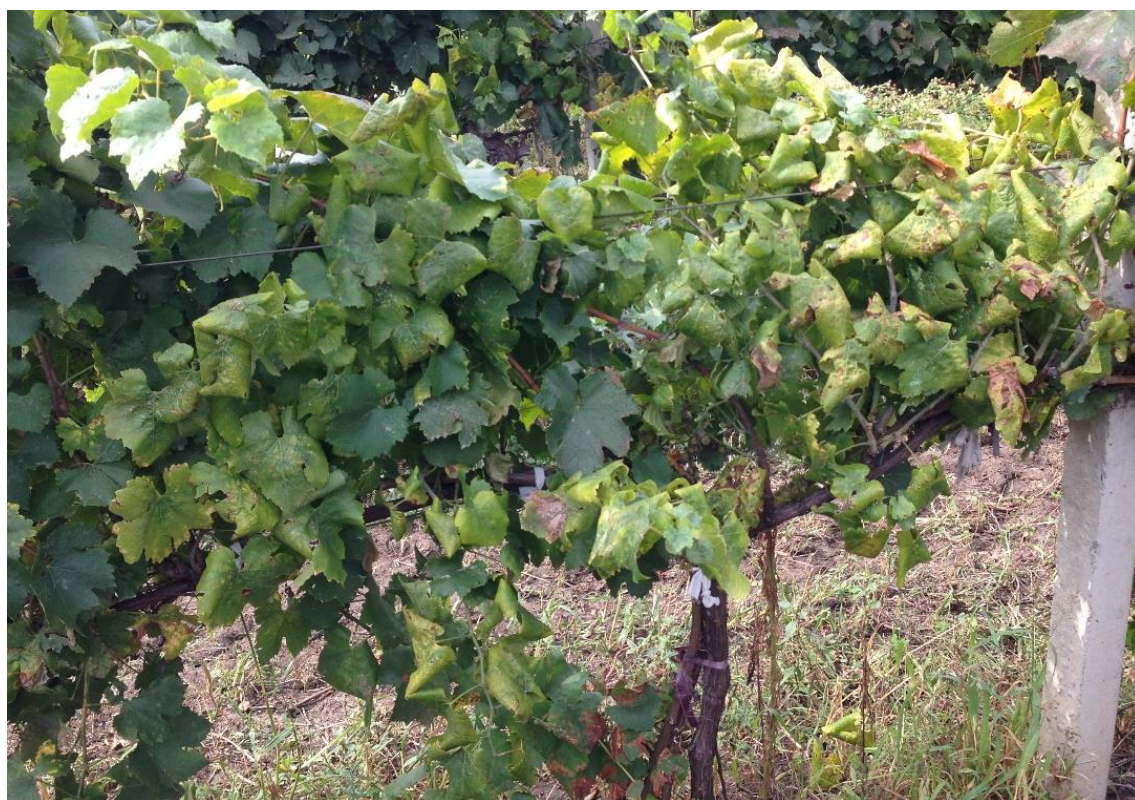
Рисунок 3.2. Симптомы заболевания фитоплазменной этиологии на листьях сорта Шардоне

Отличительной особенностью у белых сортов винограда является то, что помимо золотисто-желтой окраски, листья приобретали специфический металлический блеск и становились твёрдыми на ощупь. К концу вегетационного периода листья скручиваются до такой степени, что приобретают треугольную форму. Больные листья висят, несколько напоминают расположение черепицы на крыше (Рис. 3.2.). С развитием заболевания вдоль главных жилок листа появлялись хромово-жёлтые пятна, которые впоследствии некротизируют (Рис. 3.3.).



Рисунок 3.3. Некроз участков листовой пластинки на белых сортах винограда

У сильно поражаемого сорта Шардоне на листьях наблюдали некротические пятна, они скручивались до такой степени, что приобретают треугольную форму (Рис. 3.4.).



**Рисунок 3.4. Куст винограда сорта Шардоне поражённый заболеванием
фитоплазменной этиологии**

У сортов с красными ягодами (Каберне-Совиньон, Мерло, Пино чёрный, Фетяска нягрэ, Рара нягрэ, Молдова и др.) вместо пожелтения происходит покраснение листовых пластинок (Рис. 3.5.).



Рисунок 3.5. Симптомы фитоплазменного заболевания на листьях красных сортов винограда

На поражённых фитоплазменным заболеванием побегах красных сортов винограда часто встречаются листья, на которых покраснения занимают один или несколько секторов, ограниченные двумя или тремя жилками, что является характерным признаком заболевания (Рис. 3.5; Рис. 3.6.).



Рисунок 3.6. Секториальные покраснения листьев красных сортов винограда

Симптомы фитоплазменного заболевания на кустах винограда проявляются только у поражённых побегов. Характерной особенностью фитоплазменной инфекции является то, что на виноградном кусте симптомы заболевания могут проявляться только на листьях одного, двух или трёх побегов, реже заболевание поражает все побеги одного плеча кордона и только при сильной степени поражения симптомы заболевания проявляются на листьях всех побегов кустов (Рис. 3.4; 3.7.). В отличие от фитоплазменной, вирусная инфекция поражает куст системно, поэтому симптомы заболевания проявляют все листья на кусте.



Рисунок 3.7. Куст винограда сорта Пино нуар, поражённый заболеванием фитоплазменной этиологии

Покраснение листьев красных сортов вызывает так же и вирус скручивания листьев винограда (*Grapevine leafroll virus*, с англ.), однако, в отличие от фитоплазмы, вирус инфицирует куст системно, поэтому все листья на кустах приобретают красный цвет. Вторым важным признаком вирусной природы покраснения листьев винограда является наличие вдоль главных жилок листовых пластинок узких зелёных полос.

Поражённые фитоплазмозом листья, в отличие от здоровых, более обезвожены, вследствие чего выдерживают первые лёгкие заморозки, не теряют форму и цвет, поэтому поздно осенью больные кусты видны издалека (Рис. 3.8.).



Рисунок 3.8. Поражённые фитоплазменным заболеванием кусты винограда после первых лёгких заморозков

Симптомы на лозе. Больные побеги винограда, поражённые заболеванием фитоплазменной этиологии, отличаются короткими междоузлиями и подавленным ростом. Фитоплазма, возбудитель заболевания, отрицательно влияет на процессы одревеснения лозы, поэтому однолетний прирост теряет вертикальную ориентацию, наклоняется к почве, что придает сильно поражённым кустам «плачущий вид» (Рис. 3.9.).



Рисунок 3.9. «Плачущий вид» кустов винограда, поражённых в сильной степени фитоплазменным заболеванием



Рисунок 3.10. Лоза винограда сорта Рара негра: слева - побег, поражённый фитоплазменным заболеванием, справа - здоровая лоза

На поверхности поражённых побегов появляются многочисленные пустулы (Рис. 3.11). К осени поражённая лоза не созревает (Рис. 3.10) или же созревает только у основания в районе 2-х, 3-х глазков (Рис. 3.12.).



Рисунок 3.11. Симптомы фитоплазмоза на виноградной лозе: слева - пустулы чёрного цвета на поверхности побега, справа - поражённая лоза не вызревает

Слабая лигнификация и задержка созревания однолетнего прироста является характерной особенностью поражения виноградной лозы фитоплазменным заболеванием.



Рисунок 3.12. Лоза поражённых фитоплазменным заболеванием побегов созревает только у основания

К концу вегетационного периода, не вызревшая лоза, часто приобретает чёрный цвет (Рис. 3.13.). С наступлением низких температур поражённая фитоплазменным заболеванием лоза погибает [218].

Симптомы на гроздях. Отличительной особенностью фитоплазменного заболевания, является поражение у инфицированных растений генеративных органов. У виноградной лозы фитоплазма вызывает стерильность и осыпание соцветий, вследствие чего поражённые в сильной степени побеги, как правило остаются без урожая. Если заражение лозы произошло в более позднее время, то завязавшиеся ягоды и грозди, вследствие прогрессирования заболевания, становятся некондиционными, обезвоженными и не приятными на вкус (Рис. 3.13.).



Рисунок 3.13. Симптомы фитоплазменного заболевания на гроздях, листьях и лозе

Симптомы заболевания фитоплазменной этиологии наблюдали практически на всех сортах винограда, возделываемых в Молдове. Однако интенсивность их проявления на кустах, типичность и процент поражения варьировал. Симптомы заболевания виноградной лозы, вызванные фитоплазменной инфекцией следует отличать от симптомов, вызванных вирусной и грибной инфекциями, генетическими аномалиями, химическим составом почвы, повреждением насекомыми и сельскохозяйственной техникой (Приложение 1). Симптомы фитоплазменного заболевания отличаются от симптомов проявления функционального (неинфекционного) хлороза тем, что проявление симптомов функционального хлороза, начинается с верхушки побегов и постепенно охватывает все листья на кусте. При данном виде хлороза желтеет вся листовая пластинка, однако жилки долгое время могут оставаться зелёными. Мозаичные симптомы на листьях винограда вызванные вирусной инфекцией, такие как желтая мозаика, окаймление жилок и прижилковая мозаика, отличаются тем, что проявляются на всех листьях поражённых заболеванием кустов. Другой характерной особенностью проявления мозаичных симптомов вирусной этиологии на виноградной лозе является способность к маскировке. В весенне-летний период на поражённых вирусными заболеваниями кустах наблюдается чёткое проявление характерных мозаичных симптомов. С наступлением высоких

температур, новые листья вырастают зелёные бессимптомные, а в летне-осенний период, с понижением температуры мозаичные симптомы проявляются вновь.

3.2. Поражение плантаций винограда заболеванием фитоплазменной этиологии

Определение масштабов распространения и степени поражения насаждений винограда, фитоплазменным заболеванием, устанавливали методом маршрутных обследований. Всего в период с 2017 по 2020 гг., было обследовано 1438 га. Обследования включали виноградные школки питомниководческих хозяйств, а также производственные насаждения винограда, расположенные в Григориопольском, Бессарабском, Дубоссарском, Кагульском, Каларашском, Кантемирском, Каушанском, Криулянском, Леовском, Ниспоренском, Новоаненском, Страшенском, Теленештском, Штефан-Водском, Унгенском и Яловенском районах. Всего обследовано 1 автономное территориальное образование и 17 районов, расположенные в Центральной, Юго-западной, Юго-восточной и Южной зонах страны, они включали 32 хозяйства. Обследованные промышленные плантации были посажены с 1999 по 2015 гг. и их средний возраст составлял 11 лет.

Визуальные обследования виноградников на выявление заболеваний фитоплазменной этиологии проводили в период наиболее четкого проявления симптомов заболевания. В климатических условиях Республики Молдова — это начало сентября и до конца ноября месяца [240]. Куст винограда относили к пораженным фитоплазменным заболеванием при обнаружении хотя бы одного побега с симптомами заболевания.

Визуальное обследование плантаций винограда проводили по диагонали насаждения. Обследование начинали с края виноградника 1-ой клетки, сдвигаясь по рядам в каждой последующей клетке с таким расчетом, чтобы выйти на противоположный край плантации в последней клетке (Рис. 3.14.).

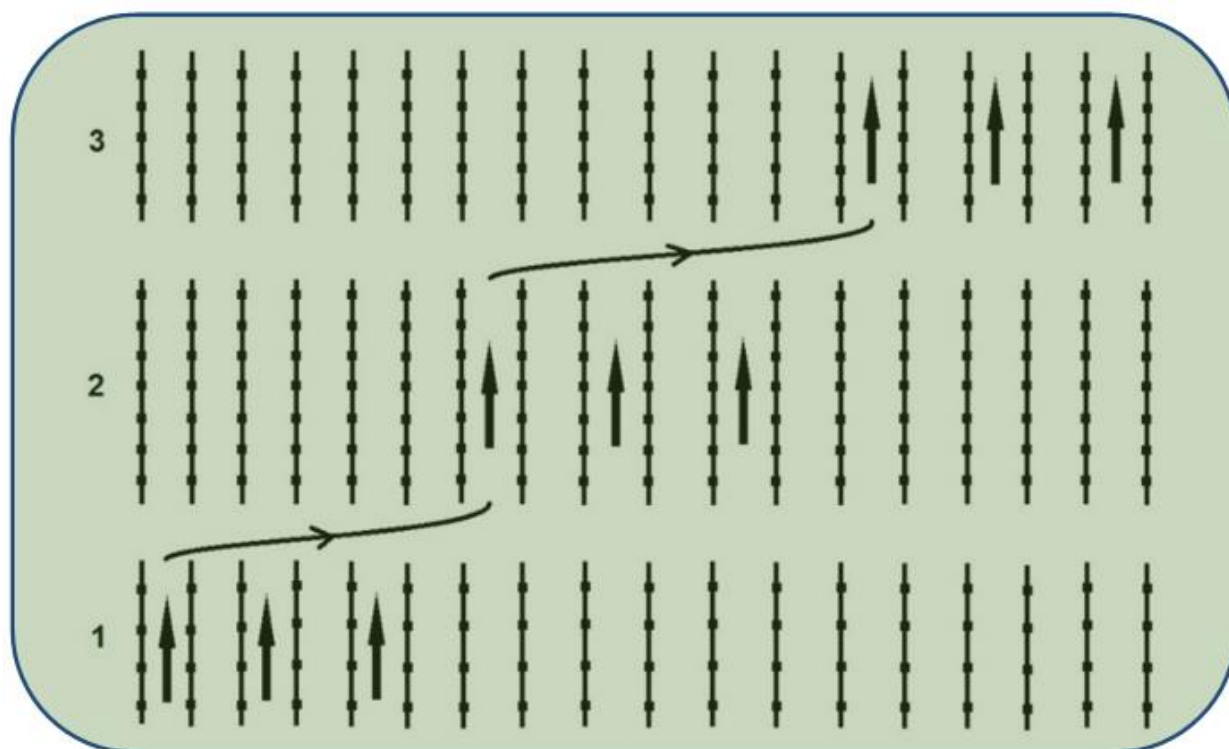


Рисунок 3.14. Схема визуального обследования плантаций винограда

Общее представление о распространении фитоплазмозов на виноградниках страны отображают 26 сортов автохтонных, европейских и новой селекции винограда (Приложение 3). В полевом журнале при этом отмечали хозяйство, сорт, площадь, клетка, ряд, пораженные кусты, выпады.

Степень поражения плантации заболеванием фитоплазменной этиологии определяли соотношением количества пораженных кустов к общему количеству кустов, растущих на обследованной части плантации.

Результаты проведенных визуальных обследований плантаций винограда на поражение заболеванием фитоплазменной этиологии представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1. Поражение плантаций винограда белых сортов винограда заболеванием фитоплазменной этиологии (2018 и 2019 гг.)

№	Месторасположение	Сорт	Год посадки	Заражённость (%)
1	Кагульский р-н, с. А.И. Куза	Шардоне	2006	60,1
2	Каушанский р-н, с. Тэнэтарь	Шардоне	2009	72,9
3	Каушанский р-н, с. Тараклия	Совиньон-блан	2012	28,4
		Сухолиманский белый	2015	33,7
		Рислинг рейнский	2014	54,8
		Мускат Оттонель	2014	45,5
		Совиньон-блан	2012	28,5
4	Новоаненский р-н, с. Мерены	Шардоне	2006	63,2
		Мускат Оттонель	2006	62,8
		Рислинг рейнский	2000	37,9
5	Страшенский р-н, с. Ромэнешть	Шардоне	2007	83,9
6	Страшенский р-н, с. Кодрянка	Шардоне	2004	39,7
		Шардоне	2005	25,8
7	Теленештский р-н, с. Теленешть	Рислинг рейнский	2005	68,7
		Шардоне	2005	80,2
		Совиньон-блан	2007	53,2
8	Леовский р-н, с. Сэрата Ноуэ	Шардоне	2005	96,2
		Совиньон-блан	2005	70,3
9	Леовский р-н, с. Томай	Рислинг рейнский	2013	97,8
		Шардоне	2014	98,1
10	Кантемирский р-н, с. Плешены	Совиньон-блан	2005	99,2
		Совиньон-блан	2007	98,7
11	Штефан-Водский р-н, с. Пуркары	Шардоне	2006	100
		Шардоне	2007	100
		Совиньон-блан	2011	68,0
		Шардоне	2013	98,9
		Совиньон-блан	2011	48,0
12	Унгенский р-н, с. Мирчешть	Совиньон-блан	2011	3,9
13	Чимишлийский р-н	Шардоне	2013	95,0
		Рислинг рейнский	2013	100
14	Каларашский р-н, с. Пэулешть	Совиньон-блан	2005	81,03
15	Бессарабский р-н, г. Бессарабка	Мускат Оттонель	2014	85,0
		Шардоне	2014	100

Как видно из таблицы 3.1, наиболее поражённым сортом винограда на обследованных плантациях винограда в Республике Молдова является сорт Шардоне, процент поражения которого варьирует от 25,8 до 100%. Следующими по степени поражения являются сорта Рислинг рейнский, процент поражения которого варьирует от 37,9 до 100% и Совиньон-блан, поражение которого составляет от 3,9 до 99,2. Важно отметить высокую степень поражения заболеванием молодых плантаций винограда. Что представляет большую опасность для виноградарства страны. Так, только вступившие в плодоношение плантация сорта Сухолиманский белый, посадки 2015 года, уже поражена

на 33,7%, а плантации сортов Рислинг рейнский и Мускат Оттонель 2014 года посадки поражены на 54,8 и 45,5% соответственно. Молодые насаждения винограда сортов Мускат Оттонель и Шардоне посадки 2014 года инфицированы заболеванием фитоплазменной этиологии 85,0 и 100% соответственно.

Таблица 3.2. Поражение плантаций красных сортов винограда заболеванием фитоплазменной этиологии (2018 - 2020 гг.)

№	Месторасположение	Сорт	Год посадки	Зараженность (%)
1	Кагульский р-н, с. Александру Иоан Куза	Мерло	2011	18,4
		Фетяска нягрэ	2012	24,8
2	Криулянский р-н, с. Слобозия-Душка	Каберне-совиньон	2007	18,8
		Пино-нуар	2007	43,5
3	Каушанский р-н, с. Тэнэтарь	Каберне-совиньон	2007	22,0
		Мерло	2008	15,2
		Пино-нуар	2008	18,7
4	Каушанский р-н, с. Тараклия	Мерло	2007	45,9
		Каберне-совиньон	2006	30,0
5	Новоаненский р-н, с. Крецоая	Пино-нуар	2000	98,6
		Рара нягрэ	2008	34,1
		Каберне-совиньон	1999	39,3
6	Новоаненский р-н, с. Мерены	Каберне-совиньон	2003	35,2
		Мерло	2003	73,8
		Мальбек	2003	91,2
7	Григориопольский р-н, с. Спея	Пино-нуар	2012	8,1
		Фетяска нягрэ	2012	29,7
		Саперави	2012	11,1
8	Теленештский р-н., с. Теленешть	Кодрянка	2013	60,6
9	Ниспоренский р-н, с. Вэрзэрешть	Фетяска нягрэ	2007	7,3
		Пино-нуар	2007	10,6
10	Леовский р-н, с. Томай	Каберне-совиньон	2005	19,2
11	Чадыр-лунгский р-н, с. Томай	Мерло	2003	43,3
		Мерло	2006	41,4
		Саперави	2003	46,3
		Каберне-совиньон	2004	21,3
		Каберне-совиньон	2005	30,9
12	Штефан-Водский р-н, с. Пуркары	Мерло	2011	37,9
		Рара нягрэ	2012	28,6
		Каберне-совиньон	2011	30,7
		Фетяска нягрэ	2011	28,0
		Мерло	2011	29,30
		Саперави	2012	22,2
13	Комратский р-н, с. Буджак,	Рара нягрэ	2012	36,1
		Фетяска нягрэ	2009	11,7
14	Унгенский р-н, с. Мирчешть	Рара нягрэ	2010	29,5
		Фетяска нягрэ	2011	5,2
15	Яловенский р-н, с. Костешты	Молдова	2014	0,9
16	Бессарабский р-н, г. Бессарабка	Рара нягрэ	2014	84,9
				70,0

Приведённые в таблице 3.2 данные свидетельствуют о том, что красные сорта винограда так же в высокой степени поражены заболеванием фитоплазменной этиологии. Так, плантации винограда сорта Пино-нуар инфицированы от 10,6 до 98,6%, а насаждения винограда сорта Мерло поражены заболеванием от 18,4 до 73,8% и Каберне-Совиньон от 18,8 до 39,3% соответственно.

Заболевание фитоплазменной этиологии установлено и на плантациях автохтонных сортов винограда. Так, плантации автохтонного сорта Фетяска нягрэ инфицированы заболеванием от 0,9 до 29,7%, а насаждения сорта Рара нягрэ от 5,2 до 70,0% соответственно.

Молодые плантации столового сорта винограда Молдова, 2014 года посадки и сорта Кодрянка, 2013 года, инфицированы заболеванием фитоплазменной этиологии на 84,9% и 60,6% соответственно. Плантация автохтонного сорта Рара нягрэ, 2014 года посадки, поражена заболеванием на 70,0%. В результате проведения оценки 2-х летней плантации сорта Фетяска нягрэ, выявлено поражение фитоплазменным заболеванием на 22% (Приложение 13). Высокая степень поражения молодых плантаций винограда представляет большую опасность для виноградарства страны.

Как видно из таблиц 3.1 и 3.2 заболевание фитоплазменной этиологии установлено на плантациях винограда во всех районах возделывания данной культуры в Республике Молдова. Степень поражения плантаций винограда заболеванием варьирует от 0,9% до 100%. Большую опасность представляет поражение заболеванием молодых, вступающих в плодоношение, насаждений винограда и уже инфицированных от 22 до 100%. Широкое распространение и высокая степень поражения плантаций винограда заболеванием фитоплазменной этиологии представляет серьёзную опасность виноградарству Республики Молдова, как в снижении количества и ухудшении качества урожая, так и в сокращении долговечности виноградных кустов.

3.3. Расположение поражённых заболеванием фитоплазменной этиологии кустов винограда на плантациях

Широкое распространение заболеваний винограда фитоплазменной этиологии и высокая степень поражения ими плантаций обуславливают необходимость изучения процесса распространения инфекции. Для проведения исследований по изучению распространения заболевания в естественных условиях, в 2017 году были отобраны плантации в трёх зонах возделывания винограда: южной - с. Буджак, АТО Гагаузия; юго-восточной - с. Тэнэтарь, Каушанский р-н; центральной - с. Слободзея-Душка,

Криулянский р-н. На данных плантациях выделены опытные делянки от 2,5 до 6 га, общей площадью 24,9 га. Делянки для исследований отбирали в середине плантаций, с целью исключения влияния граничащих с плантациями экосистем. В сентябре 2017 года, в период чёткого проявления симптомов заболевания, проведено обследование всех опытных делянок на предмет поражения заболеванием фитоплазменной этиологии. Учёты проводили по каждому ряду опытных делянок. Визуальному осмотру подлежали все кусты, растущие на опытной делянке. Результаты учётов вносили в инвентаризационные листы, в которых отмечали здоровые кусты и кусты, проявляющие симптомы фитоплазменного заболевания, а также отсутствующие кусты (выпады). Таким образом, каждый куст, растущий на опытной делянке, имел следующие координаты: плантация, клетка, ряд, пролёт и номер куста. После обработки данных инвентаризационных листов компьютерной программой Microsoft Office Excel, были получены карты-схемы всех опытных делянок (Приложение 2). На карте-схеме каждый поражённый заболеванием куст отмечен красным цветом. Таким образом, карта-схема позволяет визуально увидеть расположение поражённых заболеванием кустов на плантации. Пример такой карты-схемы, делянки площадью 1 га, выделенной на плантации сорта Каберне-совиньон в с. Тэнэтарь, Каушанский р-н, представлен на рисунке 3.15.

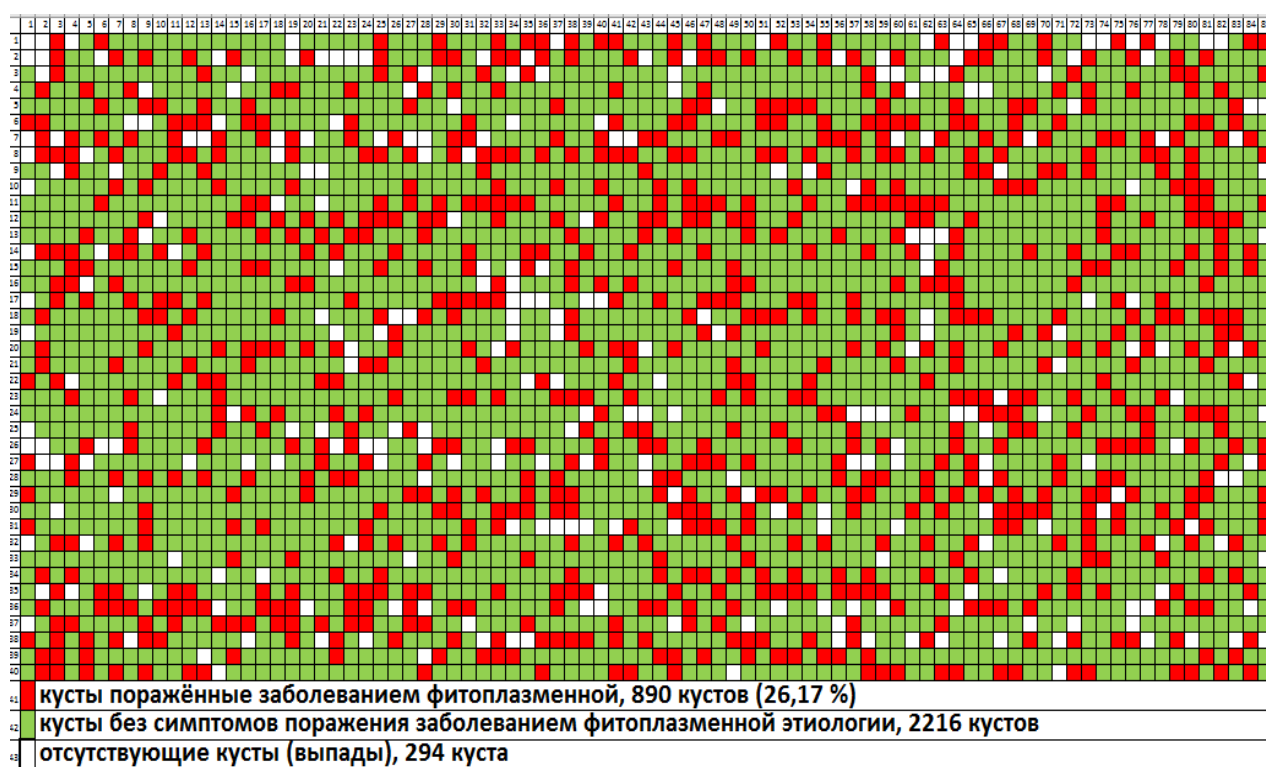


Рисунок 3.15. Карта-схема расположения поражённых фитоплазменным заболеванием кустов винограда сорта Каберне-совиньон

На представленной карте-схеме (Рис. 3.15.) не наблюдается больших очагов, поражённых заболеванием кустов или инвазии заболевания, с какой-либо стороны. Поражённые заболеванием кусты в ряду виноградника чередуются с кустами без симптомов. В то же время часто встречается поражение 3-4-х кустов подряд. Группы поражённых заболеванием кустов соседствуют с такими же группами двух соседних рядов. Поражённые кусты равномерно расположены на плантации. Такое расположение поражённых кустов свидетельствует о том, что источник фитоплазмы-возбудителя болезни и её переносчик, так же равномерно распределены на плантации винограда. Заболевания фитоплазменной этиологии не передаются посредством контакта корней, побегов, листьев или других органов растения, поэтому высокий процент поражения плантаций винограда свидетельствует о наличии в Республике Молдова активных переносчиков фитоплазмы.

На плантациях винограда большинства виноградарских стран наибольшее распространение получили два насекомых-переносчика фитоплазменных заболеваний: цикадка *Scaphoideus titanus* - переносчик Золотистого пожелтения (*Flavescence doree*) и цикадка *Hyaletthes obsoletus* - переносчик Почернения древесины (*Bois noir*). В связи с этим, в первую очередь необходимо идентифицировать фитоплазменное заболевание винограда.

3.4. Идентификация заболевания винограда фитоплазменной этиологии

Известны два широко распространенных заболевания фитоплазменной этиологии, поражающие виноградное растение: Золотистое пожелтение и Почернение древесины. Данные заболевания проявляют на виноградном растении идентичные симптомы, но отличаются фитоплазмой возбудителем и цикадками-переносчиками. Поэтому на следующем этапе исследований была проведена идентификация заболевания. Для этой цели, со всех обследованных плантаций винограда и виноградных школок были отобраны пробы листьев с симптомами заболевания. Куст, с которого отобрана проба для тестирования, отмечали яркой клейкой лентой (Рис. 3.16.). Каждую пробу листьев помещали в отдельный полиэтиленовый пакет (Рис. 3.17.), прикрепляли маркировку с адресом и фиксировали в журнале отбора растительных образцов, где указывали сорт, ряд, номера куста, название хозяйства, а также даты отбора и препарирования проб (Приложение 4).



Рисунок 3.16. Маркировка виноградного куста, с которого отобрана проба

В день отбора, пробы листьев и лозы в сумке-холодильнике доставляли в лабораторию и помещали в холодильник при температуре +4 °С. На следующий день готовили препараты для тестирования. Из листовых пластинок вырезали жилки, взвешивали, упаковывали в фольгу, помещали в морозильную камеру и хранили до тестирования при температуре -20 °С. Приготовленные таким образом препараты использовали для тестирования методом ПЦР с целью установления возбудителя заболевания. Выделение ДНК фитоплазмы из тканей проб виноградной лозы проводили по методу Angelini et al., 2001 [6].

Осенью, после опадения листьев, были собраны пробы однолетней лозы (3.18.).



Рисунок 3.17. Проба листьев виноградного растения для лабораторных исследований



Рисунок 3.18. Проба лозы виноградного растения для лабораторных исследований

За период обследований плантаций винограда на поражение заболеванием фитоплазменной этиологии было собрано 346 проб виноградной лозы. Пробы вегетативного материала отбирали только с кустов с характерными симптомами поражения фитоплазменным заболеванием. Для установления вида заболевания все пробы были тестированы методом ПЦР на наличие фитоплазмы Почернения древесины (*BN*) и Золотистого пожелтения (*FD*). Тестирование проводили в лаборатории вирусологии и фитосанитарного контроля НПИСВиПТ, французским официальным методом Вложенной ПЦР MOA006A-1b. Для проведения тестов использовали набор от Qualiplate SAS

(*Flavescence dorée* / *Bois noir*) [175]. Набор представляет чувствительный метод диагностики фитоплазменных заболеваний виноградной лозы Золотистого пожелтения и Почернения древесины. Праймеры используемые для первой амплификации, специфичны для каждой из исследуемой группы фитоплазмы: *FD9f* / *FD9r* и *STOL11f2* / *STOL11r1*. Праймеры, используемые для второй амплификации специфичны для каждой из фитоплазменных групп поиска по последовательностям из первого ПЦР-продукта: *FD9r2* / *FD9f3b* и *STOL11f3* / *STOL11r2*. Электрофореграмма одного из тестов с данными праймерами представлена на рисунке 3.19.

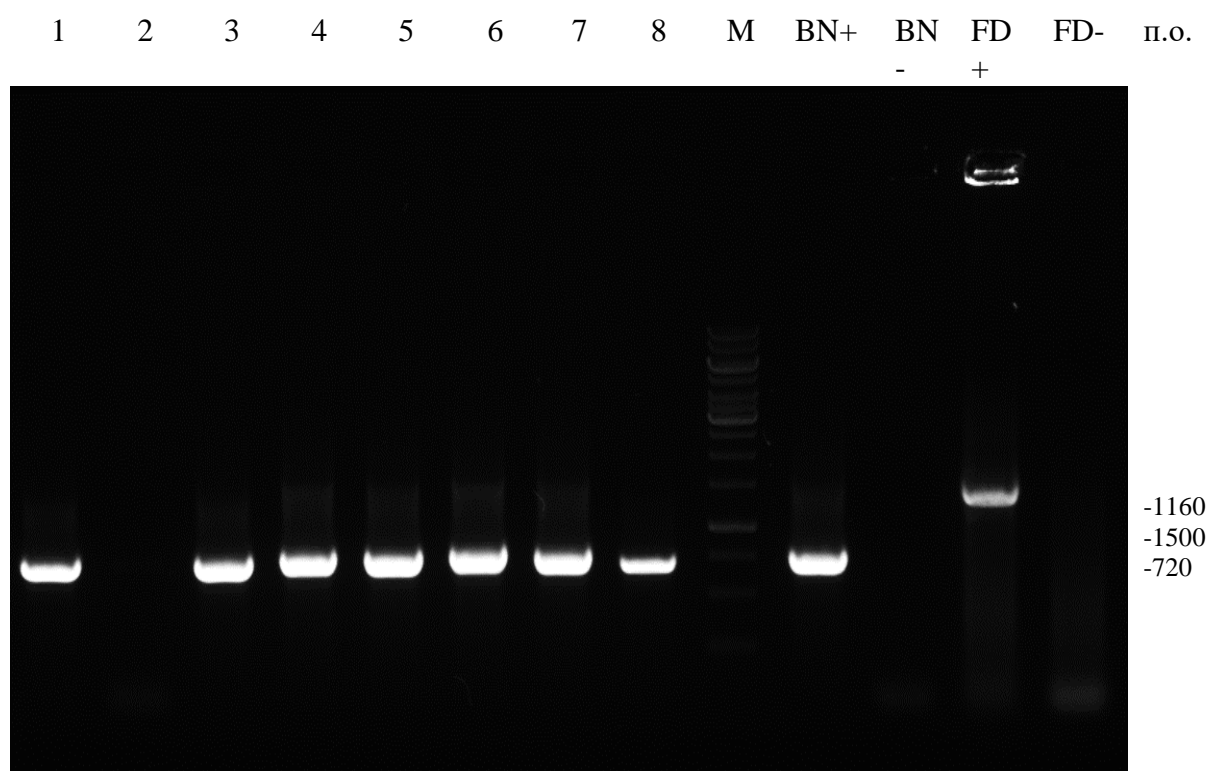


Рисунок 3.19. Электрофореграмма продуктов ПЦР с праймерами *FD9r2* / *FD9f3b* и *STOL11f3* / *STOL11r2*

На данной электрофореграмме продуктов ПЦР теста, представлен результат одновременного тестирования 8 проб виноградной лозы. Тестируемые пробы расположены под номерами от 1 по 8. Маркер (M) - ДНК известной длины от 200 до 10000 пар оснований. Электрофорез в геле 1% раствора агарозы демонстрирует чёткое детектирование ампликонов проб № 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 на уровне положительного контроля (BN+), размером 720 п.о., что означает наличие в пробах фитоплазмы Почернения древесины. В пробе №2 не детектирована амплифицированная ДНК, что говорит об отсутствии фитоплазмы Почернения древесины (BN), равно как и фитоплазмы Золотистого пожелтения (FD). В отрицательных контролях нет амплифицированной ДНК, что

свидетельствует об отсутствии контаминаций. Результаты тестирования проб белых сортов винограда на наличие заболеваний Почернения древесины (BN) и Золотистого пожелтения (FD) представлены в таблице 3.3, красных сортов винограда в таблице 3.4 и проб из виноградных школок в таблице 3.5.

Таблица 3.3. ПЦР-тест проб белых сортов винограда на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии (2018 – 2019 гг.)

№	Сорт винограда	Кол-во проб	Результаты ПЦР теста	
			FD	BN
1	Шардоне	50	0	40
2	Совиньон-блан	34	0	23
3	Фетяска албэ	13	0	10
4	Фетяска регала	6	0	5
5	Пино-гри	8	0	7
6	Мускат Оттонель	8	0	4
7	Рислинг рейнский	10	0	6
8	Алиготе	7	0	5
9	Траминер	5	0	1
10	Виорика	4	0	4
11	Яловенский устойчивый	3	0	0
12	Сухолиманский белый	1	0	1
13	Бианка	1	0	1
14	Мускат белый	1	0	0
15	Легенда	1	0	0
	Всего:	152	0	107
	Результаты статистических характеристик, %			70,4 ± 11,9 58,5 ÷ 82,3

Как видно из таблицы 3.3, из 152 тестируемых проб виноградной лозы белых сортов винограда, 107 проб оказались инфицированными заболеванием Почернения древесины. Ни одна из тестируемых проб не показала наличия заболевания Золотистое пожелтение винограда. Почернения древесины и отсутствие фитоплазмы Золотистого пожелтения у 12 белых сортов: Шардоне, Совиньон-блан, Фетяска албэ, Фетяска регала, Пино-гри, Мускат Оттонель, Рислинг рейнский, Алиготе, Траминер, Виорика, Сухолиманский белый, Бианка. Всего обнаружено 107 положительных результатов из 152 тестируемых проб (Таб. 3.3.).

Представленные в таблице 3.4 данные тестирования красных сортов винограда на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии свидетельствуют о том, что 108 проб из 194 тестируемых оказались инфицированными Почернением древесины винограда. Ни одна из тестируемых проб не дала положительных результатов на заболевание Золотистое пожелтение винограда.

Таблица 3.4. ПЦР-тест проб красных сортов винограда на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии (2018-2019 гг.)

№	Сорт	Кол-во проб	Результаты ПЦР теста	
			FD	BN
1	Фетяска нягрэ	47	0	25
2	Каберне-совиньон	26	0	16
3	Пино-нуар	24	0	11
4	Саперави	10	0	7
5	Мерло	36	0	23
6	Рара нягрэ	27	0	16
7	Молдова	6	0	4
8	Одесский черный	1	0	0
9	Сира	4	0	0
10	Мальбек	9	0	3
11	Памяти Негруля	1	0	0
12	Копчак	1	0	1
13	Кубань	1	0	1
14	Кодрянка	1	0	1
	Всего:	194	0	108
	Результаты статистических характеристик, %			55,6 ± 14,2 41,4 ÷ 69,8

Симптомы заболевания фитоплазменной этиологии обнаружены также на прививках в виноградных школках (Приложение 16, 18). Листья поражённых растений отличались хлоротичным цветом у белых сортов винограда и покраснением у красных, со скрученными краями вниз, кожистыми и хрупкими на ощупь. Побеги поражённых прививок не вызревали до окончания вегетационного периода (Рис. 3.20.).



Рисунок 3.20. Поражение прививок заболеванием фитоплазменной этиологии в виноградной школке

Для установления инфекционной природы проявления симптомов были собраны пробы для тестирования методом ПЦР. Каждую пробу заготавливали с одной виноградной прививки. Результаты проведённого тестирования представлены в таблице 3.5. Акты отбора и тестирования саженцев винограда представлены в приложениях 14, 15, 17, 19.

Таблица 3.5. ПЦР-тест проб вегетативного материала из виноградных школок на наличие заболеваний фитоплазменной этиологии (2018 – 2019 гг.)

№	Питомниководческое хозяйство	Сорт винограда	Результаты ПЦР теста	
			FD	BN
1	Elvitis com	Молдова	0	BN
2	Agrodor	Памяти Негруля	0	-
3		Алиготе	0	BN
4		Алиготе	0	-
5		Молдова	0	-
6		Кубань	0	BN
7		Ritandrex	Фетяска нягрэ	0
8	Каберне-совиньон		0	BN
9	Алиготе		0	BN
10	Молдова		0	-
11	Алиготе		0	BN
12	Vitis-Cojusna	Копчак	0	BN
13		Каберне-совиньон	0	BN
14		Мальбек	0	BN
15		Мальбек	0	-
16		Мальбек	0	-
17		Саперави	0	BN
18	Dumbrava Ghihol	Мускат белый	0	-
19		Бианка	0	BN
20	Codru ST	Молдова	0	-
21		Шардоне	0	BN
22		Молдова	0	BN
	Результаты статистических характеристик, %			59 ± 11,9 47 ÷ 70,9

Как видно из таблицы 3.5, из 22 тестируемых проб вегетативного материала виноградных прививок, 13 проб оказались инфицированными заболеванием Почернение древесины, что позволяет предположить возможное выращивание изначально инфицированных фитоплазменным заболеванием саженцев винограда. Ни одна из проб не дала положительных результатов на наличие заболевания Золотистое пожелтение.

Проведены математические расчёты ошибки выборочной доли и определён доверительный 95% интервал генеральной доли инфицированных растений в совокупности при тестировании проб. Так, данные, приведённые в таблице 3.3, демонстрируют, что тестируемые белые сорта винограда поражены фитоплазменным

заболеванием Почернение древесины на 70,4%. Тестируемые красные сорта винограда поражены фитоплазменным заболеванием Почернение древесины на 55,6% (Таб. 3.4.). Тестируемые пробы вегетативного материала из виноградных школок поражены заболеванием Почернение древесины на 59%. Расчёты представлены в Приложении 8.

Всего за период обследований, было собрано и протестировано методом Вложенной ПЦР 346 проб листьев и лозы, из которых 215 были положительными и относились к Почернению древесины винограда [239; 242].

Полученные данные ПЦР тестирования проб виноградной лозы подтверждают результаты визуальных обследований плантаций винограда и виноградных школок, и свидетельствуют о широком распространении в Республике Молдова фитоплазменного заболевания. На основании результатов тестирования проб виноградной лозы, собранных с плантаций винограда, можно сделать заключение, что широко распространенное фитоплазменное заболевание винограда в Республике Молдова является Почернение древесины (Приложение 5).

3.5. Выявление цикад переносчиков фитоплазмы возбудителя заболевания винограда Почернение древесины - *Bois noir* в Республике Молдова

Цикадки-переносчики фитоплазмы Почернения древесины являются полифагами, поэтому отлов насекомых проводили как с кустов винограда, так и с сорных растений, растущих на плантации. Отлов цикадок с виноградных кустов проводили с помощью липких ловушек жёлтого цвета, а с травянистых растений при помощи ловчего энтомологического сачка (Рис. 3.21, 3.22.).

Для выявления общеизвестных и альтернативных насекомых-переносчиков, проведён мониторинг цикад с мая по сентябрь месяц. В 2017 году на виноградниках Яловенского района отловлены, используя липкие ловушки жёлтого цвета и определены переносчики фитоплазменных заболеваний включая *Scaphoideus titanus*, *Hyaletthes obsoletus*, а также потенциальные переносчики такие как - *Orientalis ishidae* и *Philaenus spumarius* [23].



Рисунок 3.21. Липкая ловушка для отлова цикадок-переносчиков

В период с 2018 по 2020 год, на плантациях Каушанского и Яловенского районов было отловлено 1733 экземпляра цикадок. Видовой состав отловленных насекомых, начало и продолжительность лёта, а также результаты тестирования на наличие фитоплазмы Почернение древесины представлены в таблице 3.6.



Рисунок 3.22. Энтомологический сачок и аспиратор для отлова насекомых

В результате мониторинга насекомых получена ценная информация о видовом составе цикадок распространённых на виноградных насаждениях и прилегающих территориях Центральной зоны в Республике Молдова. Количество отловленных особей

даёт представление о плотности популяции каждого вида. А продолжительность лёта, в климатических условиях страны, характеризует развитие вида и периоды, потенциально опасные для распространения фитоплазменных заболеваний (Таб. 3.6).

Таблица 3.6. Видовой состав цикадок населяющих плантации винограда в Республике Молдова и их отношение к фитоплазме BN / FD (2018 – 2020 гг.)

№	Виды отловленных переносчиков	Количество отловленных особей			Начало лёта - конец лёта			BN, FD / всего тестировано
		2018	2019	2020	2018	2019	2020	
1	<i>Adarrus multinotatus</i> (Boheman, 1847)	2	3	6	28.V-15.VI	5.VI-14.VI	3.VI-26.VI	-
2	<i>Anaceratagallia ribauti</i> (Ossiannilsson, 1938)	1	6	1	11.VII	24.VI-17.VII	06.VIII	1 BN / 5
3	<i>Arboridia ribauti</i> (Ossiannilsson, 1937)	364	106	129	2.V-1.X	19.IV-13.IX	18.V-16.IX	-
4	<i>Austroagallia torrida</i> (Ossiannilsson, 1937)	2	5	1	14.VII	17.VII	06.VIII	-
5	<i>Dictyophara europaea</i> (Linnaeus, 1767)	-	2	4	-	15.VII	24.VI-17.VII	-
6	<i>Empoasca vitis</i> (Gothé, 1875)	19	29	37	31.V-8.VIII	29.V-15.VII	3.VI-15.IX	-
7	<i>Euscelidius variegatus</i> (Kirschbaum, 1858)	9	22	2	7.V-18.VIII	19.IV-17.VIII	06.VIII-15.IX	0 / 5
8	<i>Fieberiella florii</i> (Stal, 1864)	18	5	1	10.V-24.IX	25.VI	3.VI	-
9	<i>Hyalesthes obsoletus</i> (Signoret, 1865)	29	53	24	12.VI-23.VIII	24.VI-20.VIII	15.VI-13.VIII	10 BN / 25
10	<i>Javesella pellucida</i> (Fabricius, 1794)	-	13	4	-	19.IV.-13.IX	29.VI-04.VIII	0 / 6
11	<i>Nealiturus fenestratus</i> (Herrich-Schäffer, 1834)	12	2	4	12.VI-19.VIII	9.VII	26.VI-04.VIII	0 / 6
12	<i>Philaenus spumarius</i> (Linnaeus, 1758)	21	12	16	4.V-27.VI	29.V.-17.VII	11.VI-21.VII	0 / 10
13	<i>Psammotettix alienus</i> (Dahlbom, 1850)	34	193	465	31.V-27.VII	19.IV-13.IX	3.VI-04.VIII	0 / 8
14	<i>Reptalus quinquecostatus</i> (Dufour, 1833)	2	1	4	13.VI	15.VII	20.VIII-15.IX	1 BN / 4
15	<i>Scaphoideus titanus</i> (Ball, 1932)	45	6	16	9.VII-13.IX	9.VII-2.IX	3.VII-9.IX	0 / 15
Всего:		561	458	714				12/77

Всего отловлены и определены 15 видов цикадок: *Adarrus multinotatus* (Boheman), *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson), *Arboridia ribauti* (Ossiannilsson), *Austroagallia torrida* (Evans), *Dictyophara europaea* (Linnaeus), *Empoasca vitis* (Gothé), *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum), *Fieberiella florii* (Stal), *Hyalesthes obsoletus* (Signoret), *Javesella pellucida* (Fabricius), *Nealiturus fenestratus* (Herrich-Schäffer), *Philaenus spumarius*

(Linnaeus), *Psammotettix alienus* (Dahlbom), *Reptalus quinquecostatus* (Dufour), *Scaphoideus titanus* (Ball). Рисунки цикадок представлены в приложении 6.

Наибольшую популяцию представляют цикадки *Psammotettix alienus*. Насекомые отловлены на плантациях винограда и прилегающих к ним территориях с апреля по сентябрь месяц. Важно отметить ежегодное увеличение популяции данного вида. Многие представители цикадок относящиеся к виду *Psammotettix* способны приобретать фитоплазму, такие как *P. striatus* [1] и передавать, вызывая заболевание карликовость пшеницы в Китае [200; 206], *P. cephalothes* вызывает фитоплазмоз риса (штамм BVK) в Азии [98]. Следующая по численности популяция цикадки *Arboridia ribauti* - насекомое распространено повсеместно на всех виноградных плантациях.

В изучаемой местности присутствовал общепризнанный переносчик фитоплазменного заболевания винограда из группы столбура: *Hyalesthes obsoletus* (Рис. 3.23).



Рисунок 3.23. Цикадки *Hyalesthes obsoletus*: слева - имаго женского пола; справа - имаго мужского пола

Популяция цикадки *H. obsoletus* меньше по численности, в то же время наблюдали насекомых повсеместно, как на плантациях винограда, так и на сорных растениях, растущих на прилегающих к ним территориях. Мониторинг лёта и отлов довольно трудно контролировать, из-за того, что данный вид полифаг и пребывает в почве большую часть жизненного цикла. Предпочтительным растением цикадки является Вьюнок полевой (*Convolvulus arvensis* L.).



Рисунок 3.24. Нимфа *Hyalesthes obsoletus* III-ей возрастной стадии

С прикорневой зоны данного растения были отловлены нимфы (Рис. 3.24.) и личинки 5-ой возрастной стадии цикадки *H. obsoletus* (Рис. 3.25.), что позволяет сделать заключение, о том, что Вьюнок полевой является растением хозяином насекомого.



Рисунок 3.25. Личинки *Hyalesthes obsoletus* V-ой возрастной стадии

В условиях Республики Молдова лёт имаго начинался с июня, а массовый лёт в первой половине июля месяца [89]. В результате мониторинга цикадки *H. obsoletus* на виноградниках и прилегающих территориях предпочтительным растением являлся Вьюнок полевой (*Convolvulus arvensis* L.), однако в период массового лёта, цикадку наблюдали на Дурнишнике обыкновенном (*Xanthium strumarium* L.) и Цинанхум острый (*Cynanchum acutum* L.), а так же на Повое заборном (*Calystegia sepium* L.), Лебеде садовой (*Ariplex hortensis* L.), Осоте огородном (*Sonchus oleraceus* L.), Одуванчике лекарственном (*Taraxacum officinale* L.) и Крапиве двудомной (*Urtica dioica* L.).

Цикадка *Austroagallia torrida*, была отловлена на сорных растениях, произрастающих на прилегающей к плантации винограда территории. В Австралии данное насекомое является переносчиком вируса Курчавости листьев клевера [87]. Цикадка *Philaenus spumarius* - встречалась с конца мая по июль месяц, на сорной растительности виноградников. Известны случаи диагностирования фитоплазмы в цикадке *P. spumarius* [138]. Цикадки *Euscelis variegatus* также обитают на сорных растениях плантаций винограда. Представители рода *Euscelis* являются переносчиками фитоплазменных заболеваний растений. Так цикадки *Euscelis incisus* (*Kirschbaum*) способны приобретать и передавать фитоплазму Пожелтения хризантем (16SrI-B) [193], а *Euscelidius variegatus* (*Kirschbaum*) - являются переносчиками Золотистого пожелтения винограда во Франции (16SrV-C) [29]. Цикадка *Javesella pellucida* была отловлена на сорных растениях плантаций винограда. Лёт насекомого наблюдали с апреля по сентябрь. Цикадки *J. pellucida* являются переносчиками фитоплазменного заболевания моркови [71]. В Чешской Республике цикадка встречалась на виноградных растениях, инфицированных Почернением древесины, в то же время в насекомом диагностировали наличие фитоплазмы принадлежащей к группе Пожелтения Астр 16SrI-F [159]. *Neoaliturus fenestratus* - цикадка встречалась в междурядье виноградника крайне редко. На злаковых сорных растениях, данная цикадка является переносчиком филлодии в Израиле [102] и Иране [180; 65].

В изучаемой местности присутствует общепризнанный переносчик фитоплазменных заболеваний винограда из группы «желтух»: *Scaphoideus titanus* (Рис. 3.26.).



Рисунок 3.26. Цикадки *Scaphoideus titanus*: слева - имаго мужского пола; справа - имаго женского пола

Цикадки *S. titanus* отлавливали на плантациях винограда с помощью липких ловушек желтого цвета. Лёт имаго в условиях Республики Молдова начинался с июля и продолжался до конца сентября. Личинки *S. titanus* часто наблюдали с нижней стороны листа, где они питались (Рис. 3.27).

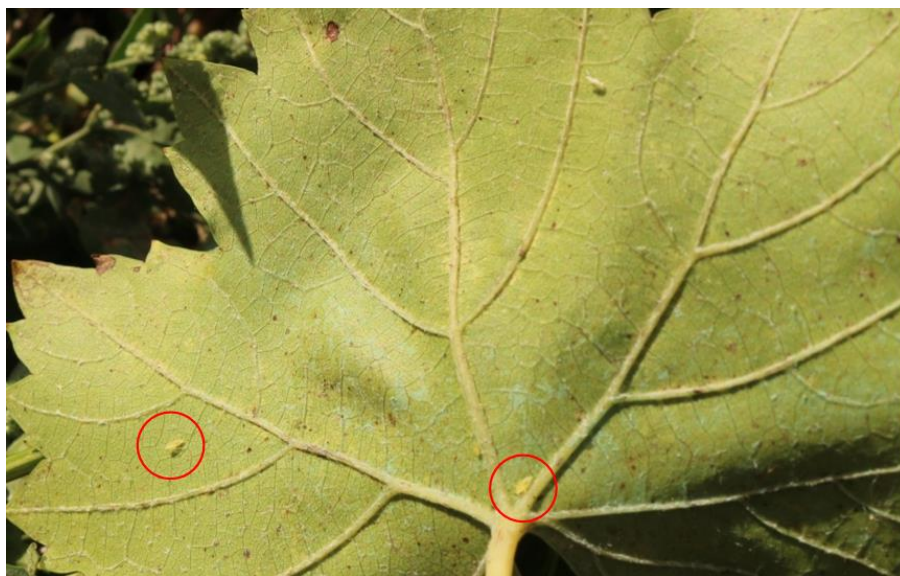


Рисунок 3.27. Личинки *Scaphoideus titanus* с нижней стороны виноградного листа

Характерным отличием от других видов личинок является наличие двух чёрных точек на последнем сегменте брюшка (Рис. 3.28.). Массовое отрождение личинок начиналось в конце мая - начале июня и длилось 1,5-3 месяца.



Рисунок 3.28. Личинки *Scaphoideus titanus*: слева - нимфа III-ей возрастной стадии; справа - нимфа V-ой возрастной стадии

Во время отлова сачком с прилегающих территорий были выявлены цикадки *Dictyophara europaеа*, которые являются альтернативными переносчиками Золотистого пожелтения.

Отловленные на плантациях винограда цикадки *Psammotettix alienus*, *Hyalesthes obsoletus*, *Austroagallia torrida*, *Philaenus spumarius*, *Euscelis variegates*, *Javesella pellucida*, *Neoliturus fenestratus* и *Scaphoideus titanus* являются переносчиками фитоплазм, которые вызывают различные заболевания у растений. Способность данных насекомых переносить фитоплазму Почернения древесины винограда проверяли тестированием проб, приготовленных из каждого вида цикад, на наличие возбудителя заболевания. Тестирование проводили методом Вложенной ПЦР. Всего тестировано 77 проб насекомых. (Таб. 3.6.). Проба состояла чаще всего из одного представителя вида и реже из 2-3 насекомых небольшого размера (*A. ribauti*, *H. obsoletus*, *J. pellucida*, *P. alienus*, *S. titanus*), также относящихся к единой принадлежности. Количество проб, каждого вида цикадок и результаты ПЦР тестов представлены в таблице 3.6.

Как видно из таблицы 3.6 положительные результаты на наличие фитоплазмы Почернение древесины показали пробы трёх видов цикад: *Anaceratagallia ribauti*,

Hyalesthes obsoletus и *Reptalus quinquecostatus* [89; 243]. Амплификации с праймерами для детекции фитоплазменных заболеваний, относящихся к группе столбура (*STOL11f2* / *STOL11r1*), уже на первом этапе Вложенной ПЦР получили ампликоны из проб с цикадками *H. obsoletus* и *R. quinquecostatus*. Положительные результаты подтвердились и во втором цикле амплификации с парой внутренних праймеров (*STOL11f3* / *STOL11r2*), что означает наличие фитоплазмы Почернения древесины винограда в данных цикадках.

Наличие фитоплазмы Почернения древесины в цикадках *Hyalesthes obsoletus*, *Anaceratagallia ribauti* и *Reptalus quinquecostatus* позволяет сделать заключение о том, что данные насекомые являются переносчиками фитоплазмы возбудителя заболевания. Установление наличия фитоплазмы Почернения древесины в цикадке *A. ribauti* согласуется с результатами работ по передаче заболевания данной цикадкой австрийских исследователей [177].

В результате амплификации праймерами для детекции заболевания Золотистого пожелтения (*FD9f/FD9r* и *FD9r2/FD9f3b*), выявлено отсутствие ампликонов известного размера. Отрицательными образцами были и представители общеизвестного переносчика - *Scaphoideus titanus*.

Тестированием цикадок *H. obsoletus* установлено, что 40% из них содержали фитоплазму Почернения древесины. Большой процент вироформных насекомых можно объяснить высокой степенью инфицирования растений-хозяев цикадки. В связи с этим, для решения вопроса распространения Почернения древесины на плантациях винограда в условиях Республики Молдова необходимо выявить растения-резерваторы фитоплазмы возбудителя данного заболевания.

3.6. Выявление растений-резерваторов фитоплазмы Почернения древесины винограда

Необходимым условием в распространении фитоплазмы Почернения древесины винограда является наличие на плантации растений резерваторов заболевания и цикад переносчиков. Количество инфицированных фитоплазмой цикад на плантации зависит от преобладания растений-хозяев.

Выявление растений резерваторов фитоплазмы Почернения древесины винограда проводили тестированием методом ПЦР проб сорных, кустарниковых и древесных растений на наличие возбудителя заболевания. Пробы для тестов отбирали в период обследований плантаций винограда на поражение заболеванием фитоплазменной этиологии. Для тестирования отбирали растения, проявляющие подавленность роста и

развития, нарушение пигментации и деформации листовых пластинок (Рис. 3.29.). Всего для диагностики отобрали 34 пробы с явными симптомами поражения (Приложение 7). Видовой состав проб, их количество и результаты тестирования на наличие фитоплазмы Почернения древесины представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7. ПЦР диагностика образцов травянистых, кустарниковых и древесных растений, произрастающих на виноградниках и прилегающих территориях

№	Виды	Пробы	
		тестируемые, шт.	инфицированные BN, FD / кол-во положительных проб
1	<i>Convolvulus arvensis</i> L. - Вьюнок полевой	8	BN / 5
2	<i>Cynanchum acutum</i> L. - Цинанхум острый	5	BN / 3
3	<i>Ulmus</i> L. - Вяз	2	BN / 2
4	<i>Rosa</i> L. - Роза	1	BN / 1
5	<i>Sonchus arvensis</i> L. - Осот полевой	3	0
6	<i>Chenopodium bonus-henricus</i> L. - Марь цельнолистная	1	BN / 1
7	<i>Linaria vulgaris</i> L. - Лянка обыкновенная	2	0
8	<i>Viscum album</i> L. - Омела белая	2	0
9	<i>Xanthium strumarium</i> L. - Дурнишник обыкновенный	3	0
10	<i>Aristolochia</i> L. - Кирказон	2	0
11	<i>Datura stramonium</i> L. - Дурман обыкновенный	1	0
12	<i>Atriplex hortensis</i> L. - Лебеда садовая	2	0
13	<i>Acacia</i> L. - Акация	2	0

Как видно из таблицы 3.7, ряд тестируемых видов растений показали высокую степень инфицирования фитоплазмой Почернение древесины винограда. Так из 8 тестируемых проб Вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis* L.) 5 (62,5%) проб, показали наличие фитоплазмы Почернение древесины.

Аналогичные результаты получены при тестировании Цинанхума острого (*Cynanchum acutum* L.): из 5 тестируемых 3 пробы (60%) содержали фитоплазму Почернение древесины винограда.

Пробы таких растений, как Марь цельнолистная (*Chenopodium bonus-henricus* L.), Роза (*Rosa* L.) и Вяз (*Ulmus* L.), собранные на плантациях винограда, показали наличие в них фитоплазмы Почернение древесины винограда [239]. Тестирование проб широко распространённых сорных растений на плантациях винограда Осот полевой, Дурнишник обыкновенный, Лебеда садовая, Дурман обыкновенный показало отсутствие в них фитоплазмы Почернения древесины.



**Рисунок 3.29. Травянистые сорные растения, растущие на плантациях винограда:
слева - *Chenopodium bonus-henricus* L.; справа - *Convolvulus arvensis* L.**

Аналогичный результат получен при тестировании проб Акации (*Acacia* L.) и Омелы белой (*Viscum album* L.), часто встречающихся в лесополосах и прилегающих территориях.

Наличие фитоплазмы Почернение древесины винограда в травянистых сорных растениях Вьюнке полевом, Цинанхуме остром и Мари цельнолистной, позволяет отнести их к растениям-резерваторам. Присутствие данных растений, источников инфекции на плантациях, является одной из причин широкого распространения заболевания Почернение древесины винограда в Республике Молдова (Рис. 3.30; 3.31).

Основополагающим фактом в распространении фитоплазмы является отношение между переносчиком с растениями-резерваторами. Установлено, что растением-хозяином цикадки-переносчика *H. obsoletus* является Вьюнок полевой, а виноградное растение для данной цикадки является случайным местом питания. Количество инфицированных фитоплазмой цикад на плантации зависит от преобладания растений-хозяев.

Для установления причинно-следственной связи между виноградом, переносчиком и сорными растениями, проводили отбор проб для диагностики сорных, кустарниковых и древесных растений, произрастающих на виноградных насаждениях и прилегающих территориях.



Рисунок 3.30. Наличие на виноградных насаждениях растений-резерваторов фитоплазмы Почернения древесины - *Synanchum acutum* L.

В ходе проведения обследований виноградных плантаций не было обнаружено растений из семейства Лютиковые и Крапивы двудомной. Вьюнок полевой на обследованных плантациях встречался довольно часто в виде отдельных растений, а иногда преобладал и разрастался по всей площади виноградника равномерно (Рис. 3.31.).



Рисунок 3.31. Наличие на виноградных насаждениях растений-резерваторов фитоплазмы Почернения древесины - *Convolvulus arvensis* L.

3.7. Идентификация фитоплазмы-возбудителя Почернения древесины

Проведёнными исследованиями установлено, что плантации винограда в Республике Молдова в сильной степени инфицированы фитоплазмой вызывающей на виноградной лозе заболевание Почернение древесины. Данная фитоплазма диагностирована у трёх видов цикадок обитающих на плантациях винограда: *Anaceratagallia ribauti*, *Hyalesthes obsoletus* и *Reptalus quinquecostatus*. Фитоплазма вызывающая заболевание Почернение древесины винограда диагностирована так же и у ряда травянистых, кустарниковых и древесных растений: Вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis* L.), Цинанхуме остром (*Cynanchum acutum* L.), Мари цельнолистной (*Chenopodium bonus-henricus* L.), Розе (*Rosa* L.) и Вязе (*Ulmus* L.).

В свете вышеизложенного, очень важно идентифицировать фитоплазму-возбудителя заболевания Почернение древесины винограда в РМ. Идентификацию проводили путем сравнения нуклеотидных последовательностей в текстовом виде, полученных секвенированием ДНК фитоплазмы, с нуклеотидными последовательностями ДНК генетической базы NCBI (National Center for Biotechnology Information) [230].

Секвенировали ДНК фитоплазмы Почернения древесины, выделенные из проб листьев винограда сорта Алиготе и Рара нягрэ, травянистого растения – Цинанхум острый (*Cynanchum acutum* L.) и цикадки *H. obsoletus*, давших положительные результаты на данное заболевание при тестировании методом ПЦР. Для амплификации применяли праймеры нерибосомальной области гена, специфичной фитоплазмам столбура. Для первой амплификации применяли праймеры: STOL11f2 / STOL11r1, для второй амплификации: STOL11f3 / STOL11r2.

Фрагменты ДНК вырезали из геля агарозы и с помощью набора SiMax™ очистили от остатков геля, ДНК полимеразы, дезоксинуклеотидов и солей. Для секвенирования искомой матрицы размером 720 п.о., концентрацию образцов доводили до рекомендуемой 20 - 22,5 нг. Работа по секвенированию по выполнена в научно-производственной компании «СИНТОЛ». Результаты секвенирования ДНК фитоплазмы Почернения древесины и её идентификации представлены в таблице 3.8.

Полученные в результате секвенирования нуклеотидные последовательности ДНК фитоплазмы Почернения древесины винограда в текстовом виде сравнили с нуклеотидными последовательностями биообразцов из генетической базы NCBI. Как видно из таблицы 3.8 проценты прочтения находятся на достаточно высоком уровне. Так процент прочтения нуклеотидных пар ДНК, выделенной из пробы винограда сорта Алиготе равен 87%, а из пробы Рара нягрэ 98% соответственно.

Таблица 3.8. Идентификация фитоплазмы Почернения древесины методом секвенирования ДНК

№	Происхождение ДНК, № NCBI	Место отбора проб; № пробы	Результат ПЦР анализа	Прочтение, %	Идентификация, %	Идентификация по базе данных NCBI
1	Алиготе (лист), SAMN27512676	Страшенский р-н, виноградная школка «Ritandrex»; № 59	<i>Bois Noir</i>	87	87	<i>Ca. P. solani</i>
2	Рара нягрэ (лист), SAMN27512677	Штефан-Водский р-н, «Vinăria Purcari» 1-1-1-2; № 268	<i>Bois Noir</i>	98	98	<i>Ca. P. solani</i>
3	<i>Cynanchum acutum</i> L. (лист), SAMN27512678	Чимишлийский р-н, «Clasic vin agro»; № 93	<i>Bois Noir</i>	99	91	<i>Ca. P. solani</i>
4	<i>Hyalesthes obsoletus</i> , SAMN27512679	Яловенский р-н; № 40	<i>Bois Noir</i>	99	96	<i>Ca. P. solani</i>

Процент прочтения нуклеотидных пар оснований, выделенных из пробы травянистого растения *Cynanchum acutum* L. и цикадки *Hyalesthes obsoletus* составляет 99%. Процент идентификации также очень высокий и варьирует от 87% у ДНК, выделенной из пробы винограда сорта Алиготе (саженец винограда, Приложение 17) и 98% у пробы ДНК, выделенной из пробы Рара нягрэ соответственно. Процент идентификации ДНК, выделенной из пробы травянистого растения *Cynanchum acutum* L. составляет 91%, а из цикадки *Hyalesthes obsoletus* составляет 96% соответственно.

Высокий процент прочтения на уровне от 87 до 99, а также процент идентификации от 87 до 98%, позволяют с достаточно высокой точностью идентифицировать фитоплазму, вызывающую заболевание Почернение древесины винограда в Республике Молдова как “*Candidatus phytoplasma solani*”.

Полученные результаты секвенирования согласуются с ранее проведённой работой, где совместно с сотрудниками лаборатории CREA (Конельяно, Италия), была проведена диагностика проб виноградных листьев из Молдовы. ПДРФ-анализ ампликонов показал, что образцы относятся к *Ca. P. solani*, возбудитель Почернения древесины. Данные были подтверждены методом TaqMan ПЦР в реальном времени [23].

Независимо от разных географических мест отбора образцов, генетически они определены идентичными, что говорит о широком распространении данного возбудителя заболевания в стране.

3.8. Распространение заболевания Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова

Проведёнными исследованиями на плантациях винограда в Республике Молдова идентифицировано заболевание фитоплазменной этиологии Почернение древесины, выявлены цикадки-переносчики и растения-резерваторы фитоплазмы возбудителя заболевания. Наличие на насаждениях винограда источников заболевания и его переносчиков объясняет широкое распространение и высокую степень поражения Почернением древесины. Для разработки мероприятий по предупреждению распространения заболевания очень важно установить, как в естественных условиях происходит инфицирование растений винограда, и какие факторы способствуют распространению заболевания на плантации. Для решения данного вопроса в 2018 году были продолжены визуальные обследования опытных участков в АТО Гагаузия (с. Буджак), Каушанском р-н (с. Тэнэтарь), Криулянском р-н (с. Слобозия-Душка). Сортосовый состав, площади, схемы посадок, а также годы посадок насаждений, включенных в опыт представлены в таблице 3.9.

Таблица 3.9. Характеристика виноградных насаждений, включенных в опыт

№	Хозяйство / местоположение	Сорт	Год посадки	Обследуемая площадь, га	Схема посадки, м
1	с. Буджак, АТО Гагаузия	Фетяска нягрэ	2008	2,5	2,75 x 1,4
		Рара нягрэ	2008	2,5	2,75 x 1,4
2	с. Слобозия-Душка, Криулянский р-н	Каберне-совиньон	2005	4,0	2,50 x 1,20
		Пино-нуар	2005	6,0	2,50 x 1,20
3	с. Тэнэтарь, Каушанский р-н	Каберне-Совиньон	2004	3,3	2,80 x 1,5
		Мерло	2004	3,3	2,80 x 1,25
		Пино-нуар	2004	3,3	2,80 x 1,25

Как видно из таблицы 3.9 опытные участки в с. Буджак, АТО Гагаузия посажены автохтонными сортами винограда Рара нягрэ и Фетяска нягрэ площадью по 2,5 га каждый. Возраст плантаций 9 лет, молодые, находятся в стадии полного плодоношения. Опытные участки в с. Слобозия-Душка, Криулянского р-на посажены в 2005 году европейскими сортами винограда Каберне-Совиньон и Пино-нуар площадью 4 и 6 га соответственно. Возраст насаждений составляет 12 лет, молодые, в стадии полного плодоношения. Плантации винограда в селе Тэнэтарь, Каушанского р-на посажены в 2004 году тремя европейскими сортами Каберне-Совиньон, Мерло и Пино-нуар площадью 3,3 га каждый. Общая площадь опытных участков составляет 24,9 га. Обследования проводили ежегодно по 2020 год включительно. Визуальному осмотру подлежали все кусты, растущие на опытных деланках. Результаты учетов представлены в таблице 3.10.

Таблица 3.10. Динамика распространения заболевания Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова (2017-2020 гг.)

№	Месторасположение участков	Сорт	Инфицированы Почернением древесины, %			
			2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.
1	с. Буджак, АТО Гагаузия	Фетяска нягрэ	6,91	7,97	11,70	16,0
		Рара нягрэ	14,81	17,28	29,50	14,9
2	с. Слобозия-Душка, Криулянский р-н	Каберне-совиньон	9,66	16,16	18,80	12,4
		Пино-нуар	11,54	48,37	43,30	15,8
3	с. Тэнэтарь, Каушанский р-н	Каберне-совиньон	19,55	26,17	12,70	9,4
		Пино-нуар	16,21	14,05	7,07	3,4
		Мерло	46,48	10,78	10,20	3,6

Как видно из таблицы 3.10 обследованные в течение 2017 – 2019 гг. участки винограда демонстрируют рост количества поражённых Почернением древесины кустов на одних и уменьшение у других. Так, количество поражённых кустов на участках в с. Буджак значительно увеличилось: у сорта Фетяска нягрэ количество поражённых в 2017 г. составляло 6,91%, а в 2019 г. - 11,70%, у сорта Рара нягрэ 14,81% в 2017 г. и 29,50% в 2019 г. соответственно. Рост количества поражённых кустов наблюдается и на участках с. Слобозия-Душка, Криулянского р-на: количество поражённых кустов сорта Каберне-совиньон в 2017 г. составляло 9,66%, а в 2019 - 18,80%, у сорта Пино-нуар 11,54% в 2017 г. и 43,30 % в 2019 г. соответственно. На участке Тэнэтарь, Каушанского р-на наблюдается постепенное снижение количества поражённых фитоплазмозом кустов, так поражение сорта Каберне-совиньон в 2017 г. составило 19,55%, а в 2019 - 12,70%, у сорта Пино-нуар симптомы поражения в 2017 г. проявили 16,21% кустов, а в 2019 г. только 7,07% кустов, а поражение кустов сорта Мерло составляло 46,48% в 2017 г. и 10,20% в 2019 г. соответственно.

В 2020 году в Республике Молдова была сильная засуха, вследствие которой сильно пострадало сельскохозяйственное растениеводство, в том числе и виноград. Особенно пагубное действие засухи сказалось в южных и центральных районах Республики. Обследование плантации винограда в с. Буджак показало значительное подавление роста однолетних побегов, что отразилось и на развитии заболевания Почернение древесины. Так поражение кустов сорта Рара нягрэ заболеванием в 2020 г. составило 14,9%, в сравнении с 2019 г. снижение составило 24,6%, достигнув уровня 2017 г., на сорте Фетяска нягрэ, наоборот количество поражённых заболеванием кустов увеличилось по сравнению с 2019 г. на 4,3%, а в сравнении с 2017 г. на 9,09% соответственно.

На насаждениях винограда с. Слобозия-Душка, Криулянского р-на в 2020 г. наблюдается снижение процента поражённых заболеванием кустов в сравнении с 2019 г., а в сравнении с 2017 г. сохраняется тенденция к увеличению поражённых Почернением древесины кустов. Так, на сорте Каберне-совиньон количество больных кустов в 2020 г. снизилось на 6,4% по отношению к 2019 г., а в сравнении с 2017 г. увеличилось на 2,74%. Схожая динамика наблюдается и на сорте Пино-нуар, где снижение количества поражённых кустов в 2020 г. по отношению к 2019 г. составило 27,5%, а в сравнении с 2017 г. увеличилось на 4,27%.

На плантациях винограда с. Тэнэтарь, Каушанского р-на наблюдается ежегодное снижение количества поражённых Почернением древесины кустов винограда. Так количество больных кустов на сорте Каберне-совиньон в 2019 г. составило 12,7%, а в 2020 г. - 9,4% соответственно, уменьшение относительно с 2017 г. составляет 10,15%. Сокращение количества поражённых заболеванием кустов наблюдается и на других сортах данной плантации. Так, количество поражённых кустов на сорте Пино-нуар по сравнению с 2017 г. уменьшилось на 12,81%, а на сорте Мерло - на 42,88% соответственно.

Анализ полученных в результате обследований данных свидетельствует о том, что на участках с. Буджак, АТО Гагаузия и с. Слобозия-Душка, Криулянского р-на количество поражённых заболеванием кустов увеличивается, в то время как на участках с. Тэнэтарь, Каушанского р-на, постепенно уменьшается. Увеличение количества поражённых заболеванием кустов на насаждениях винограда, равно как и их уменьшение можно объяснить тем, что в естественных условиях инфицирование Почернением древесины виноградного растения, на плантациях, происходит посредством цикадки-переносчика *Hyalesthes obsoletus* (Рис. 3.23.). Жизненный цикл цикадки *H. obsoletus* в основном связан с сорными растениями, виноград для неё является случайным растением. Взрослое насекомое откладывает яйца в августе месяце у основания стебля растения-хозяина (Рис. 3.32.).

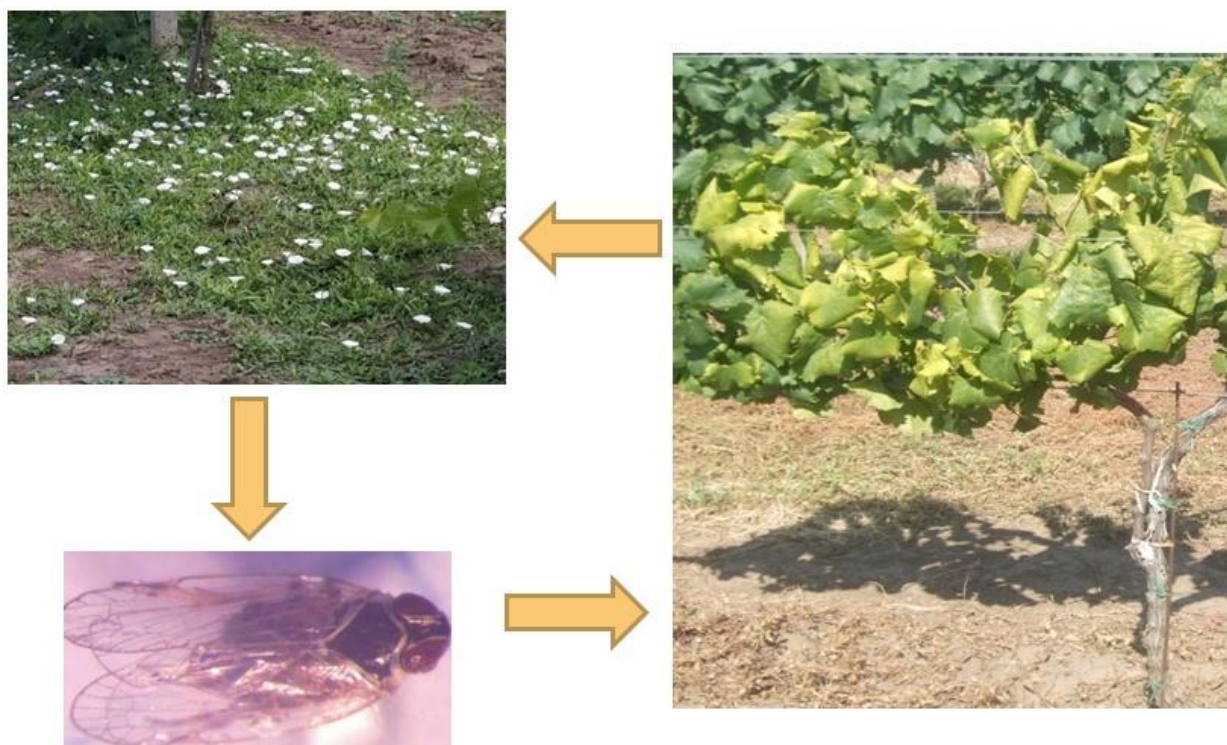


Рисунок 3.32. Инфекционный цикл заболевания Почернение древесины винограда

Отродившиеся личинки питаются на корнях растения-хозяина. Если растение было инфицировано фитоплазмой, то отродившиеся личинки, питаясь на корнях инфицированного растения-хозяина приобретают фитоплазму, и через 30-40 дней становятся вироформными. Личинки цикадки живут в почве питаясь соком корней растений хозяев и, переходя на корневую систему соседних растений, инфицируют их увеличивая, таким образом, количество растений-резервуаров фитоплазмы на плантации. Имаго, образовавшиеся из вироформных личинок, также вироформны. Лёт имаго начинается в первой декаде июня следующего года и продолжается до конца месяца.

Следует отметить, что изменения климата в значительной степени нарушили развитие биоценозов, сложившихся в течение многих лет на территории Республики Молдова, их обитателей, в том числе и таких насекомых как цикадки. Климатические данные по районам Республики Молдова в сравнении с многолетними данными представлены в таблице 3.11.

Из таблицы 3.11. видно, что среднегодовая температура воздуха повысилась на 2,0 °С по сравнению со среднемноголетними данными прошлых лет. Сумма эффективных температур в году также выросла относительно среднемноголетнего показателя на 446,5 °С. В тоже время с повышением температуры и суммы эффективных температур, наблюдается уменьшение количества атмосферных осадков на 147 мм (Приложение 9).

Таблица 3.11. Сравнительные данные метеостанций по районам за 4-х летний период (2017 - 2020 гг.)

	Место	Индикаторы	Средне-многолет.	Сравнительные данные за 2017-2020 гг.
1	Каларашский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,5	+0,8
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1380,0	+324
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	509,0	-121,7
2	Комратский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,9	+2,0
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1475	+404
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	479,0	-50,2
3	Леовский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,7	+2,1
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1420,0	+405
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	514,0	-212
4	Штефан-Водский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,6	+2,9
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1429,0	+557
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	526,0	-186,3
5	Кантемировский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	10,0	+2,2
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1454,0	+559
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	521,0	-71,2
6	Унгенский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,0	+1,8
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1287,0	+428,5
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	613,0	-184,9
7	Ниспоренского р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,0	+2,1
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1287,0	+452
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	613,0	-250,6
8	Кагульский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	10,0	+2,4
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1454,0	+442,7
		Кол. атмосфер. осадков, за год, мм	521,0	-99,6
Среднегод. темп. Воздуха по р-н, °С			9,5	+2,0
Сумма эффектив. темп. за год, по р-н, °С			1398,2	+446,5
Кол. атмосферных осадков, за год, по р-н, мм			537	-147

Изменение климата в Молдове подтверждает исследование, проведённое в 2008 году для Европы, так прогнозировали повышение температуры воздуха на 1-5,5 °С, с наибольшим потеплением в Восточной Европе. В тоже время среднее количество осадков для центральной и южной Европы уменьшается, а зимы становятся более сухими [72]. Относительно метеорологической станции Кишинёва, до 80-х годов, температура 27,1 °С считалась максимальной средней для лета (Тмах), температура 33,9 °С - как абсолютный максимум, но начиная с 1980-х годов данные пороги увеличились до 28,2 и 35,3 °С соответственно. В период с 1961 по 1990 гг. Тмах никогда не превышала 28,4 °С, а в настоящее время уже превысила 30,2 °С [72], что неизбежно сказывается на развитии биоценозов, как на плантациях винограда, так и прилегающих территориях.

Вследствие высоких температур и дефицита влаги в почве, травянистые растения быстро грубеют, желтеют и впоследствии высыхают. Поэтому, сосущие насекомые, находящиеся на плантациях винограда и питающиеся соком травянистых растений, среди которых и цикадки-переносчики фитоплазм, вынуждены массово переходить на другие источники питания, одним из которых является активно растущая в данный период времени виноградная лоза. Вироформные цикадки, питаясь соком молодых и сочных побегов, инфицируют их фитоплазмой. Первые симптомы заболевания в виде лёгкого хлороза на инфицированных побегах появляются в начале августа месяца. Чёткие, характерные симптомы фитоплазмоза образуются в конце августа, в начале сентября месяца. Таким образом, климатические изменения являются существенным фактором, способствующим ускорению процесса естественного распространения заболевания Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова. Полученные результаты согласуются с ранее документированными пагубными последствиями повышения температуры в сельском хозяйстве, по причине распространения вредителей и смене переносчиков инфекционных заболеваний в Европе [176].

В свете вышеизложенного, можно объяснить рост количества поражённых заболеванием кустов на участках винограда в с. Буджак, АТО Гагаузия и с. Слобозия-Душка, Криулянского р-на. На плантациях винограда в с. Буджак, АТО Гагаузия в большом количестве присутствует травянистая сорная растительность, среди которой значительное место занимают растения-резерваты фитоплазмы Почернения древесины, Вьюнок полевой и в особенности Цинанхум острый. Некоторые кусты были полностью покрыты плетями данного растения. Наличие на плантации растений-резерватов и цикадок переносчиков фитоплазмы, объясняет ежегодное увеличение количества поражённых Почернением древесины кустов винограда.

На насаждениях винограда в с. Слобозия-Душка, Криулянского р-на применяется залужение междурядий. В качестве травостоя используется сорная растительность, растущая в междурядьях винограда, которую периодически скашивают в течение сезона вегетации. Из растений-резерватов Почернения древесины, наблюдали только Вьюнок полевой, а Цинанхум острый не был обнаружен. Вьюнок полевой — это многолетнее, травянистое растение, с глубоко растущим стержневым корнем, благодаря стелющемуся ветвистому стеблю не подвергался кошению, поэтому повсеместно присутствовал в междурядьях, а также в рядах винограда. Присутствие на плантации источника заболевания и цикад-переносчиков способствует дальнейшему инфицированию кустов винограда заболеванием Почернение древесины.

Ежегодное сокращение количества поражённых Почернением древесины кустов винограда на участках в с. Тэнэтарь, Каушанского р-на связано с тем, что почву на винограднике, в течение всего периода вегетации, поддерживали в свободном от сорных трав состоянии. Борьбу с сорной растительностью осуществляли путём многократных обработок почвы, как в междурядьях, так и в рядах. Из растений резерваторов-фитоплазмы наблюдали единичные растения Цинанхум острый. Систематическое удаление сорняков на плантации приводит к удалению резерваторов заболевания и личинок цикадки-переносчика питающихся на корнях сорняков. Удаление сорняков приводит к прерыванию цикла растение-резерватор - цикадка-переносчик - виноградное растение, что значительно снижает как количество источников фитоплазмы, так и цикад-переносчиков, вследствие чего значительно уменьшается инфекционная нагрузка на плантацию винограда. Следовательно, содержание почвы на плантации винограда без сорняков, в том числе и без растений-резерваторов фитоплазмы, является важным фактором в предупреждении распространения заболевания Почернение древесины.

3.9. Обсуждение результатов исследований

Проведёнными исследованиями установлено поражение плантаций винограда в Республике Молдова заболеванием фитоплазменной этиологии Почернение древесины, возбудителем которого является фитоплазма "*Candidatus phytoplasma solani*". Поражение плантаций Почернением древесины установлено во всех районах возделывания винограда. Степень поражения плантаций заболеванием варьирует от 0,9 до 100%. На плантациях установлено наличие цикадок - переносчиков Почернения древесины. По результатам ПЦР диагностики, определены переносчики данного фитоплазменного заболевания: *Hyalesthes obsoletus*, *Anaceratagallia ribauti* и *Reptalus quinquecostatus*. Тестированием цикадок *H. obsoletus* установлено, что 40% из них содержали фитоплазму Почернения древесины. По результатам ПЦР диагностики, травянистых сорных растений, выявлены растения-резерваторы фитоплазмы Почернения древесины винограда, к ним относятся: Вьюнок полевой, Цинанхум острый и Марь цельнолистная.

Фитоплазмы вызывающие заболевания растений, являются, внутриклеточными паразитами, поэтому в борьбе с такого рода заболеваниями пока нет химических средств защиты. Выше было отмечено, что развитие фитоплазмоза на винограде проходит следующий цикл: резерватор заболевания - цикада-переносчик - виноград. Остановить дальнейшее распространение заболевания, на винограднике возможно только прервав этот

цикл. Данную проблему можно решить агротехническими, химическими и терапевтическими средствами.

Резерватором фитоплазмы Почернения древесины являются сорняки, растущие на винограднике и прилегающих территориях. На корнях Вьюнка полевого живут, питаются и зимуют личинки *H. obsoletus*. Вылет имаго происходит в июне. Систематическое удаление сорняков на плантации приводит к удалению резерваторов заболевания и личинок цикадки-переносчика, питающихся на их корнях. Данный агроприем приводит к прерыванию цикла резерватор - цикадка переносчик - виноград, что значительно снижает как количество источников фитоплазмы, так и цикад-переносчиков.

Обработки инсектицидами виноградных плантаций способствуют снижению популяции цикад-переносчиков фитоплазмы на винограднике, что в свою очередь также приводит к прерыванию цикла. Исключение из данного цикла переносчика благоприятно скажется на предотвращении распространения заболевания и дальнейшем оздоровлении плантации. Для своевременного проведения обработок необходимо проводить мониторинг лёта насекомых. Первые обработки инсектицидами необходимо проводить против *H. obsoletus* - в период массового вылета имаго. Вторые, а при необходимости последующие обработки, проводят в зависимости от действия препарата и лёта переносчиков на плантации. Мониторинг лёта цикадок-переносчиков заболевания существенно влияет на целесообразность проведения защитных мероприятий, а также экономит затраты на рабочую силу и пестициды.

Надо понимать, что обработки инсектицидами против *H. obsoletus* только на плантации, не всегда эффективны, по причине того, что данное насекомое полифаг и при питании может отлетать от виноградника на значительные расстояния. Более эффективной мерой борьбы является повышение уровня агротехники: культивации уничтожают особей в ювенильном возрасте, которые находятся в контакте с корнями сорных растений. Что особенно важно учитывая способность личинок к приобретению фитоплазмы от заражённых растений. Применение агротехнических мероприятия по подавлению сорной растительности приведёт к ликвидации травянистых растений - резерваторов фитоплазмы [216; 217].

Данные обследований виноградных насаждений в динамике, с учётом содержания почвы, свидетельствуют о сохранении тенденции к увеличению степени поражения в хозяйствах, где велась не достаточная обработка почвы или залужение. Рост количества поражённых заболеванием кустов, зависел от следующих факторов: наличие

эффективных переносчиков; наличие растений-резервуаров; формирование специфических климатических условий.

Систематическое удаление сорняков на плантации приводит к удалению резервуаров заболевания и личинок цикадки-переносчика, питающихся на их корнях. Подтверждает данный факт обследованные в течение четырёх лет участки винограда в Республике Молдова, которые демонстрируют рост количества поражённых кустов.

В результате диагностики выявлено наличие фитоплазмы Почернения древесины в посадочном материале. Использование инфицированного привоя или подвоя приводит к производству заражённого посадочного материала. Закладка плантаций винограда изначально инфицированными саженцами особенно опасна в районах свободных от данных заболеваний, поскольку при наличии переносчика даже одно заражённое растение может вызвать широкое распространение заболевания. Данная проблема особенно важна при закладке маточных насаждений винограда. Однако в процесс производства саженцев может попасть лоза с кустов, находящихся в стадии инкубации. В данном случае проводится прививка, стратификация и посадка в школку. Полученные из них привитые саженцы в школке слабо развиваются, они проявляют симптомы заболевания и их выбраковывают при выкопке и сортировке. Напротив, заражённые в школке саженцы находятся в стадии инкубации и не отличаются от не инфицированных. Такой посадочный материал является более опасным и приводит к установлению новых очагов фитоплазменного заболевания на большом расстоянии от заражённых зон. Для ограничения инфицирования на школке обязательны систематические превентивные обработки против цикад-переносчиков в период лёта имаго. А также мерой борьбы с распространением заболевания должен быть фитосанитарный контроль материала для размножения.

В результате молекулярной диагностики саженцев винограда, в 2019 и 2020 гг., была диагностирована фитоплазма Почернения древесины. Положительные результаты тестирования проб из виноградных школок, свидетельствуют о риске выращивания посадочного материала, инфицированного *VN*. Использование изначально больных саженцев, при посадке плантаций винограда, может способствовать появлению новых очагов заболевания. Диагностика фитоплазмы Почернение древесины в вызревшей виноградной лозе свидетельствует о возможности использования ПЦР теста для фитосанитарного контроля материала для размножения и посадочного материала винограда.

Фитоплазмы виноградной лозы не передаются сельскохозяйственными орудиями, контактами листьев, побегов и корней, поэтому при соблюдении определённых профилактических мероприятий виноградник продолжительное время можно сохранить в хорошем фитосанитарном и продуктивном состоянии.

3.10. Выводы к главе 3

1. Плантации винограда в Республике Молдова повсеместно инфицированы заболеванием фитоплазменной этиологии Почернение древесины. Процент поражения плантаций варьирует от 0,9 до 100%.
2. Возбудителем заболевания виноградной лозы Почернение древесины является фитоплазма *Candidatus Phytoplasma solani*.
3. Переносчиком заболевания Почернение древесины в условиях Республики Молдова является цикадка *Hyalosthes obsoletus* (Signoret).
4. В цикадках *Reptalus quinquecostatus* (Dufour) и *Austroagallia torrida* (Ossiannilsson) была диагностирована фитоплазма Почернения древесины, что позволяет отнести их к потенциальным переносчикам заболевания.
5. Резерваторами фитоплазмы возбудителя заболевания винограда Почернение древесины в условиях Республики Молдова являются растения: *Convolvulus arvensis* L. - Вьюнок полевой, *Cynanchum acutum* L. - Цинанхум острый, *Chenopodium bonus-henricus* L. - Марь цельнолистная, *Rosa* L. - Роза и *Ulmus* L. - Вяз.
6. На плантациях винограда выявлены новые, для Республики Молдова, виды цикадок: *Hyalosthes obsoletus* (Signoret), *Adarrus multinotatus* (Boheman), *Austroagallia torrida* (Ossiannilsson).
7. Изменение климата, заключающееся в увеличении среднегодовой температуры и значительным снижении количества осадков, приводит к преждевременному старению травянистых растений на плантациях винограда, что заставляет цикадок полифагов массово переходить для питания на другие растения, в том числе и виноград. Вироформные цикадки, питаясь на молодых пасынках винограда, инфицируют его Почернением древесины, что приводит к широкому распространению заболевания.
8. Систематическое проведение агроприемов по уничтожению сорной растительности на плантациях винограда, приводит к удалению, как растений резерваторов фитоплазмы Почернения древесины, так и личинок цикадок переносчиков заболевания.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Идентифицировано заболевание фитоплазменной этиологии Почернение древесины на плантациях винограда в Республике Молдова. Заболевание установлено во всех зонах возделывания винограда.
2. Фитоплазма, возбудитель Почернения древесины винограда, диагностирована в растениях *Convolvulus arvensis* L., *Cynanchum acutum* L., *Chenopodium bonus-henricus* L., *Rosa* L., *Ulmus* L., что позволяет определить их как растения-резерваторы заболевания.
3. Фитоплазма, возбудитель Почернения древесины винограда, диагностирована в 3-х видах цикадок: *Hyalesthes obsoletus*, *Anaceratagallia ribauti* и *Reptalus quinquecostatus*, что позволяет отнести их к насекомым-переносчикам заболевания.
4. Тестированием установлено наличие фитоплазмы Почернения древесины в 40% цикадок *H. obsoletus*, что свидетельствует о высокой степени заражённости заболеванием растений-хозяев.
5. Секвенированием ДНК, фитоплазмы Почернения древесины винограда, выделенной из поражённых заболеванием кустов винограда, сорного растения *Cynanchum acutum* L. и цикадки *Hyalesthes obsoletus* установлено, что возбудителем заболевания является фитоплазма *Candidatus Phytoplasma solani*.
6. Изменение климатических условий, заключающиеся в повышении температуры и снижении количества осадков в вегетационный период, приводит к преждевременному высыханию травяного покрова, что вынуждает насекомых полифагов массово переходить на другие растения, в том числе и виноград, способствуя быстрому распространению заболевания Почернение древесины.
7. Установлено наличие фитоплазмы Почернения древесины в посадочном материале винограда, что говорит о возможном распространении патогенна на большие расстояния. Мерой борьбы с распространением заболевания должен быть фитосанитарный контроль материала для размножения.
8. Систематическое уничтожение на плантациях винограда растений резерваторов фитоплазмы Почернение древесины приводит к избавлению, как от источника заболевания, так и от цикадок-переносчиков, личинки которых питаются на корнях растений хозяев, вследствие чего предупреждается распространение заболевания на другие растения или плантации.

Практические рекомендации

Для предупреждения распространения заболевания Почернение древесины винограда необходимо:

- проводить закладку новых плантаций винограда посадочным материалом-свободным от фитоплазменной, вирусной и бактериальной инфекции;
- не допускать наличия на насаждениях винограда и прилегающих территориях растений-резерваторов: *Convolvulus arvensis* L., *Cynanchum acutum* L., *Chenopodium bonus-henricus* L., *Rosa* L., *Ulmus* L. Содержание плантации винограда без сорной растительности в течение периода вегетации, лишает цикадку-переносчика возможности отложить яйца на растении-хозяине. Поэтому, очень важно обрабатывать почву не только в междурядьях, но и в ряду;
- исключить для залужения междурядий винограда естественно растущие травянистые сорные растения, так как среди них могут присутствовать и растения резерваторы фитоплазмы Почернения древесины винограда;
- проводить мониторинг лёта цикадок, для своевременного применения химических обработок против переносчиков;
- в целях предупреждения инвазии вироформных цикадок-переносчиков фитоплазмы Почернение древесины винограда, необходимо проводить краевые обработки инсектицидами плантаций винограда и прилегающих территорий в период их массового лёта;
- для предупреждения инфицирования виноградных прививок в школке необходимо проводить систематические превентивные обработки против цикад-переносчиков в период лёта имаго;
- важной мерой предупреждения распространения заболевания Почернение древесины на плантациях винограда является введение в систему производства посадочного материала обязательного фитосанитарного контроля материала для размножения.

Внедрение в производство

В результате обследований промышленных виноградников страны и селекционных участков НПСВиПТ, совместно с вирусологами-фитопатологами и селекционером-ампелографом, были выделены инициальные растения винограда, без симптомов поражения фитоплазменной этиологии, сорта: Копчак, Луминица, Мускат де Яловень, Алб де Оницкань, Тудор, Фетяска регала, Мерло, Совиньон Блан, Саперави (Приложение 10, 11, 12, 20). После тестирования перспективных сортов на основные фитопатогены

винограда, выделены здоровые клоны, для создания маточника института категории «ПРЕБАЗА» и «БАЗА».

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Albanese, G., Granata, G., Collodoro, S., *Detection of a phytoplasma in Psammotettix striatus*, In: *Vitis vinifera – Sicily*, Catania Univ. (Italy) Istituto di Patologia Vegetale, D'Urso, V. (Catania Univ. (Italy) Dipartimento di Biologia Animale), In: *Informatore Fitopatologico*, 1997, nr. 74, pp. 57-60.
2. Alma, A., Braccini, P., Conti, M., *Legno nero della vite*, In: *Epidemiologia, Quaderno ARSIA*, 2005, p. 122.
3. Amiune, M., Luft, A., E., Catalano, M., *Egg parasitoids of the leafhopper Rhabdotalebra flava Catalan (Hemiptera: Cicadellidae) on Handroanthus in Argentina*, In: *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 2018, nr. 77(2), p. 53.
4. Ammar, E., Hogenhout, S. *Mollicutes associated with arthropods and plants*. In: *Insect symbiosis*. 2006, nr. 2, pp. 97-118.
5. Angelini, E., Negrisol, E., Clair, D., Borgo, M., Boudon-Padieu E. *Phylogenetic relationships among “flavescence doree” strains and related phytoplasmas determined by heteroduplex mobility assay and sequence of ribosomal and nonribosomal DNA*. In: *Plant Pathol*, 2003, nr.52, pp. 663-672.
6. Angelini, E., Clair, D., Borgo, M., Bertaccini, A., Boudon-Padieu, E., *“Flavescence doree” in France and Italy – occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to Palatine grapevine yellows and an alder yellows phytoplasma*. In: *Vitis*, 2001, nr.40, pp.79–86.
7. Angelini, E., Squizzato, F., Luchetta, G., Borgo, M. *Detection of a phytoplasma associated with grapevine “flavescence doree” in Clematis vitalba*. In: *Eur J Plant Pathol*, 2004, nr. 110, pp.193–201.
8. Arnaud, G., Malembic-Maher, S., Salar, P. Bonnet, P., Maixner, M., Marcone, C., Boudon-Padieu, E., Foissac, X., *Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct “flavescence doree” phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe*. In: *Appl Environ Microbiol*, 2007, nr. 73, pp. 4001–4010.
9. Arrêté du 19 décembre 2013 relatif à la lutte contre la flavescence dorée de la vigne et contre son agent vecteur, <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000028409891>, vizitat (11.04.2022).
10. Bahsiev, A., Zamorzaeva, I., Mihnea, N., *Molecular diagnosis of phytoplasma infection in some Moldavian tomato varieties*. In: *Vegetable Crops Of Russia*, August 2020, Request PDF, https://www.researchgate.net/publication/343922729_Molecular_diagnosis_of_phytoplasma_infection_in_some_Moldavian_tomato_varieties, vizitat (11.04.2022).
11. Bai, X., Zhang, J., Ewing, A., Miller, S.A., Jancso Radek, A., Shevchenko, D.V., Tsukerman, K., Walunas, T., Lapidus, A., Campbell, J.W., Hogenhout, S.A. *Living with genome instability: The adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and plant hosts*. In: *Journal of Bacteriology*, 2006, nr. 188, pp. 3682-3696.
12. Batlle, A., Altabella, N., Sabate, J., Lavina, A. *Study of the transmission of stolbur phytoplasma to different crop species, by Macrosteles quadripunctulatus*. In: *Ann Appl Biol*, 2008, nr. 152, pp. 235-242. doi:10.1111/j.1744-7348.2007.00210.x.
13. Belli, G., Fortusini, A., Bianco, P.A., Torresin, G., Carraro, S., Pizzoli, L., *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite*. In: *Inf. agrario*, 1997, nr. 53, pp. 69-73.
14. Bertaccini, A., Braccini, P., *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia*, In: *Quaderno ARSIA*, 2005, nr.8, p. 18-23.
15. Bertaccini, A., Contaldo, N., Calari, A., Paltrinieri, S., Windsor, H.M., Windsor, D.G., *Preliminary results of axenic growth of phytoplasmas from micropropagated infected periwinkle shoots*. In: 18th congress LOM, Chianciano T, Italy, 2010, nr. 147, pp. 153.
16. Bertaccini, A., Vibio, M., Stefani, E., *Detection and Molecular Characterization of Phytoplasmas Infecting Grapevine in Liguria (Italy)*. In: *Phytopathologia Mediterranea*, 1995, nr.34, pp. 137-141.
17. Bertaccini, A. *Grapevine “Bois noir” : What is New Under the Sun?* In: *Proceedings of the 5th Bois Noir Workshop*, Ljubljana, Slovenia, 18–19 September 2018, pp. 1-2.
18. Bertamini, M., Grando, M.S., Nedunchezian, N. *Effects of Phytoplasma Infection on Pigments, Chlorophyll-Protein Complex and Photosynthetic Activities in Field Grown Apple Leaves*. In: *Biologia Plantarum (Springer Netherlands)*, 2003, nr. 47(2), p. 237.
19. Bertazzon, N., Bagnaresi, P., Forte, V., Mazzucotelli, E., Filippin, L., Guerra, D., Zechini, A., Cattivelli, L. and Angelini, E., *Grapevine comparative early transcriptomic profiling suggests that*

- Flavescence dorée phytoplasma represses plant responses induced by vector feeding in susceptible varieties*, In: BMC Genomics, 2019, nr. 20, p. 526.
20. Biedermann, R., Niedringhaus, R., In: *Die Zikaden Deutschlands - Bestimmungstabellen für alle Arten*. Fründ, Scheeßel, 2004, p.33.
 21. *Biodiversity Mapa*, In: Mapa Bioróżnorodności [online] 2021. Krajowa Sieć Informacji o Bioróżnorodności. <https://baza.biomap.pl> vizitat (11.04.2022).
 22. Blua, M.J., Campbell, K., Morgan, D.J.W. and Redak, R.A., *Impact of a screen barrier on dispersion behaviour of Homalodisca coagulata (Hemiptera: Cicadellidae)*. In: Journal of Economic Entomology, 2005, nr. 98, pp. 1664-1668.
 23. Bondarciuc, V., Filippin, L., **Haustov, E.**, Forte, V., Angelini, E., *Survey on grapevine yellows and their vectors in the Republic of Moldova*. In: Congress of the International Council for the study of Virus and Virus-like Diseases of Grapevine. Proceedings of the 19th, 9-12 April, Santiago, Chile, 2018. pp. 148-149, <https://icvg.org/data/2018proceedings.pdf>, vizitat (13.04.2022).
 24. Borgo, M., *Sintomi di fitoplasmosi e differenze con alterazioni imputabili ad altre cause, Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia*, In: Quaderno ARSIA, 2005, Quaderno Arsia (Firenze, Italy), nr. 3, pp. 17-37.
 25. Bosco, D., Marzachi C., *Insect Transmission of Phytoplasmas, CHAPTER 22, 2016*, In: Brown JK. (ed), Vector-mediated transmission of plant pathogens. APS Press, St. Paul, pp. 319-327.
 26. Boudon-Padieu, E., Bejat, A., Clair, D. Larrue, J., Borgo, M., Bertotto, L., Angelini, E., *Grapevine yellows: comparison of different procedures for DNA extraction and amplification for routine diagnosis of phytoplasmas in grapevine*. In: Vitis, 2003, nr. 42, pp. 141-149.
 27. Boudon-Padieu, E., *Flavescence dorée of the grapevine: knowledge and new developments in epidemiology, etiology and diagnosis*. In: Atti Giornate Fitopatologiche, Baselga di Piné (Trento), Italy, 2002, pp. 15-34.
 28. Boudon-Padieu, E., *Grapevine phytoplasmas*. In: First internet conference on phytopathogenic mollicutes, 1999, <http://web.uniud.it/phytoplasma/conf.html>, vizitat (11.04.2022).
 29. Boudon-Padieu, E., Larrue, J., Caudwell, A., *ELISA and Dot-Blot detection of Flavescence dorée MLO in individual leafhopper vectors during latency and inoculative state*. In: Curr. Microbiol, 1989, nr. 19, pp. 357-364.
 30. Boudon-Padieu, E., *Phytoplasmes de la vigne et vecteurs potentiels / Grapevine phytoplasmas and potential vectors*. In: Bull OIV 2005, nr. 78, pp. 299-320.
 31. Bressan, A., Turata, R., Naixner, M., Spiazzi, S., Boudon-Padieu, E. and Girolami, V., *Vector activity of Hyalesthes obsoletus living on nettles and transmitting a stolbur phytoplasma to grapevines: a case study*. In: Annals of Applied Biology, 2007, nr. 150, pp. 331-339.
 32. Bug guide. Available online: <https://bugguide.net/node/view/15740>, vizitat (19.04.2022).
 33. Buletin agrometeorologic. Ch.: *“Hidrometeo”*, 1950-2016.
 34. CABI, Data Sheets on Quarantine Pests, *Grapevine flavescence doree phytoplasma*, Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003, 2013.
 35. Casati, P., Quaglino, F., Bertaccini, A., Duduk, B., *Phytoplasmas associated with grapevine yellows diseases: an overview*, In: COST Actions FA1003 and FA0807, 2012, p. 8.
 36. Caudwell, A., *Étude sur la maladie de Bois noir de la vigne: ses rapports avec la Flavescence dorée*. In: Ann. des Épiphyties, 1961, nr.12, pp. 241-262.
 37. Caudwell, A., *Identification d'une nouvelle maladie a virus de la vigne, la “Flavescence dorée”*. In: Etude des phenomenes de localisation des symptomes et de rétablissement. Ann Epiphyt 15 (Hors Serie 1), 1964, p. 193.
 38. Caudwell, A., *L'origine des jaunisses à Mycoplasmes (MLO) des plantes et l'exemple des jaunisses de la vigne*. In: Agronomie, 1983, nr. 2, pp.103-111.
 39. Caudwell, A., *Epidemiology and characterization of Flavescence dorée (FD) and other grapevine yellows*. In: Agronomie, 1990, nr. 10, pp. 655-663.
 40. Chernov, V.M., Chernova, O.A., Mouzykantov, A.A., Baranova, N.B., Gorshkov, O.V., Trushin, M.V., Nesterova, T.N., Ponomareva, A.A., *Extracellular Membrane Vesicles and Phytopathogenicity of Achleplasma laidlawii PG8*, In: The Scientific World Journal, 2012, pag. 1.
 41. Chireceanu, C., Ploaie, P. G., Petrescu, A., Cazacu, S., *Molecular detection of “stolbur” phytoplasma from natural foci associated with grapevine yellows in Romania*. In: 3rd European Bois Noir Workshop, Barcelona, 2013, Spain, 22-23 March, p. 40.

42. Chkaidze, N., Lobjanidze, Mz., *Grapevine phytoplasma disease and its potential carriers in Georgia*, In: Science Works of the International Conference, Kherson, Ukraine, 2012, pp.149-152.
43. Chkhaidze, N.M., Lobjanidze, Mz.I., Dzmanashvili, I.I., Barjadze, Sh.Z., Maghradze, D.N., *Grapevine phytoplasma disease in Georgia*, In: Annals of arian science, 2016, nr. 14, pp.153-162.
44. Christensen, N.M., Axelsen, K.B., Nicolaisen, K.B., Schultz, A., *Phytoplasmas and their interactions with their hosts*, In: Trends Plant Sci., 2005, In:10, pp.526-535.
45. Christensen, N.M., Nicolaisen, M., Hansen, M., Schulz, A., *Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging*. In: Mol Plant-Microbe Interact 2004, nr. 17, pp. 1175-1184.
46. Chuche, J., Danet, J.L., Salar, P., Foissac, X. & Thiery, D., *Transmission of 'Candidatus Phytoplasma solani' by Reptalus quinquecostatus (Hemiptera: Cixiidae)*. In: Annals of Applied Biology, 2016, nr. 169(2), pp. 214-223
47. Chuche, J., Thiery, D., *Egg incubation temperature differently affects female and male hatching dynamics and larval fitness in a leafhopper*. In: EcolEvol 2012, nr. 2, pp. 732-739.
48. Chuche, J., Thiery, D., *Cold winter temperatures condition the egg-hatching dynamics of a grape disease vector*. In: Naturwissenschaften 2009, nr. 96, pp. 827-834.
49. Ciccotti, A.M., Bianchedi, P.L., Bragagna, P., Deromedi, M., Filippi, M., Forno, F., Mattedi, L. *Natural and experimental transmission of Candidatus Phytoplasma mali by root bridges*. In: Acta Horticulturae, 2008, nr. 781, pp. 459-464.
50. Cimerman, A., Pacifico, D., Salar, P., Marzachi, C., Foissac, X., *Striking diversity of vmp1, a variable gene encoding a putative membrane protein of the "stolbur" phytoplasma*. In: Appl Environ Microbiol, 2009, nr. 75, pp. 2951-2957.
51. Codvell, A., Larrue, J, Valat, C., Grenan, S., *Les transmites a l'eau chnde des bois de vigne atteints de la Flavescense doree*, In: Progrès agricole et viticole 107, 281–2861990, nr. 126, pp. 281-286.
52. Constable, F.E., Gibb, K.S., Symons, R.H., *The seasonal distribution of phytoplasmas Australian grapevines*. In: Plant Pathol 2003, nr. 52, pp. 267-276.
53. Constable, F.E., *Phytoplasma epidemiology: grapevines as a model*. In: Weintraub P., Jones P. (eds) *Phytoplasmas: genomes, plant hosts and vectors*. In: CAB International, Wallingford, 2010, pp. 188-212.
54. Constant, N., Lernould, J., *La gestion de la Flavescense doree en viticulture biologique*, 2014, pp. 3-13
55. Contaldo, N., Bertaccini, A., Paltrinieri, S., Windsor, H.M., Windsor, D., *Axenic culture of plant pathogenic phytoplasmas*. In: Phytopathologia Mediterranea, 2012, nr. 51(3), pp. 607-617.
56. Contaldo, N., Bertaccini, A., Paltrinieri, S., Windsor, D., Windsor H. *Cultivation of several phytoplasmas from a micropropagated plant collection*. In: Petria, 2013, nr. 23, pp. 13-18.
57. Contaldo, N., Paltrinieri, S., Makarova, O., Bertaccini, A. & Nicolaisen, M., *Q-bank Phytoplasma: a DNA bar-coding tool for phytoplasma identification. Chapter 10*. In: Lacomme C (ed) *Plant pathology, techniques and protocols, methods in molecular biology*, vol 1302. Springer, New York, 2015, pp. 123-135.
58. Contaldo, N., Satta, E., Zambon, Y., Paltrinieri, S., Bertaccini, A., *Development and evaluation of different complex media for phytoplasma isolation and growth Journal of microbiological methods 2016*, nr. 127, pp. 105-110.
59. Conti, M., *Legno nero della vite*, In: Quaderno ARSIA 3/2005, p. 121.
60. Cvrkovic, T., Jovic, J., Mitrovic, M., Krstic, O. & Tosevski, I., *Experimental and molecular evidence of Reptalus panzeri as a natural vector of bois noir*. In: Plant Pathology, 2014, nr. 63, pp. 42-53.
61. D'Arcangelo, M. - *фото симптомов фитоплазменного поражения, Borgo M., Sintomi di fitoplasmosi e differenze con alterazioni imputabili ad altre cause*; In: Bertaccini A., Braccini P., *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia*, Quaderno ARSIA 3/2005, p. 18-23.
62. Daire, X., Clair, D., Reinert, W. and Boudon-Padieu, E., *Detection and differentiation of grapevine yellows phytoplasmas belonging to the elm yellows group and to the stolbur subgroup by PCR amplification of non-ribosomal DNA*. In: European Journal of Plant Pathology, 1997, nr. 103, pp. 507-514.
63. Decreto ministeriale 31 maggio 2000 *Misure per la lotta obbligatoria contro la flavescenza dorata della vite*. Gazzetta Ufficiale del 10 luglio 2000, n. 159, <http://www.assam.marche.it/vizitat> (11.04.2022).

64. Defra, Central Science Laboratory, EC listed disease: *Grapevine flavescence dorée* (Ref. no. QIC/54). Department for Environment, Food and Rural Affairs, 2000.
65. Dehghan, S., Salehi, M., Khanchezar, A., Rastegari, N., Salari, M., *Transmission characteristics of lettuce phyllody phytoplasma by Neoliturus fenestratus IN FARS*, In: Iran. J. Plant Path., 2012, vol. 48, No. 1, pp. 35-36.
66. Dermastia, M., Bertaccini, A., Constable, H. and Mehle, N. *Grapevine Yellows Diseases and Their Phytoplasma Agents-Biology and Detection*. In: Springer Briefs in Agriculture. Springer International Publishing AG, Switzerland, 2017, pp. 1-19.
67. Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., Asuyama, H. *Mycoplasma or PLT grouplike microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows or pawlownia witches' broom*. In: Japanese Journal of Phytopathology, 1967, nr. 33(4), pp. 259-266.
68. Duduk, B., Bertaccini, A. *Phytoplasma classification: Taxonomy based on 16S ribosomal gene, is it enough?* In: Phytopathogenic Mollicutes, 2004, Vol. 1(1), pp. 3-13.
69. EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), *Scientific Opinion on pest categorization of grapevine "flavescence doree"*. In: EFSA J., 2014, nr.12:3851, pp. 31.
70. EPPO, *PQR database*. European and Mediterranean Plant Protection Organization, Paris, 2014, <http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>, vizitat (11.04.2022).
71. Euphresco, Project ID: Tracking vectors of bacteria and phytoplasmas threatening Europe's major crops (VECTRACROP), May 2017.
72. European Environment Agency, "*Impacts of Europe's changing climate - 2008 indicatorbased assessment*", In: EEA Report No 4/2008.
73. Eveillard, S., Labroussaa, F., Salar, P., Danet, J.L., Hevin, C., Perrin, M., Masson, J., Foissac, X. and Malembic-Maher, S., *Looking for resistance to the "flavescence doree" disease among Vitis vinifera cultivars and other Vitis species*. In: Proceedings of the 17th meeting of International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, (ICVG), Davis, CA, USA, 2012, pp. 234-235.
74. Fabre, A., Danet, J-L., Foissac, X., *The stolbur phytoplasma antigenic membrane protein gene stamp is submitted to diversifying positive selection*. In: Gene, 2011, nr. 472, pp. 37-41.
75. Fialova, R., Valova, P., Balakishiyeva, G. Danet, J-L., Šafářová, D., Foissac, X., Navrátil, M., *Genetic variability of "stolbur" phytoplasma in annual crop and wild plant species in south Moravia*. In: J Plant Pathol, 2009, nr. 91(2), pp. 411-416.
76. Filippin, L., De Pra, V., Zottini, M. et al., *Nucleotide sequencing of imp gene in phytoplasmas associated to "flavescence doree" from Ailanthus altissima*. In: Bull Insectol 64(Suppl), 2011, S49-S50.
77. Filippin, L., Jović, J., Cvrković, T., Forte, V., Clair, D., Toševski, I., Boudon-Padiou, E., Borgo, M. and Angelini, E. *Molecular characteristics of phytoplasmas associated with Flavescence dorée in clematis and grapevine and preliminary results on the role of Dictyophara europaea as a vector*. In: Plant Pathology, 2009, nr. 58, pp. 826-837.
78. Foissac, X. and Wilson, M.R. *Current and possible future distributions of phytoplasma diseases and their vectors*. In: P.G. Weintraub & P. Jones, eds. *Phytoplasmas: Genomes, plant hosts, and vectors*, Wallingford, UK, CABI, 2010, pp. 309-324.
79. Gajardo, A., Fiore, N., Prodan, S., Paltrinieri, S., Botti, S., Pino, A.M., Zamorano, A., Montealegre, J., Bertaccini, A., *Phytoplasmas associated with grapevine yellows disease in Chile*, In: Plant Dis., 2009, nr. 93, pp. 789-796.
80. Galetto, L., Marzachi, C., *Legno nero della vite, Diagnosi di legno nero*, In: Quaderno ARSIA 3/2005, p. 127.
81. Garnier, M., *The stolbur phytoplasma: a ubiquitous agent*. In: Comptes Rendus del'Academie d'Agriculture de France, 2000, nr. 86, pp. 27-33.
82. Giannotti, J., Marchou, G., Vago, C., *Microorganisms de type mycoplasma dans les cellules liberiennes de Malus sylvestris L., atteinte de la maladie des proliferations*. In: Comte Rendu Academie Science, 1968, nr. 267, pp. 78-77.
83. Gibb, K.S., Constable, F.E., Moran, J.R., Padovan, A.C., *Phytoplasmas in Australian grapevines detection, differentiation and associated diseases*. In: Vitis, 1999, nr. 38, pp. 107-114.

84. Gibb, K.S., Padovan, A.C., Mogen, B.D. *Studies on sweet potato little-leaf phytoplasma detected in sweet potato and other plant species growing in Northern Australia*, In: American Phytopathological Society, Phytopathology, 1995, Vol. 85, pp. 169-174.
85. Girsova, N.V., Bottner-Parker, K.D., Bogoutdinov, D.Z., Kastalyeva, T.B., Meshkov, Y.I., Mozhaeva, K.A., Lee, I.-M. *Diverse phytoplasmas associated with leguminous crops in Russia*. In: Eur. J. Plant Pathol., 2017, nr. 149(3), pp. 599-610.
86. Gitau, C.W., Gurr, G.M., Dewhurst, C.F., Fletcher, M.J., and Mitchell, A. *Insect pests and insectvectored diseases of palms*. In: Australian Journal of Entomology, 2009, nr.48, pp. 328-342.
87. Grylls, N.E., *Leafhopper vectors and the plant disease agents they transmit in Australia*. In: Maramorosch K., Harris F.K. (eds) *Leafhopper vectors and plant disease Agents*. In: Academic Press, New York, 1979, pp. 179-214.
88. Hartzell, A. *Movement of intracellular bodies associated with peach yellows*. In: Contribution Boyce Thompson Institute, 1937, 8(5): 375-388.
89. **Haustov, E.**, Bondarciuc, V., *Hyalesthes obsoletus is an active vector of Wood blackening in the Republic of Moldova*. In: International Scientific Conference “Biologization of the Intensification Processes in Horticulture and Viticulture”, № 34, September 21-23. Krasnodar, Russia, 2021, pp. 1-6. ISSN: 2587-3555. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213404020>, https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/pdf/2021/06/bioconf_biphv2021_04020.pdf, vizitat (13.04.2022).
90. Heinrichs, E.A., *Impact of insecticides on the resistance and resurgence of rice planthoppers*. In: Denno, R.F. and Perfect, T.J. (eds) *The Planthoppers: their Ecology and Management*. Chapman and Hall, London, 1994, pp. 571-598.
91. Hodgetts, J., Boonham, N., Mumford, R. Harrison, N., and Dickinson, M., *Phytoplasma phylogenetics based on analysis of secA and 23S rRNA gene sequences for improved resolution of candidate species of ‘Candidatus Phytoplasma’*. In: Int J Syst Evol Microbiol, 2008, nr. 58(8), pp. 1826-1837.
92. Hogenhout, S.A., Oshima, K., Ammar, E.D., Kakizawa, S., Kingdom, H.N., Namba, S., *Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects*. In: Mol Plant Pathol, 2008, nr. 9, pp. 403-423.
93. Serrone, P. Barba, M., *Importance of the vegetative stage for phytoplasma detection yellows-diseased grapevines*. In: Vitis 1996, nr. 35(2), pp. 101-102.
94. INRA, *Grapevine Flavescence doree*, 2013, Retrieved from, <http://www.inra.fr/en/Scientists-Students/Plant-biology/All-reports/Grapevine-flavescence-doree> vizitat (11.04.2022).
95. IPWG (International Phytoplasma Working Group). n.d. Phytoplasma collection web page. http://www.ipwgnet.org/index.php?option=com_content&view=article&id=29&Itemid=5, vizitat (11.04.2022).
96. IRPCM, “*Candidatus Phytoplasma*”, *a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonise plant phloem and insects*. In: Int J Syst Evol Microbiol, 2004, nr. 54, pp. 1243-1255.
97. Johannesen, J., Lux, B., Michel, K., Seitz, A. & Maixner, M., *Invasion biology and host specificity of the grapevine yellows disease vector Hyalesthes obsoletus in Europe*. In: Entomol Exp Appl, 2008, nr. 126, pp. 217-227.
98. Jung, H-Y., Sawayanagi, T., Wongkaew, P., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Wei, W., Oshima, K., Miyata, S-I, Ugaki, M., Hibi, T., Namba, S., ‘*Candidatus Phytoplasma oryzae*’, *a novel phytoplasma taxon associated with rice yellow dwarf disease*. In: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, nr. 53, pp. 1925-1929.
99. Kawakami, T., *On the hexenbescn of Paulownia tomentosa (Japanese)*, 1902, Shokwabo, Tokyo.
100. Kessler, S., Schaerer, S., Delabays, N., Ted, C. J. Turlings, Trivellone, V., Kehrli, P., *Host plant preferences of Hyalesthes obsoletus, the vector of the grapevine yellows disease ‘bois noir’, in Switzerland*. In: Agroscope ACW Entomologia Experimentalis et Applicata, 2011, nr. 139, pp. 60-67.
101. Kirkpatrick, B.C., *Mycoplasma-Like Organisms—Plant and Invertebrate Pathogens*. In: Balows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer KH. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY, 1992, Chapter 229, p. 4051.
102. Klein, M., *Safflower phyllody a mycoplasma disease of Carthamus tinctorius in Israel*. In: Plant Dis., 1970, rep. 54, pp. 735-738.
103. Kosovac, A., Radonjic, S., Hrcic, S., Krstic, O., Toševski, I., and Jovic, J., *Molecular tracing of the transmission routes of “bois noir” in Mediterranean vineyards of Montenegro and experimental*

- evidence for the epidemiological role of *Vitex agnus-castus* (Lamiaceae) and associated *Hyalesthes obsoletus* (Cixiidae), In: Plant Pathol, 2016, nr. 65, pp. 285-298.
104. Kube, M. *Insights in host dependency encoded within phytoplasma genomes*. In: Bull Insectology, 2011, nr. 64, pp. 9-11, <https://www.researchgate.net/publication/228520757> Insights in host dependency encoded within phytoplasma genomes, vizitat (12.04.2022).
 105. Langer, M., Maixner, M., *Molecular characterisation of grapevine yellows associated phytoplasmas of the “stolbur”-group based on RFLP-analysis of non-ribosomal DNA*, In: Vitis, 2004, nr. 43, pp. 191-200.
 106. Lauer, U., Seemüller, E. *Physical map of the chromosome of the apple proliferation phytoplasma*, In: Journal of Bacteriology, 2000, Vol. 182 (5), pp. 1415-1418.
 107. Lee, I.M., Davis, R. E., *Mycoplasmas, which infect plant and insects*. In: Molecular Biology and Pathogenesis (Maniloff J., McElhansey, R.N., Finch, L.R. and Baseman, J.B., eds), In: American Society of Microbiology, Washington, USA, 1992, 379-390.
 108. Lee, I.M., Davis, R.E. and Gundersen-Rindal, D.E., *Phytoplasmas: phytopathogenic mollicutes*. In: *Annual Review of Microbiology*, 2000, nr. 56, pp. 1593-1597.
 109. Lee, I.-M., Gundersen, D.E., Hammond, R.W., Davis, R.E., *Use of mycoplasma like organism (MLO) group-specific oligonucleotide primers for nested-PCR assays to detect mixed-MLO infections in a single host plant*. In: Phytopathology, 1994, nr. 84, pp. 559-566.
 110. Lee, I.-M., Gundersen-Rindal, D.E., Bertaccini, A., *Phytoplasma: ecology and genomic diversity*. In: Phytopathology, 1998, nr. 88, 1359-1366.
 111. Lee, I.-M., Gundersen-Rindal, D.E., Davis, R.E. & Bartoszyk, I.M., *Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences*. In: International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, nr. 48, pp. 1153-1169.
 112. Lee, I.M., Hammond, R. W., Davis, R.E., Gundersen, D.E., *Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms*, In: Phytopathology, 1993, vol. 83, pp. 834-842.
 113. Lee, I.-M., Martini, M., Marccone, C., Zhu, S.F., *Classification of phytoplasma strains in the elm yellows group (16SrV) and proposal of ‘Candidatus Phytoplasma ulmi’ for the phytoplasma associated with elm yellows*. In: Int J Syst Evol Microbiol, 2004, nr. 54, pp. 337-347.
 114. Lee, I.M., Vibio, M., Gundersen, D.E. *Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy*, In: Phytopathology, 1995, vol. 85, nr. 728-735.
 115. Lessio, F. and Alma, A., *Dispersal patterns and chromatic response of Scaphoideus titanus Ball (Homoptera Cicadellidae), vector of the phytoplasma agent of grapevine flavescence doree*. In: Agricultural and Forest Entomology, 2004, nr. 6, 121-127.
 116. Lessio, F., Tedeschi, R., Alma, A., *Presence of Scaphoideus titanus on American grapevine in woodlands, and infection with “flavescence doree” phytoplasmas*. In: Bull Insectol, 2007, nr. 60, pp. 373-374.
 117. Maggi, F., Bosco, D., Galetto, L., Palmano, S., Marzachi, C., *Space-Time Point Pattern Analysis of Flavescence Dorée Epidemic in a Grapevine Field: Disease Progression and Recovery*, In: Front Plant Sci., 2016; nr. 7, p. 1987.
 118. Maixner, M., Ahrens, U., Seemuller, E., *Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and a vector by a specific PCR procedure*. In: Eur J Plant Pathol, 1995, nr. 101, pp. 241-250.
 119. Maixner, M., *Grapevine yellows – Current developments and unsolved questions*, In: Extended Abstracts 15th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG), Stellenbosch, South Africa, 2006, pp. 86-88.
 120. Maixner, M., *Recent advances in “bois noir” research*. In: Petria, 2011, nr. 21, pp. 85-190.
 121. Maixner, M., Reinert, W., Darimont, H., *Transmission of grapevine yellows by Oncopsis alni (Schrank) (Auchenorrhyncha: Macropsinae)*. In: Vitis, 2000, nr. 39, pp. 83-84.
 122. Maixner, M., *Biology of Hyalesthes obsoletus and approaches to control this soil- borne vector of bois noir disease*. In: IOBC/WPRS Bulletin, 2007, nr. 30(7), pp. 3-9.
 123. Makarova, O., Contaldo, N., Paltrinieri, S., Bertaccini, A., Nyskjold, H., Nicolaisen, M., *DNA Bar-coding for phytoplasma identification*. In: Dickinson M, Hodgetts J (eds) Phytoplasma: methods

- and protocols, methods in molecular biology, vol 938. In: Springer Science and Business Media LLC, New York, 2013, pp. 301-318.
124. Malembic-Maher, S., Salar, P., Filippin, L., Carle, P., Angelini, E., Foissac, X., *Genetic diversity of European phytoplasmas of the 16SrV taxonomic group and proposal of 'Candidatus Phytoplasma rubi'*. In: Int J Syst Evol Microbiol, 2011, nr. 61, pp. 2129-2134.
 125. Malembic-Maher, S., Salar, P., Vergnes, D., and Foissac, X., *Detection and diversity of "flavescence dorée" related phytoplasmas in alders surrounding infected vineyards in Aquitaine - France*. In: Bulletin of Insectology, First International Phytoplasma Working Group meeting, Bologna, 2007, pp. 329-330.
 127. Mannini, F., Bagnulo, A., *L'utilizzo della termoterapia in acqua per il contenimento dei fitoplasmi della vite – un biennio di sperimentazione in Provincia di Asti*, In: Agricoltura, Quaderni Della Regione Piemonte, 2009, nr. 62, pp. 25-27.
 128. Maramorosch, K., *Historical reminiscences of phytoplasma discovery*, In: Bulletin of Insectology 64 (Supplement): S5-S8, 2011, pp. 1721-8861.
 129. Marcone, C., *Movement of Phytoplasmas and the Development of Disease in the Plant*, In: Weintraub PG, Jones P (eds) Phytoplasmas: genomes, plant hosts and vectors. CAB International, Wallingford, 2010, pp. 125-126.
 130. Marcone, C., Rao G.P. *Control of phytoplasma diseases through resistant plants*. In: Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria - II: Transmission and Management of Phytoplasma - Associated Diseases. In: Springer Singapore. 2019, pp. 165-184.
 131. Margaria, P., Rosa, C., Marzach, C., Turina, M., Palmano, S., *Detection of "flavescence doree" phytoplasma in grapevine by reverse-transcription PCR*. In: Plant Dis, 2007, nr. 91(11), pp. 1496-1501.
 132. Marinescu, V., Costișanu, M., *Gălbenirile viței de vie. În: Viticultura și vinificația Moldovei*, 1991, p. 18-20.
 133. Martini, M., Ermacora, P., Falginella, L., Loi, N., Carraro, L., *Molecular differentiation of 'Candidatus Phytoplasma mali and its spreading in Friuli Venezia Giulia Region (north-east Italy)*, In: Acta Horticulturae, 2008, nr. 781, pp. 395-402.
 134. Martini, M., Ermacora, P., Loi, N., Carraro, L., Osier, R., *Specific detection of Candidatus Phytoplasma mali by a new real-time PCR based method on ribosomal protein gene*, In: COST Action FAO 0877, 2009, p. 23.
 135. Martini, M., Lee, I-M., Bottner, K.D. Zhao Y., Botti, S., Bertaccini, A., Harrison, N.A., Carraro, L., Marcone, C., Khan, J., Osler, R., *Ribosomal protein gene-based phylogeny for finer differentiation and classification of phytoplasmas*. In: Int J Syst Evol Microbiol, 2007, nr. 57(9), pp. 2037-2051.
 136. Martini, M., Murari, E., Mori, N. and Bertaccini, A., *Identification and Epidemic Distribution of Two Flavescence Doree-Related Phytoplasmas in Veneto (Italy)*. In: Plant Disease, 1999, nr. 83, pp. 925-930. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.10.925>, vizitat (12.04.2022).
 137. Marzach, C., Veratti, F., Bosco, D., *Direct PCR detection of phytoplasmas in experimentally infected insects*. In: Ann Appl Biol, 1998, nr. 133, pp. 45-54.
 138. Matteoni, J. A., and Sinclair, W. A., *Elm yellows and ash yellows*. In: Tree Mycoplasmas and Mycoplasma Diseases. C. Hiruki, ed. University of Alberta, Edmonton, Canada, 1988, pp.19-31.
 139. McCoy, R.E., Caudwell, A., Chang, C.J., Chen, T.A., Chykowski, L.N., Cousin, M.T., Dale, J.L., de Leeuw, G.T.N., Golino, D.A., Hackett, K.J., Kirkpatrick, B.C., Marwitz, R., Petzold, H., Sinha, R.C., Sugiura, M., Whitcomb, R.F., Yang, I.L., Zhu, B.M., and Seemuller, E., *Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms*. In: The Mycoplasmas, Academic Press, New York, 1989, vol. 5.
 140. Mehle, N., Rupar, M., Seljak, G., Ravnikar, M., Dermastia, M., *Molecular diversity of 'flavescence doree' phytoplasma strains in Slovenia*. In: Bulletin of Insectology 64 (Supplement): S29-S30, 2011.
 141. Milkus, B., Clair, D., Idir, S., Habili, N., Boudon-Padieu, E. *First detection of "stolbur" phytoplasma in grapevines (Vitis vinifera cv. Chardonnay) affected with grapevine yellows in the Ukraine*. In: Plant Pathology, 2005, nr. 54 (2), p. 236.
 142. Mitovic, J., Duduk, B., *Occurrence of a new stolbur strain in tobacco in Serbia*. In: Bulletin of Insectology, 2011, nr. 64 (Supplement), pp. 107-108.

143. Mitrovic, J., Smiljkovic, M., Seemuller, E., Reinhardt, R., Hüttel, B., Büttner, C., Bertaccini, A., Kube, M., and Duduk, B., *Differentiation of 'Candidatus Phytoplasma cynodontis' based on 16S rRNA and groEL genes and identification of a new subgroup, 16SrXIV-C*. In: Plant Dis, 2015, nr. 99(11), pp.1578-1583.
144. Mori, N., Martini, M., Bressan, A. et al. *Experimental transmission by Scaphoideus titanus ball of two molecularly distinct "flavescence doree" type phytoplasmas*. In: Vitis, 2002, nr. 41(2), pp. 99-102.
145. Morone, C., Boveri, M., Giosue, S., Gotta, P., Rossi, V., Scapin, I. and Marzachi, C., *Epidemiology of Flavescence Doree in vineyards in northwestern Italy*. In: Phytopathology, 2007, nr. 97, pp. 1422-1427.
146. Moutous, G., *Definition of golden flavescence symptoms on some vine-stocks*. In: Rev Zool Agr Pathol, 1977, nr. 76, pp. 90-98.
147. Murolo, S., Marcone, C., Prota, V. et al., *Genetic variability of the stolbur phytoplasma vmp1 gene in grapevines, bindweeds and vegetables*. In: J Appl Microbiol, 2010, nr. 109(6), pp. 2049-2059.
148. Musetti, R., Buxa, S.V., De Marco, F. et al. *Phytoplasma-triggered Ca²⁺ influx is involved in sieve-tube blockage*. In: Mol Plant-Microbe Interact, 2013, nr. 26, pp. 379-386.
149. Musetti, R., *Patogeni e piante di interesse agronomico: un approccio morfologico*. In: Quaglino D., Falcieri, E., Catalano, M., Diaspro, A., Montone, A., Mengucci P. and Pellicciari C. (eds) *1956 2006: 50 anni di Microscopia in Italia tristoria, progresso ed evoluzione*. In: PI.ME Editrice, Pavia, Italy, 2006, pp. 325
150. Namba, S., Kato, S., Iwanami, S., Oyaizu, H., Shiozawa, H. and Tsuchizaki, T., *Detection and differentiation of plant-pathogenic mycoplasma-like organisms using polymerase chain reaction*. In: Phytopathology, 1993, nr. 83, pp. 786-791.
151. Namba, S., *Phytoplasmology*. University of Tokyo Press, Tokyo, 2017
152. Namba, S., Sawayanagi, T., Lu X., Kagami, T. and Sun, L., *Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma*. In: Jpn. J. Microbiol., 1998, nr. 53, pp. 443-451.
153. Namba, S., *Taxonomy of phytoplasmas*. In: Plant Protect., 1996, nr. 50, pp. 152-156.
154. Namba, S., *Molecular and biological properties of phytoplasmas*, In: Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2019, nr. 95(7), pp. 401-418.
155. Notes on Taxonomy and Nomenclature, <http://www.cabi.org/isc/datasheet/26184>, vizitat (19.04.2022).
156. OEPP/EPPO, Data sheets on quarantine organism's No. 94, *Grapevine flavescence doree MLO*. In: Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 13 (1), 1983.
157. Okuda, S., *Phytoplasmal diseases in Japan (in Japanese)*, In: Plant Prot., 1972, nr. 26, pp. 180-183.
158. Oliveri, C., Pacifico, D., D'Urso, V. et al. *"Bois noir" phytoplasma variability in a Mediterranean vineyard system: new plant host and putative vectors*. In: Australas Plant Pathol, 2015, nr. 44, pp. 235-244.
159. Orsagova, H., Brezikova, M., Schlesingerova, G., *Presence of phytoplasmas in hemipterans in Czech vineyards*, In: Bulletin of Insectology 64 (Supplement): S119-S120, 2011, ISSN 1721-8861
160. Pacifico, D., Alma, A., Bagnoli, B. et al. *Characterization of "bois noir" isolates by restriction fragment length polymorphism of a stolbur-specific putative membrane protein gene*. In: Phytopathology, 2009, nr. 99(6), pp. 711-715.
161. Palmano, S., *A comparison of different phytoplasma DNA extraction methods using competitive PCR*. In: Phytopathologia Mediterranea, 2001, nr. 40, pp. 99-107.
162. Papura, D., Burban, C., van Helden Maarten, Giresse, X., Nusillard, B., Guillemaud, T., and Kerdelhue, C., *Microsatellite and mitochondrial data provide evidence for a single major introduction for the Nearctic leafhopper Scaphoideus titanus in Europe*. In: PLOS ONE, 2012, nr. 7(5), <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0036882>, vizitat (12.04.2022).
163. Pavan, F., Mori, N., Bigot, G., Zandigiaco, P., *Border effect in spatial distribution of "flavescence doree" affected grapevines and outside source of Scaphoideus titanus vectors*. In: Bull Insectol, 2012, nr. 65, pp. 281-290.
164. Perez-Lopez, E., Olivier, C.Y., Luna-Rodriguez, M., Dumonceaux, T.J. *Phytoplasma classification and phylogeny based on in silico and in vitro RFLP analysis of cpn60 universal target*

- sequences*. In: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, nr. 66, pp. 5601-5613.
165. Pierro, R., Panattoni, A., Passera, A., Materazzi, A., Luvisi, A., Loni, A., Ginanni, M., Lucchi, A., Bianco, P.A., Quaglino, F., *Proposal of A New Bois Noir Epidemiological Pattern Related to 'Candidatus Phytoplasma Solani' Strains Characterized by A Possible Moderate Virulence in Tuscan*, In: Pathogens, 2020, nr. 9(4), p. 268.
 166. Pierro, R., Passera, A., Panattoni, A., Casati, P., Luvisi, A., Rizzo, D., Bianco, P.A., Quaglino, F., Materazzi, A. *Molecular typing of 'Bois Noir' phytoplasma strains in the Chianti Classico area (Tuscany, Central Italy) and their association with symptom severity in Vitis vinifera L. cv. Sangiovese*. In: Phytopathol, 2018, nr. 108, pp. 362-373.
 167. Pierro, R., Passera, A., Panattoni, A., Rizzo, D., Stefani, L., Bartolini, L., Casati, P., Luvisi, A., Quaglino, F., Materazzi, A. *Prevalence of a 'Candidatus Phytoplasma solani' strain, so far associated only with other hosts, in Bois Noir-affected grapevines within Tuscan vineyards*. In: Ann. Appl. Biol., 2018, nr. 173, 202-212.
 168. Pilkington, L.J., Gurr, G.M., Fletcher, M.J., Elliott, E., Nikandrow, A. and Nicol, H.I., *Reducing the immigration of suspected leafhopper vectors and severity of Australian lucerne yellows disease*. In: Australian Journal of Experimental Agriculture, 2004, nr. 44, pp. 983-992.
 169. Prezelj, N., Nikolic, P., Gruden, K., Ravnikar, M. & Dermastia, M., *Spatiotemporal distribution of flavescence doree phytoplasma in grapevine*. In: Plant Pathology, 2013, nr. 62, pp. 760-766.
 170. Prince, J.P., Davis, R.E., Wolf, T.K. et al., *Molecular detection of diverse mycoplasma-like organisms (MLOs) associated with grapevine yellows and their classification with aster yellows, X-disease, and elm yellows MLOs*. In: Phytopathology, 1993, nr. 83, pp. 1130-1137.
 171. Pyrevert, insecticide Vegetal a base de Pyrethrines Naturelles VALAGRO France SA, www.valagro.com, vizitat (12.04.2022).
 172. Quaglino, F., Sanna, F., Moussa, A. et al. *Identification and ecology of alternative insect vectors of 'Candidatus Phytoplasma solani' to grapevine*. In: Sci Rep, 2019, nr. 9.
 173. Quaglino, F., Maghradze, D., Chkhaidze, N., Casati, P., Failla, O., Bianco, P.A., *First report of 'Candidatus Phytoplasma solani' and 'Candidatus Phytoplasma convolvuli' associated respectively with grapevine bois noir and bindweed yellows in Georgia*, In: Plant Dis., 2014, nr. 98, p. 151.
 174. Quaglino, F., Zhao, Y., Casati, P., Bulgarii, D., Bianco, P. A., and Wei, W., «*Candidatus Phytoplasma solani*», a novel taxon associated with stolbur and bois noir related diseases of plants. In: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, nr. 63, pp. 2879-2894.
 175. Qualiplate SAS, DUPLEX NESTED END-POINT PCR KIT Dytection of Flavescence doree and Bois noir Cap Alpha, Avenue de l'Europe, review 02 -11/06/2015, pp. 1-3.
 176. *Raportul Național de Dezvoltare Umană în Moldova*, In: Schimbările Climatice în Republica Moldova, 2009-2010, p. 41-95.
 177. Riedle, M., Sara, A., Regner, F., *Transmission of a Stolbur Phytoplasma by the Agalliinae Leafhopper Anaceratagallia ribauti (Hemiptera, Auchenorrhyncha, Cicadellidae)*, In: Journal of Phytopathology, 2008, nr. 156(11-12), pp. 687-690.
 178. Rigamonti, I. E., Jermini, M., Fuog, D., Baumgartner J., *Towards an improved understanding of the dynamics of vineyard-infesting Scaphoideus titanus leafhopper populations for better timing of management activities*. In: Pest Manag., 2011, Sci. 67, pp. 1222-1229.
 179. Romanazzi, G. and Murolo, S., *Partial uprooting and pulling to induce recovery in bois noir-infected grapevines*. In: Journal of Phytopathology, 2008, nr. 156, p. 747.
 180. Salehi, M., Izadpanah, K., Nejat, N., *A new phytoplasma infecting lettuce in Iran*. In: Plant Disease, 2006, nr. 90, p.247.
 181. Schneider, B, Gibb, K.S., Seemuller, E., *Sequence and RFLP analysis of the elongation factor Tu gene used in differentiation and classification of phytoplasmas*. In: Microbiology, 1997, nr. 143, pp. 3381-3389.
 182. Schneider, B., Ahrens, U., Kirkpatrick, B.C., Seemüller, E. *Classification of plant-pathogenic mycoplasma-like organisms using restriction-site analysis of PCR-amplified 16S rDNA*. In: J. Gen. Microbiol., 1993, nr.,139(3), pp. 519-527.
 183. Schneider, B., Seemüller, E., Smart, C.D. and Kirkpatrick, B.C., *Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas*. In *Molecular and Diagnostic*

- Procedures in Mycoplasmaology* (eds. Razin, S. and Tully, J.G.). In: Academic Press, San Diego, 1995, pp. 369-380.
184. Schwester, D., Carle, P., Moutous, G., *Nouvelles donnees sur la transmission de la flavescence dorée de la vigne par Scaphoideus littoralis Ball.* In: Annales de Zoologie et Ecologie Animale, 1969, nr. 1, pp. 445-465
185. Seemüller, E., Garnier, M. & Schneider, B., *Mycoplasmas of plants and insects.* In S. Razin & R. Herrmann, eds. *Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas*, New York, NY, Kluwer Academic Publishers/Plenum Publishers, 2002, pp. 91-115.
186. Seemüller, E., Harries, H., *Plant Resistance, Control of Phytoplasma Diseases and Vectors*, In: *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors* (eds P.G. Weintraub and P. Jones), 2010, p.165.
187. Seemüller, E., Schneider, B., Maurer, R., Ahrens, U., Daire, X., Kison, H., Lorenz, K.H., Firrao, G., Avinent, L., Sears, B.B., Stackebrandt, E. *Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA*, In: *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, vol. 44 (3), pp. 440-446.
188. Serviciul Hidrometeorologic de Stat, Direcția Meteorologie și Climatologie, “Evaluarea resurselor climatice solare pe teritoriul republicii moldova prin prisma schimbărilor climatice”, 03.02.2022, <http://www.meteo.md/index.php/clima/cercetri-climarice>, vizitat (12.04.2022).
189. Sforza, R., Clair, D., Daire, X., Larrue, J. and Boudon-Padieu, E. *The Role of Hyalesthes obsoletus (Hemiptera: Cixiidae) in the Occurrence of Bois Noir of Grapevines in France.* In: *Journal of Phytopathology* 1998, 146, 549-556. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.1998.tb04753.x>, vizitat (12.04.2022).
190. Sharon, R., Soroker, V., Wesley, S.D., Zahavi, T., Harari, A. and Weintraub, P.G., *Vitex agnus-castus is a preferred host plant for Hyalesthes obsoletus.* In: *Journal of Chemical Ecology*, 2005, nr. 31, pp. 1051-1063.
191. Sinha, R., Paliwal, Y. *Localization of a Mycoplasma-like organism in tissues of a leafhopper vector carrying clover phyllody agent.* In: *Virology*, 1970, nr. 40(3), pp.665-672.
192. Stary, M., Valova, P., Safarova, D., Lauterer, P., Ackermann, P., Navratil, M., *Survey and molecular detection of “bois noir” in vineyards of the Czech Republic.* In: *Horticultural Science*, Prague, 2013, nr. 40 (2), pp. 83-87.
193. Terlizzi, F., Credi, R., *Uneven distribution of “stolbur” phytoplasma in Italian grapevines revealed by nested-PCR.* In: *Bull Insectol*, 2007, nr. 60, pp. 365-366.
194. Timus, A., Mihailov, I., Popa, L., *New outbreaks of Scaphoideus titanus (Homoptera, Cicadellidae) in vineyard culture from Republic of Moldova*, In: *Vegetal*, 2013, Anul V nr. 3,4 (17), p. 61-66.
195. Timus, A.M., *The invasive entomofauna of the hemimetabola group for Republic of Moldova.* In: *Current Trends in Natural Sciences*, 2015, nr. 4, pp. 32-40.
196. Tomoiagă, L., *Ghidul fitosanitar al viticultorului*, In: Academic Pres, Ediția a II-a, Cluj Napoca, 2013, p. 73-74.
197. Trivellone, V., Pinzauti, B., Bagnoli, B., *Reptalus quinquecostatus (Dufour) (Auchenorrhyncha: Cixiidae) as a possible vector of “stolbur”-phytoplasma in a vineyard in Tuscany.* In: *Redia*, 2005, nr. 88, pp. 103-108.
198. Ursu, A., *Solurile Moldovei*, În: Ch.: Î.E.P. Știința, 2011, p. 323.
199. Volkova, I., Volkov I., Kuznetsova, A. *Mountain mires of South Siberia: biological diversity and environmental functions.* In: *International Journal of Environmental Studies*, 2009. Vol. 66, pp. 465-472.
200. Wei, K., Yuan, F., *Gene expression profiles in Malpighian tubules of the vector leafhopper Psammotettix striatus (L.) revealed regional functional diversity and heterogeneity.* In: *BMC Genomics*, Nr. 23:67, 2022, p.1. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08300-6>
201. Wei, W., Lee, I-M., Davis, R.E., Suo, X. and Zhao, Y., *Automated RFLP pattern comparison and similarity coefficient calculation for rapid delineation of new and distinct phytoplasma 16Sr subgroup lineages.* In: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, nr. 58, pp. 2368-2377.
202. Weintraub, P.G. and Beanland, L., *Insect vectors of phytoplasmas.* In: *Annual Review of Entomology*, 2006, nr. 51, pp.91-111.

203. Weintraub, P.G. and Wilson, M.R., *Control of Phytoplasma Diseases and Vectors*, In: *Phytoplasmas, Genomes, Plant Hosts and Vectors*, 2010, p.234.
204. Wilson, M. R. & Turner, J. A., *Leafhopper, Planthopper and Psyllid Vectors of Plant Disease*. In: *Amgueddfa Cymru - National Museum Wales*, 2010, Available online at <http://naturalhistory.museumwales.ac.uk/Vectors>.
205. Wilson, M.R. and Weintraub, P.G., *Anintroduction to Hemiptera phytoplasma vectors*. In: *Bulletin of Insectology*, 2007, nr. 60(2), pp. 177-178.
206. Wu, Y., Hao, X., Li, Z., Gu, P., An, F., Xiang, J., Wang, H., Luo, Z., Liu, J., Xiang, Y., *Identification of the phytoplasma associated with wheat blue dwarf disease in China*. In: *Plant Dis.*, 2010, nr. 94, pp. 977-985.
207. Zahavi, T., Peles, S., Harari, A. R., Soroker, V., Sharon, R., *Push and pull strategy to reduce *Hyalesthes obsoletus* population in vineyards by *Vitex agnus castus* as trap plant*. In: *Bulletin of Insectology*, 2007, nr. 60 (2), p. 297.
208. Zhao, Y., Wei, W., Lee, I.M., Shao, J., Suo, X., Davis, R.E., *Construction of an interactive online phytoplasma classification tool, iPhyClassifier, and its application in analysis of the peach X-disease phytoplasma group (16SrIII)*, In: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, nr. 59, pp.2582-2593.
209. Zhao, Y., Wei, W., Lee, I.-M., Shao, J., Suo, X., Davis, R.E., *The iphyclassifier, an interactive online tool for phytoplasma classification and taxonomic assignment*. In: Dickinson, M., Hodgetts, J. (eds) *Phytoplasma: methods and protocols, methods in molecular biology*, In: Springer Science and Business Media LLC, New York, 2013, vol. 938. pp. 329–338.
210. Ануфриев, Г. А., Емельянов, А. Ф., *Подотряд Cicadinea (Auchenorrhyncha) – Цикадовые*, В: *Определитель насекомых Дальнего востока СССР. Равнокрылые и полужесткокрылые*. Л., «Наука», 1988, Т.2, с.12-495.
211. Бей-Биенко, Г. Я., *Низшие, равнокрылые, с неполным превращением*, В: *Определитель насекомых европейской части СССР, Академия наук СССР, Зоологический институт, Издательство «Наука» Москва – Ленинград, Том I, 1964, с. 536-625*.
212. Богоутдинов, Д.З., Кастальева, Т.Б., Гирсова, Н.В., Самсонова, Л.Н., *Фитоплазменные болезни: исторический обзор к 50-летию открытия фитоплазмозов*, В: *Сельскохозяйственная биология*, 2019, том 54, № 1, с. 4-9.
213. Бондарчук, В., Султанова, О., Хаустов, Е., Даду, К., *Оздоровление виноградной лозы от *Agrobacterium vitis* (var. *tumefaciens*) методом термотерапии*. În: *Pomicultura, Viticultura și Vinificația*, nr. 6 [54], Chișinău, 2014, p. 27-29. ISSN 1857-3142 (Cat. C); CZU: 634.8:632.953, https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/27-29_14.pdf, vizitat (13.04.2022).
214. Бондарчук, В., Султанова, О., Хаустов, Е., *Фитосанитарная селекция автохтонных сортов винограда*. În: *Simpozionul Științific Internațional Protecția plantelor – realizări și perspective*. vol. 47, 27-28 October. Кишинев, 2015, с. 127-132. ISBN: 978-9975-56-266-9, https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/127-132_12.pdf, vizitat (13.04.2022).
215. Бондарчук, В.В., Султанова, О.Д., Константинова, И.С., *Золотистое пожелтение (*Flavescence doree*) винограда в Молдове*, În: *Pomicultura, viticultura și vinificația*, 2010, №3(27), с.23-26
216. Бондарчук, В., Хаустов, Е., *Агротехнический метод предупреждения распространения почернения древесины винограда*. В: *Русский виноград. Сборник научных трудов, Том 14*. Новочеркасск, 2020, стр. 51-60. ISSN: 2412-9836; УДК 634.8:576.858:632. DOI:10.32904/2712-8245-2020-14-51-60.
217. Бондарчук, В., Хаустов, Е., *Фитоплазмоз виноградной лозы в Молдове*. În: *Agroexpert*, №1, Кишинев, 2020, стр. 84-92. ISSN:2587-3555, <https://agroexpert.md/rus/agromenedzhment/fitoplazmoz-vinogradnoy-lozy-v-moldove>, vizitat (12.04.2022).
218. Ванькова, А.А., Иванов, П.И., Серебренникова, Л.А., Мидяник, Г.А., *Взаимодействие микоплазм *Acholeplasma laidlawii* и растений люцерны посевной *Medicago sativa* и томата *Lycopersicon esculentum mill.**, В: *Известия ТСХА*, 2008, выпуск 1, стр.1
219. Власов, Ю.И., *Вирусные и микоплазменные болезни растений*. Москва, 1992, с.20-137.
220. Власов, Ю.И., *Природная очаговость вирусных и фитоплазменных (микоплазменных) болезней растений*. СПб, 1999, с.10-11.

221. Доспехов, Б. А. *Методика полевого опыта*. В: Агропромиздат, Москва, 1985, с. 185-188.
222. Дубчак, М., Хаустов, Е., Султанова, О., Бондарчук, В., *Горячая водная терапия в фитосанитарной селекции винограда*, В: Русский виноград, Сборник научных трудов, Том 13, Новочеркасск, 2020, с. 16-24. ISSN: 2412-9836; УДК 634.8:632.953. DOI: 10.32904/2412-9836-2020-13-16-24, <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43983251>, vizitat (13.04.2022).
223. Закон № 228, Республика Молдова, от 23-09-2010, о защите растений и фитосанитарном карантине. Опубликовано: 10-12-2010 в Monitorul Oficial № 241-246 статья № 748, Disponibil: https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=106744&lang=ru
224. Имаго *Hyalesthes obsoletus*, фото Genot Kunz, <https://www.gdon-bordeaux.fr/maladies/insectes/>, vizitat (12.04.2022).
225. Имаго *Scaphoideus titanus*, Life cycle, INRA, <http://ephytia.inra.fr/en/C/7002/Grapevine-Description-of-the-insect>, vizitat (12.04.2022).
226. Кастальева, Т.Б., Богоутдинов, Д.З., Боттнер-Паркер, К.Д., Гирсова, Н.В., Ли, И.М., *О разнообразии фитоплазмозов сельскохозяйственных культур в России: патогены и их переносчики*. В: Сельскохозяйственная биология, 2016, № 51(3), с.101-109.
227. Личинка *Hyalesthes obsoletus*, Cycle biologique, <https://www.gdon-bordeaux.fr/maladies/insectes/>, vizitat (12.04.2022).
228. Личинки *Scaphoideus titanus*, Description of the insect, INRA, <http://ephytia.inra.fr/en/C/7002/Grapevine-Description-of-the-insect>, vizitat (12.04.2022).
229. Маринеску, В.Г., Костишану, М.Г., *Желтуха – новое заболевание винограда в Республике Молдова*, В: Сборник: «Состояние и перспективы развития виноградарства», Кишинёв, 1990, с. 113-114.
230. Международная генетическая база данных NCBI [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, vizitat (19.04.2022).
231. Постановление правительства № 356 от 11-06-2015, об утверждении Технического регламента «*Организация виноградно-винодельческого рынка*», Опубликовано: 19-06-2015 в Monitorul Oficial № 150-159 статья № 399. Disponibil: https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=114795&lang=ru
232. Постановление правительства № 356 от 31-05-2012, об утверждении некоторых нормативных актов для реализации Закона № 228 от 23 сентября 2010 года о защите растений и фитосанитарном карантине. Опубликовано: 08-06-2012 в Monitorul Oficial № 113-118 статья № 397. Disponibil: https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=92577&lang=ru
233. Самуджева, Э.М. *К изучению биологических особенностей переносчика столбура — цикады Hyalesthes mlokosiewiczii Sign.* В: Труды Института защиты растений АН Грузинской ССР, 1953, № 9, с. 15-28.
234. Самуджева, Э.М., *Некоторые данные по изучению переносчика столбура томатов в Грузии*. В: Труды Института защиты растений АН Грузинской ССР, 1949, № 6, с. 161-162.
235. Скрипаль, И.Г., Малиновская, Л.А., *Среда СМИМВ-72 для выделения и культивирования фитопатогенных микоплазм*. В: Микробиологический журнал, 1983, № 45(6), с. 64-71.
236. Сухов, К.С., Вовк, А.М., *Цикадка Hyalesthes obsoletus Sign., переносчик столбура пасленовых*. В: Доклады АН СССР, 1946, № 53(2), с. 153-156.
237. Сухов К.С., Вовк А.М., *Столбур пасленовых и меры борьбы с ним*, В: Пищепромиздат, Наркомпищепром СССР, Главконсерв. Всесоюз. науч.-исслед. ин-т консервной пром. "ВНИИКП", Москва, 1946, с. 31-37.
238. Сухов, К.С., Вовк, А.М., *Столбур пасленовых*, В: Изд-во АН СССР, М.-Л., 1949, с. 72-75.
239. Хаустов, Е., Бондарчук, В., *Выявление фитоплазмы Candidatus Phytoplasma Solani на плантациях винограда в Республике Молдова*. În: Simpozionului Științific Internațional „Sectorul agroalimentar – realizări și perspective”. 19-20 noiembrie. Кишинев, 2021.
240. Хаустов, Е., Дубчак, М., Бондарчук, В., *Почернение древесины – фитоплазменное заболевание винограда в Республике Молдова*. В: Русский виноград, Сборник научных трудов, Новочеркасск, Том 12, 2020, с. 33-40. ISSN: 2412-9836; УДК 634.8:576.858:632. DOI: 10.32904/2412-9836-2020-12-33-40, <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43983603>, vizitat (13.04.2022).
241. Хаустов, Е., Проданюк, Л., Султанова, О., Бондарчук, В., *Биотехнология получения здоровых клонов винограда*. В: Международная научная конференция «Биотехнология в

- плодоводстве». 13-17 июня. Минск, 2016, с. 113-116. ISBN 978-985-7148-50-9, https://rep.polessu.by/bitstream/123456789/22696/1/Vliianie_genomnogo_sostava.pdf, vizitat (13.04.2022).
242. **Хаустов, Е.**, *Распространение почернения древесины винограда в естественных условиях*. În: Conferință științifică a studenților. ed. 74. Chișinău. 2021. p. 51. ISBN: 978-9975-64-320-7, https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/144951, vizitat (13.04.2022).
243. **Хаустов, Е.**, *Цикадки переносчики фитоплазменного заболевания почернение древесины (Bois Noir) в Республике Молдова*. Agricultural science, 2023, (1), 66–74. <https://doi.org/10.55505/sa.2023.1.07>, <https://press.utm.md/index.php/as/article/view/107>, vizitat (21.09.2023).

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1.

Отличие симптомов поражения виноградной лозы фитоплазменными заболеваниями с симптомами, вызванными вирусной, грибной инфекцией, генетическими аномалиями, химическим составом почвы и повреждением насекомыми



Рисунок 1.1. Не инфекционный (функциональный) хлороз



Рисунок 1.2. Инфекционный хлороз - Желтая мозаика - Grapevine yellow mosaic virus



Рисунок 1.3. Окаймление жилок - Grapevine vein banding virus



Рисунок 1.4. Альбикация



Рисунок 1.5. Скручивание листьев винограда - Grapevine leafroll virus



Рисунок 1.6. Прожилковая мозаика - Grapevine vein mosaic virus



Рисунок 1.7. Эска или апоплексия винограда



Рисунок 1.8. Симптомы, вызванные повреждением цикадки *Ceresa bubalus*

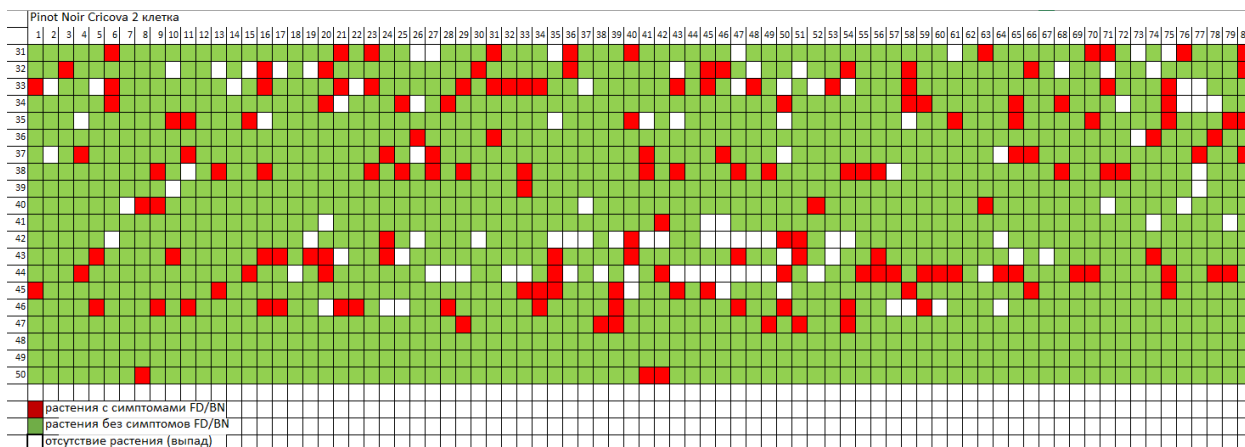


Рисунок 2.3. Результаты обследования сорта Пино-нуар, клетка 2, в 2017 году, IS,,Cricova”SA, Слобозия-Душка, Криулянский р-н

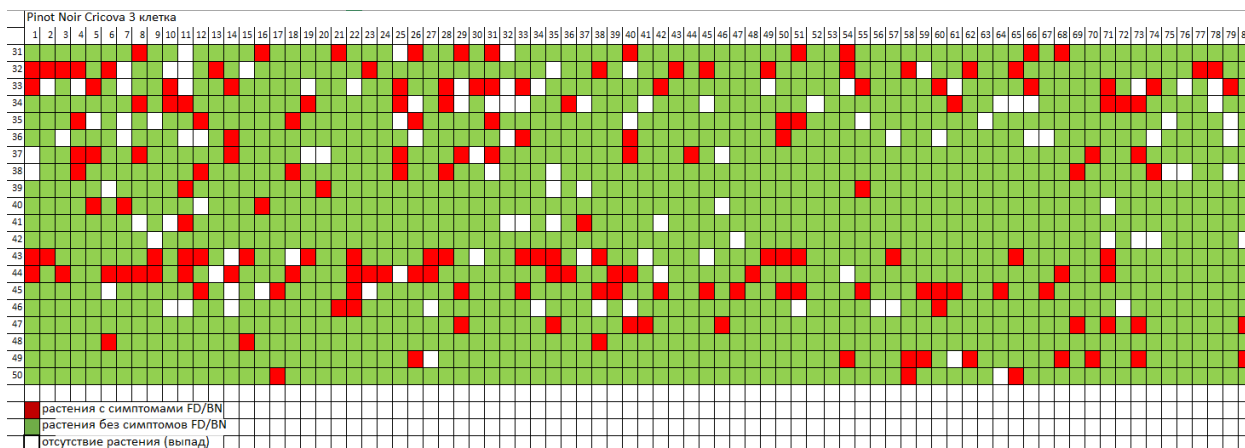


Рисунок 2.4. Результаты обследования сорта Пино-нуар, клетка 3, в 2017 году, IS,,Cricova”SA, Слобозия-Душка, Криулянский р-н

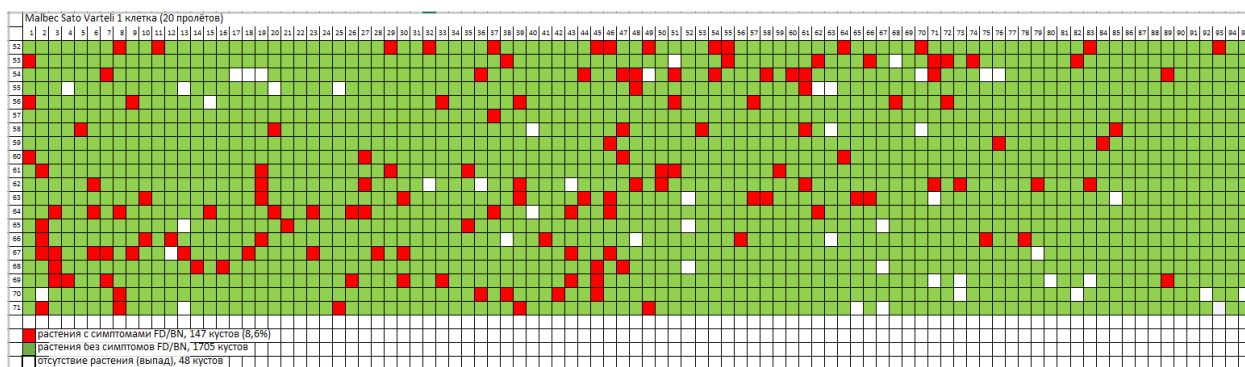


Рисунок 2.5. Результаты обследования сорта Мальбек, клетка 1, в 2017 году, SRL «Chateau Vartely», с. Буджак, Комратский р-н

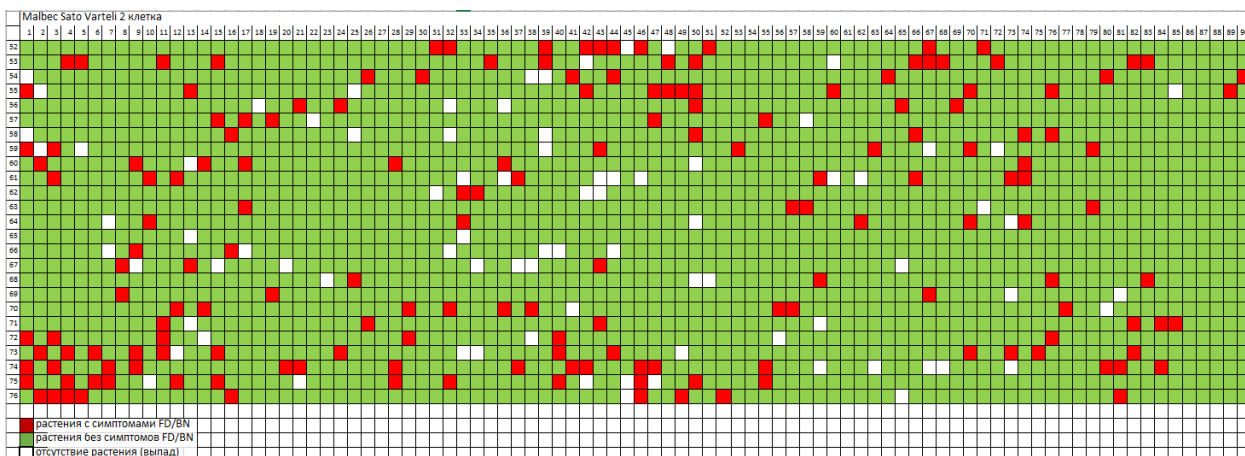


Рисунок 2.6. Результаты обследования сорта Мальбек, клетка 2, в 2017 году, SRL «Chateau Vartely», с. Буджак, Комратский р-н.

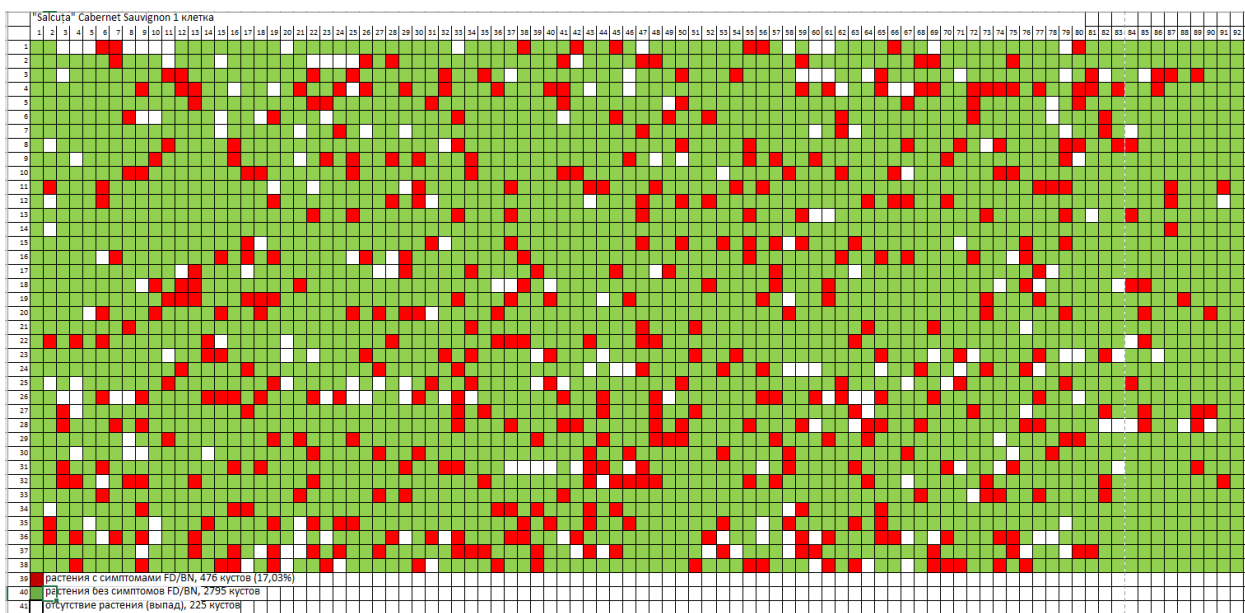


Рисунок 2.7. Результаты обследования сорта Каберне-совиньон, клетка 1, в 2017 году, SRL „Salcuta”, с. Тэнэтарь, Каушанский р-н

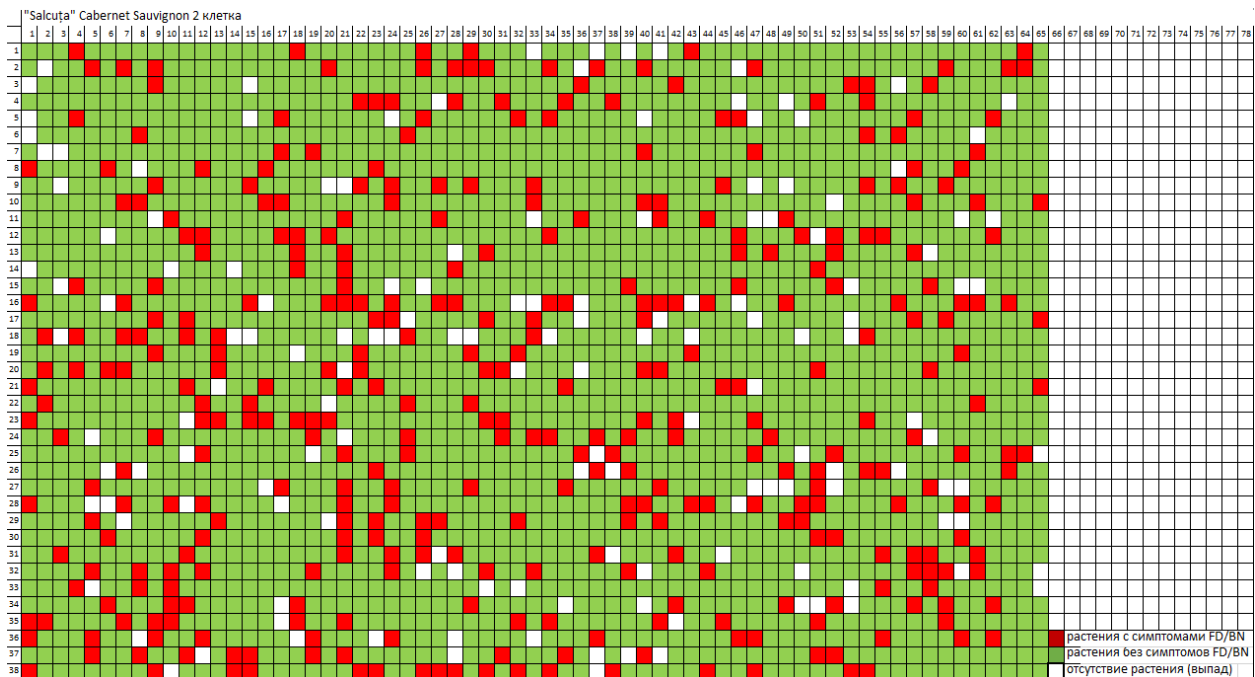


Рисунок 2.8. Результаты обследования сорта Каберне-совиньон, клетка 2, в 2017 году, SRL „Salcuța”, с. Тэнэтарь, Каушанский р-н

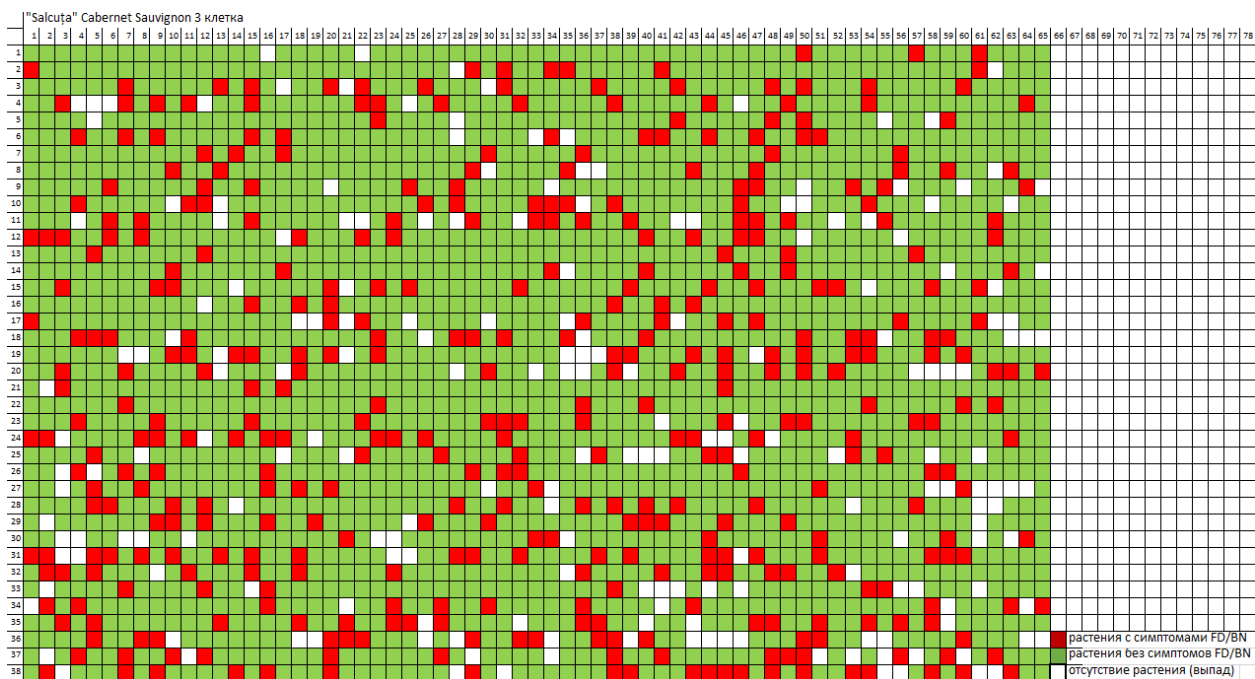


Рисунок 2.9. Результаты обследования сорта Каберне-совиньон, клетка 3, в 2017 году, SRL „Salcuța”, с. Тэнэтарь, Каушанский р-н

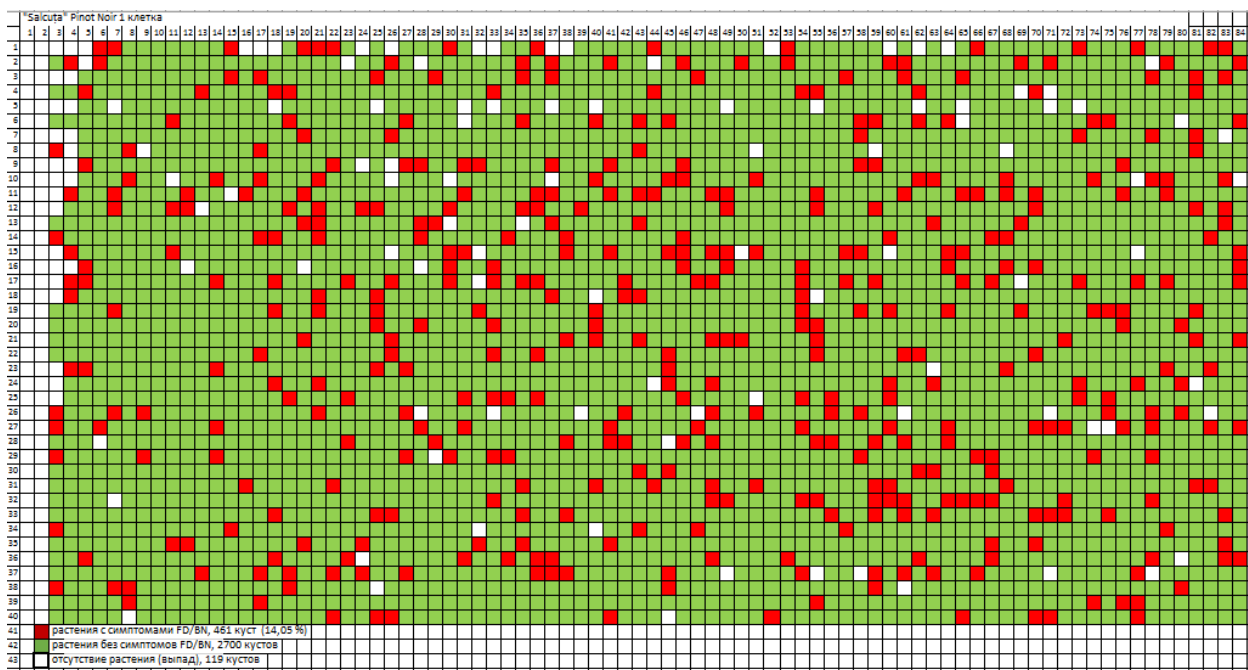


Рисунок 2.16. Результаты обследования сорта Пино-нуар, клетка 1, в 2018 году, SRL „Salcuța”, с. Тэнэтарь, Каушанский р-н

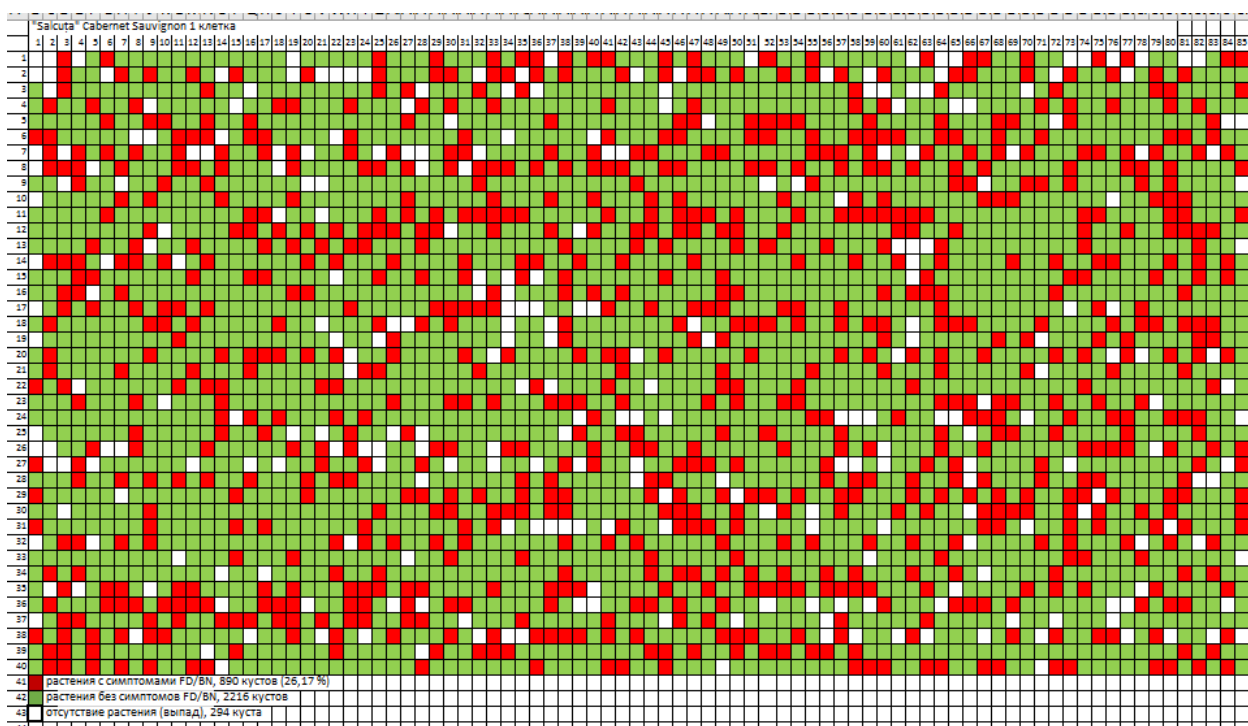


Рисунок 2.17. Результаты обследования сорта Каберне-совиньон, клетка 1, в 2018 году, SRL „Salcuța”, с. Тэнэтарь, Каушанский р-н

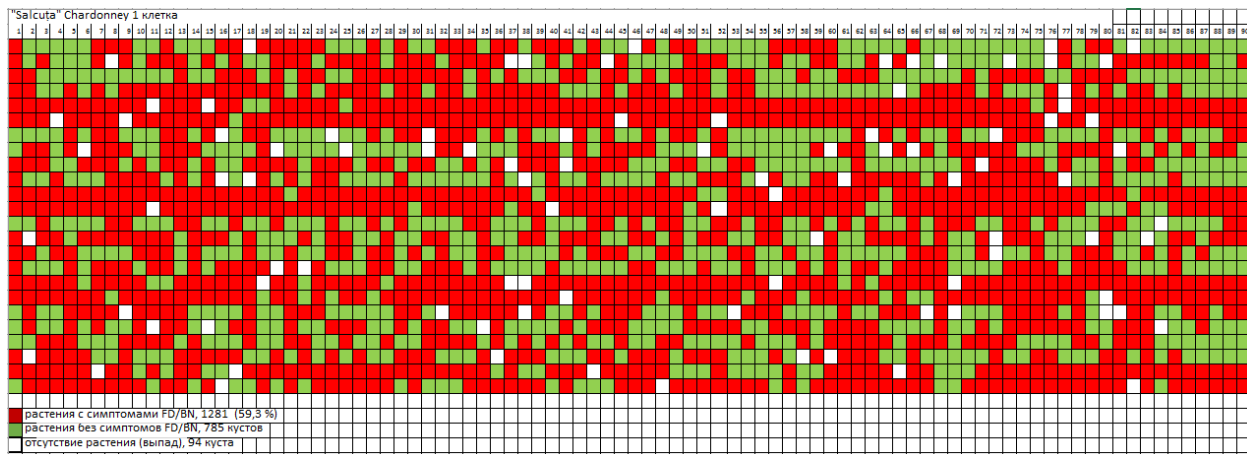


Рисунок 2.18. Результаты обследования сорта Шардоне, клетка 1, в 2018 году, SRL „Salcuta”, с. Тэнэтарь, Каушанский р-н

Приложение 3.

Характеристика обследованных виноградных насаждений и результаты поражения их фитоплазмозом в 2018 - 2019 гг.

№	Месторасположение (1)	Фирма (2)	Сорт (3)	Площадь, га (4)	Год посадки (5)	Зараженность 2018, % (6)	Зараженность 2019, % (7)
1	Кагульский р-н., с. Александру Иоан Куза	Vinăria Bostavan	Шардоне	32,93	2006	60,07	-
			Мерло	19,40	2011	18,38	-
			Фетяска нягрэ	12,00	2012	24,80	-
			Рара нягрэ	4,25	2012	9,20	-
2	Криулянский р-н., с. Слобозия-Душка	IS«Cricova» SA	Каберне-совиньон	4,0	2007	18,13	18,8
			Пино-нуар	6,0	2007	43,47	43,3
3	Каушанский р-н., с. Тэнэтарь	«Salcuța» SRL	Каберне-совиньон	3,3	2007	22,00	12,7
			Шардоне	2,0	2009	52,2	72,9
			Мерло	3,3	2008	15,2	10,2
			Пино-нуар	3,3	2008	18,7	7,07
4	Каушанский р-н., с. Тараклия	SRL Bogatmos	Совиньон-блан	38,52	2012	28,43	-
			Сухолиманский белый	15,07	2015	33,7	-
			Мерло	9,97	2007	45,87	-
			Каберне-совиньон	13,72	2007	10,0	-
			Каберне-совиньон	19,87	2006	29,97	-
			Рислинг рейнский	13,45	2014	54,75	-
			Мускат Оттонель	8,13	2014	45,5	-
5	Новоаненский р-н., с. Крецоая	SC" Agro VitaComerț"	Пино-нуар	6,5	2000	29,98	-
			Пино-нуар	6,5	2000	98,55	-
			Совиньон-блан	17,56	2006	28,5	-
			Шардоне	13,86	2006	63,2	-
			Мускат Оттонель	3,37	2006	62,77	-
			Рара нягрэ	4,66	2008	34,1	-
			Каберне-совиньон	9,20	1999	39,28	-
			Рислинг рейнский	37,41	2000	37,9	-
6	Новоаненский р-н., с. Мерены	SC" Agro VitaComerț" SRL	Каберне-совиньон	5,23	2003	35,17	-
			Мерло	23,72	2003	73,8	-
			Мальбек	3,49	2003	91,2	-
7	Григориопольский р-н., с. Спя	Mimi	Пино-нуар	3	2012	8,1	3,8
			Фетяска нягрэ	12,00	2012	29,7	6,3
			Саперави	4,25	2012	11,1	1,7
8	Страшенский р-н., с. Ромэнешть	Vinăria Romanesti SRL	Шардоне	12,00	2007	83,9	-
9	Страшенский р-н., с. Кодрянка	Vinăria Bostavan	Шардоне	15,3	2004	39,68	-
			Шардоне	14,36	2005	25,8	-
10	Теленештский р-н., с. Теленешть	Doina vin SRL	Рислинг рейнский	6,78	2005	68,7	-
			Шардоне	23,08	2005	80,2	-
			Совиньон-блан	5,80	2007	53,2	-
			Кодрянка	13,84	2013	60,6	-
11	Ниспореньский р-н., с. Вэрзэрешть	Școala Profesională	Фетяска нягрэ	1,22	2007	5,7	7,3
			Пино-нуар	0,78	2007	10,60	7,0
12	Леовский р-н., г. Леова	Școala Profesională	Фетяска нягрэ	0,3	2007	7,30	-
			Мерло	0,3	2007	5,33	-

№	1	2	3	4	5	6	7
13	Леовский р-н., с. Сэрата Ноуэ	SRL "Vinia Denovi"	Шардоне	30	2005	96,21	-
			Совиньон-блан	30	2005	70,3	-
14	Леовский р-н., с. Томай	SA "Mold-Nord"	Рислинг рейнский	24	2013	97,8	-
			Шардоне	5	2014	98,12	-
			Каберне-совиньон	30	2005	19,15	-
15	Чадыр-лунгский р-н., с. Томай	SA Tomai-Vinex	Мерло	11,31	2003	43,30	35,2
			Мерло	10,20	2006	41,4	33,7
			Саперави	3,48	2003	46,3	-
			Каберне-совиньон	11,87	2004	18,6	21,25
			Каберне-совиньон	19	2005	26,1	30,85
16	Кантемирский р-н., с. Плешены	CAP "GLIA"	Совиньон-блан	15,00	2005	99,2	-
			Совиньон-блан	32,00	2007	98,7	-
17	Штефан-Водский р-н., с. Пуркары	Vinăria Purcari SRL	Шардоне	19,35	2006	81,9	100
			Шардоне	13,54	2007	95,0	100
			Мерло	4	2011	37,9	21,8
			Фетяска регала	11,85	2013	28,0	20,1
			Рара нягрэ	4,25	2012	28,6	17,3
			Каберне-совиньон	1	2011	30,7	16,7
			Саперави	10,4	2011	-	13,9
			Совиньон-блан	19,04	2011	-	68,0
18	Штефан-Водский р-н., с. Пуркары	BRAVO WINE SRL	Фетяска нягрэ	5,17	2011	28,0	-
			Мерло	19,40	2011	29,30	-
			Саперави	10,40	2012	22,2	-
			Шардоне	6,10	2013	98,9	-
			Совиньон-блан	19,14	2011	48,0	-
			Рара нягрэ	4,25	2012	36,10	-
19	Комратский р-н., с. Буджак,	«Chateau Vartely» SRL	Сира	3,3	2007	3,34	-
			Мальбек	3,3	2008	11,7	-
			Фетяска нягрэ	2,2	2009	6,50	11,7
			Рара нягрэ	2,2	2010	12,9	29,5
20	Унгенский р-н., с. Мирчешть	Crama Mircești	Рара нягрэ	1	2011	5,2	1,3
			Фетяска нягрэ	1	2011	1,2	0,9
			Совиньон-блан	1	2011	3,9	-
21	Яловенский р-н., с. Костешты	GTMereacle Feodor Andrei	Молдова	4,00	2014	84,9	-
22	Чимишлийский р-н.	SRL "Clasic Vin Agro"	Шардоне	20	2013	-	95
			Рислинг рейнский	20	2013	-	100
23	Каларашский р-н., с. Пэулешть	SRL "Călărași Divin"	Совиньон-блан	38,88	2005	-	81,03
24	Бессарабский р-н., г. Бессарабка	SRL "Basarabia Lwin Invest"	Мускат Оттонель	1,42	2014	-	85
			Шардоне	1,9	2014	-	100
			Рара нягрэ	3,8	2014	-	70
Среднее:						41,40	40,06

Приложение 4.

Журналы отбора растительных образцов для тестирования методом ПЦР на заболевание FD/BN в 2018 и 2019 г.

Таблица 4.1. Журнал отбора растительных образцов для тестирования методом ПЦР на заболевание FD/BN в 2018 г.

№	Местоположение (1)	Компания (2)	Сорт (3)	Дата отбора (4)	Результат ПЦР теста (5)
1	Криулянский р-н.	Cricova	Каберне-совиньон	18.09.18	BN
2	Криулянский р-н.	Cricova	Каберне-совиньон	18.09.18	-
3	Криулянский р-н.	Cricova	Каберне-совиньон	18.09.18	BN
4	Дубоссарский р-н.	Elvitiscom	Молдова	18.09.18	BN
5	Криулянский р-н.	Cricova	Каберне-совиньон	19.09.18	-
6	Криулянский р-н.	Cricova	Каберне-совиньон	19.09.18	-
7	Криулянский р-н.	Cricova	Пино-нуар	19.09.18	BN
8	Криулянский р-н.	Cricova	Пино-нуар	19.09.18	-
9	Криулянский р-н.	Cricova	Пино-нуар	19.09.18	-
10	Криулянский р-н.	Cricova	Пино-нуар	19.09.18	-
11	Криулянский р-н.	Cricova	Пино-нуар	19.09.18	-
12	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	20.09.18	BN
13	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	20.09.18	BN
14	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	20.09.18	BN
15	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	20.09.18	- в лозе BN в лист.
16	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	20.09.18	BN, в лозе
17	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	20.09.18	-
18	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	20.09.18	BN
19	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	20.09.18	-
20	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	20.09.18	BN, в лозе
21	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	20.09.18	- в лозе BN в лист.
22	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Сира	22.09.18	-
23	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Сира	22.09.18	-
24	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Сира	22.09.18	-
25	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Сира	22.09.18	-
26	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Рара нягрэ	22.09.18	BN
27	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Рара нягрэ	22.09.18	-
28	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	22.09.18	-
29	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	22.09.18	BN
30	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	22.09.18	-
31	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	22.09.18	-
32	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Рара нягрэ	22.09.18	-
33	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	22.09.18	-
34	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Рара нягрэ	22.09.18	-
35	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Рара нягрэ	22.09.18	-
36	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Мальбек	22.09.18	BN
37	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Мальбек	22.09.18	-
38	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Мальбек	22.09.18	-
39	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Мальбек	22.09.18	-
40	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Мальбек	22.09.18	-
41	Яловенский р-н.	Lab.Virology	Фетяска нягрэ	24.09.18	-
42	Страшенский р-н.	Agrodor	Памяти Негруля	26.09.18	-
43	Страшенский р-н.	SRL Gheorchii Sava	Молдова	26.09.18	-
44	Страшенский р-н.	Agrodor	Молдова	26.09.18	-

№	1	2	3	4	5
65	Страшенский р-н.	Gheorghe Sava	Алиготе	26.09.18	BN
46	Страшенский р-н.	Agrodor	Алиготе	26.09.18	BN
47	Страшенский р-н.	Codru ST	Молдова	26.09.18	-
48	Страшенский р-н.	Agrodor	Кубань	26.09.18	BN
49	Страшенский р-н.	Agrodor	Алиготе	26.09.18	-
50	Григориопольский р-н.	Mimi	Саперави	27.09.18	-
51	Григориопольский р-н.	Mimi	Саперави	27.09.18	-
52	Григориопольский р-н.	Mimi	Саперави	27.09.18	-
53	Григориопольский р-н.	Mimi	Саперави	27.09.18	BN
54	Григориопольский р-н.	Mimi	Саперави	27.09.18	BN
55	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	-
56	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	-
57	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	BN
58	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	BN
59	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	BN
60	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска албэ	27.09.18	-
61	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска албэ	27.09.18	-
62	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска албэ	27.09.18	BN
63	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска албэ	27.09.18	-
64	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска албэ	27.09.18	BN
65	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	-
66	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	BN
67	Григориопольский р-н.	Mimi	Фетяска нягрэ	27.09.18	BN
68	Григориопольский р-н.	Mimi	Пино-нуар	27.09.18	-
69	Григориопольский р-н.	Mimi	Пино-нуар	27.09.18	-
70	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.09.18	- в лозе BN в лист.
71	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.09.18	BN
72	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.09.18	-
73	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.09.18	BN, в лозе
74	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.09.18	BN
75	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.09.18	BN
76	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.09.18	BN
77	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.09.18	-
78	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.09.18	BN
79	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.09.18	BN
80	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.09.18	- в лозе
81	Яловенский р-н.	Lab. Vir.	Кодрянка	01.10.18	BN
82	Яловенский р-н.	Lab. Vir.	Фетяска нягрэ	01.10.18	-
84	Кагульский р-н.	Bostavan	Мерло	01.10.18	-
85	Кагульский р-н.	Bostavan	Мерло	02.10.18	-
86	Кагульский р-н.	Bostavan	Мерло	02.10.18	-
87	Кагульский р-н.	Bostavan	Мерло	02.10.18	-
88	Кагульский р-н.	Bostavan	Мерло	02.10.18	-
89	Кагульский р-н.	Bostavan	Траминер	02.10.18	-
90	Кагульский р-н.	Bostavan	Траминер	02.10.18	-
91	Кагульский р-н.	Bostavan	Траминер	02.10.18	-
92	Кагульский р-н.	Bostavan	Траминер	02.10.18	-
93	Кагульский р-н.	Bostavan	Траминер	02.10.18	BN
94	Кагульский р-н.	Bostavan	Шардоне	02.10.18	-
95	Кагульский р-н.	Bostavan	Шардоне	02.10.18	BN
96	Кагульский р-н.	Bostavan	Шардоне	02.10.18	BN
97	Кагульский р-н.	Bostavan	Шардоне	02.10.18	-
98	Кагульский р-н.	Bostavan	Шардоне	02.10.18	-
99	Кагульский р-н.	Bostavan	Пара нягрэ	02.10.18	-

№	1	2	3	4	5
100	Кагульский р-н.	Bostavan	Рара нягрэ	02.10.18	-
101	Кагульский р-н.	Bostavan	Рара нягрэ	02.10.18	BN
102	Кагульский р-н.	Bostavan	Рара нягрэ	02.10.18	BN
103	Кагульский р-н.	Bostavan	Рара нягрэ	02.10.18	-
104	Кагульский р-н.	Bostavan	Фетяска нягрэ	02.10.18	BN
105	Кагульский р-н.	Bostavan	Фетяска нягрэ	02.10.18	-
106	Кагульский р-н.	Bostavan	Фетяска нягрэ	02.10.18	-
107	Кагульский р-н.	Bostavan	Фетяска нягрэ	02.10.18	-
108	Кагульский р-н.	Bostavan	Фетяска нягрэ	02.10.18	BN
109	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Мерло	03.10.18	-
110	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Мерло	03.10.18	BN
111	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Мерло	03.10.18	-
112	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Мерло	03.10.18	-
113	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Мерло	03.10.18	-
114	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	03.10.18	BN
115	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	03.10.18	-
116	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	03.10.18	-
117	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	03.10.18	-
118	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	03.10.18	-
119	Леовский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	03.10.18	-
120	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Пино-нуар	04.10.18	-
121	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Пино-нуар	04.10.18	- в лозе
122	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Пино-нуар	04.10.18	- в лозе - в лист.
123	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Пино-нуар	04.10.18	-
124	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	04.10.18	BN
125	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	04.10.18	BN
126	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	04.10.18	- в лозе
127	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	04.10.18	BN, в лозе
128	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Каберне-совиньон	04.10.18	- в лозе
129	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Каберне-совиньон	04.10.18	-
130	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Каберне-совиньон	04.10.18	-
131	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Каберне-совиньон	04.10.18	-
132	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рислинг рейнский	04.10.18	- в лозе
133	Новоаненский р-н.	-	-	04.10.18	-
134	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рислинг рейнский	04.10.18	- в лозе
135	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рислинг рейнский	04.10.18	BN
136	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рислинг рейнский	04.10.18	BN
137	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Совиньон-блан	04.10.18	BN
138	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Совиньон-блан	04.10.18	-
139	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Совиньон-блан	04.10.18	BN, в лозе
140	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Совиньон-блан	04.10.18	BN
141	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Мускат Оттонель	04.10.18	-
142	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Мускат Оттонель	04.10.18	-
143	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Мускат Оттонель	04.10.18	-
144	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Шардоне	04.10.18	BN, в лозе
145	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Шардоне	04.10.18	BN
146	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Шардоне	04.10.18	BN
147	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Шардоне	04.10.18	-
148	Яловенский р-н.	-	Совиньон-блан	08.10.18	-
149	Яловенский р-н.	-	Совиньон-блан	08.10.18	-
150	Яловенский р-н.	-	Совиньон-блан	08.10.18	BN
151	Яловенский р-н.	-	Фетяска нягрэ	08.10.18	-
152	Ниспореньский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	09.10.18	BN
153	Ниспореньский р-н.	Scoala Prof.	Фетяска нягрэ	09.10.18	BN

№	1	2	3	4	5
154	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Фетяска нягрэ	09.10.18	-
155	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Фетяска нягрэ	09.10.18	-
156	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	09.10.18	-
157	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	09.10.18	BN
158	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Рара нягрэ	09.10.18	-
159	Новоаненский р-н.	AgroVitaComer	Рара нягрэ	09.10.18	-
160	Ниспореньский р-н.	Scoala Prof.	Пино-нуар	09.10.18	-
161	Ниспореньский р-н.	Scoala Prof.	Пино-нуар	09.10.18	BN
162	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Совиньон-блан	09.10.18	BN
163	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Совиньон-блан	09.10.18	-
164	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Фетяска регала	09.10.18	BN
165	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Фетяска регала	09.10.18	BN
167	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Шардоне	10.10.18	BN
166	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Мальбек	10.10.18	BN
168	Новоаненский р-н.	AgroVitaComerț	Пино-гри	10.10.18	BN
169	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Сухолиманский белый	11.10.18	BN
170	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Совиньон-блан	11.10.18	BN
171	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Рислинг рейнский	11.10.18	-
172	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Совиньон-блан	11.10.18	BN
173	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Рислинг рейнский	11.10.18	BN
174	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Виорика	11.10.18	BN
175	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Каберне-совиньон	11.10.18	BN
176	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Мускат Оттонель	11.10.18	-
177	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Подвой	11.10.18	-
178	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Мерло	11.10.18	BN
179	Каушанский р-н.	SRL Bogatmos	Мерло	11.10.18	-
180	Страшенский р-н.	квота	Собер 5 ВВ	15.10.18	-
181	Страшенский р-н.	квота	Шардоне	15.10.18	BN
182	Страшенский р-н.	Bostovan	Шардоне	15.10.18	-
183	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Яловенский устойчивый	16.10.18	-
184	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Совиньон-блан	16.10.18	BN
185	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Совиньон-блан	16.10.18	BN
186	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Совиньон-блан	16.10.18	BN
187	Хынчештский р-н.	-	Собер 5ВВ	16.10.18	-
188	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Одесский чёрный	16.10.18	-
189	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Яловенский устойчивый	16.10.18	-
190	Кантемирский р-н.	CAP GLIA	Яловенский устойчивый	16.10.18	-
191	Леовский р-н.	SRL Vinia Denovi	Совиньон-блан	16.10.18	BN
192	Леовский р-н.	SRL Vinia Denovi	Шардоне	16.10.18	BN
193	Леовский р-н.	SRL Vinia Denovi	Шардоне	16.10.18	BN
194	Леовский р-н.	SRL Vinia Denovi	Мерло	16.10.18	-
195	Леовский р-н.	SRL Vinia Denovi	Мерло	16.10.18	BN
196	Леовский р-н.	MOLDNORD	Фетяска регала	17.10.18	-
197	Леовский р-н.	MOLDNORD	Фетяска нягрэ	17.10.18	BN
198	Леовский р-н.	MOLDNORD	Рислинг рейнский	17.10.18	-
199	Леовский р-н.	MOLDNORD	Каберне-совиньон	17.10.18	-
200	Бессарабский р-н.	Sadac AGRO	Пино-гри	20.10.18	BN
201	Штефан-Водский р-н.	Bravo Vine	Мерло	23.10.18	-
202	Штефан-Водский р-н.	Bravo Vine	Рара нягрэ	23.10.18	BN
203	Штефан-Водский р-н.	Purcari	Мерло	23.10.18	BN

№	1	2	3	4	5
204	Штефан-Водский р-н.	Bravo Vine	Совиньон-блан	23.10.18	-
205	Штефан-Водский р-н.	Bravo Vine	Шардоне	23.10.18	BN
206	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Фетяска регала	23.10.18	BN
207	Штефан-Водский р-н.	Bravo Vine	Рислинг рейнский	29.10.18	BN
208	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Мерло	29.10.18	-
209	Теленештский р-н.	Doina vin SRL	Совиньон-блан	30.10.18	-
210	Теленештский р-н.	Doina vin SRL	Шардоне	30.10.18	BN

BN: образец симптомных листьев винограда, с положительной реакцией на специфичные праймеры заболевания Почернение древесины и отрицательный результат на специфичные праймеры заболевания Золотистое пожелт.;

- : отрицательный результат на заболевания FD/BN в симптомных листьях винограда;

BN, в лозе: образец лозы винограда, с положительной реакцией на специфичные праймеры заболевания Почернение древесины и отрицательный результат на специфичные праймеры заболевания Золотистое пожелт.;

- в лозе: отрицательный результат на заболевания FD/BN в лозе винограда;

Таблица 4.2. Журнал отбора растительных образцов для тестирования методом ПЦР на заболевание FD/BN в 2019 г.

№	Местоположение (1)	Компания (2)	Сорт (3)	Дата отбора (4)	Результат ПЦР анализа (5)
1	Криулянский р-н.	Cricova	Пино-нуар	23.09.19	BN
2	Григориопольский р-н.	MIMI	Фетяска албэ	25.09.19	BN
3	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Рара нягрэ	9.10.19	BN
4	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Шардоне	9.10.19	BN
5	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Шардоне	9.10.19	BN
6	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Рислинг рейнский	9.10.19	BN
7	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Шардоне	10.10.19	BN
8	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Каберне-совиньон	10.10.19	BN
9	Страшенский р-н.	Vitis-Cojusna	Копчак	21.07.19	BN
10	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Мерло	10.10.19	BN
11	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Мерло	10.10.19	BN
12	Яловенский р-н.	-	Легенда	24.10.19	-
13	Яловенский р-н.	-	Молдова	24.10.19	BN
14	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	28.10.19	BN
15	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	28.10.19	BN
16	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.10.19	BN
17	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	28.10.19	BN
18	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	28.10.19	BN
19	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.10.19	BN
20	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
21	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Каберне-совиньон	29.10.19	BN
22	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Мерло	29.10.19	BN
23	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Фетяска нягрэ	29.10.19	BN
24	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Мерло	29.10.19	BN
25	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Фетяска албэ	29.10.19	BN
26	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Фетяска албэ	29.10.19	BN
27	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.10.19	BN
28	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Виорика	29.10.19	BN
29	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Фетяска нягрэ	29.10.19	BN
30	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Саперави	29.10.19	BN

№	1	2	3	4	5
31	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
32	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
33	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Каберне-совиньон	29.10.19	BN
34	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Фетяска албэ	29.10.19	BN
35	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
36	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Совиньон-блан	29.10.19	BN
37	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Виорика	29.10.19	BN
38	Штефан-Водский р-н.	Vinăria Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
39	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Совиньон-блан	29.10.19	BN
40	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Совиньон-блан	29.10.19	BN
41	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Совиньон-блан	29.10.19	BN
42	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Мерло	29.10.19	BN
43	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Мерло	29.10.19	BN
44	Бессарабский р-н.	Basarabia Lwin invest	Шардоне	6.11.19	BN
45	Бессарабский р-н.	Basarabia Lwin invest	Мускат Оттонель	6.11.19	BN
46	Бессарабский р-н.	Basarabia Lwin invest	Шардоне	6.11.19	BN
47	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Совиньон-блан	7.11.19	BN
48	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Совиньон-блан	7.11.19	-
49	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Совиньон-блан	7.11.19	BN
50	Бессарабский р-н.	Basarabia Lwin invest	Мускат Оттонель	6.11.19	BN, в лозе
51	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Совиньон-блан	7.11.19	-, в лозе
52	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Совиньон-блан	7.11.19	-, в лозе
53	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Алиготе	7.11.19	-, в лозе
54	Яловенский р-н.	-	Совиньон-блан	25.11.19	-, в лозе
55	Яловенский р-н.	-	Совиньон-блан	25.11.19	-, в лозе
56	Криулянский р-н.	Cricova	Фетяска нягрэ	25.11.19	BN, в лозе
57	Криулянский р-н.	Cricova	Фетяска нягрэ	25.11.19	-, в лозе
58	Криулянский р-н.	Cricova	Фетяска албэ (примесь)	25.11.19	BN, в лозе
59	Криулянский р-н.	Cricova	Фетяска нягрэ	25.11.19	BN, в лозе
60	Криулянский р-н.	Cricova	Каберне-совиньон	23.09.19	BN
61	Григориопольский р-н.	MIMI	Фетяска албэ	25.09.19	BN
62	Григориопольский р-н.	MIMI	Фетяска албэ	25.09.19	BN
63	Григориопольский р-н.	MIMI	Пино-гри	25.09.19	BN
64	Григориопольский р-н.	MIMI	Пино-гри	25.09.19	BN
65	Григориопольский р-н.	MIMI	Саперави	25.09.19	BN
66	Григориопольский р-н.	MIMI	Пино-гри	25.09.19	BN
67	Григориопольский р-н.	MIMI	Фетяска нягрэ	25.09.19	BN
68	Григориопольский р-н.	MIMI	Пино-нуар	25.09.19	BN
69	Страшенский р-н.	Holova-agro	Пино-гри termoterapia	30.09.19	-
70	Страшенский р-н.	Ritandrex	Фетяска нягрэ	30.09.19	-
71	Страшенский р-н.	Ritandrex	Каберне-совиньон	30.09.19	BN
72	Страшенский р-н.	Ritandrex	Алиготе	30.09.19	BN
73	Страшенский р-н.	Dumbrava Ghihol	Бианка	30.09.19	BN
74	Страшенский р-н.	Dumbrava Ghihol	Мускат белый	30.09.19	-
75	Страшенский р-н.	Vitis	Каберне-совиньон	30.09.19	BN
76	Страшенский р-н.	Vitis	Мальбек	30.09.19	BN
77	Страшенский р-н.	Vitis	Мальбек	30.09.19	-
78	Страшенский р-н.	Vitis	Мальбек	30.09.19	-
79	Страшенский р-н.	Vitis	Саперави	30.09.19	BN
80	Страшенский р-н.	Codru ST	Шардоне	30.09.19	BN

№	1	2	3	4	5
81	Страшенский р-н.	Codru ST	Молдова	30.09.19	BN
82	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	1.10.19	BN
84	Ниспореньский р-н.	Maurt	Совиньон-блан	3.10.19	BN
85	Ниспореньский р-н.	Maurt	Фетяска регала	3.10.19	BN
86	Ниспореньский р-н.	Maurt	Пино-гри	3.10.19	BN
87	Ниспореньский р-н.	Maurt	Фетяска регала	3.10.19	BN
88	Ниспореньский р-н.	Maurt	Фетяска регала	3.10.19	BN
89	Ниспореньский р-н.	ŞP	Фетяска нягрэ	3.10.19	BN
90	Ниспореньский р-н.	Maurt	Совиньон-блан	3.10.19	BN
91	Ниспореньский р-н.	Maurt	Пино-гри	3.10.19	BN
92	Ниспореньский р-н.	ŞP	Пино-нуар	3.10.19	BN
93	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Фетяска нягрэ	9.10.19	BN
94	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Каберне-совиньон	9.10.19	BN
95	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Шардоне	9.10.19	BN
96	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Шардоне	10.10.19	BN
97	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Каберне-совиньон	10.10.19	BN
98	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Мерло	10.10.19	BN
99	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Мерло	10.10.19	BN
100	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Шардоне termoter	10.10.19	-
101	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Шардоне контроль	10.10.19	BN
102	Криулянский р-н.	Cricova	Фетяска нягрэ	16.10.19	BN
103	Каушанский р-н.	Salcuța	Каберне-совиньон	28.10.19	BN
104	Каушанский р-н.	Salcuța	Пино-нуар	28.10.19	BN
105	Каушанский р-н.	Salcuța	Мерло	28.10.19	BN
106	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.10.19	BN
107	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.10.19	BN
108	Каушанский р-н.	Salcuța	Шардоне	28.10.19	BN
109	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
110	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
111	Каушанский р-н.	Каушанский р-н.	Шардоне	28.10.19	-
112	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
113	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
114	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
115	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
116	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Мерло	29.10.19	BN
117	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Фетяска нягрэ	29.10.19	BN
118	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Саперави	29.10.19	BN
119	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Мерло	29.10.19	BN
120	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
121	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Фетяска нягрэ	29.10.19	BN
122	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Фетяска нягрэ	29.10.19	BN
123	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Фетяска нягрэ	29.10.19	BN
124	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
125	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
126	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Мерло	29.10.19	BN
127	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Рара нягрэ	29.10.19	BN
128	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Саперави	29.10.19	BN
129	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
130	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Шардоне	29.10.19	BN
131	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Совиньон-блан	29.10.19	BN
132	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Совиньон-блан	29.10.19	BN
133	Штефан-Водский р-н.	Timbrus Purcari	Виорика	29.10.19	BN
134	Бессарабский р-н.	Basarabia LvinInvest	Мускат Оттонель	6.11.19	BN

№	1	2	3	4	5
135	Бессарабский р-н.	Basarabia LvinInvest	Шардоне	6.11.19	BN
136	Бессарабский р-н.	Basarabia LvinInvest	Мускат Оттонель	6.11.19	BN
137	Бессарабский р-н.	Basarabia LvinInvest	Шардоне	6.11.19	BN
138	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Совиньон-блан	7.11.19	BN
139	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Алиготе	7.11.19	BN
140	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Алиготе	7.11.19	BN
141	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Convolvulus arvensis	7.11.19	BN
142	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Cynanchum acutum	7.11.19	BN
143	Каларашский р-н.	Călărași Divin	Amaranthus retroflexus	7.11.19	-
144	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Cynanchum acutum	1.10.19	BN
145	Каушанский р-н.	Cebotari	Convolvulus arvensis	2.10.19	BN
146	Комратский р-н.	Chateau Vartely	Cynanchum acutum	9.10.19	BN
147	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Convolvulus arvensis	9.10.19	BN
148	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Aristolochiaceae	9.10.19	-
149	Чадыр-лунгский р-н.	Tomai-Vinex	Ulmus	10.10.19	BN
150	Чимишлийский р-н.	Clasic vin agro	Barbarea vulgaris	9.10.19	-

BN (всего 128) : образец симптомных листьев винограда, с положительной реакцией на специфичные праймеры заболевания Почернение древесины и отрицательный результат на специфичные праймеры заболевания Золотистое пожелт.;

- **(всего 12)** : отрицательный результат на заболевания FD/BN в симптомных листьях винограда;

BN, в лозе (всего 4) : образец лозы винограда, с положительной реакцией на специфичные праймеры заболевания Почернение древесины и отрицательный результат на специфичные праймеры заболевания Золотистое пожелт.;

- **в лозе (всего 6)** : отрицательный результат на заболевания FD/BN в лозе винограда;

Приложение 5.

Результаты тестирования сортов винограда по районам, методом ПЦР на наличие заболеваний FD/BN с 2018 по 2019 гг.

Таблица 5.1. Результаты тестирования сортов винограда по районам, методом ПЦР на заболевание FD/BN с 2018 по 2019 гг.

№	Район (1)	Сорт (2)	Кол-во проб (3)	Результаты ПЦР теста	
				FD (4)	BN (5)
1	Бессарабский р-н.	Пино-гри	1	0	1
		Мускат Оттонель	4	0	4
		Шардоне	4	0	4
2	Григориопольский р-н.	Саперави	6	0	3
		Фетяска нягрэ	6	0	4
		Фетяска албэ	8	0	5
		Фетяска нягрэ	3	0	2
		Пино-нуар	3	0	1
		Пино-гри	3	0	3
		3	Дубоссарский р-н.	Молдова	1
4	Кагульский р-н.	Мерло	5	0	0
		Траминер	5	0	1
		Шардоне	5	0	1
		Рара нягрэ	5	0	2
		Фетяска нягрэ	5	0	2
5	Каларашский р-н.	Совиньон-блан	6	0	3
		Алиготе	3	0	2
6	Кантемирский р-н.	Яловенский устойчивый	3	0	0
		Совиньон-блан	3	0	3
		Одесский черный	1	0	0
7	Каушанский р-н.	Шардоне	12	0	10
		Каберне-совиньон	8	0	6
		Пино-нуар	3	0	3
		Сухолиманский белый	1	0	1
		Совиньон-блан	2	0	2
		Рислинг рейнский	2	0	1
		Виорика	1	0	1
		Мускат Оттонель	1	0	0
		Подвой	1	0	0
		Мерло	6	0	4
8	Комратский р-н.	Сира	4	0	0
		Рара нягрэ	6	0	2
		Фетяска нягрэ	7	0	3
		Мальбек	5	0	1
9	Криулянский р-н.	Пино-нуар	11	0	5
		Фетяска нягрэ	4	0	3
		Мерло	5	0	5
		Каберне-совиньон	6	0	3
		Фетяска албэ	1	0	1

№	1	2	3	4	5
10	Леовский р-н.	Мерло	7	0	2
		Фетяска нягрэ	6	0	1
		Совиньон-блан	1	0	1
		Шардоне	2	0	2
11	Ниспореньский р-н.	Совиньон-блан	2	0	2
		Фетяска регала	3	0	3
		Фетяска нягрэ	5	0	3
		Пино-гри	2	0	2
		Пино-нуар	3	0	2
12	Новоаненский р-н.	Пино-нуар	4	0	0
		Рара нягрэ	8	0	4
		Каберне-совиньон	4	0	0
		Рислинг рейнский	4	0	2
		Брошенный вин-ик	1	0	0
		Совиньон-блан	6	0	4
		Мускат Оттонель	3	0	0
		Шардоне	5	0	4
		Фетяска регала	2	0	2
		Мальбек	1	0	1
		Пино-гри	1	0	1
		13	Страшенский р-н.	Бианка	1
Саперави	1			0	1
Каберне-совиньон	2			0	2
Памяти Негруля	1			0	0
Копчак	1			0	1
Молдова	4			0	2
Алиготе	4			0	3
Пино-гри	1			0	0
Фетяска нягрэ	1			0	0
Кубань	1			0	1
Подвой	1			0	0
Мускат белый	1			0	0
Шардоне	3			0	2
Мальбек	3			0	1
14	Теленештский р-н.	Совиньон-блан	1	0	0
		Шардоне	1	0	1
15	Чадыр-лунгский р-н.	Мерло	5	0	4
		Шардоне	3	0	2
		Фетяска регала	1	0	0
		Фетяска нягрэ	1	0	1
		Рислинг рейнский	1	0	0
		Каберне-совиньон	3	0	2
16	Чимишлийский р-н.	Шардоне	3	0	3
		Рислинг рейнский	2	0	2
		Каберне-совиньон	1	0	1

№	1	2	3	4	5
17	Штефан-Водский р-н.	Мерло	9	0	8
		Рара нягрэ	8	0	8
		Совиньон-блан	8	0	7
		Шардоне	11	0	10
		Рислинг рейнский	1	0	1
		Каберне-совиньон	2	0	2
		Фетяска албэ	4	0	4
		Фетяска нягрэ	6	0	6
		Виорика	3	0	3
		Саперави	3	0	3
18	Яловенский р-н.	Кодрянка	1	0	1
		Совиньон-блан	5	0	1
		Фетяска нягрэ	3	0	0
		Легенда	1	0	0
		Молдова	1	0	1
19	Унгенский р-н.	Фетяска нягрэ	1	0	1
Всего:			350	0	215

Приложение 6.

Отобранные пробы цикадок для тестирования на наличие в них фитоплазмы FD/BN



Рисунок 6.1. *Reptalus quinquecostatus* (Dufour, 1833)



Рисунок 6.2. *Anaceratagallia ribauti* (Ossiannilsson, 1938)



Рисунок 6.3. *Austroagallia torrida* (Evans, 1937)



Рисунок 6.4. *Philaenus spumarius* (Linnaeus, 1758)



Рисунок 6.5. *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum, 1858)



Рисунок 6.6. *Psammotettix alienus* (Dahlbom, 1850)



Рисунок 6.7. *Arboridia ribauti* (Ossiannilsson, 1937)



Рисунок 6.8. *Javesella pellucida* (Fabricius, 1794) - слева мужская особь, справа женская



Рисунок 6.9. *Dictyophora europea* (Linnaeus, 1767)



Рисунок 6.10. *Neoaliturus fenestratus* (Herrich-Schaffer, 1834)



Рисунок 6.11. *Adarrus multinotatus* (Boheman, 1847)

Приложение 7.

Отобранные пробы травянистых, кустарниковых и древесных растений для тестирования на наличие в них фитоплазмы FD/BN



Рисунок 7.1. *Ulmus L.* - Вяз



Рисунок 7.2. *Synanchium acutum L.* - Цинанхум острый



Рисунок 7.3. *Amaránthus retrofléxus* L. - Амарант запрокинутый



Рисунок 7.4. *Sónchus oleráceus* L. - Осот огородный

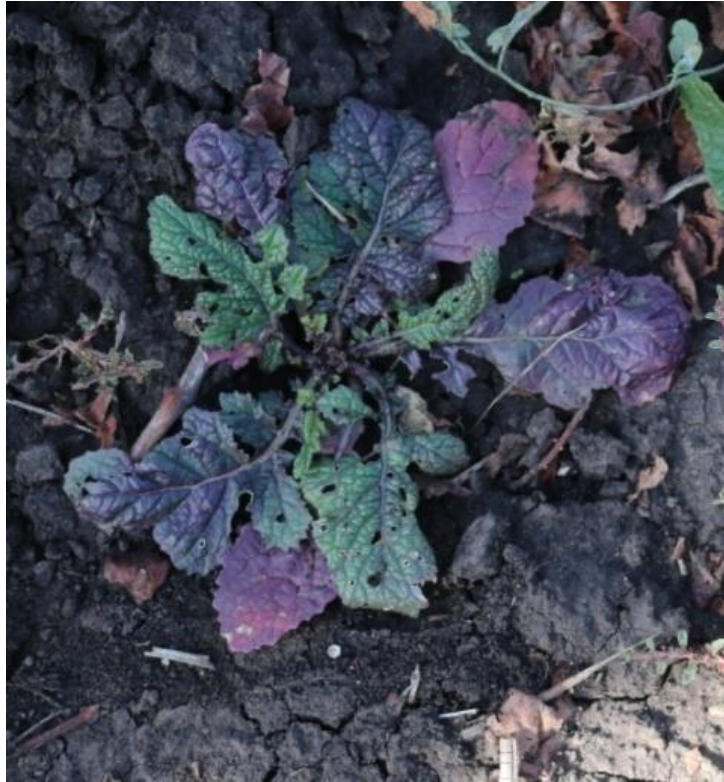


Рисунок 7.5. *Barbaréa vulgáris* L. - Сурепка обыкновенная



Рисунок 7.6. *Xánthium strumárium* L. - Дурнишник обыкновенный



Рисунок 7.7. *Datura stramonium* L. - Дурман обыкновенный

Приложение 8.

Вычисление статистических характеристик выборки для изучения качественных признаков

Вычисления сводных характеристик выборки доли поражённых (p) и здоровых (q) растений.

Рассчитываем по формуле:

$$p = \frac{n1}{N}$$

$n1$ – поражённые растения. N – здоровые растения.

$$q = 1 - p = 1 - 0,70 = 0,30 \text{ (или 30\%).}$$

Ошибку выборочной доли рассчитываем по формуле:

$$Sp = \sqrt{\frac{pq}{N}}$$
$$Sp = \sqrt{\frac{pq}{N}} = \sqrt{\frac{0,70 \times 0,30}{50}} = \sqrt{0,0042} = 0,06$$

Далее рассчитываем доверительный 95% - ный интервал генеральной доли поражённых растений в совокупности по формуле:

$$p \pm t Sp$$

t - теоретическое значение критерия Стьюдента. (В нашем случае равно 1,994).

$$p \pm t Sp = 0,70 \pm 1,994 \times 0,06 = 0,119 \text{ (0,580 } \div \text{ 0,819 или 58\% } \div \text{ 81,9\%)}$$

Таким образом, генеральная доля растений, поражённых фитоплазмозом для белых сортов винограда в изучаемой совокупности с 95% - ным уровнем вероятности, составляет 58 – 81,9%, ошибка репрезентативности $Sp = 6\%$.

По аналогичной схеме проводили вычисления по остальным значениям заражённости фитоплазмозом виноградных растений.

Приложение 9. Данные метеостанций по районам

	Место	Индикаторы	Средне-многолет.	Среднее годовое кол-во				Сравни-тельные данные
				2017	2018	2019	2020	
1	Калараш-ский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,5	9,3	9,1	11,2	11,7	+0,8
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1380,0	1543	1779	1740	1755	+324
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	509,0	466,8	298,6	374,4	409,3	-121,7
2	АТО Гагаузия, г. Комрат	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,9	-	10,6	12,4	12,7	+2,0
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1475	1672	1966	1941	1926	+404
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	479,0	435,4	426,2	373,0	480,4	-50,2
3	Леовский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,7	-	10,4	12,3	12,7	+2,1
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1420,0	-	1741	1844	1890	+405
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	514,0	-	269,0	338,2	298,6	-212
4	Штефан-Водский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,6	-	11,5	13,0	13,0	+2,9
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1429,0	1782	2070	2083	2005	+557
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	526,0	375,8	304,4	351,0	327,6	-186,3
5	Кантемир-ский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	10,0	11,1	11,2	13,1	13,6	+2,2
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1454,0	1847	2087	2105	-	+559
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	521,0	592,2	310,4	446,8	-	-71,2
6	Унгенский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,0	-	9,2	11,6	11,8	+1,8
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1287,0	1498	1762	1725	1877	+428,5
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	613,0	337,6	462,0	488,0	424,7	-184,9
7	Ниспорен-ский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	9,0	-	9,2	11,6	12,5	+2,1
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1287,0	-	1709	1631	1877	+452
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	613,0	-	326,2	328,0	432,8	-250,6
8	Кагуль-ский р-н	Среднегод. темп. воздуха, °С	10,0	11,4	11,5	13,3	13,4	+2,4
		Сумма эффектив. темп. за год, °С	1454,0	1665	1819	2034	2069	+442,7
		Кол. атмосферных осадков, за год, мм	521,0	416,4	430,0	409,4	429,8	-99,6
Среднегод. темп. Воздуха по р-н, °С			9,5					+2,0
Сумма эффект. темп. за год, по р-н, °С			1398,2					+446,5
Среднег. кол. атмосферных осадков, за год, по р-н, мм			537,0					-147

ПРИЛОЖЕНИЕ 10. Акт внедрения результатов работы в ИПИСВиПТ, выделение инициальных растений винограда сортов: Copceac, Luminița, Muscat de Ialoveni, Alb de Onițcani, Tudor

АКТ
de evidențiere a butucilor de viță de vie inițiale
de la 22 septembrie an. 2019

Soiuri: **Copceac, Luminița, Muscat de Ialoveni, Alb de Onițcani, Tudor**
Gospodăria: Stațiunea "VIERUL", Sectorul de selecție.
Adresa: Republica Moldova, mun. Chișinău, or. Codru, str. Vierul. 59
Instituție: IP INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI
TEHNOLOGII ALIMENTARE, Republica Moldova.

Virologii-fitopatologi Bondarciuc Victor și Haustov Evghenii, amelioratorul-ampelograf Cazac Fiodor, au examinat sectorul de selecție plantat în 1982 și au identificat butucii de viță de vie, soiuri: Copceac, Muscat de Ialoveni, Luminița, Alb de Onițcani, Tudor, fără simptome de boli fitoplasmatică, virale și cancer bacterian, cu calități valoroase a strugurilor, ca plante inițiale pentru testarea ulterioară:

№	Instituție	Secție	Soi	Parcela	Rândul, nr.	Interval	Butuc, nr.	Simbol
1	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	1	I-18-1
2	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	2	I-18-2
3	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	5	I-18-5
4	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	6	I-18-6
5	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	8	I-18-8
6	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	9	I-18-9
7	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Copceac	T 1	18	-	15	I-18-15
8	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Muscat de Ialoveni	T 1	11	-	6	II-11-6
9	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Muscat de Ialoveni	T 1	11	-	22	II-11-22
10	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Muscat de Ialoveni	T 1	11	-	25	II-11-25
11	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Luminița	T 2	2	-	11	T 2-2-11
12	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Luminița	T 2	3	-	40	T 2-3-40
13	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Luminița	T 2	3	-	5	T 2-3-5
14	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Luminița	T 2	2	-	38	T 2-2-38
15	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Alb de Onițcani	T 1	9	1	4	I-9-1-4
16	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Alb de Onițcani	T 1	11	1	5	I-11-1-5
17	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Tudor	I	56	2	6	I-56-2-6
18	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Tudor	I	56	3	6	I-56-3-6
19	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Tudor	I	56	3	2	I-56-3-2
20	Staț."Vierul"	Sectorul de selecție	Tudor	I	56	5	6	I-56-5-6

Semnăturile:

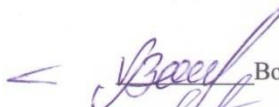


Șef. Lab. Virusologie și Control Fitosanitar,

Doctor în științe agricole

Cercetător științific Lab. Virusologie și Control Fitosanitar

Șef. Lab. Selecție, Doctor în științe agricole,

conferențiar cercetător

 Bondarciuc Victor
 Haustov Evghenii
 Cazac Fiodor

ПРИЛОЖЕНИЕ 11. Акт внедрения результатов работы в НПСВиПТ, выделение инициальных растений винограда сортов: Fetească regală, Merlot, Sauvignon blanc

ACT

de evidențiere a butucilor de viță de vie inițiale
de la 23 septembrie an. 2019

Soiuri: **Fetească regală, Merlot, Sauvignon blanc**

Gospodăria: „TerraVitis” SRL

Adresa: Republica Moldova, r-ul Cahul, s. Spicoasa


Virologii-fitopatologi Bondarciuc Victor și Haustov Evghenii, amelioratorul-ampelograf Cazac Fiodor, au examinat plantații viticole roditoare și au identificat butucii de viță de vie: din raionul Cahul, satul Spicoasa, soiuri Fetească regală, Merlot și Sauvignon blanc, fără simptome de boli fitoplasmatică, virale și cancer bacterian, cu calități valoroase a strugurilor, ca plante inițiale pentru testarea ulterioară:

No	Gospodăria	Soi	Parcela	Rândul, nr.	Interval	Butuc, nr.	Simbol
1	„TerraVitis” SRL	Fetească regală	II	10	2	1	II-10-2-1
2	„TerraVitis” SRL	Fetească regală	II	7	10	1	II-7-10-1
3	„TerraVitis” SRL	Fetească regală	II	10	13	1	II-10-13-1
4	„TerraVitis” SRL	Merlot	I	14	4	1	I-14-4-1
5	„TerraVitis” SRL	Merlot	I	19	14	1	I-19-14-1
6	„TerraVitis” SRL	Merlot	I	20	2	1	I-20-2-1
7	„TerraVitis” SRL	Sauvignon blanc	II	14	4	1	II-14-4-1
8	„TerraVitis” SRL	Sauvignon blanc	II	10	9	1	II-10-9-1

Semnăturile:

Șef. Lab. Virusologie și Control Fitosanitar,

Doctor în științe agricole


 Bondarciuc Victor

Cercetător științific Lab. Virusologie și Control Fitosanitar

 Haustov Evghenii

Șef. Lab. Selecție, Doctor în științe agricole,

conferențiar cercetător

 Cazac Fiodor

**ПРИЛОЖЕНИЕ 12. Акт внедрения результатов работы в НПСВиПТ,
выделение инициальных растений винограда сорта: Saperavi**

ACT

de evidențiere a butucilor de viță de vie inițiale
de la 23 septembrie an. 2019

Soiuri: **Saperavi**

Gospodăria: ÎM „Vinăria Bostavan” SRL

Adresa: Republica Moldova, r-ul Cahul, s. Alexandru Ioan Cuza

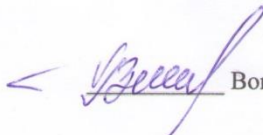
Virologii-fitopatologi Bondarciuc Victor și Haustov Evghenii, amelioratorul-ampelograf Cazac Fiodor, au examinat plantații viticole roditoare și au identificat butucii de viță de vie: din raionul Cahul, satul Alexandru Ioan Cuza, soiul Saperavi, fără simptome de boli fitoplasmatică, virale și cancer bacterian, cu calități valoroase a strugurilor, ca plante inițiale pentru testarea ulterioară:

No	Gospodăria	Soi	Parcela	Rândul, nr.	Interval	Butuc, nr.	Simbol
1	„Vinăria Bostavan” SRL	Saperavi	I	10	2	3	I-10-2-3
2	„Vinăria Bostavan” SRL	Saperavi	I	6	1	4	I-6-1-4
3	„Vinăria Bostavan” SRL	Saperavi	I	13	1	4	I-13-1-4


Semnăturile:

Șef. Lab. Virusologie și Control Fitosanitar,

Doctor în științe agricole

 Bondarciuc Victor

Cercetător științific Lab. Virusologie și Control Fitosanitar

 Haustov Evghenii

Șef. Lab. Selecție, Doctor în științe agricole,

conferențiar cercetător

 Cazac Fiodor

ПРИЛОЖЕНИЕ 13. Акт внедрения результатов работы в SA Combinatul de Vinuri „Cricova”, оценка состояния молодого виноградника

А С Т
de evaluare a stării plantației viticole tinere, gestionate de SA Combinatul de Vinuri „Cricova” (or. Cricova, mun. Chișinău)

10 octombrie 2019

La solicitarea conducerii SA Combinatul de Vinuri „Cricova” nr. 01-24/169 din 03.10.2019, Grupul de lucru în componența dlor Valeriu Cebotari – consultant principal al Serviciului politici și reglementări în domeniul produselor sectorului vitivinicol și băuturilor, Ministerul Agriculturii, Dezvoltării Regionale și Mediului, Victor Bondarciuc, Vitalie Cebanu și Evghenii Haustov – șefi de laboratoare în domeniul virusologiei și protecției plantelor și respectiv colaborator ai Institutului Științifico - Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, în prezența reprezentanților Combinatului, a efectuat examinarea stării plantației viticole tinere, în al treilea an de vegetație, gestionată de Firma Agricolă „Cricova” a întreprinderii nominalizate, constatând următoarele:

- plantația viticolă, supusă evaluării, cu suprafața utilă de 6,92 ha, a fost înființată în primăvara anului 2017, cu soiul de struguri pentru vin Fetească neagră, cu schema de plantare 2,5 x 0,9 m;

- pentru înființarea plantației viticole a fost folosit material săditor de origine autohtonă de categorie „Obișnuit”, procurat de la pepiniera „Elvitis-Com”;

- gradul de prindere a materialului săditor a fost de cca 96% și dezvoltarea butucilor tineri în primii ani de vegetației a fost bună;

- din informația oferită de reprezentanții întreprinderii, în anul doi de vegetație, la unii butuci au apărut simptome de afectare de boala fitoplasmolică „îngălbenirea aurie”, iar în anul trei afectarea s-a extins;

- în cadrul evaluării, au fost examinați selectiv cinci rânduri de butuci din prima parcelă a plantației, amplasată din partea viei vechi de soiul Rkașiteli - 20, 40, 60,80 și 100 (enumerate de la sectorul locativ spre taseul de acces către Combinat);

- din numărul total de butuci examinați – 720 (144x5), simptome a bolii nominalizate au fost depistate la 156 butuci, cea ce constituie cca 22 la sută;

- de asemenea, în cadrul evaluării plantației viticole au fost depistați și vectorii ai bolilor „îngălbenirea aurie” sau „lenmul negru”.

Reieșind din situația creată, Grupul de lucru consideră că starea fitosanitară a plantații viticole evaluate urmează a fi monitorizată în continuare de către colaboratorii Laboratorului de virologie și conrol fitosanitar al Institutului Științifico - Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare și recomandă următoarele:

1) marcarea, până la căderea frunzelor, a butucilor afectați din carul rîndurilor examinate și evaluarea stării acestora după iernare și în perioada de vegetație a anului următor;

2) prelevarea, în modul stabilit, de la butucii afectați, a probelor de coarde anuale pentru testarea acestora la prezența fitoplasmelor bolilor „îngălbenirea aurie” sau „lemnul negru”;

3) determinarea concretă a bolii fitoplasmotice și elaborarea unui sistem de măsuri privind neadmiterea răspîndirii acesteia;

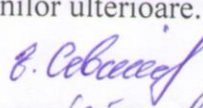



4) efectuarea tăierii butucilor în perioada de primăvară, prin aplicarea tăerii speciale a butucilor afectați, în funcție de gradul de afectare a acestora. În cazul afectării parțiale a coardelor (uscate de culoare neagră sau cenușie), în dependență de amplasarea lor pe elementele verigii de rod din anul precedent, acestea vor fi înlăturate, iar în cazul afectării totale a coardelor – se va aplica tăierea de restabilire prin metoda tăierea la „căpățina neagră”;

5) în perioada de vegetație a anului viitor vor fi aplicate tratamente contra vectorilor bolii fitoplasmomice concrete („îngălbenirea aurie” sau „lemnul negru”) și alte măsuri conform sistemului elaborat;

6) plantația va fi întreținută în stare agrotehnică și fitosanitară corespunzătoare cu aplicarea fertilizării suplimentare a butucilor;

7) în perioada lunilor august – septembrie 2020 va fi efectuată o evaluare suplimentară a stării fitosanitare a plantației viticole inspectate, cu elaborarea concluziilor și dereminarea acțiunilor ulterioare.

Grupul de lucru:

 **V. Cebotari**
 **V. Bondarciuc**
 **V. Cebanu**
 **Ev. Haustov**

ПРИЛОЖЕНИЕ 14. Акт внедрения результатов работы в SRL “DUMBRAVA GIHOL”, отбор и тестирование саженцев винограда

INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII
ALIMENTARE
LABORATORUL VIRUSOLOGIE ȘI CONTROL FITOSANITAR

MD-2070 mun. Chișinău, str. Vierul 59, tel. 28-50-19
tel/fax 28-50-32,

ACTUL nr.05

de testare a viței de vie la prezența virusurilor

Eliberat agentului economic **“DUMBRAVA GIHOL” SRL, MD4829R, Moldova, r-nul Strășeni, sat. Sireț**. Pentru testare au fost prelevate probele în forma *de vițe altoite și înrădăcinate de un an roadei an.2019 de pe data 22 noiembrie 2019* în conformitate cu “Regulamentul tehnic privind producerea, testarea, certificarea și comercializarea materialului de înmulțire și săditor viticol. Chișinău-2005”

Informația despre originea mostrelor examinate:

Soiul și clona	Categorია biologică	Cantitatea (buc.)	Numărul de mostre (buc.)		
			testate	infectate cu fitoplasmă	
				Flavescence doree	Bois Noir
Bianca / BxR Cober 5BB cl.114	obișnuit	30000	1	0	1
Muscat alb/ BxR SO4 cl.5	obișnuit	2100	2	0	0
Total		32100	3		1

Mostrele au fost prezentate în baza procesului-verbal *Nr.05 din 22 noiembrie 2019*

Numărul de mostre puse la dispoziție pentru testare: *3,0 buc.*

Începutul testărilor *01 octombrie 2019*

Sfârșitul testărilor *06 octombrie 2019*

Metoda de testare *Nested PCR - test*

Rezultatele examinării

În rezultatul examinării s-a constatat că soiul Bianca / BxR Cober 5BB cl.114 sînt afectat cu fitoplazma BN (registru Nr 3 an.2019, test: 01-06 octombrie 2019). Fitoplazma viței de vie Flavescence doree, nu au fost evidențiată.

Șef.lab V și CF, doctor în științe agricole

Cercetător științific lab. V și CF

20 decembrie 2019



V. Bondarciuc.

E. Haustov

ПРИЛОЖЕНИЕ 15. Акт внедрения результатов работы в SRL “HOLOVA-AGRO”, отбор и тестирование саженцев винограда

INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI
TEHNOLOGII ALIMENTARE
LABORATORUL VIRUSOLOGIE, ȘI CONTROL FITOSANITAR

MD-2070 mun. Chișinău, str. Vierul 59, tel. 28-50-19
tel/fax 28-50-32

ACTUL nr. 9

de testare a vițelor altoite la prezența virusurilor

Eliberat agentului economic “HOLOVA-AGRO” SRL, sat. Cojușna r-l Strășeni Republica Moldova. Pentru testare au fost prelevate probele în forma de *vițe altoite și înrădăcinate de un an roadei an. 2018 pe data de 05 februarie 2019* în conformitate cu Reglementări tehnice ”Producerea, certificarea, controlul și comercializarea materialului de înmulțire și săditor viticol” Chișinău, 2009

Informația despre originea mostrelor examinate:

Soiul și clona	Categorია biologică	Cantitatea, buc.	Numărul de mostre (buc.)		
			testate	infectate cu fitoplasmă	
				Flavescence doree	Bois Noir
Aligote cl. 264 / BxR Kober 5BB cl.114	Standard	28000	2	0	1
Moldova / BxR SO4 cl.762	Obișnuit	90000	1	0	0
Pameati Negrulea / BxR SO4 cl.762	Obișnuit	15000	1	0	0
Cubani / BxR SO4 cl.762	Obișnuit	20000	1	0	1
TOTAL		153000	5		2

Mostrele au fost prezentate în baza procesului-verbal *Nr 9 din 05 februarie 2019*

Numărul de mostre puse la dispoziție pentru testare: 5 buc.

Începutul testărilor 19 februarie 2019

Sfârșitul testărilor 27 februarie 2019

Metoda de testare Nested PCR – test

Rezultatele examinării

În rezultatul examinării s-a constatat că soiuri Aligote cl. 264 / BxR Kober 5BB cl.114 și Cubani / BxR SO4 cl.762 sunt afectate cu fitoplasma Bois Noir (registrul Nr 3 an.2019, test: 01-14 octombrie 2019). Fitoplasma viței de vie Flavescence doree, nu au fost evidențiată.



Șef lab. V. și C.F., doctor în științe agricole

Cercetător științific lab. V. și C.F.

V. Bondarciuc
V. Bondarciuc
E. Haustov
E. Haustov

20 aprilie 2019

ПРИЛОЖЕНИЕ 16. Акт внедрения результатов работы в SRL "HOLOVA-AGRO", фитосанитарный контроль виноградной школки

ACTUL

de efectuarea a controlului fitosanitar în școala de vițe
Nr 09 din 5 octombrie 2018

Prezentul act confirmă că 21 iunie 2019 și 30 septembrie 2019 în gospodăria "HOLOVA AGRO" SRL sat. Cojușna r-1 Strășeni s-a efectuat controlul fitosanitar la școala de vițe în rezultatul căruia s-a stabilit:

Soiul / Clona	Suprafața ha.	Viță visual bolnave			Notă
		De virose	Cancer bacterian	Fitoplasmoze	
Aligote cl. 264 / BxR Kober 5BB cl. Kr2	2,8	-	-	2	*
Chardonnay cl. SMA108 / BxR Kober 5BB cl. Kr2	3,6	-	-	-	*
Merlot cl. R3 / BxR Kober 5BB cl. Kr2	0,7	-	-	-	
Pinot blanc cl. VCR5 / BxR Kober 5BB cl. Kr2	0,6	-	-	-	
Sauvignon cl / BxR Kober 5BB cl. 114	0,95	-	-	-	
Moldova / BxR SO4 cl. 762	9,0	-	-	1	
Iupiter/BxR Kober 5BB cl. 114	0,3	-	-	-	*
Pameati Negrulea / BxR SO4 cl. 762	1,5	-	-	1	*
Cubani / BxR SO4 cl. 762	2,0	-	-	1	*
Total	21,45				

*Simptome asemănătoare fitoplasmoze cauzate de deteriorarea lăstarilor tineri de cicada gheboasă (*Ceresa bubalus F.*).

Semnăturile:

Reprezentantul gospodăriei: _____

C. Boțan

Responsabil de control fitosanitar, Șef. lab. V și CF, doctor în științe agricole

V. Bondarcu

cercetător științific lab. V și CF

E. Haustov

**ПРИЛОЖЕНИЕ 17. Акт внедрения результатов работы в SRL "RITANDREX",
отбор и тестирование саженцев винограда**

INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII
ALIMENTARE
LABORATORUL VIRUSOLOGIE ȘI CONTROL FITOSANITAR

MD-2070 mun. Chișinău, str. Vierul 59, tel. 28-50-19
tel/fax 28-50-32

ACTUL nr. 2
de testare a vițelor altoite la prezența virusurilor

Eliberat agentului economic "RITANDREX" SRL, or. Strășeni.

Pentru testare au fost prelevate probele în forma *vițe altoite și înrădăcinate de un an roadei an. 2017 de pe data 27.09.2018* în conformitate cu Reglementări tehnice "Producerea, certificarea, controlul și comercializarea materialului de înmulțire și săditor viticol" Chișinău, 2009. Informația despre originea mostrelor examinate:

Soiul și clona	Categorია biologică	Cantitatea (buc.)	Numărul de mostre (buc.)		
			testate	infectate cu fitoplasmă	
				Flavescence doree	Bois Noir
Aligote cl.263 / B x R Cober 5BB cl. 114	Standard	9000	2	0	1
Total		9000	2		1

Mostrele au fost prezentate în baza procesului-verbal *Nr.2 din 08 februarie 2018*

Numărul de mostre puse la dispoziție pentru testare: *2 buc.*

Începutul testărilor *05 aprilie 2019*

Sfârșitul testărilor *14 aprilie 2019*

Metoda de testare *Nested PCR – test*

Rezultatele examinării

În rezultatul examinării s-a constatat că soiul Aligote cl.263 / B x R Cober 5BB cl. 114 sînt afectat cu fitoplasma Bois Noir (registrul Nr 2 an.2018, test: 05-14 aprilie 2019): Fitoplasma viței de vie Flavescence doree, nu au fost evidențiată.

Șef laborator V și CF, doctor în științe agricole

Cercetător științific lab. V și CF

22 februarie 2020



V. Bondarciuc

E. Haustov

ПРИЛОЖЕНИЕ 18. Акт внедрения результатов работы в SRL "VIȚIS
COJUȘNA", фитосанитарный контроль виноградной школки

INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE
LABORATORUL VIRUSOLOGIE, MICROBIOLOGIE ȘI CONTROL FITOSANITAR
 MD-2070 mun. Chișinău, str. Vierul 59, tel. 28-50-19
 tel/fax 28-50-32, e-mail: planttest @moldova.md

ACTUL

de efectuarea a controlului fitosanitar în plantații mamă de viță de vie

Nr 5 din 30 octombrie 2019

Prezentul act confirmă că 24 iunie și 25 octombrie 2019 în gospodăria „VIȚIS COJUȘNA” SRL, Republica Moldova, or. Chișinău, str. Calea Basarabiei, 18, s-a efectuat controlul fitosanitar al plantației mamă de viță de vie de categorie biologică “OBIȘNUIT” în rezultatul căruia s-a stabilit:

Soiul / Clona	Suprafața ha	Viță visual bolnave		Fitoplasmoze	Notă
		De virose	Cancer bacterian		
Saperavi / B x R SO4	1,89	-	-	1	
Viorica / B x R SO4	0,96	-	-	-	*
Feteasca neagră / B x R SO4	1,7	-	-	-	*
Rara neagră / B x R SO4	0,63	-	-	-	
Cabernet Franc / R x R 101-14	2,84	-	-	-	*
Cabernet Franc / B x R SO4	1,18	-	-	-	
Cabernet Sauvignon / BxR Kober 5BB	2,15	-	-	1	*
Malbec / BxR SO4	0,54	-	-	3	
Bastardo Magaracischii / BxR Kober 5BB	1,2	-	-	-	
Moldova / BxR SO4	0,55	-	-	-	*
total	13,09				

*Simptome asemănătoare fitoplasmoze cauzate de deteriorarea lăstarilor tineri de cicada gheboasă (*Ceresa bubalus F.*).

Semnăturile:

Reprezentantul gospodăriei: _____

Responsabil de control fitosanitar, Șef.Lab. V și CF, doctor în științe agricole

 cercetător științific lab. V și CF

Gh. Gaberi
 N. Bondarcic
 E. Haustov

ПРИЛОЖЕНИЕ 19. Акт внедрения результатов работы в SRL “VIȚIS COJUȘNA”, отбор и тестирование саженцев винограда

INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII
ALIMENTARE
LABORATORUL VIRUSOLOGIE ȘI CONTROL FITOSANITAR

MD-2070 mun. Chișinău, str. Vierul 59, tel. 28-50-19
tel/fax 28-50-32, e-mail: planttest@moldova.md

ACTUL nr.4
de testare a vițelor altoite la prezența virusurilor

Eliberat agentului economic „*VIȚIS COJUȘNA*” SRL, Republica Moldova, or. Chișinău, str. Calea Basarabiei, 18. Pentru testare au fost prelevate probele în forma de vițe altoite și înrădăcinate de un an roadei an. 2018 pe data de 05.02.19 în conformitate cu “Regulamentul tehnic privind producerea, testarea, certificarea și comercializarea materialului de înmulțire și săditor viticol. Chișinău-2005”

Informația despre originea mostrelor examinate:

Soiul și clona	Categorია biologică	Lotul (buc)	Numărul de mostre (buc.)		
			testate	infectate cu fitoplasmă	
				Flavescence doree	Bois Noir
<i>Saperavi / B x R SO4</i>	<i>obișnuit</i>	18900	1	0	0
<i>Cabernet Sauvignon / BxR Kober 5BB</i>	<i>obișnuit</i>	21500	1	0	1
<i>Malbec / BxR SO4</i>	<i>obișnuit</i>	5400	3	0	1
<i>Total</i>		45800	5		2

Mostrele au fost prezentate în baza procesului-verbal *Nr. 4 din 05 februarie 2019*
Numărul de mostre puse la dispoziție pentru testare: 5,0 buc.
Începutul testărilor: *1 octombrie 2019*
Sfârșitul testărilor: *14 octombrie 2019*
Metoda de testare: Nested PCR – test

Rezultatele examinării

În rezultatul examinării s-a constatat că soiuri Cabernet Sauvignon / BxR Kober 5BB și Malbec / BxR SO4 sunt afectate cu fitoplasma Bois Noir (registrul Nr 3 an.2019, test: 01-14 octombrie 2019). Fitoplasma viței de vie Flavescence doree, nu au fost evidențiată.



Șef laborator V și CF, doctor în științe agricole

Cercetător științific lab. V și CF

22 februarie 2020

V. Bondarciuc
V. Bondarciuc

E. Haustov
E. Haustov

ПРИЛОЖЕНИЕ 20. Акт внедрения результатов работы в ИПСВиПТ

IP IȘPHTA
din 22.06.2023

Aprob: Director interimar

23.06.2023

V. Adajuc



Actul de implementare a rezultatelor lucrării:

«Bolile viței de vie de etiologie fitoplasmică».


Act, întocmit pentru punerea în aplicare a rezultatelor lucrării: «Bolile viței de vie de etiologie fitoplasmică» desfășurată în perioada 2018-2021 de către **Evghenii Haustov**, cercetător științific al laboratorului de virusologie și control fitosanitar al viței de vie, Instituția Publică Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, în scopul testării viței de vie altoi / portaltoi și pentru a produce în continuare material viticol liber de boli cronice.

Aplicarea rezultatelor lucrării lui Evghenii Haustov a făcut posibilă efectuarea unei selecții vizuale a viței de vie lipsite de boli fitoplasmice și testarea soiurilor perspective pentru prezența agenților patogeni ai bolilor Îngălbenirea aurie și Înnegrirea lemnului. Ca urmare, au fost selectate clonele și soiurile de viță de vie: **Copceac, Saperavi, Merlot, Sauvignon blanc, Tudor, Muscat de Ialoveni, Alb de Onițcani, Luminița, Feteasca regala**. Plantele inițiale au fost înmulțite și plantate în plantațiile mamă din categorii „PREBAZA” și „BAZĂ” a Institutului.

Șeful Laboratorului de Virusologie și
Control Fitosanitar al viței de vie, IȘPHTA


V. Bondarciuc

Executor: Cercetător științific


E. Haustov

ДЕКЛАРАЦИЯ ОБ ОТВЕТСТВЕННОСТИ

Нижеподписавшийся, заявляю под личную ответственность, что материалы, представленные в докторской диссертации, являются результатом личных научных исследований и разработок. Осознаю, что в противном случае, буду нести ответственность в соответствии с действующим законодательством.

Хаустов Евгений

Подпись

10.03.2023

Curriculum vitae

Nume / Prenume: Haustov Evghenii

Cetățenie: Republica Moldova

Data nașterii: 13.05.1991



Locul de muncă vizat: Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare / laboratorul virusologie și control fitosanitar al viței de vie (02/06/2014 – prezent)

Carierea profesională:

Funcția: Cercetător științific stagiar 02/06/2014 – 01/01/2018

Cercetător științific 02/01/2018 – prezent

Activități: Testarea anuală pentru prezența agenților patogeni virali (testul ELISA). Testarea anuală pentru prezența bolile viței de vie de etiologie fitoplasmică (testul Nested PCR). Testarea cancer bacterian (*Agrobacterium*) prin metoda PCR. Am cunoștințe în diagnosticarea formei latente de cancer bacterian prin metoda microbiologică. Participarea anuală în termoterapie viței de vie. Instalarea anuală capcane pentru insecte - cicadele, am urmat numărul și revigorarea generațiilor. Am abilități în microscopizarea vectori ai bolii fitoplasmice și de a le identifica. Am monitorizat plantațiile industriale pentru detectarea bolilor fitoplasmice, pe o suprafața de peste 1500 de hectare (2016-2020). Particip anual la monitorizarea școală a viței de vie în pepinierele pentru a identifica starea fitosanitară a plantelor. Am participat în 2014-2017 în propagarea microclonală a viței de vie "in vitro" pentru a crea plante-mamă al unei colecții de soiuri și clone de vița de vie din cea mai înaltă categorie fitosanitară. În cadrul laboratorului particip activ la crearea unei plantației mamă de clone a viței de vie de soiuri autohtone, selecție europeană și nouă de categorie «Prebaza» și «Baza» în IȘPHTA, plantat pe o suprafața de 12 hectare (2016-2022).

Responsabil cu dotarea laboratorului de Virusologie și Control Fitosanitar cu instrumente, echipamente si componente de laborator necesare în proces de testarea agenților patogeni a viței de vie prin metode serologice și moleculare (ELISA, PCR, RT-PCR) și multiplicarea clonelor „in vitro” - „in vivo”, în cadrul proiectelor: «Livada Moldovei», «RoAid», «Proiectului Instituțional», «FlaveDor», «Vițe Certificate» (2016-2022).

Educația și formare: Stagiu de practică științifică privind diagnosticarea prin metoda PCR:

Extracția totală a ARN-ului din plante de viță de vie și citrice infectate cu virus, precum și din plante infectate cu virusi folosind kituri și protocoale bazate pe C-TAB; ADNc cu Maxima RT; Amplificare PCR pentru identificarea diverșilor virusi: Grapevine leafroll-associated viruses 3; Grapevine leafroll-associated viruses 2; Grapevine Virus A; Citrus exocortis viroid CEVd;

Pospiviroids. Curățare PCR din GEL; Ligarea la plasmida pGEM-T; Transformarea plasmidelor în E. coli DH5α; Extracția plasmidelor prin truse miniprep. Analiza secvenței și proiectarea secvenței primerului prin programul BioEdit. Institute of Plant Protection State of Israel / Ministry of Agriculture & Rural Development Agriculture, 20/05/2022 – 18/06/2022, Rishon LeZion 7505101-Israel, Rishon LeZion, Israel

Educația și formare: Stagiul de practică științifică, în cadrul proiectului ONVV (Oficiul Național al Viei și Vinului) «FlaveDor», privind evaluarea plantațiilor viticole cu drona utilizând camera multispectrală, la bolile fitoplasmice (Flavescence doree și Bois noir), Chișinău, Moldova, 04/09/2017 - 15/09/2017, SkySquirrel Technologies Inc, Nova Scotia, Canada

Educația și formare: Stagiul de practică științifică privind diagnosticarea prin metoda PCR: identificarea simptomelor maladiei de viță de vie – îngalbenire aurie; colectarea probelor pentru analizele moleculare; extracția ADN; PCR (reacția lanțului de polimerază) și PCR nested; vizualizarea produselor PCR prin electroforeză într-un gel de agaroză; RFLP (polimorfismul lungimilor fragmentului de restricție) prin electroforeză în gelul de poliacrimidamidă; analiza rezultatelor, 25/07/2017 – 24/08/2017, CREA-VE, Center for Research in Viticulture and Enology, Conegliano, Italy

Educația și formare: A participat la training pe “Training on EN ISO 15189:2012 Medical laboratories. Requirements for quality and competence. Specific technical requirements in the field of Molecular Biology.” Expert: Stefano D’AMELIO, Chișinău, Moldova, Curriculum: concepte generale în validare; verificarea și validarea metodelor de testare a biologiei moleculare; evaluarea riscurilor în metodele de testare a biologiei moleculare; asigurarea controlului calității metodelor de testare a biologiei moleculare, luând în considerare riscurile; incertitudine în testele de biologie moleculară; 19/09/2019, MOLDAC, în cadrul proiectului European „Sprijin pentru cadrul infrastructurii de calitate în contextul DCFTA în Republica Moldova”

Educația și formare: Doctorat în cadrul Școlii Doctorale a Parteneriatului Instituțiilor din Învățământ și Cercetare din Agricultură la specialitatea 411.09. Protecția Plantelor, 1/10/2018 – 1/10/2021, Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Educația și formare: Master în Științe agricole, specializarea Științe horticole, 09/2014 – 08/2015, Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Educația și formare: Licentiat în Științe agricole, 08/2010 – 06/2014, Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Educația și formare: A terminat cu succes practica în fermă cu agricultura ecologică, în specialitatea de legumecultura. Certificat «BIOLAND», 30/04/2013 – 26/10/2013,

Landwirtschaft und Oekologisches Gleichgewicht mit Osteuropa (LOGO e.V.), Lienen, Germania

Participarea la conferințe științifice naționale și internaționale:

1. Conferința națională: “Maladiile fitoplasmice în plantațiile viticole din RM - depistare, profilaxie și combatere”, 21 decembrie 2018, Chișinău
2. Conferința națională: “Maladiile fitoplasmice în plantațiile viticole din RM - depistare, profilaxie și combatere”, 19 decembrie 2019, Chișinău
3. “Biologization of the Intensification Processes In Horticulture and Viticulture”, 21-23 September 2021, North Caucasian Federal Scientific Centre of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Russia, Krasnodar
4. “74-a conferință științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor” CE UASM, 15-26 martie 2021, Chișinău
5. „Sectorul Agroalimentar - Realizări și Perspective” Simpozion Științific Internațional, 19-20 noiembrie 2021, Chișinău

Aptitudini lingvistice: rusa – fluent; română - bună cunoaștere oral și în scris; germana - cunoștințe de bază; engleza - bună cunoaștere oral și în scris

Contacte Tel: +37368724088