

УДК: 634.2: 575: 632.938.1

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ И ГИБРИДОВ РОДА *CERASUS* К КОККОМИКОЗУ*
POSSIBILITIES OF USE OF BIOCHEMICAL PARAMETERS FOR IDENTIFICATIONS OF STABILITY OF VARIETIES AND HYBRIDS OF VARIETY *CERASUS* TO *BLUMERIELLA JAAPII*

А.П. Кузнецова, В.В. Шестакова, Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства, ул. 40 лет Победы, 39, г. Краснодар, Россия, 350001, тел.: (861) 252-88-85, e-mail: anpalkuz@mail.ru

С.Н. Щеглов, Кубанский государственный университет, ул. Ставропольская, 149, г. Краснодар, Россия, 350040, тел.: (861) 235-28-50, e-mail: gold_finch@mail.ru

A.P. Kuznetsova, V.V. Shestakova, North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture, st. 40 years of Victory, 39, Krasnodar, Russia, 350001, tel.: (861) 252-88-85, e-mail: anpalkuz@mail.ru
S.N. Stcheglov, The Kuban state university, st. Stavropolskaya, 149, Krasnodar, Russia, 350040, tel.: (861) 235-28-50, e-mail: gold_finch@mail.ru

С помощью генетико-статистического анализа проведены исследования биохимического состава листьев растений с различной степенью устойчивости к коккомикозу (*Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx.) — одному из самых вредоносных заболеваний вишни, черешни и других видов рода *Cerasus* Mill. Разработаны подходы к нахождению количественных различий по биохимическим признакам для нахождения коррелятивных связей с устойчивостью.

* Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и администрации Краснодарского края № 09-04-96601

Ключевые слова: коккомикоз, вишня, черешня, формы рода *Cerasus* Mill., биохимические показатели, генетико-статистический анализ, система капиллярного электрофореза.

By means of the genetics & statistical analysis research of biochemical structure of leaves of plants was done, with various resistance to *Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx., one of harmful diseases of a cherry, a sweet cherry and forms of *Cerasus* Mill. Approaches to a finding quantitative biochemical are developed at-signs, correlating with stability.

Key words: *Blumeriella jaapii*, a cherry, a sweet cherry, forms of *Cerasus* Mill., biochemical parameters, the genetiko-statistical analysis, system capillary electrophoresis.

За последнее десятилетие в Краснодарском крае в связи с изменением погодно-климатических условий, усилилась вредоносность коккомикоза (*Blumeriella jaapii* (Rehm) Arx.), значительно снижающего урожайность и зимостойкость деревьев косточковых культур (черешни, вишни). В отдельные годы деревья бывают поражены на 80—100%. Среди сортов вишни и черешни иммунных форм не найдено. Участвовавшее эпифитотийное развитие болезни негативно повлияло и на выход семенного подвоя для косточковых. Проведенные в 2006—2008 гг. исследования внутривидового состава трех популяций *B. jaapii* подтвердили данные о появлении вирулентных биотипов [6]. Все это, в том числе и вовлечение в селекцию новой иммунологической плазмы, требует создания и выделения новых доноров и источников устойчивости к коккомикозу. Следовательно, для получения высокоустойчивых форм черешни, вишни и подвоев для них необходимо создание оптимальных экспресс-методов оценки генетически обусловленной устойчивости к патогену.

В 2003—2010 гг. изучен биохимический состав листьев представителей рода *Cerasus*. Использовали поражаемые коккомикозом сорта вишни Любская, Малышка, Краснодарская сладкая, слабо поражаемый сорт черешни Франц Иосиф и не поражаемые формы — сеянцы от свободного опыления образцов *C. lannesiana* Carr., *C. serrulata* Halle Tolivetto, гибриды *C. lannesiana* × Франц Иосиф, производные от *C. incisa*, а также подвоя косточковых ВП1, ВСЛ-2. Биохимический анализ листьев иммунных и поражаемых коккомикозом форм, взятых с приростов текущего года и отобранных в разных зонах Краснодарского края, проводили весной, летом и осенью. Содержание калия, натрия, магния, кальция, фенольных соединений и органических кислот в экстракте листьев определяли с помощью СВЧ-минерализатора «Минотавр-1», рН-метра «рН 410», системы капиллярного электрофореза «Капель-103Р» [2, 3, 8]. В работе использовали дискриминантный анализ, обеспечивающий объективное сравнение (разделение) групп за счет искусственной минимизации внутригруппового разнообразия (дисперсии) с учетом системы корреляций [1, 5].

Установлено, что степень развития патогена зависит от особенностей физиолого-биохимических процессов в клетке листа. Как правило, защитные соединения являются метаболитами, образование которых свойственно данному виду. Поэтому для создания методов экспресс-оценки одной из наших задач было выявление биохимических показателей, коррелирующих с устойчивостью к патогену. Известно, что при изучении количественных признаков в биологических системах наблюдается значительная изменчивость, поэтому для получения необходимых зависимостей одним из основных требований является отделение паратипической изменчивости от генотипической, для чего необходимо использовать методы генетико-статистического анализа.

Исследования начаты с количественной оценки влияния генотипа и года выращивания на изменчивость биохимических показателей представителей рода *Cerasus*, проведенной с помощью 2-факторного дисперсионного анализа. Установлено, что генотип и год выращивания оказывают статистически достоверное влияние на все биохимические показатели. Результаты дисперсионного анализа данных показали, что структура изменчивости этих показателей в соке листьев растений различна.

С помощью однофакторного дисперсионного анализа доказано, что результаты измерений по каждому году показывают статистически значимые различия и по

временам года (весна, лето, осень). Выявлен этап онтогенеза (май — период активного роста растений), когда обнаруживаются статистически достоверные различия по наибольшему числу биохимических показателей. Сравнение средних значений химических показателей с помощью *t*-критерия Стьюдента между годами подтвердило вывод, что устойчивые и неустойчивые к коккомикозу формы статистически достоверно в этот период различаются по четырем признакам — содержанию магния, кальция, кофейной и янтарной кислот. Данные, полученные весной, значительно сокращают время изучения устойчивости сортов к коккомикозу, т.к. не надо дожидаться развития инфекции в конце сезона, что очень важно при разработке скоренных методов оценки устойчивости. С учетом именно этих четырех признаков, т.е. биохимических показателей, был проведен дискриминантный анализ для окончательного разделения различных форм на устойчивые и неустойчивые к коккомикозу. Он показал, что разделение представителей рода *Cerasus* по выделенным показателям проходит успешно. Получены функции классификации и неравенство, позволяющее выделить из неизвестных форм устойчивые образцы на самом раннем этапе развития растения [4].

Анализ данных по биохимическим показателям в дальнейшие годы показал важность проведения исследований в различные фазы онтогенеза самого растения-хозяина и в различные фазы развития болезни в разных экологических условиях, т.к. это важно для прогнозирования поражения коккомикозом сортов мелкоплодных культур. Для решения вопроса о стабильности различий устойчивых и неустойчивых видов по биохимическим признакам проведено сравнение их средних значений *t*-критерием Стьюдента по срокам измерения и годам исследования. Все признаки оказались задействованы в идентификации устойчивых и неустойчивых сортов, но некоторые стабильно различались каждый год.

Оказалось, что надежным идентификатором устойчивых и неустойчивых видов (показавшим статистически достоверные различия 3 года подряд) в мае является содержание янтарной, кофейной кислот, магния и кальция; в июле — содержание хлорогеновой, кофейной и яблочной кислот, калия; в сентябре — содержание лимонной кислоты.

Для нахождения экологической составляющей содержания биохимических веществ в листьях вишни изучено содержание биохимических веществ в листьях до и после поражения коккомикозом. С помощью *t*-критерия Стьюдента обнаружены стабильные различия в таких показателях, как содержание яблочной кислоты, натрия и кальция.

Выявленная экологическая составляющая изменчивости биохимических признаков позволяет разрабатывать новые методы прогнозирования вредоносности инфекции. Разработка всех форм прогнозов опирается на информацию, которую собирают в строго определенные фенологические периоды в жизненном цикле вредных видов и растений-хозяев. Корректный прогноз наступления этих периодов упрощает систему отбора информации, уменьшает количество учетов и наблюдений. Учет и прогноз фенологии вредных организмов — важнейшая предпосылка для оценки степени их развития в сложившейся экологической обстановке сезона. Одновременно фенологические данные служат критерием для выбора сроков проведения защитных обработок.

Чтобы показать возможность использования биохимических показателей для характеристики степени поражаемости коккомикозом, был также использован

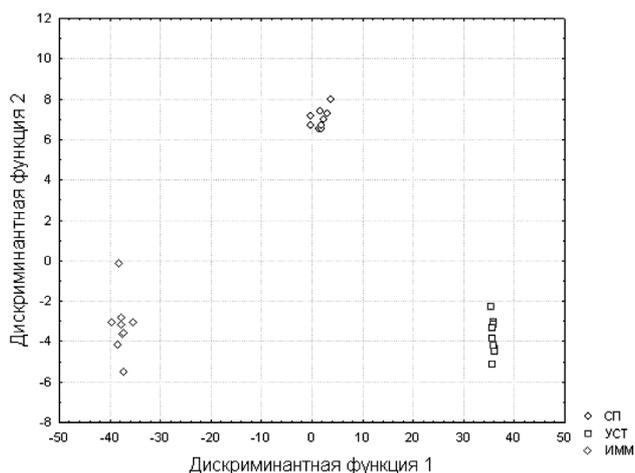


Рис. 1. Распределение сортов по устойчивости к коккомикозу в пространстве дискриминантных функций (2007 г.)

дискриминантный анализ. Учитывая существенные различия данных за разные годы исследования, обнаруженные в дисперсионном анализе, были рассмотрены данные за каждый год отдельно.

На рис. 1 и 2 видно четкое разделение сортов сильно поражаемых (СП), устойчивых (УСТ) и иммунных (ИММ) к коккомикозу. Группы по устойчивости к коккомикозу выделяются с учетом всех трех сроков измерения биохимических признаков (весна, лето, осень). В каждом году исследований наблюдалась практически идеальная ординация сортов по поражаемости в пространстве дискриминантных функций, которые являются не чем иным, как линейной комбинацией исходных биохимических признаков. Близкое положение разных по устойчивости сортов на графике, возможно, объясняется сходным содержанием биохимических веществ в разное время года.

Литература

1. Клекка У.Р. Дискриминантный и кластерный анализ // Факторный дискриминантный и кластерный анализ. — М. 1989. — С.78—137.
2. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель» — СПб., 2006. — С. 79—93.
3. Кузнецова А.П. Роль фенольных соединений в механизмах устойчивости рода *Cerasus* Mill. при поражении коккомикозом // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. науч. тр. ВСТИСП. Т.ХI. — М., 2004. — С.403—410.
4. Кузнецова А.П., Якуба Ю.Ф., Щеглов С.Н. Способ определения устойчивых к коккомикозу форм вишни и черешни // Патент РФ №2343697 от 20.01.2009. Бюл. № 2.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия — М., 1990. — 293 с.
6. Ленивцева М.С., Кузнецова А.П., Волчков Ю.А. Внутривидовая дифференциация и структура популяций коккомикоза // Международная конференция «Информационные системы диагностики, мониторинга и прогноза важнейших сорных растений, вредителей и болезней сельскохозяйственных культур» — Шведский Университет Аграрных Наук, ВИЗР, Санкт-Петербургский аграрный университет. — 2008. — С. 54—55.
7. Чеботарева М.С. Оценка устойчивости черешни и вишни к коккомикозу // Науч.-техн. бюл. ВИР. — 1986. — Вып.162. — С. 27—29.
8. Якуба Ю.Ф. Применение СВЧ-экстракции и высокоэффективного капиллярного электрофореза для анализа вегетативных органов растений // Материалы II Международной конференции «Современное приборное обеспечение и методы анализа почв, растений и с.-х. сырья». — М., 2004. — С.71—74.

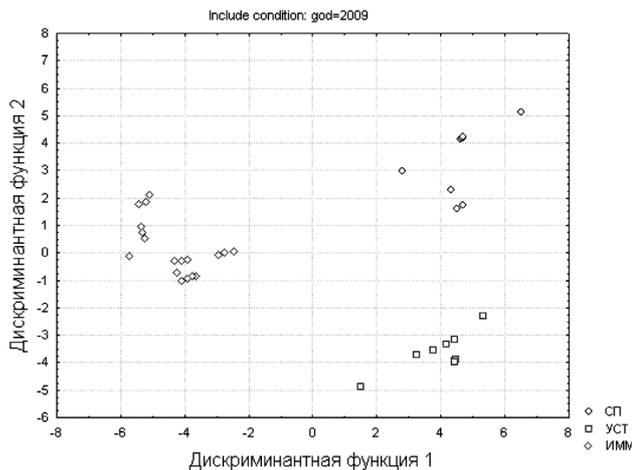


Рис. 2. Распределение сортов по устойчивости к коккомикозу в пространстве дискриминантных функций (2009 г.)

Таким образом, проведенные исследования показывают возможность разработки многомерных статистических методов по выделению форм растений-хозяев с полигенным типом устойчивости. Полученный результат доказывает неоспоримое преимущество их разрешающей способности по сравнению со стандартными методами. Изучение структуры изменчивости биохимических показателей с использованием математико-статистических методов из категории многомерных позволило определить генетико-статистические подходы к нахождению корреляций с иммунитетом, а также разработать экспресс-метод оценки устойчивости к коккомикозу [4]. Полученные результаты могут быть применены в оценке и создании устойчивых форм черешни, вишни и подвоев для них, а также систем прогнозирования поражения культур рода *Cerasus* Mill. коккомикозом. [Z]