

ОЦЕНКА КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ ГРУШИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БАКТЕРИАЛЬНОМУ РАКУ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

В. Ю. ЛАГОНЕНКО, О. А. ЯКИМОВИЧ, М. С. КАСТРИЦКАЯ

РУП «Институт плодоводства», ул. Ковалёва, 2,
аг. Самохваловичи, Республика Беларусь, 223013, e-mail: lagonenkoval@gmail.com

(Поступила в редакцию 04.09.2023)

Анализ устойчивости 36 сортов груши к умеренно вирулентному штамму *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 11.9 проведен с использованием метода искусственного заражения незрелых плодов. В результате исследования иммунных форм не обнаружено, однако широкий диапазон восприимчивости может служить источником данных для селекционной работы. Анализ данных двух- и трехлетних наблюдений показал, что наибольшей устойчивостью к бактериальному раку обладают сорта Супер-летняя, Купала, Смуглянка, Велеса, Талгарская красавица; наименьшая устойчивость установлена для сортов Кудесница, Завея, Большая летняя (Велика літняя), Просто Мария и гибрида 77-11/227.

Сравнение устойчивости двух групп сортов, полученных с участием сортов Белорусская поздняя и Лесная красавица показало присутствие в обеих группах форм с высокой восприимчивостью. Однако за три года наблюдений значения медиан интенсивности заболевания, превышающие 50,0 % обнаружены в 20 % опытов с формами от сорта Белорусская поздняя и всего в 4 % случаев с участием сорта Лесная красавица.

Ключевые слова:

Analysis of the resistance of 36 pear varieties to the moderately virulent strain *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 11.9 was carried out using the method of artificial infection of unripe fruits. As a result of the study, no immune forms were found, but a wide range of susceptibility can serve as a source of data for breeding work. Analysis of data from two- and three-year observations showed that the varieties Super-letnaya, Kupala, Smuglyanka, Velesa, and Talgarskaya Krasavitsa have the greatest resistance to bacterial canker. The lowest resistance was established for the varieties Kudesnitsa, Zaveya, Bolshaya Letnya (Velika Litnya), Prosto Maria and hybrid 77-11/227.

A comparison of the resistance of two groups of varieties obtained with the participation of the Belorusskaya late and Lesnaya krasavitsa varieties showed the presence of forms with high susceptibility in both groups. However, over three years of observations, disease intensity median values exceeding 50.0 % were found in 20 % of experiments with forms from the Belorusskaya late variety and in only 4 % of cases involving the Lesnaya Krasavitsa variety.

Key words:

Введение

Болезни сельскохозяйственных культур, которые вызывают фитопатогенные бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*), являются причиной угнетенного состояния деревьев, снижением урожайности и качества плодов, а также гибели более 180 видов растений [1]. Многообразие симптомов, которые проявляются на восприимчивых к *Pss* культурах, послужило причиной появления обобщающего термина «бактериальный рак», объединяющего как язвенные поражения, так и пятнистости, и ожоги [2]. Из возделываемых в Беларуси плодовых культур наиболее восприимчивой к бактериальному раку является груша, а климатические условия благоприятны для распространения и развития болезни. Вспышки наблюдаются в течение прохладного и влажного весеннего и осеннего периодов, когда популяции бактерий достигают максимального развития.

Борьба с возбудителем данного заболевания осложняется отсутствием эффективных средств, особенно на эндофитной (системной) стадии развития бактерий *Pss*, поэтому основной упор делается на профилактику, в том числе на селекцию и выращивание устойчивых сортов.

Исследования вредоносности бактериального рака для различных сортов и гибридов груши, проводимые как в полевых, так и в контролируемых условиях, показывают отсутствие иммунных форм, однако градация восприимчивости дает возможность выбора наиболее устойчивых генотипов. К сожалению, данных об исследовании сортовой устойчивости груши немного, более того, чаще анализируются формы, возделываемые в конкретном регионе. Однако, следует учитывать, что восприимчивость таких «космополитных» сортов, как Конференция (Conference) или Триумф Пакгама (Packham Triumph), в разных странах может отличаться, что связано как с условиями окружающей среды, так и биологией возбудителя заболевания.

Незрелые плоды для искусственного заражения собирали в саду РУП «Институт плодоводства». Перечень анализируемых форм приведен в таблице.

Бактериальный штамм *Pss* 11.9, использованный для инокуляции, выделен и идентифицирован нами в 2014 году в Минском районе; штамм охарактеризован как умеренно вирулентный [3]. Методики хранения, культивации, заражения плодов и обсчета результатов взята из публикации С. Moragrega [4]. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения

GraphPad Prism 8.4.3. Класс устойчивости сорта определялся по среднему значению интенсивности развития заболевания (Scp, %), превышающему показатели того же сорта за другие годы наблюдений.

Цель настоящей работы – проанализировать данные многолетних исследований по восприимчивости сортов и гибридов груши Белорусской и зарубежной селекции к местному штамму возбудителя бактериального рака *Pss11.9*.

Основная часть

Анализ восприимчивости 36 сортообразцов к умеренно вирулентному штамму возбудителя бактериального рака *Pss11.9* показал достоверные различия в интенсивности развития поражения в зависимости от сорта ($p < 0,0001$) и года ($p < 0,0001$). Диапазон средних значений поражения варьировал в 2020 г от 13 до 95 %, в 2022 г. – от 27 до 79 %, а в 2023 г – от 24 до 69 % (таблица).

Развитие симптомов некроза при искусственной инокуляции сортов и гибридов груши бактериями *Pss11.9*

Сорт	Год	Среднее значение интенсивности развития заболевания (Scp), %			Класс устойчивости
		2020	2022	2023	
Масляная Ро	н/д	н/д	27,56 ± 1,38	33*	Относительно устойчивый
Супер-летняя	н/д	27,37 ± 1,53	29,98 ± 1,06	20	Относительно устойчивый
Любимица Клаппа (Clapp Favorite)	н/д	н/д	28,49 ± 1,24	3	Относительно устойчивый
Гиринская	н/д	н/д	28,63 ± 1,34	34	Относительно устойчивый
ДУ 20-3	н/д	30,28 ± 1,69	24,51 ± 1,44	26	Относительно устойчивый
90-40/33	н/д	30,53 ± 1,96	33,03 ± 1,46	11	Относительно устойчивый
Смуглянка	н/д	30,54 ± 2,40	26,18 ± 1,28	4	Относительно устойчивый
Триумф Паггама	н/д	н/д	30,82 ± 1,40	7	Относительно устойчивый
Купала	43,76 ± 3,12	31,24 ± 2,54	24,59 ± 1,33	0	Относительно устойчивый
Козуи (Kosui)	н/д	н/д	33,31 ± 0,84	0	Относительно устойчивый
96/40	н/д	н/д	33,31 ± 1,18	11	Относительно устойчивый
Велеса	34,58 ± 3,89	34,23 ± 4,92	29,98 ± 1,06	28	Относительно устойчивый
Талгарская красавица	н/д	34,26 ± 3,24	31,06 ± 0,95	11	Относительно устойчивый
Чижовская	44,79 ± 4,15	36,36 ± 2,33	32,38 ± 0,92	14	Относительно устойчивый
Забава	34,16 ± 3,56	36,45 ± 1,54	34,57 ± 1,51	0	Относительно устойчивый
89-32/18	н/д	36,80 ± 2,80	29,57 ± 1,52	23	Относительно устойчивый
Десертная росошанская	45,82 ± 5,92	40,15 ± 1,89	31,18 ± 1,64	67	Относительно устойчивый
90-40/30	н/д	41,02 ± 1,99	33,75 ± 1,67	0	Относительно устойчивый
Нарядная Ефимова	н/д	42,60 ± 2,18	41,44 ± 1,83	5	Относительно устойчивый
Конференция	45,37 ± 3,71	42,70 ± 0,93	34,15 ± 1,46	58	Относительно устойчивый
Мраморная	н/д	н/д	46,23 ± 7,51	50	Относительно устойчивый
Бере Александр Люка (Beurré Alexandre Lucas)	47,36 ± 4,03	н/д	27,50 ± 1,64	28	Относительно устойчивый
Духмяная	56,24 ± 1,67	н/д	37,90 ± 1,79	80	Слабо устойчивый
Ясачка	60,84 ± 3,06	49,07 ± 4,70	41,65 ± 2,01	36	Слабо устойчивый
Сладкая из Млиева (Salodka z Mlièva)	н/д	54,63 ± 2,82	33,76 ± 1,02	46	Слабо устойчивый
Лагодная	н/д	56,24 ± 2,08	34,66 ± 1,63	34	Слабо устойчивый
Вилия	13,32 ± 2,83	59,27 ± 3,53	28,87 ± 1,16	42	Слабо устойчивый
Белорусская поздняя	56,26 ± 5,32	59,38 ± 4,57	35,45 ± 1,39	77	Слабо устойчивый
Первомайская	н/д	60,19 ± 4,34	39,99 ± 1,72	0	Слабо устойчивый
Юратэ (Jūrate)	н/д	67,43 ± 4,27	41,52 ± 2,45	6	Слабо устойчивый
Сапжанка	н/д	н/д	69,05 ± 2,57	17	Слабо устойчивый
Просто Мария	45,77 ± 5,65	70,22 ± 3,46	38,31 ± 1,36	58	Слабо устойчивый
Большая летняя	н/д	75,00 ± 3,72	35,62 ± 1,18	8	Слабо устойчивый
77-11/227	н/д	78,78 ± 4,11	62,04 ± 2,87	22	Слабо устойчивый
Зався	61,67 ± 3,28	79,16 ± 2,86	37,26 ± 2,22	29	Слабо устойчивый
Кудесница	95,00 ± ,47	н/д	44,58 ± 2,42	15	Высоко восприимчивый

количество точек инокуляции (%), рядом с которыми обнаружено развитие инфекции через естественные поры в эпидермисе

Согласно данным, представленным в табл., у 75 % сортов, исследования которых проводились в течение 2 и 3 лет, наблюдаются значительные различия в восприимчивости к заболеванию в зависимости от года ($p < 0,0001$). Отмечено, что у подавляющего большинства форм наименьшие значения развития заболевания зарегистрированы в 2023 г. Исключениями являются сорт Супер летняя и гибрид 90-40/33, однако превышение показателей развития заболевания в 2023 г. для этих форм статистически не значимо ($p > 0,05$). Так как в 2020, 2022 и 2023 гг. плоды собирались на территории одного и того же сада, можно предположить, что общее снижение восприимчивости в 2023 г. связано с внешними факторами, такими, как своевременность и качество внесенных удобрений, влияющих на сопротивляемость растений болезням, или проведенная накануне инокуляции обработка пестицидами, ингибирующими развитие патогена.

По результатам трехлетних наблюдений исследованные сорта и гибриды сформировали две основные группы – относительно устойчивые к бактериальному раку формы (с диапазоном S_{cp} 21–50 %) и слабо устойчивые (S_{cp} 51–79 %). Сорт Кудесница единственный отнесен к классу высоко восприимчивых (S_{cp} 95 %). Установлено, что в первой группе годовые вариации показателей S_{cp} по отношению к минимальному значению были меньше, чем во второй группе (рис. 1), что, вероятно, можно объяснить разным влиянием факторов окружающей среды на восприимчивость к заболеванию у данных форм. Наименьшие вариации установлены для сортов Нарядная Ефимова (изменение всего 2,79 %), Забава (6,70 %), гибрида 90–40/33 (8,19 %) и сорта Супер-летняя (9,54 %). Значительная разница в интенсивности симптомов, которая привела к изменению класса устойчивости отмечена у 33,3 % исследованных форм. На плодах сорта Вилия по данным за 2020 и 2022 гг. увеличение данного показателя составило 344,97 %, таким образом класс устойчивости изменился с высоко устойчивого в 2020 г. на слабо устойчивый в 2022 (рис. 1). Также, значительные вариации в S_{cp} наблюдались у сорта Кудесница (113,10 %), Завая (112,45 %) и Большая летняя (110,56 %).

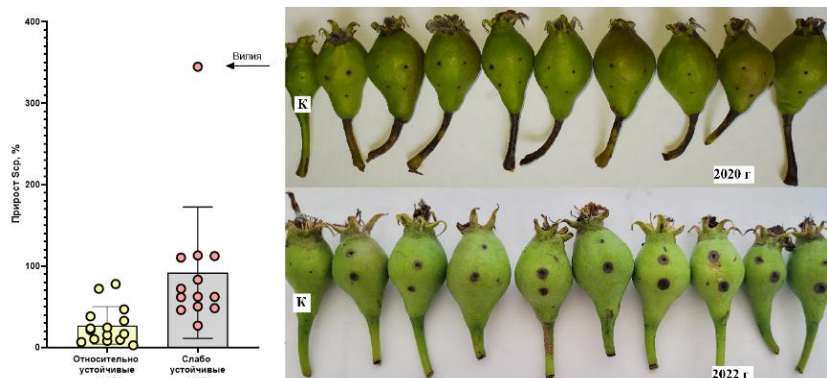


Рис. 1. Наблюдаемые вариации значений развития бактериального рака в группах относительно устойчивых сортов и слабо устойчивых сортов (справа фотографии незрелых плодов груши сорта Вилия, отображающие различия в интенсивности симптомов после искусственной инокуляции бактериями *Pss*11.9 в 2020 и 2022 гг.; к – плоды, инокулированные стерильной водой; фото автора)

Помимо основного некроза, вокруг точки инокуляции плодов, у 83 % сортов в разной степени наблюдались симптомы, характерные для заражения растений через естественные отверстия в покровных тканях (рис. 2). Эти симптомы начинали проявляться уже через 24–72 ч представляли собой черные пятна (от 0,1 до 1 мм в диаметре), единичные или массовые, дискретные или сливающиеся, которые постепенно увеличивались в размере, занимая до 50 % поверхности плода. Подобные поражения описывают М. Scottichini [5] (вокруг чечевичек на плодах персика, пораженных бактериями *Pss*) и S. Aćimović [6] (вокруг устьиц на плодах яблони, зараженных *P. s. pv. papulans*).

Наиболее крупные или многочисленные, сливающиеся образования наблюдались на плодах сорта Духмяная (в 80 % инокуляций), Белорусская поздняя (в 77 % инокуляций) и Десертная росошанская (67 % инокуляций). На плодах сортов Купала, Забава, Первомайская и гибрида 90–40/30 данная форма развития инфекции не зарегистрирована. Похожие симптомы были обнаружены нами на незрелых плодах груши при обследовании плодовых садов: проведенная идентификация возбудителя такой пятнистости показала присутствие патогенных бактерий *Pss* (рис. 2).

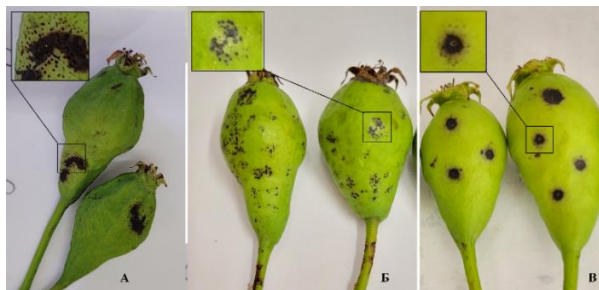


Рис. 2. Симптомы развития бактериального рака на плодах груши сорта Чижовская (фото автора): А – пораженные плоды, найденные во время маршрутных обследований плодового сада; Б – плоды, опрысканные бактериальной суспензией без нанесения механического повреждения (через 96 ч после заражения); В – некроз, вызванный внесением бактериальной суспензии путем прокола эпидермиса и развитие очагов поражения за пределами зоны инокуляции (через 48 ч после заражения)

Так как клеточная стенка, створки устьиц и другие факторы во многом определяют устойчивость сортов и гибридов к проникновению патогена из филлосферы в апопласт, было проведено сравнение значений *Scp* и частоты поверхностного заражения (рис. 3), однако корреляционный анализ показал отсутствие такой зависимости как в группе относительно устойчивых ($r=-0,06922$; $p=0,7595$), так и у слабо устойчивых сортов ($r=-0,4396$, $p=0,1350$).

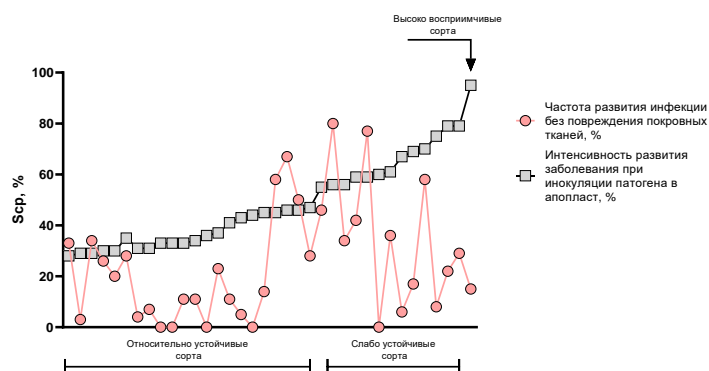


Рис. 3. Развитие симптомов бактериального рака при наружном и инвазивном искусственном заражении незрелых плодов группы бактериями *Pss11.9*

Сравнительный анализ восприимчивости к бактериальному раку форм, образованных с участием сортов Белорусская поздняя и Лесная красавица. Так как эти сорта широко используются в отечественной селекции в качестве доноров высоких вкусовых и хозяйственных качеств, было решено провести исследование устойчивости родственных им форм к бактериальному раку, вызванному местным штаммом возбудителя заболевания.

Среди форм, входящих в семью с участием сорта **Белорусская поздняя**, наибольшая устойчивость и однородность результатов по данным за 2020–2023 гг. в F1 от Белорусской поздней проявили сорт Купала и гибрид 89–32/18: медианные значения интенсивности развития заболевания (*S*_{мед}) на плодах этих сортов составляли 16,7–50 %, а значение *Scp* не превышало 66,7 % (рис. 4), что ниже, чем у самого сорта Белорусская поздняя. Также на плодах гибрида 89–32/18 и сорта Купала обнаружена высокая сопротивляемость к переходу эпифитной инфекции к эндофитной (23 % и 0 % инокуляций соответственно), тогда как на плодах Белорусской поздней частота такого перехода составила 77 %. Медианные значения развития заболевания на плодах сортов Просто Мария и Завея (F2 от сорта Белорусская поздняя) в 2022 г. составило 83,3 %, а максимальное развитие поражения достигало 80–100 %.

Среди сортов, образованных сорта **Лесная красавица**, наибольшая устойчивость и единообразие результатов за 2020–2023 гг в поколении F1 зарегистрировано для сортов Талгарская красавица и Велеса, а в F2 – для сортов Смуглянка и Забава: *S*_{мед} на плодах этих сортов составляли 33,3 %, а *Scp* не превышала 66,7 % (рис. 4). Также на плодах этих сортов было отмечено отсутствие или слабое развитие очагов поражения эпидермиса вокруг основной зоны некроза (от 0 до 28 % инокуляций). Схожие результаты получены и при заражении плодов сорта Чижовская, тем не менее в 2020 г в 6 % инокуляций интенсивность развития заболевания достигала значения в 83,3 %.

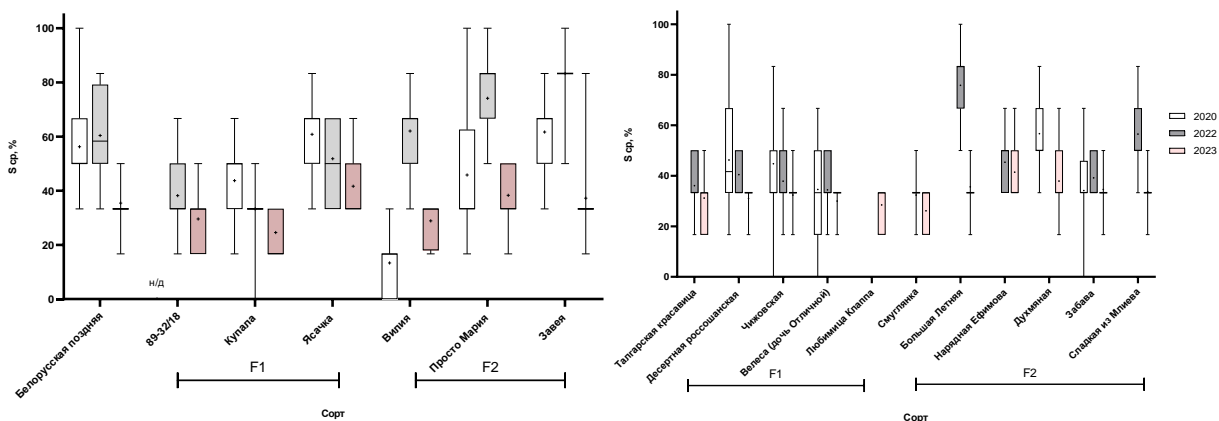


Рис. 4. Восприимчивость к бактериальному раку форм, образованных с участием сорта Белорусская поздняя (слева) и Лесная красавица (справа)

На плодах сортов Духмяная и Сладкая из Млиева интенсивность некроза достигала 83,3 % в 5,0 и 5,5 % инокуляций соответственно, тем не менее, значения Смед не превышали 50 %. Наибольшую восприимчивость к заражению бактериями *Pss11.9* проявил сорт Большая летняя (по данным за 2022 год максимальные значения развития заболевания составляли 100 % в 10 % инокуляций, а Смед соответствовало 83,3 %).

Обобщая данные, полученные при анализе представителей двух семей, можно заметить, что, не глядя на присутствие в обеих группах форм с высокой восприимчивостью к бактериям *Pss11.9*, за три года наблюдений значения Смед, которые превышали бы 50,0 % обнаружены в 20 % опытов с формами от сорта Белорусская поздняя и всего в 4 % случаев с участием сорта Лесная красавица.

Заключение

Согласно данным за 2020–2023 гг. полученным по результатам искусственного заражения 36 генотипов груши бактериями *Pss11.9*, иммунных форм к заболеванию не выявлено. Выделено два основных класса устойчивости к бактериальному раку: 22 относительно устойчивые формы (с диапазоном Ср 21–50 %) и 13 слабо устойчивых (Ср 51–79 %). Сорт Кудесница единственный отнесен к классу высоко восприимчивых (Ср 95 %).

Установлено, что для относительно устойчивых сортов не характерна высокая вариабельность в интенсивности развития заболевания, тогда как в классе слабо устойчивых прирост таких значений в разные годы наблюдений мог превышать 100 %. Наибольшее изменение интенсивности симптомов отмечено на плодах сорта Вилия: по данным за 2020 и 2022 гг. вариации данного показателя составили 344,97 %, что привело к изменению класса с высоко устойчивого на слабо устойчивый.

Показано отсутствие связи между интенсивностью развития заболевания при механическом повреждении кожицы инокулированных плодов и способностью покровных тканей сопротивляться переходу эпифитной стадии инфекции к эндофитной как в группе относительно устойчивых ($r = -0,06922$; $p = 0,7595$), так и у слабо устойчивых сортов ($r = -0,4396$, $p = 0,1350$).

Сравнительный анализ форм, полученных с участием сорта Белорусская поздняя, показал, что наибольшую устойчивость к бактериальному раку проявляют сорт Купала и гибрид 89–32/18, наименьшую – Просто Мария и Завая. Из сортов, полученных с участием сорта Лесная красавица, наибольшая устойчивость отмечена для сортов Талгарская красавица, Велеса, Смуглянка и Забава; наименьшая устойчивость – для сортов Большая летняя, Духмяная и Сладкая из Млиева.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kennelly M. M., Cazorla F. M. *Pseudomonas syringae* diseases of fruit trees: progress toward understanding and control // Plant Disease. – 2007. – Vol. 91, № 1. – P. 4–17.
2. Akbaba, Mustafa. Evaluation of bacteriophages in the biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated from cankers on sweet cherry (*Prunus avium* L.) in Turkey / Mustafa Akbaba, Hatice Ozaktan // Egyptian Journal of Biological Pest Control. – 2021. – Vol. 31. - <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00385-7>.
3. Лагоненко В. Ю. Оценка вирулентности и способности к нуклеации льда фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // Вестник БГСА. – 2022. – № 2. – С. 84–87.
4. Moragrega, C. Susceptibility of European pear cultivars to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* using immature fruit and detached leaf assays // C. Moragrega, I. Llorentem, C. Manceau [et al.] // European Journal of Plant Pathology. – 2003. – Vol. 109. – P. 319–326.
5. Scortichini, Marco. Epidemiology and predisposing factors of some major bacterial diseases of stone and nut fruit trees species / Marco Scortichini // Journal of Plant Pathology. – 2010. – 92(1). – 1.73-S1.78.
6. Aćimović, Srdjan. A bacterium, *Pseudomonas syringae* pv. *papulans*, could cause blister spot on apple fruit in 2019 / Srdjan Aćimović // Fruitjournal – 2019. – Vol. 28, № 8.