

УДК 634.2:634.52:634.4

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УСТОЙЧИВОСТИ
ФОРМ РОДА *CERASUS* MILL. К КОККОМИКОЗУ****Шестакова В.В.**, канд. с.-х. наук, **Кузнецова А.П.**, канд. с.-х. наук,
Ненько Н.И., д-р с.-х. наук*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский
зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства»
(Краснодар)*

Реферат. В статье приведены результаты исследования физиологических механизмов устойчивости форм рода *Cerasus* Mill. к коккомикозу. Для форм, не поражаемых болезнью и с полигенным типом устойчивости, установлено повышенное содержание лигнина в разные периоды развития инфекции, а также наличие более толстой кутикулы и меньшего количества устьиц на мм² на разных участках листовой поверхности.

Ключевые слова: иммунитет растений, коккомикоз, формы рода *Cerasus* Mill., физиолого-биохимические механизмы

Summary. The results of study of physiological mechanisms of resistance of forms *Cerasus* Mill. sort to cherry leaf spot are presented in the article. The high content of lignin at different periods of infection set for forms, not infected by the disease and with polygenic type of resistance, as well as the presence of a thick cuticle and fewer stomata per mm² in the different surface areas of foliage.

Key words: plant immunity, cherry leaf spot, forms of sort *Cerasus* Mill., physiological and biochemical mechanisms

Введение. Изучение физиолого-биохимических параметров устойчивости к биотическим стрессорам является важным направлением в селекции на устойчивость растений к патогенам [1]. В СКЗНИИСиВ продолжают исследования по выявлению показателей, коррелирующих с устойчивостью к одному из наиболее вредоносных на юге России заболеваний – коккомикозу *Coccomyces hiemalis* Higg [2]. Для решения поставленной задачи используется современное аналитическое оборудование, позволяющее проводить комплексные анатомо-морфологические и физиолого-биохимические работы по выявлению барьеров для развития инфекции, связанных с механическими особенностями в строении и развитии органов растений, а также с синтезом компонентов вторичного метаболизма, препятствующих проникновению и распространению патогена.

Существуют противоречивые данные о роли фенольных соединений, в частности хлорогеновой кислоты в этих процессах, и опушенности листовой пластинки [2-6]. В связи с этим цель работы – изучения физиологических особенностей листовой пластинки у не поражаемых, с полигенным типом развития болезни, и сильно поражаемых коккомикозом форм рода *Cerasus* Mill. коллекции СКЗНИИСиВ.

Объекты и методы исследований. Исследования проводились в коллекционном саду ЗАО ОПХ «Центральное» СКЗНИИСиВ (Краснодар) в 2014-2015 гг.

Объекты исследований:

– не поражаемые коккомикозом гибридные формы рода *Cerasus* Mill.:

7-164-I (Норд Стар × 11-18 (С. *lannesiana* №2 × Франц Иосиф)), АИ1 (Студенческая Х С. *lannesiana* №2), 1-59-08 (сеянец от свободного опыления 10-15 [С. *incisa* × Полянка]), 3-39-08 (Булатниковская × [Молодежная × С. *lannesiana* №2]);

- формы с элементами горизонтальной устойчивости: 3-10-Т и сорт черешни Франц Иосиф;
- сильно поражаемые сорта вишни Любская и Чернокорка.

Схема посадки – 5 x 1 м. Обработки от грибных болезней не проводились.

Учеты по развитию и распространению коккомикоза проводили по общепринятой методике М.С. Ленивцевой [7], с интервалом 14 дней. Содержание хлорогеновой кислоты определяли методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 104Т [8], содержание лигнина в листьях растений – весовым методом с помощью общепринятой методики [9].

Ряд анализов выполнен на оборудовании приборно-аналитического центра коллективного пользования Северо-Кавказского зонального НИИ садоводства и виноградарства.

Анатомические признаки листьев черешни (толщина кутикулы, опушенность листовой пластинки, количество устьиц на нижнем эпидермисе) исследовались согласно соответствующим методикам, с помощью светового микроскопа Olympus BX41 в период максимального проявления инфекции (в июле) [10].

Для статистической обработки полученных данных использовались стандартные биометрические методы [11]. Все необходимые вычисления выполнены на IBM PC с помощью пакета программ Stat Soft STATISTICA 10.0.

Обсуждение результатов. Проведено исследование содержания лигнина в листьях, участвующего в процессе лигнификации, который относится к числу важнейших биохимических процессов, проявляющихся как при механическом повреждении, так и в ходе развития ответных реакций на внедрение патогенов. Анализы проводились трехкратно: до развития коккомикоза (10.06), во время эпифитотии (21.07) и после развития патогена (12.08), в условиях 2015 года (рис. 1).

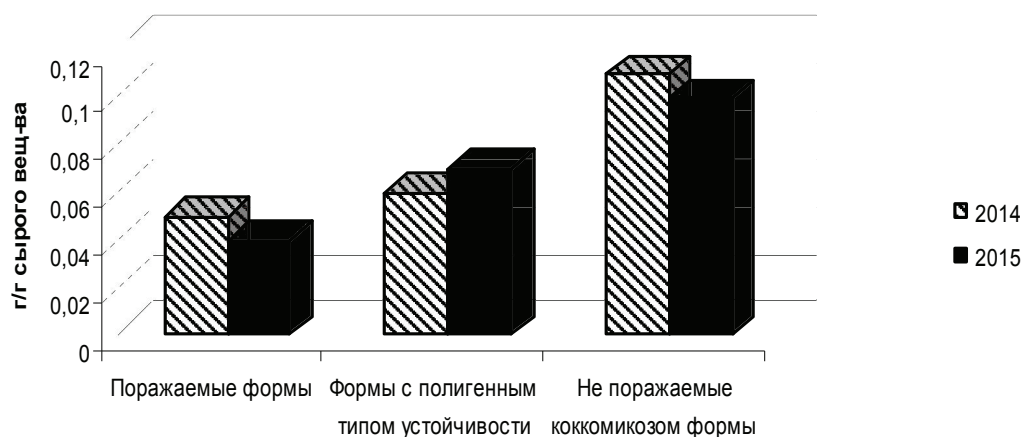


Рис. 1. Динамика содержания лигнина в листьях форм рода *Cerasus* Mill., различающихся по устойчивости к коккомикозу, лето 2015 г.

Содержание «сырого лигнина» в листьях всех изучаемых форм возрастало в период эпифитотии (21.07) и снижалось после развития инфекции (12.08). Предшественником лигнина является хлорогеновая кислота. Увеличение ее концентрации в инфицированной клетке при одновременном активировании окислительных процессов может привести к тому, что проникшие в клетку гифы паразита будут лишены кислорода, ограничивая развитие инфекции.

Изучение содержания хлорогеновой кислоты было начато нами еще с 2003 года и подтвердилось данными за 2015 год. В ранее проведенных исследованиях установлено, что на ее концентрацию существенное влияние оказывают условия года, в том числе стресс факторы, которые значительно воздействуют на физиолого-биохимический обмен растений [1, 4].

Исследование содержания хлорогеновой кислоты в условиях 2015 года проводилось параллельно с изучением содержания лигнина в листьях при максимальном развитии инфекции, которое в 2014 и 2015 гг. наблюдалось в начале июля.

Выявлено значительное повышение концентрации кислоты в листьях у не поражаемых вишне-черешневых гибридов, по сравнению с сильно поражаемыми – в 5,7 раза в 2014 г. и в 4,7 раза в 2015 г., что не противоречит полученным показателям содержания лигнина в клеточных стенках (рис. 2).



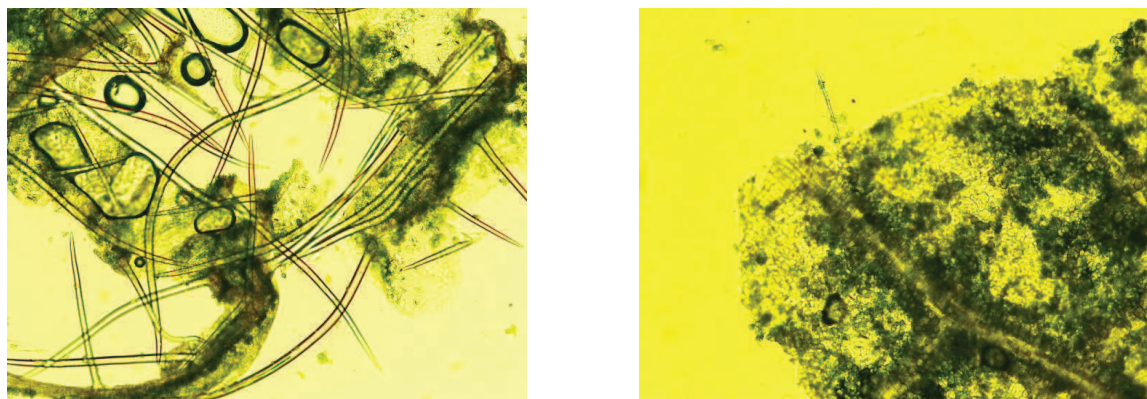
Рис. 2. Содержание хлорогеновой кислоты в листьях форм рода *Cerasus* Mill., различающихся по устойчивости к коккомикозу

Устойчивость растений к заболеваниям обусловлена рядом факторов, в том числе несовпадением критических фаз развития хозяина и паразита (избегание болезни), анатомо-морфологическими особенностями строения эпидермиса и кутикулы листьев, наличием опушенности или воскового налета [12].

Нами было проведено исследование анатомических особенностей строения листовой пластинки (толщины кутикулы, устьичного аппарата – количества устьиц на 1 мм²) у форм рода *Cerasus* Mill. с различными типами устойчивости к коккомикозу:

- сильно поражаемые формы вишни Любская, Чернокорка;
- с полигенным типом устойчивости – форма 3-10-Г, сорт черешни Франц Иосиф, вишне-черешневые гибриды 2-39-08 (Булатниковская × 11-17 [С. *Lannesiana* №2 × Франц Иосиф]);
- не поражаемые вишне-черешневые гибриды коллекции СКЗНИИСиВ: 7-164-I (Норд Стар × 11-18 (С. *Lannesiana* №2 × Франц Иосиф)), АИ1 (Студенческая × С. *lannesiana* №2), 1-59-08 (сеянец от свободного опыления 10-15 [С. *incisa* × Полянка]), 3-39-08 (Булатниковская × [Молодежная × С. *lannesiana* №2]).

Существуют противоречивые сведения по влиянию опушенности листьев на устойчивость растений к грибным заболеваниям (рис. 3) [5].

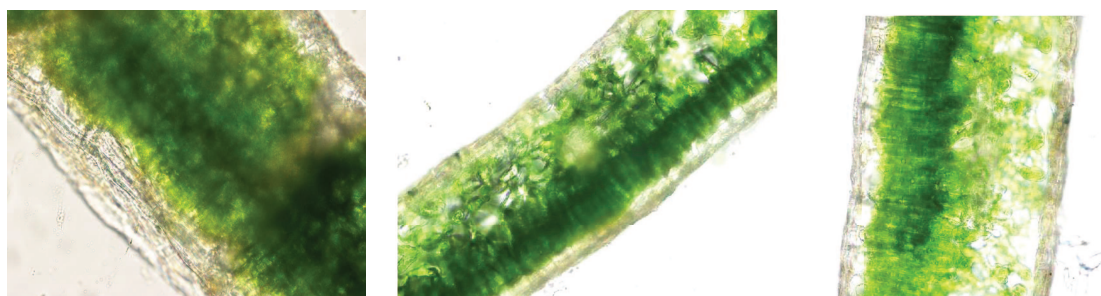


А

Б

Рис. 3. Микрофото продольных срезов листовой пластинки гибридных форм:
 А – поражаемая коккомикозом форма 2-90-09 (*C. canescens* × *C. avium*)
 (увеличение 10 × 10); Б – не поражаемая коккомикозом гибридная форма АИ1
 (вишня Студенческая × *C. lannesiana* №2) (увеличение 10 × 10)

У изученных нами восприимчивых форм отмечено наличие волосков, в отличие от исследуемых не поражаемых или слабо поражаемых образцов, производных от восточно-азиатских видов. Непоражаемая гибридная форма и образец с полигенным типом устойчивости имеют ярко выраженный плотный, однородный слой под кутикулой, клетки столбчатой эпидермы плотно примыкают друг к другу, что является дополнительным фактором устойчивости к болезни (рис. 4).



А

Б

В

Рис. 4. Микрофото поперечных срезов листовой пластинки форм рода *Cerasus* Mill. с различной степенью устойчивости к коккомикозу (увеличение 4 × 10).
 А – не поражаемая форма АИ1 (вишня Студенческая × *C. lannesiana* №2);
 Б – средне поражаемая форма АИ70-1-1 (Молодежная × смесь пыльцы *C. lannesiana* №2 и Норд Стар);
 В – сильно поражаемая форма, сорт вишни Любская (увеличение 4 × 10).

Анатомические исследования листовой пластинки показали, что у поражаемых коккомикозом форм рода *Cerasus* Mill толщина кутикулы меньше, чем у не поражаемых и форм с полигенным типом устойчивости (рис. 5).

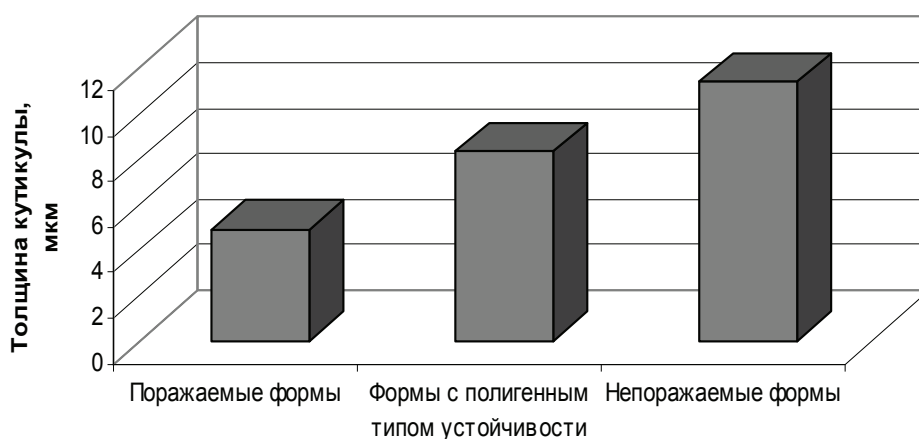


Рис. 5. Средние значения толщины кутикулы у форм рода *Cerasus* Mill. с различной степенью устойчивости к коккомикозу

В 2015 году нами была продолжена работа по изучению устьичного аппарата вышеперечисленных форм рода *Cerasus* Mill., различающихся по поражаемости коккомикозом. Исследовано количество устьиц на разных участках листовой пластинки (около центральной жилки и на краю листа) (табл. 1).

Таблица – 1 Количество устьиц листовой пластинки форм рода *Cerasus* Mill., различающихся по поражаемости на разных участках листа (июль, 2015)

Сорт, форма	Средний балл поражения	Количество устьиц на 1 мм ² , шт.	
		Около жилки	Край листа
Сильно поражаемые	3,75	301,50±0,0000	276,50±0,0000
Не поражаемые и слабо поражаемые	1,17	170,00±44,9259	157,83±23,7664

Количество устьиц у сильно поражаемых форм больше как около жилки (в 1,8 раза), так и на краю листа (в 1,6 раза), чем у не поражаемых и слабо поражаемых форм. В ранее проведенных исследованиях (2012-2014 гг.) установлены статистически значимые различия по количеству устьиц на мм² на всей поверхности листа, которые подтвердились в исследованиях 2015 года (табл. 2) [13].

Таблица 2 – Среднее количество устьиц листовой пластинки у форм рода *Cerasus* Mill. с разной степенью поражения коккомикозом

Показатель	Сорта, гибридные формы	
	Сильно поражаемые формы (балл поражения более 3)	Не поражаемые и слабо поражаемые формы (балл поражения не более 2)
Количество устьиц на 1 мм ² , шт.	305	163
t-критерий Стьюдента	30,26**	

Выводы. Нами установлено, что у всех изучаемых образцов *Cerasus* Mill. в момент максимального развития коккомикоза соединение лигнина в листьях повышается и снижается после развития патогена, что свидетельствует о наличии активных структурных изменений клеточных стенок у устойчивых форм в ответ на внедрение и развитие коккомикоза.

Доказательством наличия пассивного иммунитета у вишне-черешневых гибридов являются полученные результаты анатомо-морфологических исследований: не поражаемые коккомикозом формы в отличие от сильно поражаемых имеют более толстую кутикулу, меньшее число устьиц на мм² и опушенность листовой пластинки в виде волосков. Указанные физико-химические показатели могут использоваться при оценке устойчивости форм рода *Cerasus* Mill. к коккомикозу.

Литература

1. Blazkova, J. Resistance to abiotic and biotic stressors in sweet cherry rootstocks and cultivars from the Czech Republic / J. Blazkova // J. Fruit Ornament Plant Res. 2004. – V.12. – P. 303-311
2. Шестакова, В.В. Морфо-анатомические и физиолого-биохимические критерии селекционной оценки устойчивости форм рода *Cerasus* Mill. к коккомикозу: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.05. / В.В. Шестакова. – Краснодар, 2015. – 24 с.
3. Мотылева, С.М. Оценка устойчивости генотипов черешни к коккомикозу по биохимическим показателям / С.М. Мотылева, Е.Н. Джегадло, М.Е. Мертвищева // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 28. – № 2. – С. 90-96
4. Кузнецова, А.П. Ускоренная оценка устойчивости черешни и вишни к коккомикозу и монидиозу / А.П. Кузнецова // Садоводство и виноградарство. – 2005. – № 1. – С. 19-20.
5. Кузнецова, А.П. Возможности использования биохимических показателей для идентификации устойчивости сортов и гибридов рода *Cerasus* к коккомикозу / А.П. Кузнецова, В.В. Шестакова, С.Н. Щеглов // Научно-практический журнал Агро XXI № 1-2. – 2011. – С. 27-26.
6. Юрченко, Е.Г. Изучение механизмов физиолого-биохимического барьера к возбудителю альтернариоза (*Alternaria tenuissima* kunze ex pers.) у растений рода *Vitis* / Е.Г. Юрченко, А.П. Кузнецова, Ю.Ф. Якуба, В.В. Шестакова // III Вавиловская Международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире», 6-9 ноября, Санкт-Петербург, 2013. – С. 117-118.
7. Ленивцева, М.С. Изучение устойчивости косточковых культур к коккомикозу / М.С. Ленивцева. – Методич. указания. СПб.: ВИР, 2010. – 28 с.
8. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. – 300 с.
9. Лебедев, П.Т. Методы исследования кормов, органов и тканей животных / П.Т. Лебедев, А.Т. Усович. – М.: Россельхозиздат, 1976. – 389 с.
10. Киселева, Г.К. Анатомо-морфологическая оценка адаптивного потенциала сортов плодовых культур и винограда / Г.К. Киселева. – Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. – С. 199-205.
11. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
12. Guy, C. Metabolomic and plant stress / C. Guy, F. Kaplan, J. Kopka et al. // Physiologia Plantarum. – 2008. – Vol. 132. – P. 220 – 235
13. Шестакова, В.В. Оценка устойчивости сорто-форм черешни и вишни к коккомикозу по анатомо-морфологическим признакам / В.В. Шестакова // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. – № 20 (2). – С. 76-81. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/13/02/09.pdf>.