

Сухова Е.А.<sup>1</sup>, Горбунова О.С.<sup>2</sup>, Савин Е.З.<sup>1</sup>, Немцева Н.В.<sup>3</sup>, Головин С.Е.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Оренбургский государственный университет

E-mail: post@mail.osu.ru

<sup>2</sup>Оренбургский государственный педагогический университет

E-mail: ospu@ospu.ru

<sup>3</sup>Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН

E-mail: ikvs@esoo.ru

<sup>4</sup>Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства

E-mail: vstisp@vstisp.org

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ И СОРТОВ СМОРОДИНЫ К ТРАХЕОМИКОЗАМ

В современных условиях микозное увядание (трахеомикоз) вызвало повсеместно значительное сокращение площадей, занятых черной смородиной, что повлекло за собой негативные экологические, экономические и социальные последствия. За последнее десятилетие в Южном Оренбуржье, как и в других районах России, Казахстана, Украины отмечается вертициллезное увядание черной смородины, ставшее причиной её гибели.

Увядание не обнаружено на золотистой и белой смородине (*Ribes aureum*, *R. niveum*). В незначительной степени повреждается красная смородина (*R. rubrum*), тогда как отдельные сорта черной смородины (*Ribes nigrum*) погибают до 90%. По результатам проведенных исследований выявлены наиболее устойчивые к трахеомикозам сорта Лучезарная, Ядреная, Глобус и ряд других сортов, резистентность которых оценивалась в 4–5 баллов. Наименее устойчивыми оказались сорта Селеченская, Русалочка, Вологда и прочие.

Основные патогены представлены грибами *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Verticillium spp.* Выявлен факт активации грибов во второй половине вегетации (июль – сентябрь), что связано с условиями повышения температуры на фоне низкой влагообеспеченности, складывающимися в указанные месяцы на территории Оренбургской области. Установлено, что в случае комплексной инфекции с *Verticillium spp.* и *Fusarium spp.* у растений наблюдалось увядание и последующая гибель. Наиболее вероятной причиной гибели черной смородины следует считать грибы рода *Verticillium*. Выявлены видовые различия в продукции дубильных веществ, которые в наибольшем количестве обнаружены в коре и перимедулярной зоне золотой, белой и красной смородины. Наименьшее количество обнаружено в камбии черной смородины.

Проблема трахеомикозного увядания черной смородины может быть успешно решена за счет подбора и возделывания устойчивых к патогену сортов. Полученные результаты позволяют продвинуться в понимании механизма формирования инфекционной устойчивости черной смородины, а также определить пути терапии и профилактики микозного увядания *Ribes nigrum*.

Ключевые слова: смородина черная, красная, золотая, увядание, патогены, дубильные соединения.

### Введение

Микозное увядание (трахеомикоз) является наиболее вредоносным заболеванием плодовых кустарников и деревьев. Пораженные растения либо усыхают внезапно, либо постепенно отмирают в течение нескольких лет, что наносит значительный ущерб многолетним насаждениям. В современных условиях это заболевание вызвало значительное сокращение площадей, занятых черной смородиной, что повлекло за собой негативные экологические, экономические и социальные последствия.

Смородина относится к семейству крыжовниковых *Grossulariaceae*, к роду *Ribes L.*, насчитывающему около 150 видов. Ареал распространения представителей данного семейства достаточно обширен: это области с умеренным климатом Евразии, Северо-Западной Африки,

Северной и Центральной Америки. Вместе с тем, главное сосредоточие видов *Ribes L.* – это Дальний Восток России, Япония, Китай, Маньчжурия, Гималаи и Северная Америка [16].

Смородина черная (*Ribes nigrum L.*) в России, в том числе и в Оренбуржье, является одной из ведущих ягодных культур [12]. Это растение, представленное более 110 видами, отличается высокой зимостойкостью и ценится за ежегодную урожайность до 40–45 ц/га, а также за быстрое созревание. Смородина широко возделывается на садово-дачных и приусадебных участках и заслуженно пользуется популярностью благодаря своим высоким питательным качествам.

В настоящее время массовая гибель кустов черной смородины, вызванная трахеомикозным увяданием, достигает 85–90%. Она охватила

регионы Восточной Украины (Харьковская, Донецкая области), где засыханию подвержены не только отдельные кусты, но и целые плантации [13], [17]. В России гибель черной смородины отмечена в Ростовской, Воронежской области, Нижнем и Среднем Поволжье. Ареалраспространения этого заболевания постоянно расширяется. За последнее десятилетие массовая гибель кустов черной смородины отмечена в Центральной, Южной и Восточной частях Оренбургской области. В течение последних 5–6 лет заболевание регистрируется в Бузулукском бору, а также в северо-западном регионе Оренбуржья. В 2015 году признаки этой болезни отмечены уже на некоторых сортах красной смородины. Имеются сведения, что гибель *R. nigrum* может быть вызвана грибами рода *Verticillium* spp. [8], [3].

Патогены, вызывающие трахеомикоз, приурочены к жизни в древесине и сосудистой системе растения хозяина. Сапрофитно существующие в почве грибы из родов *Verticillium* и *Fusarium* заражают растения через поврежденную корневую систему [6]. Заболевание может распространяться на больших площадях, приводя к массовой гибели растений.

К роду *Verticillium* относят несколько фитопатогенных видов, вызывающих сосудистое увядание растений. Среди них наибольшее распространение получили *V. dahliae* и *V. albo-atrum*, вызывающие гибель урожая различных культур по всему миру, что приводит к убыткам от ежегодных потерь на миллиарды долларов [19]. У представителей рода *Verticillium* конидиеносцы одиночные, мутовчато-разветвленные, на них расположены фиалиды, часто бутылчатой формы и на концах заостренные. На фиалидах видны одиночные или скопляющиеся в головки конидии, иногда склеенные слизью, быстро распадающиеся. Форма их разнообразна: шаровидные, яйцевидные, эллипсоидальные, веретеновидные. Они либо бесцветны, либо светло окрашены. Стерильные гифы ползучие, бесцветные или окрашенные. Эти грибы хорошо переносят неблагоприятные условия и сохраняют способность к дальнейшему самовоспроизведению за счет наличия хламидоспор, гемм, склероциев, микросклероциев и дауэрмицелия (рис. 1). Микросклероции – резко обособленные от мицелия темно-окрашенные

структуры, собранные в группы разнообразной формы (38,5-81,2×21-35 мкм). Они формируются за счет увеличения перегородок конидий и вздутия отдельных клеток. Дауэрмицелий – темноокрашенные гифы с увеличенным количеством перегородок. В этих местах клетки укорачиваются, вздуваются и принимают овальную форму. К числу видоизменений мицелия вертициллов некоторые исследователи также относят оидий, или оидиоподобные образования. Хламидоспоры – хорошо обособленные овальные или шаровидные клетки, расположенные в гифе по 2–5 или цепочкой до 25 штук. Обычно они темно окрашенные, с более темной утолщенной оболочкой. При благоприятных условиях покоящаяся стадия гриба прорастает мицелием, на котором образуются конидии и конидиеносцы [19].

Заражение грибами рода *Verticillium* может стать серьезной проблемой для восприимчивых растений на зараженных почвах, поскольку гриб может сохраняться неопределенное время, в большинстве случаев в самих растениях. Микросклероции гриба способны сохраняться в почве в течение 10 и более лет. Однако, отмечено, что тепло, заболоченные почвы приводят к их быстрой гибели [21].

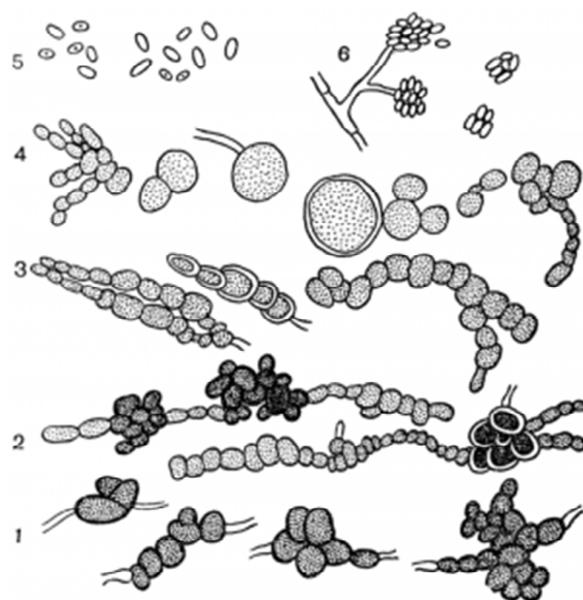


Рисунок 1 – Типы спороношения грибов из рода вертицилл (*Verticillium*): 1 – микросклероции; 2 – дауэрмицелий с микросклероциями; 3 – дауэрмицелий; 4 – оидиоподобные образования; 5 – фиалоспоры; 6 – конидиеносец и конидии [13].

На рисунке 2 представлена схема цикла циркуляции вертициллезной инфекции среди растений. Патоген проникает через раны корневой системы нанесенные почвенными организмами.

В последствии, гифы гриба и токсины закупоривают сосуды, поражая ткани ксилемы [5]. В ответ на вторжение патогена, пораженное растение выделяет защитные вещества, которые пытаются закрыть инфильтрацию клеток, чтобы ограничить дальнейшее движение грибка. Через закупоренные сосуды уменьшается приток воды из корневой системы, что приводит к проявлению угнетения [18].

Симптомы, вызванные грибом *Verticillium*, развиваются в течение всего периода вегетации, но максимума достигают в июле и августе. На молодых проростках, еще плохо окорневевших, начинают опадать листья. Затем появляется перехват в основании побега.

После перезимовки на однолетних побегах образуется темная некротическая полоса, углубленная до древесины. Двух – четырехлетние ветви засыхают в течение всего вегетационного периода. Кора растрескивается и отмирает, листья увядают, побеги и ягоды засыхают. Не

исключено отмирание одной ветви или одной стороны растения [7], [19]. Болезнь проявляется хронически или может протекать в острой форме. Хронические симптомы – мелкие, желтые листья, ожоги листьев, медленный рост, низкая урожайность, отмирание побегов и ветвей. Саженцы черной смородины уже в питомнике подвергаются высокому риску заражения. Следует отметить, что микросклероции могут сохраняться как в почве, так и черенках, корнях и листьях поврежденного растения, приводя к заражению новых растений [20].

Согласно данным Евростат и ФАОСТАТ, крупнейшим производителем смородины в мире является Россия, занимающая 51% общей доли производства, второе место с показателем 30,7% мирового объема занимает Польша, третье место по объемам производства занимает Украина, четвертое – Англия, пятое – Дания [1]. Для того, что бы сохранить и нарастить в будущем производство черной смородины назрела необходимость выявить причины распространения заболевания, осуществить скрининг устойчивых сортов, что позволит в дальнейшем наметить пути борьбы с микозным увяданием черной смородины.



Рисунок 2 – Цикл развития грибов рода *Verticillium*

Особого внимания заслуживают результаты исследований резистентности растений крапиволистного рода заболеваниям, обусловленной врожденным или приобретенным иммунитетом. Устойчивость растений к болезни ряд исследователей связывает с содержанием биологически активных веществ, в частности дубильных соединений, которые выполняют в растительном организме защитную функцию [9], [13].

Целью данного исследования явилось выявление устойчивых к увяданию сортов смородины, представленных в коллекции, а также анализ содержания в растениях дубильных веществ.

### **Методика исследования**

Черенки различных сортов смородины, представленные в коллекции, были получены из Свердловской ОСС Московского ВСТИСП, РУП «Институт плодоводства» (Р. Беларусь), Орловского НИИ СП, Брянского опорного пункта ВСТИСП и других организаций. Исследования проводили согласно «Программе и методики сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [14].

Закладку опытных участков проводили на территории КСХ «Сакмара», в п. Сакмара Оренбургской области, и в Бузулукском бору на опытном участке лесного техникума. Посадку черенков осуществляли в школу ягодных культур в осенний (октябрь) или весенний период (апрель), высаживая их в ряд на расстоянии 10–15 см друг от друга. Дистанция между рядами от 70 до 100 см. На участок первичного изучения сорта смородины высаживали по схеме 3×0,7–1,0 м.

Оценку состояния растений проводили по пяти балльной шкале, по которой за 5 баллов принимали отсутствие признаков повреждения, напротив, 0–1 балл демонстрировал сильные повреждения или гибель растения. Затем рассчитывали средний балл повреждения по каждому сорту.

Для микробиологического анализа отбирали образцы растений черной смородины с хорошо выраженными признаками заболеваний: ослабленные, погибшие растения и внешне здоровые (контрольные). Образцы отбирали с интервалом в 2 недели. Выделение грибов осуществляли методом «влажных камер» [7].

Наблюдение продолжали регулярно в течение месяца. Идентификацию грибов осуществляли по определителю болезней растений [10].

Дубильные вещества определяли микро-реакции, путем окрашивания срезов азотнокислым натрием, 20% раствором мочевины и 10% раствором уксусной кислоты. Через 3–4 минуты добавляли два объема 2N едкого натрия. Проявление вишнево-красного окрашивания указывало на присутствие дубильных веществ [4]. Их содержание оценивали в баллах по пятибалльной шкале.

### **Результаты исследования**

В результате проведенных исследований было установлено, что наибольшую устойчивость к данному заболеванию проявляют сорта золотистой, белой и красной смородины. Среди сортов черной смородины более устойчивыми оказались следующие: Глобус, Лучезарная, Нива, Лукоморье, Краса Львова, Изюмная, Деликатес, Зеленоплодная, Гладиоза. Их состояние оценивается на 4–5 баллов при полной сохранности растений (табл 1).

Удовлетворительную устойчивость проявили сорта – Альмай, Бильская, Ожерелье и другие. Их сохранность находится в пределах 40–60%. Слабая устойчивость, вплоть до гибели, отмечена у 80% испытуемых сортов. Их состояние оценивалось на 1–2 балла, а сохранность – 5–10%. Это сорта Селеченская, Русалочка, Вологда и прочие.

По результатам проведенных микологических исследований на образцах черной смородины сорта Селеченская, в весенне-летний период и поздней осенью грибы рода *Verticillium* spp. были выявлены в наименьшем количестве либо отсутствовали. Их постепенное развитие началось с середины июня и достигало максимума в июле – августе. Это совпадало с массовым увяданием растений черной смородины (рис. 3).

Грибы рода *Fusarium* spp. встречались в значительных количествах с ранней весны до середины мая. Далее их доля несколько уменьшалась и вновь нарастала в августе. После этого их присутствие снижалось до минимума.

Максимальное количество представителей рода *Alternaria* spp. отмечено рано весной (апрель) и в мае – июне. В остальное время они обнаруживались в небольшом количестве

до конца сентября. Данные грибы были выявлены как в живых и увядающих, так и в усохших образцах.

Обращает на себя внимание факт активации грибов во второй половине вегетации (июль – сентябрь), что определяется температурными факторами и низкой влагообеспеченностью. В условиях Оренбургской области наиболее жаркий период приходится на указанные месяцы. Выявлено, что в случае комплексной инфекции с *Verticillium* spp. и *Fusarium* spp. у растений наблюдалось увядание и после-

дующая гибель. Ряд исследователей отмечает, что возбудители сосудистого увядания *Verticillium* spp. и *Fusarium* spp. принадлежат подклассу Нурогеомыцетидеае, занимают практически один биотоп в растениях-хозяевах [13], [20]. Однако наиболее вероятной причиной гибели черной смородины следует считать грибы рода *Verticillium*.

На следующем этапе исследований было оценено содержание дубильных веществ, формирующих иммунитет самого растения. Дубильными веществами (танинами) называются

растительные полифенольные соединения с молекулярной массой от 500 до 20 000. Они являются производными пирогаллола, пирокатехина, флороглюцина. Среди них известны олигомеры и полимеры катехинов, лейкоантоцианидинов и гидроксистильбенов. Они не распадаются под действием кислот, образуя красно-коричневые продукты конденсации – флобафены (дуб, лапчатка прямостоячая, черника, черемуха и др.). Дубильные вещества содержатся в подземных и надземных частях растений: накапливаются в клеточном соке. Значение тан-

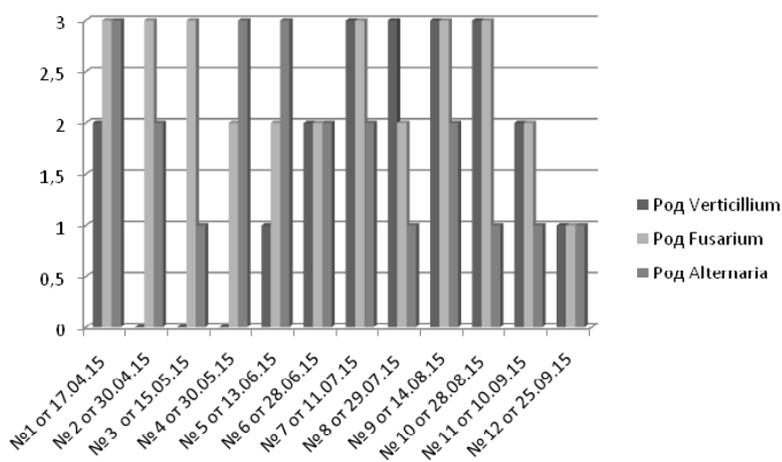


Рисунок 3 – Динамика развития грибов на образцах черной смородины (сорт Селеченская)

Таблица 1 – Устойчивость смородины к вертициллезному увяданию (данные за 2014–2015 гг.)

Степень устойчивости, в баллах	Сорта черной смородины	Сорта красной и белой смородины	Сорта золотистой смородины
4–5 (высокая)	Лучезарная	Штамбовая	Шафрак
3 (средняя)	Глобус Нива Лукоморье Краса Львова Глариоза Зеленоплодная Изюмная Деликатес Сударушка Альмай Бильская Ожерелье Юризань София	Ютербургская Уральская красавица Мармелада Сахарная	Венера Ляйсан
1–2 (низкая)	Селеченская Русалочка Вологда	–	–

нидов для растений дискутируется. Предполагают, что они являются запасными веществами (накапливаются в подземных частях многих растений) и, обладая бактерицидными и фунгицидными свойствами, препятствуют гниению древесины, то есть выполняют защитную функцию в отношении ряда патогенов [15].

Наибольшее количество дубильных веществ выявлено в коре однолетних побегов золотистой смородины – до 3–4 баллов, наименьшее – 2,8 балла в смородине красной (рис. 4 и 5). В камбии золотой смородины содержится наибольшее ко-

личество 4,3 балла, а наименьшее в черной – 2,0 балла. В свою очередь, в красной смородине наибольшее количество дубильных веществ содержится в паренхиме, сердцевине и перимедулярной зоне – от 1,8 до 3,8 балла. В черной смородине наименьшее содержание дубильных веществ, паренхиме и сердцевине – от 0,8 до 2,8 баллов.

По результатам исследований установлено, что наименьшее количество дубильных веществ содержится в черной смородине, которая как показано в представленных материалах исследований наиболее подвержена трахеомикозам.

С одной стороны, низкое содержание дубильных веществ может быть обусловлено генетически, определяя видовые и сортовые особенности иммунитета растений. С другой стороны, следует отметить, что на продукцию растениями полифенольных соединений могут оказывать непосредственное влияние сами грибковые патогены. В частности, известно, что грибы в стрессовых условиях способны осуществлять синтез различных вторичных метаболитов, участвующих в детоксикации активных форм кислорода (восстановленный глутатион, НАД(Ф)Н и др), образующихся в тканях растений [2], [11]. В результате это может явиться опосредованной причиной торможения сигнала к продукции полифенольных соединений у растения – хозяина, и, как следствие, приводит к подавлению защитных механизмов зараженного растения.

Представленные материалы могут явиться предпосылкой для проведения более масштабных исследований в этом направлении.

Сопоставляя полученные данные, можем утверждать, что сорта с относительно малым количеством дубильных веществ более восприимчивы к болезням.

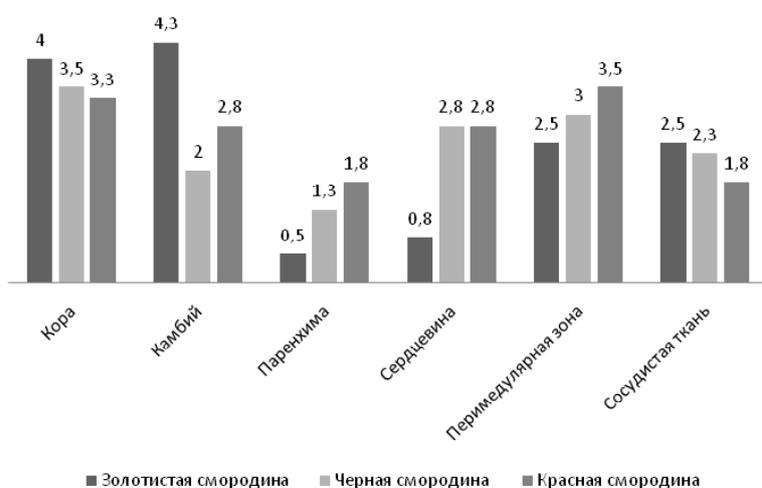


Рисунок 4 – Содержание дубильных веществ в тканях однолетних побегов смородины

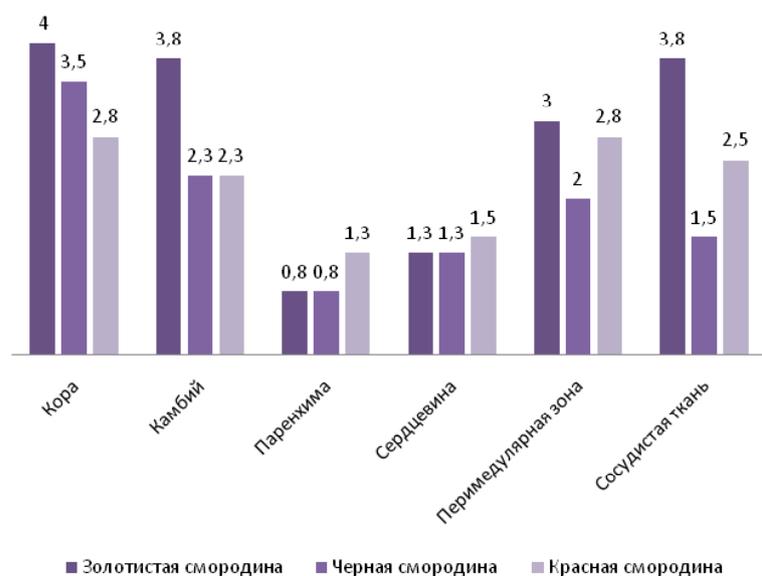


Рисунок 5 – Содержание дубильных веществ в тканях двухлетних побегов смородины

Таким образом, исследования показали, что наиболее устойчивыми к трахеомикозам оказались сорта Лучезарная, Ядреная, Глобус и ряд других сортов, резистентность которых оценивалась в 4–5 баллов. Наименее устойчивыми оказались сорта Селеченская, Русалочка, Вологда и прочие. Основные патогены представлены грибами трех родов – *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Verticillium* spp.

Выявлен факт активации грибов во второй половине вегетации (июль – сентябрь), что связано с температурными факторами и низкой влагообеспеченностью, складывающимися в условиях Оренбургской области в указанные месяцы. Установлено, что в случае комплексной

инфекции с *Verticillium* spp. и *Fusarium* spp. у растений наблюдалось увядание и последующая гибель. Наиболее вероятной причиной гибели черной смородины следует считать грибы рода *Verticillium*.

Дубильные вещества в наибольшем количестве обнаружены в коре и перимедулярной зоне золотой, белой и красной смородины. Наименьшее количество обнаружены в камбии черной смородины.

Полученные результаты позволяют продвигаться в понимании механизма формирования инфекционной устойчивости черной смородины, а также определить пути терапии и профилактики увядания черной смородины.

14.06.2016

#### Список литературы:

1. Ассоциация производителей плодов, ягод и посадочного материала (АППЯПМ) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://asprug.ru/blog/ocenka-obemov-mirovogo-proizvodstva-smorodiny-chno/>.
2. Гарифзянов, А.Р. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений [Электронный ресурс] / А.Р. Гарифзянов, Н.Н. Жуков, В.В. Иванищев // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №2. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4600>.
3. Горбунова, О.С. К вопросу об увядании черной смородины / О.С. Горбунова. – НИЦ «Апробация», 2016.
4. Дженсен, У. Ботаническая гистохимия / У. Дженсен. – Изд. «Мир» М. – 1965. – 289 с.
5. Дурынина, Е.П. Почвенные фитопатогенные грибы / Е.П. Дурынина, Л.Л. Великанов. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984. – 107 с.
6. Общая и молекулярная фитопатология / Ю.Т. Дьяков и др.. – М.: Изд-во Общества фитопатологов, 2001. – 302 с.
7. Дядченко, Д.Г. Товарное садоводство в России: состояние, условие и перспективы развития / Д.Г. Дядченко // Труды ВНИИС им. И.В. Мичурина. «Научные основы эффективного садоводства». – Мичуринск. – 2006. – С. 545–549.
8. Иванова, Е.А. Биологические особенности *Ribesnigrum* L. При интродукции в условиях Оренбургского Приуралья : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е.А. Иванова. – Оренбург. 2008. – 21 с.
9. Кретович, В.Л. Биохимия растений / В.Л. Кретович. – М.1980. – 503 с.
10. Литвинов, М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов / М.А. Литвинов. – Изд-во «Наука»: Л., 1967. – 303 с.
11. Меденцев, А.Г. Биосинтез нафтохинонов и цианидрезистентное дыхание в ответе микроскопических грибов (*Fusarium*, *Verticillium* и *Yagowia*) на стрессовые воздействия : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.Г. Меденцев. – Пушкино: Ин-т биохим. и физиол. микроорганизмов им. Г.К. Скрыдина, 2004. – 34 с.
12. Обоянский, А.Я. Чума черной смородины / А.Я. Обоянский // Всё о ягодных культурах. – 2013.
13. Потлайчук, В.И. Трахеомикозы древесных и кустарниковых растений на территории стран СНГ / В.И. Потлайчук, Л.Б. Хлопунова // Вестник защиты растений. – 2002. – №1. – С. 35–50.
14. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Седова Е.Н., Огольцовой Т.П. – Орел: Изд-во Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур, 1999. – 608 с.
15. Разареннова, К.Н. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *GERANIUM* L. флоры Северо-Запада / К.Н. Разареннова, Е.В. Жохова // Химия растительного сырья. – 2011. – №4. – С. 187–192.
16. Седов, Е.Н. Помология. Т. 4. Смородина, крыжовник / Е.Н. Седов. – Орел: ВНИИСПК, 2009. – 468 с.
17. Шагина, Т.В. Современное состояние культуры смородины черной в России / Т.В. Шагина // Сб. н. работ т. XXVIII, часть II «Садоводство и ягодоводство России». – Москва. – 2011. – С. 318–328.
18. Имунитет растений / В.А. Шкаликов и др. ; под ред. проф. В.А. Шкаликова. – М.: КолосС, 2005. – 190 с
19. Pegg, G.F. *Verticillium* wilts / G.F. Pegg, B.L. Bradley. – New York: CABI Publishing. – 2002. – 432 pp.
20. Comparative Genomics Yields Insights into Niche Adaptation of Plant Vascular Wilt Pathogens [Electronic resource] / Steven J. Klosterman et al. // PLoS Pathogens, 2011. – V. 7. – №7. – e1002137. – URL: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002137>
21. Diversity, Pathogenicity, and Management of *Verticillium* Species / Steven J. Klosterman et al. // Annu. Rev. Phytopathol., 2009. – V.47. – P. 39–62.

#### Сведения об авторах:

**Сухова Е.А.**, аспирант Оренбургского государственного университета

**Горбунова О.С.**, аспирант Оренбургского государственного педагогического университета

E-mail: [ospu@ospu.ru](mailto:ospu@ospu.ru)

**Немцева Н.В.**, профессор Института клеточного и внутриклеточного симбиоза,

заведующий лабораторией, доктор медицинских наук

E-mail: [ikvs@mail.esoo.ru](mailto:ikvs@mail.esoo.ru)

**Савин Е.З.**, профессор Оренбургского государственного университета, ведущий научный сотрудник,

доктор сельскохозяйственных наук

**Головин С.Е.**, Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства

E-mail: [vstisp@vstisp.org](mailto:vstisp@vstisp.org)

460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: [post@mail.osu.ru](mailto:post@mail.osu.ru)