

УДК 634.232:634.233

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ПОДХОД К СОЗДАНИЮ
ВЫСОКОАДАПТИВНЫХ ФОРМ
КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР**

Кузнецова Анна Павловна
канд. биол. наук

*Государственное научное учреждение
Северо-Кавказский зональный научно-
исследовательский институт
садоводства и виноградарства
Россельхозакадемии, Краснодар, Россия*

Ленивцева Мария Сергеевна
канд. с.-х. наук

*Всероссийский научно-исследовательский
институт растениеводства
им. Н.И.Вавилова Россельхозакадемии,
Санкт-Петербург, Россия*

Маслова Мария Витальевна
канд. с.-х. наук
*ГНУ Всероссийский НИИГиСПР
им. И.В.Мичурина Россельхозакадемии,
Наукоград, Россия*

Еремина Оксана Викторовна,
канд. с.-х. наук
*Государственное научное учреждение
Крымская опытно-селекционная станция
Северо-Кавказского зонального научно-
исследовательского института
садоводства и виноградарства
Российской академии
сельскохозяйственных наук,
Крымск, Россия*

В результате изучения популяций коккомикоза определена эндофитная микробиота и оценена устойчивость форм косточковых к заболеванию. Установлена необходимость комплексного изучения структуры популяций патогена в местах предполагаемого выращивания с учетом определения эндофитной микробиоты.

Ключевые слова: КОСТОЧКОВЫЕ
КУЛЬТУРЫ, КОККОМИКОЗ,
ЭНДОФИТНАЯ МИКРОБИОТА

UDC 634.232:634.233

**IMMUNOLOGICAL APPROACH TO
THE CREATION OF HIGH ADAPTIVE
STONE FRUIT FORMS**

Kuznetsova Anna
Cand. Biol. Sci.

*State Scientific Organization North Caucasian
Regional Research Institute of Horticulture
and Viticulture of the Russian Academy
of Agricultural Sciences, Krasnodar, Russia*

Lenivtseva Maria
Cand. Agr. Sci.

*All-Russian Research Institute of Plant
Industry them N Vavilov of the Russian
Academy of Agricultural Sciences,
St.-Petersburg, Russia*

Maslova Maria
Cand. Agr. Sci.
*SSO All Russian Research Institute
of Genetics and Breeding of Fruit Plants
them. I.Michurin of the Russian Academy of
Agricultural Sciences , Michurinsk, Russia*

Eremina Oksana
Cand. Agr. Sci.
*State Scientific Organization Krymsk
Experimental Breeding Station
of North Caucasian Regional Research
Institute of Horticulture and Viticulture
of the Russian Academy of Agricultural
Sciences, Krymsk, Russia*

As a result of study of *Coccomyces* populations the endophytic microbiota is defined and stability of stone fruit forms to disease is estimated. The necessity of a comprehensive study of population structure of the pathogen in the place of expected growing is established using the definition of endophytic microbiota.

Keywords: STONE FRUIT CROPS,
COCCOMYCES, ENDOPHYTIC
MICROBIOTA

Ведение. Косточковые растения в условиях нестабильности климата находятся в состоянии абиотического стресса, важнейшими проявлениями которого являются энерго- и иммунодефицит, паранекроз, что приводит к массовому поражению косточковых культур грибными болезнями [1].

Широкое распространение получил коккомикоз вишни, который впервые в нашей стране был обнаружен в 50-х гг. Вредоносность болезни выражается в преждевременном опадении листьев, что приводит к ослаблению деревьев, снижению урожайности, ухудшению зимостойкости. В отдельные годы деревья бывают поражены на 80-100% [2, 3, 4]. В питомниках из-за развития болезни происходит снижение роста, невызревание подвоев или полная гибель растений [5, 6].

В селекции на устойчивость растений к болезням участились явления, когда происходит потеря устойчивости образцов в связи с изменчивостью патогенов. Поэтому поиск и создание новых устойчивых форм необходимо вести параллельно с изучением изменчивости гриба.

Нестабильность экологических условий Краснодарского края стимулирует появление новых биотипов возбудителя заболеваний. Примером этого негативного для селекционера явления служит появление расы 4 возбудителя коккомикоза, преодолевшей моногенную устойчивость вишни, контролируруемую геном А.

В Краснодарском крае четвертая раса возбудителя обнаружена ещё в 1986 году, в других регионах России в то время она не была найдена [7, 8]. Эта раса, как показали и предыдущие и последующие исследования, наиболее вирулентна.

Изучение особенностей развития коккомикоза на вишне в Тамбовской области было начато сразу же при его появлении. В создании устойчивых сортов участвовали О.С. Жуков, Л.А. Ищенко, Л.А. Щекотова, Л.Е. Курсакова и другие. Во ВНИИГ и СПР им. И.В.Мичурина был получен гибрид А-135 (Алмаз) с участием генов черемухи, который был им-

мунным к коккомикозу и обладал высоким уровнем зимостойкости [9]. Впоследствии было получено много вишне-черемуховых гибридов, которые наряду с устойчивостью в данном регионе к этой опасной болезни обладали хорошим качеством плодов: Бриллиант, Коралл, Луч, Степной родник, Фея, Харитоновская и др.

Л.А. Ищенко (1990) отмечалось ослабление грибных болезней плодовых культур, вызываемых гембиотрофными паразитами, в том числе и коккомикоза вишни. Выделение возбудителя этого заболевания в чистую культуру выявило понижение жизнеспособности образовавшихся в пустулах конидий паразита, израстание стерильным мицелием. Среди незначительного количества образовавшихся колоний лишь единичные дали слабое спороношение. При этом распространение получили цитоспороз и вертициллез косточковых, вызываемые некротрофными грибами, которые способны поражать сильно ослабленные растения [10, 11].

Дальнейшее снижение иммунитета в результате ухудшения климатических условий привело к активизации эндофитной микробиоты, которая представлена бактерией *Pseudomonas syringae van Hall* и некротрофными грибами (*Alternaria, Cladosporium, Stemphilium, Fusarium*). Поэтому абиотический стресс осложнился биотическим, вызываемым токсинами микроорганизмов, которые находятся внутри растения. Это привело к распространению болезней неясной этиологии: угнетение роста, развития, репродукции, хронические и апоплексийные усыхания и др.

Бактерия, обладая фунгицидным и фунгистатическим действием, способна сдерживать развитие более опасных грибных патогенов, наделенных мощными токсинами. В связи с этим бактерия является не только патогеном, но и симбионтом, осуществляя тем самым протективный иммунитет [12].

Из растений тестировалась также и смешанная микробиота, представленная грибной ассоциацией и бактерией *Ps. syringae* с различной сте-

пению развития того или иного агента. Следует отметить, что, в силу антагонистических взаимодействий, токсины смешанной микробиоты являются более мощными и усугубляют стрессорное состояние растений.

Целью наших исследований было изучение популяций коккомикоза, оценка устойчивости и анализ эндофитной микробиоты новых форм косточковых культур.

Объекты и методы исследований. В 2006-2009 гг. был проведен мониторинг расового состава коккомикоза (*Coccomyces hiemalis* Higg., *Blumeriella jaarii* (Rehm) v. Arch.). Изучали 2 популяции патогена – из Тамбовской области и Краснодарского края. Из каждой популяции выделено по 90 клонов, всего 180 клонов гриба. Исследования проводили на сортах дифференциаторах – Сеянец N1, Плотнолистный мутант 561, Алмаз. Выделение клонов, заражение, оценка проводились по методике М.С.Чеботаревой[13]. По этой же методике проводили оценку устойчивости к коккомикозу подвойных форм.

Обсуждение результатов. Изучение экологической устойчивости сортов и форм косточковых культур, в связи с наличием эндофитной микробиоты, показало, что присутствие бактерии, угнетающей грибных патогенов, повышает устойчивость растительного организма к неблагоприятным факторам среды. У наиболее высокоадаптивных форм доля бактерии возрастает. В условиях с оптимальными для растительного организма показателями температуры и влажности наблюдается увеличение частоты тестирования бактерии, которая подавляет развитие грибной и смешанной микробиоты.

Важным диагностическим показателем является также процент отрицательного теста на микробиоту, который выражает уровень окислительного стресса у растений. Неблагоприятные погодные условия оказывают негативное влияние на протекание всех обменных процессов в организме, окислительно-восстановительный баланс в клетках растений сдви-

гается в сторону окисления, что отрицательно влияет на состояние паразита и сдерживает его развитие, а также на клетки растения-хозяина, что приводит к усилению некрозности. В связи с этим наименьшее значение показателя отрицательного теста соответствует более высокой степени адаптации растений.

При тестировании новых подвойных форм косточковых культур выделялась бактерия *Pseudomonas syringae* van Hall и некротрофные грибы, главным образом из родов *Alternaria* и *Fusarium*. Из побегов растений тестировалась также смешанная микробиота, то есть отмечался выход на среду одновременно и бактерии, и гриба.

В результате мониторинга новых рас не выявлено (табл.1). Для расовой дифференциации принято объединение реакции поражения в две категории, обозначаемые R- устойчивость (реакции шкалы 0, 0,1, 1, 0,1¹ баллов) и S- восприимчивость (реакции шкалы 2, 3,4, 0,1^{II}, 0,1^{III} баллов) [7].

Таблица 1 – Ключ для определения рас *C. hiemalis*.

Номер расы	Тип поражения сортов дифференциаторов		
	Сеянец N1	Мутант 561	Алмаз
1	S	R	R
2	R	R	R
3	S	S	R
4	S	S	S

Примечание. S – восприимчивость (баллы 2, 3, 4),
R – устойчивость (баллы 0, 1).
Контроль – восприимчивый сорт вишни Любская
и устойчивый образец *C. serrulata* Б1.

Наиболее вирулентна раса 4. Внутри этой расы выделены биотипы 1МС, 3КМ, 8КС, 5КС, 3КС, 1КС, имеющие различную вирулентность по отношению к дополнительным сортам, не входящим в стандартный набор. Эти биотипы рекомендуется включать в исследования по изучению устойчивости черешни и вишни к коккомикозу.

По результатам тестирования эндофитной микробиоты наиболее высоким уровнем бактериальной активности характеризовались подвойные формы СВГ (показатель развития бактериальной микробиоты – 75,6%), ВСЛ-2 (66,7%), 5-40 (62,2%), Зеленый шар (62,2%), Степной родник (62,2%) (табл. 2).

Данные формы также имели низкую частоту тестирования грибной и смешанной микробиоты (от 0 до 13,3%), а также невысокое значение процента отрицательных тестов (менее 40%).

Таблица 2 – Средние значения показателей развития эндофитной микробиоты у выделенных подвойных форм косточковых культур (2007-2009 гг.)

Подвойные формы	Процент отрицательных тестов	Частота тестирования бактерии, %	Частота тестирования грибов, %	Частота тестирования смешанной микробиоты
СВГ 11-19	24,5±2,2	75,6±2,2	0,0±0,0	0,0±0,0
ВСЛ-2	22,2±2,2	66,7±3,8	2,2±2,2	8,9±4,4
5-40	37,8±5,8	62,2±5,8	0,0±0,0	0,0±0,0
Зеленый шар	13,3±0,0	62,2±2,2	13,3±3,8	11,1±4,4
Степной родник	24,5±2,2	62,2±2,2	0,0±0,0	13,3±0,0
НСР ₀₅	7,99	9,01	7,58	8,73

При полевой оценке подвойных форм на устойчивость к болезни все эти формы показали высокую устойчивость (балл поражения 0 - 0,1), даже в эпифитотийный 2009 год.

Выводы. В результате проведенных исследований установлено, что для выделения форм косточковых культур с долговременной устойчивостью необходимо изучение популяций патогена в местах предполагаемого выращивания.

Рекомендуется в года со слабым развитием инфекции *C. hiemalis* определение устойчивости форм к наиболее вирулентной расе номер 4 и выделенным биотипам 1МС, 3КМ, 8КС, 5КС, 3КС, 1КС.

При изучении эндофитной микробиоты выделены высокоадаптивные формы подвоев косточковых, обладающих наиболее высоким уровнем бактериальной активности.

Многолетняя оценка плодовых растений на устойчивость в полевых условиях подтвердила правильность выбранных нами иммунологических подходов. Комплекс таких работ позволит создать высокоадаптивные формы косточковых культур.

Литература

1. Ищенко, Л.А. Устойчивость плодовых и ягодных культур к грибным болезням: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1990. – 50 с.
2. Стороженко, Е.М. Болезни плодовых культур и винограда/ Е.М. Стороженко – Краснодар: Кн. изд-во, 1970.– 205 с.
3. Чеботарева, М.С. Оценка устойчивости черешни и вишни к коккомикозу/ М.С. Чеботарева// Науч.-техн. бюл. ВИР. – 1986. – Вып.162. – С. 27-29.
4. Вышинская, М.И. Итоги селекции вишни и черешни в республике Беларусь/ М.И. Вышинская // Плодоводство на рубеже XXI века. – Минск, 2000. – С. 58-59.
5. Колесникова, А.Ф. Создание экологически чистых адаптивных сортов и подвоев вишни для центрального и центрально-черноземного регионов России/ А.Ф. Колесникова, Е.Н. Джигадло, И.Э. Федотова// Плодоводство на рубеже XXI века. – Минск, 2000. – С. 59-61.
6. Смольякова, В.М. Болезни плодовых пород юга России/ В.М Смольякова.– Краснодар: Весть, 2000. – 150 с.
7. Чеботарева, М.С. Состав генофонда родов *Cerasus* Mill., *Padus* Mill. и *Microcerasus* Webb emend. Spach по устойчивости к коккомикозу в связи с задачами селекции. Автореф. канд. дис. – Л., 1986.– 24 с.
8. Кузнецова, А.П. Поиск доноров устойчивости к коккомикозу и монилиофу для использования в селекции черешни/А.П.Кузнецова, Е.М. Алехина// Современные проблемы научного обеспечения отраслей «Садоводство и виноградарство на пороге 21 века». – Краснодар, 1999. – С. 75-77.
9. Жуков, О.С. Селекция вишни/ О.С.Жуков, Е.Н.Харитоновна // ВАСХНИЛ. – М.: Агропромиздат, 1988. – 141 с.
10. Фирсова, Ю.Е. Роль грибов в усыхании косточковых плодовых культур в условиях ЦЧЗ России: дис. ... канд. биол. наук. – Мичуринск, 1995. – 151 с.
11. Ищенко, Л.А. Иммуитет плодовых растений на рубеже веков / Л.А. Ищенко // Труды ВНИИ генетики и селекции плодовых растений. Генетика и селекция плодовых растений: Сб. науч. тр. – Воронеж: Кварта, 2005. – С. 148-166.
12. Ищенко, Л.А. Адаптивная саморегуляция плодовых культур к патогенам при наличии холодовых стрессов у хозяев/ Л.А. Ищенко, И.Н. Чеснокова, М.И. Козаева// Материалы I-го съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС). – М., 1994.– С. 61.
13. Чеботарева, М.С. Изучение устойчивости черешни и вишни к коккомикозу/ М.С. Чеботарева //Метод. указания. – Л.: ВИР, 1985. – 28 с.