

СОЗДАНИЕ И ВЫДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К КОККОМИКОЗУ ФОРМ РОДА *PRUNUS* MILL.¹

Кузнецова А.П., канд. биол. наук, Ленивцева М.С., канд. с.-х. наук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
(Краснодар)

Драбудько Н.Н., Кухарчик Н.В., д-р с.-х. наук

Республиканского унитарного предприятия «Институт плодородия Национальной академии наук Беларуси» (п. Самохваловичи, Беларусь)

Гриднев С.И.

ООО «ОПХ им. К.А. Тимирязева»

Реферат. В статье представлены результаты совместной работы по созданию и выделению устойчивых форм рода *Prunus* Mill к коккомикозу (возбудитель – *Coccomyces hiemalis* Higgins, *Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx). В результате исследований, с привлечением иммунологических, фитопатологических, биохимических, биотехнологических и генетических методов, созданы формы с высокой устойчивостью к коккомикозу, которые могут быть использованы как источники устойчивости в селекции, а также как адаптивные подвои для черешни, вишни и декоративных форм рода *Prunus* Mill.

Ключевые слова: коккомикоз, отдаленные гибриды, косточковые культуры, популяции, устойчивость, биохимические показатели

Summary. The article presents the results of joint work on the creation and selection of the resistant *Prunus* Mill genus forms to *Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx. As a result of study carried out, involving the immunological, phytopathological, biochemical, biotechnological and genetic methods, the forms with high resistance to coccomicosis have been created, which can be used as sources of resistance in breeding, as well as adaptive rootstocks for sweet-cherry, cherry and decorative forms of the genus *Prunus* Mill.

Key words: leaf spot by *Blumeriella jaapii*, remote hybrids, stone fruit crops, populations, resistance, biochemical indicators

Введение. Стратегическими задачами социально-экономического развития Краснодарского края до 2020 года являются развитие сельского хозяйства, переработки и инфраструктуры рынка продукции АПК для удовлетворения потребностей населения края, обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации и ведущей роли края в формировании крупного агропромышленного кластера на юге России.

Создание устойчивых к одному из самых вредоносных заболеваний мелкоплодных форм рода *Prunus* Mill – коккомикозу (возбудитель – *Coccomyces hiemalis* Higgins, *Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx) сортов черешни, вишни и подвоев для них позволит увеличить выход посадочного материала, площади садов и урожайность насаждений. Стратеги-

¹ Поддержано грантом 16-44-230323 р_а Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края, в рамках Госзадания ФАНО России.

ческое направление развития Краснодарского края № 1 – кардинальное повышение качества и продолжительности жизни населения. В этой связи важную роль играет обеспечение населения качественной экологически безопасной продукцией. Создание устойчивых сортов позволит значительно сократить количество опрыскиваний химпрепаратами, уменьшив затраты на производство товарной продукции и при выращивании посадочного материала в питомниках, исключить обработки при содержании декоративных форм в зеленых зонах городских ландшафтов.

Необходимость проводимых работ по созданию и выделению устойчивых к коккомикозу форм связана с увеличением частоты прохождения фитопатогенеза коккомикоза в форме эпифитотий. За последние 11 лет только в двухлетний период не наблюдалось сильного развития *Blumeriella jaapii* в Краснодарском крае.

Эта болезнь пришла в середине 60-х годов прошлого века с северо-запада – из Скандинавии. Практически все старые сорта, которые до этого выращивались в средней полосе России, оказались не устойчивы к этой болезни. В настоящее время даже сорта, включенные в Государственный реестр, не в полной мере соответствуют требованиям по устойчивости к одному из самых экологически вредоносных заболеваний – коккомикозу. Завозимые интродуцированные сорта в основном так же сильно поражаются болезнью, например, сорт Свит Харт.

Очень часто рекламируемые как устойчивые сорта в условиях юга России, особенно в Краснодарском крае, поражаются до 3, 4 баллов [1, 2, 3]. Нами выявлено, что по сравнению с популяциями из других регионов наиболее вредоносна популяция из Краснодарского края, так как в ней наибольший процент вирулентных 3 и 4 рас. Четвертая раса поражает донор устойчивости к коккомикозу Алмаз, содержащий ген А, переданный формам от Падоцеруса-М, уже с 1986 года [4, 5].

Целью наших исследований является опережающая селекция к болезни, то есть создание и выделение форм, устойчивых к коккомикозу на фоне наиболее вирулентных клонов, взятых из разных популяций, а также проведение оценки поражаемости форм в районах, где отмечается наиболее сильное развитие болезни.

Объекты и методы исследований. В соответствии с задачей исследования проведена оценка полевой устойчивости форм рода *Prunus* Mill., созданных в результате отдаленной гибридизации с помощью методов биотехнологии, к коккомикозу в коллекционных насаждениях ООО «ОПХ им. К.А. Тимирязева» (Усть-Лабинский р-н) и ЗАО «ОПХ Центральное» СКФНЦСВВ (Краснодар), в условиях Горячеключевского р-на (фермерское хозяйство «Д.А.Маджар»), в коллекционных насаждениях Республиканского унитарного предприятия «Институт плодоводства Национальной академии наук Беларуси». Оценку устойчивости к коккомикозу в полевых и искусственных условиях проводили по методике М.С. Ленивцевой [6].

Обсуждение результатов. Направленная селекция по созданию устойчивых форм к коккомикозу в СКФНЦСВВ (Краснодар) проводится с 1986 года. Создана коллекция устойчивых форм – более 500 шт. В гибридизации использовались не поражаемые болезнью формы восточно-азиатских видов, выделенные М.С. Ленивцевой (2005). В данный момент в коллекционных насаждениях имеются формы первого, второго, третьего и четвертого поколения. Из них выделены источники устойчивости, потенциальные возможности которых по передаче этого признака проверяются с помощью постоянного изучения состава популяций коккомикоза и с помощью искусственного заражения наиболее вирулентными клонами. Эта работа проводится совместно с исследователями из разных институтов.

С 2008 года в СКФНЦСВВ ведётся совместная работа с сотрудниками Республиканского унитарного предприятия «Институт плодородства Национальной академии наук Беларуси» по созданию устойчивых к коккомикозу гибридов и выделению из созданной коллекции форм с ценными признаками для селекционных программ и использования в садоводстве. В результате многолетних исследований были изучены полученные в СКФНЦСВВ формы подвоев, которые показали высокую устойчивость к коккомикозу как в условиях Беларуси, так и в трех районах Краснодарского края. Необходимо отметить, что в условиях Горячключевского района (станция Бакинская) наблюдалось сильное развитие инфекции уже в мае, в том числе и из-за повышенной влажности (коллекция произрастает в пойме реки Псекупс), а изучение популяций (учитывая, что 30 и 01 фенотипы поражают образцы из обеих групп дифференциаторов) доказало, что популяция из Горячего Ключа более вирулентна [4, 5, 6] (табл. 1).

Таблица 1 – Фенотипическое разнообразие краснодарской популяции коккомикоза по вирулентности к образцам черешни и вишни (2016, 2017 гг.)

Популяция	Год изучения	Частота фенотипов вирулентности					
		06	70	30	02	01	14
Краснодар	2016	0	0	0	0,13	0	0,87
	2017	0	0	0	0,5	0,5	0
Усть-Лабинский район	2016	0	0	0	0,21	0	0,79
	2017	0	0	0	0	1,0	0
Горячий Ключ	2016	0	0	0,47	0	0,53	0
	2017	0	1,0	0	0	0	0

Как показали наши исследования, наибольшую устойчивость к абиотическим факторам среды в Краснодарском крае проявляют генотипы с устойчивостью к коккомикозу. Из коллекции СКФНЦСВВ отобраны формы подвоев с устойчивостью к высоким летним температурам и засухе: АИ 1, АИ 5 Б-Д, АИ-1Б-Д, Франц Иосиф х *C.lannesiana* - 6 (ФЛ-6). В многолетних исследованиях, проведенных как в Белоруссии, так и в Краснодарском крае в полевых условиях, поражения коккомикозом на них не отмечено. При проведении искусственного заражения они так же проявили высокую эффективность устойчивости к болезни (88,6-100,0 %) (табл. 2). Это же подтвердили биохимические исследования (табл. 3).

Таблица 2 – Эффективность устойчивости к коккомикозу образцов косточковых культур селекции СКФНЦСВВ (2016- 2018 гг.)

Образец	Количество клонов	Распределение по баллам поражения					% авирулентных клонов
		0	1	2	3	4	
АИ-1	51	51	0	0	0	0	100
АИ-1Б-Д	55	53	0	2	0	0	96,4
АИ 5 Б-Д	55	48	0	7	0	0	87,3
Франц Иосиф × <i>C.lannesiana</i> -6 (ФЛ-6)	55	48	0	7	0	0	87,3
Любская (контроль)	55	0	0	8	24	23	0
Французская Черная (контроль)	54	0	0	6	23	25	0

С помощью новых способов, разработанных в институте с использованием методов капиллярного электрофореза и изучения изменчивости биохимических показателей в процессе онтогенеза растений, благодаря проведенному дискриминантному анализу были получены функции классификации и неравенство, позволяющее выделить из неизвестных форм устойчивые образцы на самом раннем этапе развития растения [7, 8]:

$$X_1(1) = 0,1015 \times Y_1(1) + 5,2659 \times Y_2(2) + 0,0122 \times Y_3(3) + 0,0277 \times Y_4(4) - 12,1629 >$$

$$X_2(2) = 0,01997 \times Y_1(1) - 7,46984 \times Y_2(2) + 0,00950 \times Y_3(3) + 0,02763 \times Y_4(4) - 5,90917,$$

где X1 – значение первого неравенства, X2 – значение второго неравенства, Y1 – содержание кофейной кислоты, Y2 – содержание янтарной кислоты, Y3 – содержание магния, Y4 – содержание кальция.

Отнесение генотипа к устойчивому осуществляется на основе сравнения максимальных классификационных значений содержания свободных форм катионов магния и кальция, кофейной и янтарной кислот, полученных при умножении этих показателей на установленные для каждого из них коэффициенты. Если полученное значение первого неравенства больше, чем значение второго неравенства, то образец устойчив к коккомикозу. Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Выделение устойчивых форм рода *Prunus* L. с помощью экспресс-метода оценки устойчивости к коккомикозу

Название	ОПО	ОЭМ	Янтарная кислота, г/кг	Кофейная кислота, мг/кг	Магний, мг/кг	Кальций, мг/кг	Значение I-го неравенства	Значение II-го неравенства
АИ-5 (к)	0	уст.	0,66	234,07	207,5	367,2	27,78	15,82
АИ-1 (к)	0	уст.	0,87	233,8	380,6	230,5	27,17	15,24
Краснодарская сл. (к)	4	пор.	0,8827	16,17	407,5	205,7	4,80	10,56
Шалуныя	3	пор.	1,058	82,78	570,6	237,6	15,35	15,63
АИ 5 Б-Д	0	уст.	0,04	157,9	232,5	332,9	27,13	8,95
АИ 1 Б-Д	0	уст.	0,2	11,1	1259	970	43,25	34,57

Примечание: к – контроль, пор. – поражаемый, уст. – устойчивый, ОПО – оценка в полевых условиях, ОЭМ – оценка экспресс-методом по биохимическим показателям

Формы подвоев АИ 1, АИ 5 Б-Д, АИ-1 Б-Д, ФЛ-6 выделяются в СКФНЦСВВ и в РУП «Институте плодоводства» Беларуси по способности к размножению, хорошей совместимости с черешней, адаптивному потенциалу, устойчивости к коккомикозу, и в 2017 году АИ 1 Б-Д, АИ 5 Б-Д, ФЛ-6 предложены для экологического испытания [9].

В результате совместной работы по выращиванию отдаленных гибридов *in vitro* были получены растения и изучены гибриды последующего поколения от доноров и источников устойчивости к *Blumeriella jaapii* (табл. 4, 5, 6) [10].

В полевых условиях в результате многолетних исследований по устойчивости к коккомикозу и ряду стресс-факторов (высокие летние и низкие зимние температуры) выделились 2 формы 6/4 К и 6/8 К (табл. 4, 5, рис.).

Выделение форм с высокой устойчивостью проведено по разработанной в ВИРе (Санкт-Петербург) методике М.С. Ленивецовой с помощью ряда показателей (табл. 5) [6].

Таблица 4 – Приживаемость отдаленных гибридов на сеянцах черешни, полученных *in vitro* совместно с РУП «Институт плодородства» и НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко (г. Краснодар и Горячеключевской р-н, 2012 г.)

Гибрид	Место оригинального происхождения	Место размножения <i>in vitro</i>	Происхождение	Приживаемость на подвое сеянцы черешни, %
2/7 К	Прикубанская зона, г. Краснодар, п. Северный, ОПХ «Центральное» СКЗНИИСиВ	Беларусь, РУП «Институт плодородства»	Молодежная х 11-18	71
4/4 К	--	--	Норд Стар х <i>C. subhirtella</i> «Pendula»	86
6/4 К	--	--	Норд Стар х 11-17	50
6/8 К	--	--	Норд Стар х 11-17	100
3/1 К	--	--	Норд Стар х 3-112	0
2/5 К	--	--	Молодежная х 11-18	70
4/3 К	НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко	--	ЦСБС х Новосибирская	82
6х Лисовская	--	--	6 х Лисовская	73
3/3 (0)	Беларусь, РУП «Институт плодородства»	--	Казданчанская х Dolgogdanaa	94
1/9 (W W)	--	--	Novela х Казданчанская	40
1/10 (p)	--	--	Novela х Казданчанская	50
1/19 (+)	--	--	Novela х Казданчанская	94
6/2(W)	--	--	Novela х Dolgogdanaa	100

Таблица 5 – Выделение устойчивых к коккомикозу отдаленных гибридов, полученных *in vitro* в условиях Горячеключевского района, 2013-2017 гг.

Образец	Происхождение образца	Максимальный балл поражения	Общее состояние растений, балл
6/4 К	Норд Стар х 11-17	0,1	4,5
6/8 (10)	Норд Стар х 11-17	0,1	4,5
6/8 К	Норд Стар х 11-17	0,1	4
Кавказская контроль		4	2,5

Таблица 6 – Выделение устойчивых к *Blumeriella jaarii* образцов черешни и вишни, Горячий Ключ, 2017 г.

Образец	Пораже- ние листа, %	Пустул на 1 см ² листа	Спор с 1 см ² листа	Продуктивность спорообразования (спор в одной пустуле)	Индекс устойчивости
Свит Харт	90	13	160×10 ⁴	123076	1599988
Кавказская	48	7,6	50×10 ⁴	65789	499996
БИ 43-II- (5р 65 м)	1	0,1	0	0	0
БИ 43 -I-(6-31)	1	0,1	0	0	0
6/4 К	3	1,5	0	0	0
6/8 К	1,5	0,7	909	1298	909
Гизела	2	0,4	385	962	385
Краснодарская сладкая (контроль)	60	7	25×10 ⁴	35714	249999
Французская черная (контроль)	80	10	125×10 ⁴	125000	1250000

В данное время на основе полученных данных проводится работа по выделению форм-эталонов в системе тестирования сортов на использование в садах, где не проводится химической защиты (нет обработок фунгицидами).



Рис. Устойчивость формы 6/8 К к коккомикозу на фоне сильного развития болезни и значительного поражения основного сортимента черешни и вишни в условиях Горячключевского района (станция Бакинская), 2016

Выводы. В результате совместных исследований и разработанного методологического подхода к оценке генетического материала, на базе всестороннего изучения изменчивости системы «патоген-среда-хозяин» с использованием результатов междисциплинарных исследований, выделены не поражаемые и слабо поражаемые к болезни формы подвоев, которые также показали высокую устойчивость к стрессорам: высоким летним температурам, длительной засухе, ранним заморозкам и низким зимним температурам.

Формы подвоев АИ 1, АИ 5 Б-Д, АИ-1Б-Д, ФЛ-6 по совокупности хозяйственно-ценных качеств предложены для экологического испытания. Выделены формы с различными типами устойчивости к коккомикозу, которые можно использовать в селекции как источники признака.

Литература

1. Кузнецова, А.П. Иммунологический подход к созданию высокоадаптивных форм косточковых культур / А.П. Кузнецова, М.С. Ленивцева, М.В. Маслова, О.В. Еремина // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСИВ, 2011. – № 10. – С. 42-48. – Режим доступа: <http://journalkubansad.ru/pdf/11/04/04.pdf>
2. Кузнецова, А.П. Оценка устойчивости сортов и гибридов черешни к монилиозу и коккомикозу: дисс... канд. биол. наук: 06.01.05 / Кузнецова Анна Павловна. – Краснодар, 2003. – 133 с.
3. Кузнецова, А.П. Генетико-статистические и биохимические методы выделения сортов черешни и вишни устойчивых к фитопатогенам / А.П. Кузнецова, И.В. Степанов // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКФНЦСВВ, 2017. – № 48 (06). – С. 73-84. – Режим доступа: <http://journalkubansad.ru/pdf/17/06/09.pdf>
4. Ленивцева, М.С. Внутривидовая изменчивость *Soscomyces hiemalis* по признаку вирулентности к образцам черешни и вишни / М.С. Ленивцева, А.П. Кузнецова, Е.Е. Радченко // Микология и фитопатология. – 2016. – Т. 50. – № 1. – С. 62-65.
5. Ленивцева, М.С. Генетическое разнообразие сортов косточковых культур (род *Prunus* L.), устойчивых к коккомикозу / М.С. Ленивцева, Е.Е. Радченко, А.П. Кузнецова // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52. – № 5. – С. 895-904.
6. Ленивцева, М.С. Изучение устойчивости косточковых культур к коккомикозу: методические указания / М.С. Ленивцева. – СПб.: ВИР, 2010. – 28 с.
7. Кузнецова, А.П. Ускоренная оценка устойчивости черешни и вишни к коккомикозу и монилиозу / А.П. Кузнецова // Садоводство и виноградарство. – 2005. – № 1. – С. 19-20.
8. Кузнецова, А.П. Методика ускоренного выделения иммунных и высокоустойчивых форм рода *Cerasus mill* к коккомикозу по электрофореграммам фенольных соединений / А.П. Кузнецова, Ю.Ф. Якуба // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. – Краснодар, 2010. – С. 236-241.
9. Кузнецова, А.П. Разработка методов, ускоряющих селекцию косточковых плодовых культур на адаптивность / А.П. Кузнецова, И.Л. Ефимова, М.С. Ленивцева, Н.В. Кухарчик [и др.] // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСИВ, 2011. – № 12 (6). – С. 22-30. режим доступа: <http://journalkubansad.ru/pdf/11/06/03.pdf>. (дата обращения: 27.07.2018).
10. Кузнецова, А.П. Выделение форм подвоев из коллекции устойчивых к коккомикозу отдаленных гибридов рода *Cerasus mill*. / А.П. Кузнецова, Н.Н. Коваленко, Н.Н. Дрбунько // Интенсификация пловодства Беларуси: традиции, достижения, перспективы. – Самохваловичи, 2010. – С. 154-159.