

УДК 632.4.01/.08 :575.174.015.3 : 57.083.182

## ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ *VENTURIA INAEQUALIS* В САДОВЫХ НАСАЖДЕНИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ И РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ

Насонов А.И., канд. биол. наук, Якуба Г.В., канд. биол. наук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства»  
(Краснодар)

**Реферат.** Анализ характера распределения морфотипов *Venturia inaequalis* в различных садовых насаждениях показал наличие значительного генетического разнообразия внутри популяции патогена. Оно обусловлено разнообразием генотипов растений-хозяев, используемых в односортовых насаждениях. Связи со степенью устойчивости к парше яблони изученных сортов и уровнем дифференциации популяции патогена не было отмечено.

**Ключевые слова:** парша яблони, моноспорные изоляты, морфотип, внутривидовое разнообразие, полиморфизм, популяция

**Summary.** Analysis of the pattern of morphotypes' distribution of *Venturia inaequalis* in the various horticultural plantations has shown the presence of significant genetic diversity within the pathogen population. It was conditioned by a variety of genotypes of host plants used in the monosort plantations. Relation of the degree of resistance to scab of studied apple varieties with the level of differentiation of the pathogen's populations was not noted.

**Key words:** apple scab, monosporic isolates, morphotype, diversity within population, polymorphism, population

**Введение.** Увеличение на плодовых породах юга России вредоносности основных заболеваний и снижение эффективности систем защиты от них, начиная с 1995 года, отмечают многие исследователи. Лидирующие позиции из микозов яблони, как наиболее опасный, сохраняет парша, вызываемая патогенным аскомицетом *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter. Парша в насаждениях Северного Кавказа отмечается повсеместно. По частоте эпифитотий и степени вредоносности заболевания регион относится к зоне сильного её развития. В годы эпифитотийного развития болезни поражены у восприимчивых сортов могут быть от 80 до 100% плодов [1].

Управление агроэкосистемами, отвечающее требованиям рационального природопользования, ресурсосбережения, экологической и пищевой безопасности, невозможно без прогноза хода продукционного процесса культурных растений, влияния на него фитофагов и фитопатогенов. Мониторинг патогенов сельскохозяйственных растений как составная часть экологического мониторинга относится к важным направлениям контроля состояния окружающей среды. Значимость такого анализа в настоящее время возрастает, что связано с лидирующей ролью химического метода в защите растений.

Для разработки приёмов управления популяцией вредного организма, и в частности возбудителя болезни, в желаемом направлении предварительно необходимы многолетние данные о его биологии: наблюдения за динамикой популяции – её структурой, численностью, изменчивостью, формированием экологических связей, выявлением условий, способствующих возникновению эпифитотий [1].

Для *V. inaequalis* характерна необычная стратегия паразитизма, выработанная патогеном в процессе эволюционного развития, заключающаяся в его способности получать

питание и развиваться без проникновения в клетки растения-хозяина в субкутикулярном пространстве. Возможно, это приспособление является одним из способов обойти иммунную систему хозяина [2]. Цикл развития патогена включает ежегодную половую стадию и множественные циклы бесполого размножения. Наличие полового процесса обеспечивает высокую изменчивость и разнообразие *V. inaequalis*, которую можно наблюдать как в естественных условиях, так и при культивировании *in vitro* на питательных средах. Этот процесс определяет неоднородность внутривидового состава патогена, которая была показана как отечественными учёными [3–8], так и зарубежными авторами [9–14].

В большинстве исследований было показано высокое внутривидовое разнообразие возбудителя парши яблони. Некоторыми авторами отмечалась более широкая дифференциация на полукультурных и диких видах яблони [6, 11], что согласуется с концепцией сопряженной эволюции растения-хозяина и паразита на их общей родине [15, 16]. Согласно этой концепции, в процессе эволюции растение-хозяин образует новые разновидности и формы, а паразиты – новые расы и биотипы.

Так, недавно в результате масштабного исследования, международной группой ученых было показано, что родиной *V. inaequalis* является Средняя Азия, а именно юго-восточная часть Казахстана, граничащая с Кыргызстаном и Китаем, где патоген возник на дикой яблоне *Malussiversii*, являющейся предком яблони домашней. Именно оттуда, в процессе окультуривания яблони, патоген проник сначала в Европу, а далее и по всему миру [11]. Однако при высокой внутривидовой дифференциации фитопатогенный гриб характеризуется низким межпопуляционным разнообразием [11, 12, 17], что объясняется свободным потоком генов между популяциями, обусловленным, главным образом, хозяйственной деятельностью человека – транспортом зараженного посадочного материала и плодов [11, 12].

Также было отмечено, что одним из главных факторов, определяющим различия внутри популяции *V. inaequalis*, является сортовой состав сада [18–20], причем ассортимент не только устойчивых сортов, но и восприимчивых. Sierotzki et al [19] выяснили, что изолят, выделенный с конкретного восприимчивого сорта или дерева сада, эффективнее заражает только то же самое дерево или сорт в пределах сада, не поражая или инфицируя в более слабой степени другие восприимчивые сорта (деревья) в этом саду. Полученные ими данные говорят о существовании даже у восприимчивых сортов незначительной полевой устойчивости, которая и определяет сложную картину внутривидового разнообразия, указывая на постоянно протекающий процесс сопряженной эволюции паразита и его растения-хозяина.

Необходимо отметить, что до 1994 года [19] данные по популяционной генетике патогенного гриба были получены преимущественно с использованием методов морфологической индикации разнообразия, тогда как после, в силу развития молекулярно-генетического инструментария, с помощью ДНК-маркирования. Между тем, оценка внутривидового разнообразия на основе морфологических признаков не потеряла актуальности и в настоящее время как для получения результатов предварительного характера, так и в качестве дополнительного к ДНК-маркированию метода [9, 10, 21].

Целью нашего исследования являлось изучение особенностей внутривидового разнообразия микроскопического гриба *V. inaequalis* – возбудителя парши яблони в различных зонах садоводства Краснодарского края и республики Адыгея на основе оценки варьирования морфолого-культуральных признаков его моноспоровых изолятов.

**Объекты и методы исследований.** Работа проведена в лаборатории генетики и микробиологии СКЗНИИСиВ. Объектами исследований служили возбудитель парши яблони *V. inaequalis* (сумчатая стадия), его моноаскоспоровые изоляты и сорта яблони. Изоляты патогенного гриба были выделены в 2015 году в плодовых хозяйствах ЗАО «ОПХ «Цен-

тральное», ОАО «Агроном», КХ «Мускат» (Адыгея), в моносортных яблоневых насаждениях. Были изучены сорта, относящиеся, согласно современной оценке, к двум группам полевой устойчивости: высоковосприимчивые – Гала, Глостер, Ренет Симиренко, Чемпион; средневосприимчивые – Голден Делишес, Делишес, Женева Эрли. Для получения изолятов использовали прошлогодний листовой опад яблони с поражениями парши в виде псевдотециев. Отбор образцов листового опада осуществляли в период, когда заканчивалось созревание плодовых тел гриба и происходил лет аскоспор: в течение марта-мая. Схема и объем отбора образцов проводились согласно общепринятым и адаптированным методикам [22]. Выделение возбудителя в чистую культуру и получение моноспоровых изолятов осуществляли из его аскоспоровой стадии по оригинальной методике, предложенной авторами [14]. Для оценки морфолого-культуральных характеристик изоляты выращивали в течение месяца на картофельно-глюкозном агаре (состав питательной среды: картофельный отвар – 100 г картофеля/л, 20 г глюкозы и 15–20 г агар-агара [23]) при температуре 20°C.

**Обсуждение результатов.** Предварительно в выборке полученных изолятов был проведен морфолого-культуральный анализ и определено присутствие 10 морфологических типов колоний, которые предположительно отражают генетические различия в популяции патогена. В данной работе нами были изучены закономерности распространения этих морфотипов в трех садах в зависимости от сорта, географического и агроэкологического расположения сада, степени устойчивости сортов.

В табл. 1 представлен объем выборки изолятов, полученных с различных сортов яблони. Наибольшее количество изолятов было выделено на сортах Гала и Голден Делишес – 10 и 9 соответственно. Меньше всего изолятов было получено с сорта Делишес.

Таблица 1 – Количество моноспоровых изолятов *Venturiainaequalis*, полученных с различных по устойчивости к парше, географическому и агроэкологическому происхождению образцов яблони

Сорт-хозяин	Положение сада	Восприимчивость сорта к парше	Агроэкологическая зона	Кол-во изолятов
Делишес	п. Водники	Высокая	Прикубанская	2
Ренет Симиренко	-//-	Высокая	Прикубанская	6
Голден Делишес	-//-	Средняя	Прикубанская	9
Гала	-//-	Высокая	Прикубанская	10
Глостер	п. Агроном	Средняя	Прикубанская	4
Женева Эрли	п. Агроном	Средняя	Прикубанская	4
Чемпион	Адыгея, ст. Абадзехская	Высокая	Предгорная	8
Всего				43

По агроэкологическому происхождению наибольшей оказалась выборка из Прикубанской зоны, она составила 35 изолятов, тогда как в Предгорной зоне всего 8, что связано с меньшим объемом выборки: локация представлена только сортом Чемпион. Этот же сорт был единственным в группе слабовосприимчивых сортов, в то время как высоко- и средневосприимчивые сорта имели примерно равные количества изученных образцов и изолятов: по три сорта-хозяина и 18 и 17 колоний, соответственно.

Между тем, количество полученных изолятов и количество, выявленных в результате морфолого-культурального анализа морфотипов, не коррелировало (табл. 2). Так, в самой большой выборке изолятов, полученных на сорте Гала, было выделено всего 3 морфотипа,

тогда как на сорте Ренет Симиренко из 6 чистых культур 4 имели различную морфологию, а у сорта Делишес оба изолята оказались представителями морфотипа. При этом некоторые морфотипы встречались чаще, чем другие.

Таблица 2 – Распределение морфотипного состава *V. inaequalis* в зависимости от сорта

Морфотип	Гала	Делишес	Ренет Симиренко	Голден Делишес	Глостер	Женева Эрли	Чемпион
1	+	+	-	+	+	-	-
2	+	+	-	+	+	-	+
3	-	-	+	-	-	-	+
4	-	-	+	-	-	+	-
5	-	-	-	-	-	+	-
6	+	-	-	-	-	-	+
7	-	-	-	+	-	-	-
8	-	-	+	+	-	-	-
9	-	-	+	-	-	-	-
10	-	-	-	+	-	-	-

Условные обозначения: + наличие морфотипа на сорте.

Наиболее распространёнными оказались морфотипы 1 и 2, которые были найдены у 57% и 71% сортов, соответственно. С другой стороны, редкими, встреченными только на одном из сортов, были морфотипы 5, 9 и 10, выделенные с сортов Женева Эрли, Ренет Симиренко и Голден Делишес. Интересно, что один из сортов, имевших редкую морфу, также не содержал распространенные морфотипические варианты 1 и 2; такая картина была характерна для сорта Ренет Симиренко. Кроме того, морфотипы 1 и 2 не были выделены и с сорта Женева Эрли.

Если судить о количестве найденных вариантов на одном сорте, то первенство принадлежит сорту Голден Делишес, на котором было получено 5 морфотипов, а также сорту Ренет Симиренко – 4 морфотипа. На остальных 5 изученных сортах количество встреченных морфотипов колебалось от 2 до 3. Таким образом, морфотипный состав различался в зависимости от сорта в односортовом насаждении, что характеризует высокий внутривидовой уровень разнообразия *V. inaequalis*. Этот факт подтверждается исследованиями многих авторов, проведенных с использованием различных методик оценки внутривидового разнообразия патогена [6, 11, 12, 17].

Анализ распределения морфотипного состава в зависимости от восприимчивости сортов к парше яблони показал одинаковую степень морфологической дифференциации в группах с высокой и средней восприимчивостью к патогену (табл. 3). Количество морфотипов в этих группах было равно 7. В группе слабовосприимчивых сортов было найдено 3 морфотипа (см. табл. 1). Сравнение этих двух групп позволяет сказать, что степень восприимчивости сорта не влияет на уровень морфологического разнообразия патогена.

Л.В. Бондарь отмечает, что значительное разнообразие штаммового состава популяций патогена на восприимчивых сортах в односортовых насаждениях указывает на то, что на процессы конкуренции между различными клонами гриба влияют генотипы не только устойчивых сортов, но и восприимчивых [18].

В связи с тем, что образцы патогена были отобраны в разных географических точках, две из которых достаточно удалены и располагаются в разных агроэкологических зонах, возможно оценить влияние этого фактора, а также расстояния на особенности морфологического разнообразия возбудителя парши. Так, сады ЗАО «ОПХ «Центральное» и

ОАО «Агроном» относится к Прикубанской зоне, тогда как сад КХ «Мускат» располагается в Предгорной зоне. Однако это сравнение в некоторой степени может носить только предварительный характер, так как сравниваемые выборки значительно отличаются как количеством анализируемых изолятов, так и сортов-хозяев.

Таблица 3 – Распределение морфотипного состава *V. inaequalis* в зависимости от восприимчивости сорта к парше яблони

Морфотип	Высокая	Средняя
1	+	+
2	+	+
3	+	-
4	+	+
5	-	+
6	+	-
7	-	+
8	+	+
9	+	-
10	-	+
%	70	70

В саду КХ «Мускат» было изучено насаждение только сорта Чемпион, а выборка оцениваемых моноспоровых изолятов составила 9 штук, тогда как в другой точке было 6 сортов и 35 изолятов (см. табл. 1). Однако, принимая во внимание все сказанное, можно отметить, что в Прикубанской зоне присутствовали все варианты морфотипов, в том числе и те, которые встречались в Предгорной зоне (табл. 4).

Таблица 4 – Распределение морфотипного состава *V. inaequalis* в зависимости от агроэкологической зоны

Морфотип	Прикубанская	Предгорная
1	+	-
2	+	+
3	+	+
4	+	-
5	+	-
6	+	+
7	+	-
8	+	-
9	+	-
10	+	-
%	100	30

Таким образом, изученные географические локации, различаясь по морфотипному разнообразию количественно, не различались качественно, так как в точке с меньшей выборкой встречались те же морфотипы, что и во второй. Следовательно, состав морфотипов Предгорной зоны был не уникальным, и можно говорить о низком уровне различий между двумя популяциями патогена. В мировой научной литературе отмечается, что при высокой внутривидовой дифференциации фитопатогенный грибок характеризуется низким межпопуляционным разнообразием [11, 12, 17].

Предполагается, что факт обусловлен свободным потоком генов между популяциями патогена, главным образом в результате хозяйственной деятельности человека – транспортом зараженного посадочного материала и плодов, так как естественная способность *V. inaequalis* к распространению достаточно ограничена [11, 12].

Сравнение морфотипного состава патогена в различных хозяйствах показало обладание разнообразия в ЗАО «ОПХ «Центральное», где были оценены изоляты с 4 сортов (табл. 5). Между тем, два моносортных насаждения ОАО «Агроном» отличались одним редким морфотипом от садов ЗАО «ОПХ «Центральное» и тремя морфологическими вариантами от КХ «Мускат». При этом сад в КХ «Мускат» не имел редких, в сравнении с ЗАО «ОПХ «Центральное», морфотипов.

Таблица 5 – Распределение морфотипного состава *Venturia inaequalis* в различных садовых хозяйствах (популяциях патогена)

Морфотип	ЗАО ОПХ «Центральное»	ОАО «Агроном»	КХ «Мускат»
1	+	+	-
2	+	+	+
3	+	-	+
4	+	+	-
5	-	+	-
6	+	-	+
7	+	-	-
8	+	-	-
9	+	-	-
10	+	-	-
%	90	40	30

**Выводы.** Оценка морфотипного состава моноаскоспоровых изолятов в различных садовых насаждениях Краснодарского края и Республики Адыгея показала большое генетическое разнообразие местной популяции *V. Inaequalis*. Уровень полиморфизма популяции гриба зависел от конкретного сорта в односортовых насаждениях. Однако зависимости внутривидовой дифференциации от степени восприимчивости не было отмечено.

Наиболее полиморфными были изоляты патогена, найденные на сортах Голден Делишес и Ренет Симиренко из промышленных насаждений ЗАО ОПХ «Центральное». При высокой внутривидовой дифференциации возбудитель парши яблони характеризовался низким межпопуляционным разнообразием, что согласуется с данными зарубежных исследователей.

### Литература

1. Якуба, Г.В. Экологизированная защита яблони от парши в условиях климатических изменений: Монография / Г.В. Якуба. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2013. – 213 с.
2. Насонов, А.И. Парша яблони: особенности возбудителя и патогенеза / А.И. Насонов, И.И. Супрун // Микология и фитопатология. – 2015. – Т. 49. – Вып. 5. – С. 275 – 285.
3. Жданов, В.В. Патогенность моноспоровых линий *Venturia inaequalis* (СКЕ) Wint / В.В. Жданов, Е.Н. Седов // Микология и фитопатология. – 1976. – Т. 10. – Вып. 5. – С. 421 – 423.
4. Дорожкин, Н.А. Вирулентность штаммов возбудителя парши яблони / Н.А. Дорожкин, Л.В. Бондарь, Н.А. Коновалова // Микология и фитопатология. – 1979. – Т. 13. – Вып. 5. – С. 401-404.

5. Федорова, Р.Н. Парша яблони / Р.Н. Федорова. – Л.: Колос, Ленингр. отд-ние, 1977. – 64 с.
6. Барсукова, О.Н. Парша яблони в Европейской части СССР / О.Н. Барсукова // Микология и фитопатология. – 1983. – Т. 17. – № 5. – С.395 – 403.
7. Барсукова, О.Н. Расовый состав *Venturia inaequalis* (Ске.) Wint, на Кавказе / О.Н. Барсукова // Микология и фитопатология. – 1985. – Т. 19. – Вып. 6. – С.499-502.
8. Барсукова, О.Н. Изменение расового состава *Venturia inaequalis* (Ске.) Wint. / О.Н. Барсукова // Микология и фитопатология. — 1991. – Т. 25. – Вып. 6. – С. 546-549.
9. Комардина, В.С. Особенности культурально-морфологических признаков возбудителя парши яблони *Venturiainaequalis* (Coock.) Wint (конидиальная стадия *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck.), выделенных из садов различных типов / В.С. Комардина // Защита растений: сборник научных трудов / РУП "Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию", Республиканское научное дочернее унитарное предприятие "Институт защиты растений". – Минск, 2006. – Вып. 30, Ч. 2. – С. 121 – 129.
10. Козловская, З.А. Внутривидовая неоднородность *Venturiainaequalis*– возбудителя парши яблони / З.А. Козловская, Т.А. Гашенко // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2009. – № 4. – С. 97 – 100.
11. Gladieux, P. On the origin and spread of the scab disease of apple: out of central Asia / P. Gladieux, X.G. Zhang, D. Afoufa-Bastien [et al.] // PLoSOne. – 2008. – V. 3. – №. 1. – С. e1455.
12. Tenzer, I. Subdivision and genetic structure of four populations of *Venturiainaequalis* in Switzerland / I. Tenzer, C. Gessler // European Journal of Plant Pathology. – 1997. – Vol. 103. – №. 6. – P. 565 – 571.
13. Khajuria, Y.P. Molecular Characterization of *Venturiainaequalis* Causing Apple Scab in Kashmir / Y.P. Khajuria, S. Kaul, M.K. Dhar // Open Access Scientific Reports. – 2012. – 1:339. doi:10.4172/scientificreports.339
14. Padder, B.A. Virulence and molecular diversity of *Venturiainaequalis* in commercial apple growing regions in Kashmir / B. A. Padder, T. A. Sofi, M. Ahmad [et al.] // Journal of Phytopathology. – 2013. – Vol. 161. – №. 4. – P. 271 – 279.
15. Жуковский, П.М. Культурные растения и их сородичи / П.М. Жуковский. – Л.: Колос, 1971. – 751 с.
16. Дьяков, Ю.Т. Популяционная биология фитопатогенных грибов / Ю.Т. Дьяков. – М.: ИД «Муравей», 1998. – 384 с.
17. Gladieux, P. Evolution of the population structure of *Venturiainaequalis*, the apple scab fungus, associated with the domestication of its host / P. Gladieux, X.-G. Zhang, Ronald-Ruiz I. [et al.] // Molecular Ecology. – 2010. – Vol. 19. – №. 4. – P. 658 – 674.
18. Бондарь, Л.В. Сравнительное изучение популяций возбудителя парши яблони по морфологическим признакам / Л. В. Бондарь // Защита растений (сборник науч. трудов). – Минск: Ураджай, 1988. – Вып. XIII. – С. 21-25.
19. Sierotzki, H. Detection of variation in virulence toward susceptible apple cultivars in natural populations of *Venturiainaequalis* / H. Sierotzki, M. Eggenschwiler, O. Boilatt, J. M. McDermott, C. Gessler // Phytopathology. – 1994. – Vol. 84. – P. 1005 – 1009.
20. Xu, X. Population variation of apple scab (*Venturiainaequalis*) within mixed orchards in the UK / X. Xu, N. Harvey, A. Roberts, D. Barbara // European journal of plant pathology. – 2013. – Vol. 135. – №. 1. – P. 97 – 104.
21. Verma, K.D. Cultural and morphological variability in *Venturiainaequalis*, the apple scab pathogen / K. D. Verma, J. N. Sharma // Journal of Mycology and Plant Pathology. – 1997. – Vol. 27. – № 3. – P. 251-254.
22. Якуба, Г.В. Метод определения количества первичного инокулюма возбудителя зимующей стадии парши яблони / Г.В. Якуба, В.М. Смольякова // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2010. – С. 172-178.
23. Жданов, В.В. Селекция яблони на устойчивость к парше / В.В. Жданов, Е.Н. Седов. – Тула: Приок. кн. изд-во, 1991. – 208 с.