

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Айтымбет Жанкелды на тему «Микозы промышленных садов и яблоневых лесов и пути снижения их вредоносности на юго-востоке Казахстана», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D08104 – Защита и карантин растений

Актуальность темы исследования. Яблоня – самая распространенная плодовая культура в промышленном и частном садоводстве на юго-востоке Казахстана. Ее популярности способствуют высокие вкусовые, диетические и целебные свойства плодов. Наряду с легкоусвояемыми сахарами в них присутствуют соли железа, натрия, марганца, калия, фосфора, кальция; лимонная, салициловая, борная и другие кислоты. В последнее время ставится цель обеспечить страну отечественными фруктами. Наиболее благоприятные биоклиматические условия для выращивания яблони, груши, абрикоса и винограда имеются в южных и юго-восточных регионах республики – в хозяйствах Алматинской, Жетысуской, Жамбылской и Туркестанской областей.

В общей структуре семечковых и косточковых насаждений в Казахстане превалирует яблоня – площади насаждений составляют около 36 тыс. га. Из них в Алматинской области площадь на 2019 год составила 16 180,7 тыс га, в том числе 1,95 тыс га интенсивных садов, или 13,5%. Было собрано плодов 66,8 тыс тонн с урожайностью 4,6 т/га.

В настоящее время площади интенсивных яблоневых садов в Алматинской области достигли 2222 гектар, в 2022 году показатель планируется довести до 2600 гектаров. В интенсивных яблоневых садах выращиваются такие сорта, как Фуджи, Голден Делишес, Гала, Гренни Смит», Старкримсон, Айдаред и другие. Однако в промышленных садах и яблоневых лесах юго-востока республики динамика роста урожайности плодов все еще остается низкой и не отвечает требованиям качества. Снижению урожая и качества продукции способствуют грибные заболевания как мучнистая роса, парша, монилиоз и цитоспороз, являющиеся самыми вредоносными.

Среди комплекса грибных заболеваний во всех районах выращивания яблони наиболее распространенным и вредоносным остается поражение паршой (возбудитель – *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter). Снижение урожая яблок от поражения паршой составляет не менее 40%.

Усиление вредоносности парши в различных регионах многие исследователи связывают с многолетним применением химических средств защиты, способствующих естественному отбору устойчивых к пестицидам штаммов гриба, а также общим снижением иммунного состояния плодовых растений в связи с загрязнением окружающей среды и изменениями погодных условий. Однако в годы эпифитотий это наиболее опасное и распространенное заболевание яблони может поражать на восприимчивых сортах 65-97%

листьев и 80-100% плодов, вызывать их осыпание, вплоть до полной потери урожая.

Мучнистая роса способна снизить урожайность плодов на восприимчивых сортах яблони на 40-80%.

Среди плодовых гнилей яблони наибольшее значение имеет монилиоз, вызываемый грибом *Monilinia fructigena* (Pers.) Honey. У пораженного растения осыпаются сформировавшиеся завязи. Хронические повреждения влияют на урожайность в течение многих лет.

Цитоспороз относится к опасной грибной инфекции, которая способна заражать плодовые деревья и, тем самым, наносить саду весьма ощутимый ущерб. При поражении этим грибом в растении сокодвижение происходит только в коре, и при ее повреждении, не получая питательных веществ, ветки или части ствола усыхают. Однако, в отдельные годы эта болезнь может быть для условий Казахстана более вредоносной, чем все болезни яблони вместе взятые, отмечали исследователи.

В последние годы глобальные изменения климатических условий и загрязнения экологических зон имеют большое влияние на повышение распространения и уровня поражаемости грибными болезнями для яблоневого сада промышленного назначения и горных лесов. Кроме того, многие старые сорта становятся иммунологически слабыми против новых штаммов грибов, а новые – еще полностью не изучены на устойчивость к распространенным грибным болезням.

Проведенные исследования за рубежом и в Казахстане раскрывают и решают проблемные вопросы по многим теоретическим и прикладным аспектам биологии, поражения, распространения грибных болезней, методов защиты растений и др., но комплексное изучение болезней яблони в промышленных садах и горных лесах юго-востока и юга Казахстана с определением видового разнообразия патогенов, симптомов поражения, полевой устойчивости сортов, генов устойчивости к наиболее вредоносным грибным болезням с использованием методов молекулярной маркировки (ПЦР), и выявлением на их основе наиболее устойчивые к грибным болезням сортов для промышленного садоводства, ранее не проводилось. Проведение исследований в данном направлении является в современных условиях актуальным и востребованным.

Цель исследования. Целью исследований являлось изучение распространенных грибных болезней яблони в промышленных садах и горных лесах юго-востока и юга Казахстана и использование современного метода снижения их вредоносности.

Задачи исследования:

- Определить видовой состав патогенных грибов, вызывающих заболевания яблони в промышленных садах и горных лесах юго-востока Казахстана, и дать их биологическую характеристику;
- Провести микробиологическую характеристику и молекулярную идентификацию патогенных грибов *Venturia inaequalis* и *Podosphaera leucotricha*;

- Провести анализ видового состава микобиоты (грибного сообщества) яблони Сиверса (*Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem.) на исследуемых территориях горных лесов Казахстана;

- Изучить распространение и развитие заболеваний яблони – парши (*Venturia inaequalis*) и мучнистой росы (*Podosphaera leucotricha*) – в южных и юго-восточных регионах Казахстана и на основе фитопатологической оценки определить сорта, устойчивые к данным заболеваниям;

- Провести молекулярный скрининг сортов яблони с использованием ДНК-маркерных технологий для выявления генов устойчивости к грибным заболеваниям;

- Определить экономическую эффективность выращивания сортов яблони, устойчивых к грибным заболеваниям.

Методы исследования. Для записи географического положения места сбора образцов использовали GPS (Garmin). При сборе гербарного материала, сушке, приготовлении временных препаратов руководствовались общепринятыми методиками (Поликсенова В. Д., Храмцов А. К. и Пискун С. Г.). Для световой микроскопии временных препаратов использовали фотомикроскоп Polyvar с интерференционной контрастной оптикой Номарского. Обнаруженные грибы были идентифицированы с помощью соответствующих определителей.

Таксономический список грибов составлен с использованием системы MYCOBANK Database Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks). Названия грибных таксонов приведены в соответствии с базой данных Index Fungorum. Сорта к болезням оценивались в естественных полевых условиях заражения в июле 2022 года. В качестве контроля использовались восприимчивые сорта Голден Делишес и Айдаред. Пораженность паршой оценивалась по шкале, предложенной Шевалье и др. (1991). Двадцать пять изолятов, которые вызвали интерес для исследования, так как были похожи как на паршу (*V. inaequalis*), так и на альтернарию (*Alternaria tenuis* Nees, *Alternaria alternata*), были собраны в июле 2022 года из коммерческих районов выращивания яблок в семи округах южного и юго-восточного Казахстана, и их отдельные споровые изоляции были сделаны на среде водного агара.

Проросшие отдельные споры были перенесены на скошенный картофельный агар с декстрозой, инкубированы при 20°C и сохранены для дальнейшего использования.

Молекулярный скрининг был проведен на основе ПЦР-анализа с использованием молекулярных маркеров. ДНК была выделена из свежих листьев разных сортов яблони. Для идентификации генов устойчивости к парше *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi5*, *Rvi6*, *Rvi8*, *Rvi9*, *Rvi11*, *Rvi14*, *Rvi15*, *Pl1*, *Pl-w*, *Pl-d* и *Pl2* применяются следующие маркеры: OPL19, CH05e03, Hi07h02, AL07-SCAR, AM19-SCAR, K08, HB09 CH02f06, AT20-450, EM M02, EM M01, OPN18, OPU02, dr70F/dr339R, dr55F/dr336R (Patocchi A., Frei A., Frey J.E., Kellerhals M.). В исследовании для выделения ДНК использовались метод СТАВ и сорбентный метод. Экстракция проводилась по методу J.J. Doyle et al. (1987), а также в модификации, включающей дополнительную очистку образцов.

Продукты ПЦР и рестрикции анализировали электрофоретически с использованием 1,8% агарозы в ТАЕ-буфере. Гели, окрашенные бромистым этидием, визуализировали в трансиллюминаторе (Bio-Rad Gel Doc XRT, США). Последующее секвенирование продуктов ПЦР было проведено в университете Денизли в Турции. Нуклеотидную структуру секвенированных ампликонов грибов анализировали с помощью программы BLAST в открытой базе генетических данных GenBank.

Анализ данных проводился на основе результатов молекулярного анализа. Визуализация продуктов ПЦР достигалась с помощью электрофореза. Паттерн полос каждого амплифицированного продукта ПЦР оценивался как «+», что указывало на наличие резистентности, или «-», что указывало на отсутствие гена резистентности. Генетическое расстояние оценивалось с помощью программного обеспечения Popgen (версия 1.32), Yeh et al., путем расчета коэффициента Дайса. Этот рассчитанный индекс использовался для разработки метода невзвешенных парных групп со средним арифметическим (UPGMA). Дендрограмма была построена в Molecular Evolutionary Genetics Analysis (программное обеспечение MEGA, версия 11, Tamura et al.

Основные положения, выносимые на защиту

- Определены виды патогенных грибов на яблоне в горных лесах юго-востока Казахстана и промышленных садах юга и юго-востока Казахстана, дана их биологическая характеристика и выявлены признаки поражения яблони грибными заболеваниями;
- Проведена микробиологическая характеристика и молекулярная идентификация патогенных грибов *Venturia inaequalis* и *Podosphaera leucotricha*;
- Проведен анализ видового состава микобиоты яблони Сиверса (*Malus sieversii*) на исследуемых территориях горных лесов Казахстана;
- По результатам фитопатологической оценки и симптоматических признаков заболеваний определены наиболее устойчивые к вредоносным грибным заболеваниям сорта яблони;
- Проведен молекулярный скрининг обширной коллекции сортов яблони с использованием ДНК-маркерных технологий, в результате которого выявлены сорта-носители генов устойчивости к грибным заболеваниям, рекомендуемые в качестве ценных источников для селекции и для выращивания в промышленных садах;
- Определена экономическая эффективность выращивания сортов яблони, устойчивых к грибным заболеваниям.

Описание основных результатов исследования

В ходе исследования в промышленных яблоневых садах юго-востока Казахстана проведен фитопатологический мониторинг, в результате которого определены распространенность и степень развития основных заболеваний яблони. По результатам мониторинга установлены особенности распространения парши (*Venturia inaequalis*) и мучнистой росы (*Podosphaera leucotricha*), а также выявлена их вариабельность в зависимости от сортовых

особенностей и условий исследуемых регионов. В результате исследования в микобиоте дикорастущих популяций яблони *Malus sieversii* выявлено 64 вида грибов, из которых 21 вид характеризуется высоким фитопатогенным потенциалом. Проведены микологические и молекулярно-генетические исследования видов *Venturia inaequalis* и *Podosphaera leucotricha*, их видовая принадлежность подтверждена методами ПЦР и секвенирования ДНК. Проведена оценка устойчивости сортов яблони к парше и мучнистой росе, а также установлены особенности распространения генов устойчивости Rvi и Pl. Полученные результаты являются научной основой для оценки фитосанитарного состояния промышленных яблоневых садов, диагностики возбудителей заболеваний и отбора устойчивых к заболеваниям сортов.

На основании результатов научных исследований и полевой оценки определены наиболее устойчивые к грибным заболеваниям сорта яблони, адаптированные к конкретным экологическим условиям районов области. Внедрение данных сортов в производство позволит снизить вредоносность заболеваний и может рассматриваться как один из эффективных элементов системы защиты растений.

Использование рекомендуемых сортов в селекционном процессе будет способствовать повышению устойчивости будущих сортов к вредоносным заболеваниям. Внедрение устойчивых сортов в производство позволит ограничить применение химических средств защиты растений, получать экологически безопасную продукцию, а также повысить урожайность, качество продукции и экономическую эффективность производства.

Обоснование новизны и практическая значимость полученных результатов.

Научная новизна исследований. Впервые комплексно определен видовой состав основных грибных патогенов яблони в промышленных яблоневых садах и естественных горно-лесных экосистемах юго-востока Казахстана, а также проведена точная идентификация возбудителей *Venturia inaequalis* и *Podosphaera leucotricha* с использованием морфологических, культуральных и молекулярно-генетических методов. В результате исследования микобиоты яблони Сиверса (*Malus sieversii*) систематизировано видовое разнообразие грибов, уточнен состав микобиоты, включающий 64 вида, среди которых выявлены 21 вид с высоким фитопатогенным потенциалом и определены их эколого-биологические особенности. На основе фитосанитарного мониторинга, проведенного в 2022–2024 гг., впервые проведена сравнительная оценка распространения и динамики развития парши и мучнистой росы яблони в промышленных садах южных и юго-восточных регионов Казахстана, установлены закономерности их региональной и годовой изменчивости. По результатам фитопатологической оценки и молекулярно-генетического скрининга отобраны сорта яблони с высокой устойчивостью к парше и мучнистой росе, определены особенности распространения генотипов, несущих гены устойчивости Rvi и Pl, что позволяет использовать их в качестве ценного исходного материала для селекционных программ. Проведена комплексная оценка хозяйственно-

экономической эффективности исследованных сортов яблони и установлено, что устойчивые к грибным заболеваниям сорта характеризуются более высокими показателями продуктивности и рентабельности.

Практическая значимость исследований. На основании полученных результатов научных исследований (полевой оценки) выявлены наиболее устойчивые сорта яблони для конкретных экологических условий районов областей, что дает возможность рекомендовать их в качестве одной из мер снижения вредоносности и защиты растений.

Использование рекомендуемых сортов в селекции повысит устойчивость будущих сортов к вредоносным болезням, а внедрение в производство позволит ограничить применение химических средств защиты, получить экологически чистую продукцию, повысить урожайность и его качество, и экономическую эффективность.

При планировании закладки яблоневых садов рекомендуется как один из путей снижения зависимости от химических мер использовать допущенные и перспективные сорта с учетом отмеченных нами более устойчивых к болезням парше и мучнистой росе.

Соответствие направлениям развития науки и государственным программам.

Диссертационная работа выполнена в НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет» в рамках программы AP13068068 «Грантовое финансирование молодых учёных», финансируемой Министерством науки и высшего образования Республики Казахстан, по теме «Молекулярный скрининг и отбор устойчивых сортов яблони к грибным болезням с применением ДНК-маркерных технологии».

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации.

В ходе выполнения целей и задач исследования автор непосредственно участвовал в проведении полевых и лабораторных опытов, а также в сборе научных данных. Достоверность и точность полученных результатов высокая, поскольку данные были обработаны с применением методов математической статистики. Автор завершил диссертационную работу и внес активный вклад в подготовку и публикацию научных статей.

По итогам проведённого исследования опубликовано всего 7 научных работ, в том числе: 2 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus относящихся к квартилям (Q1) и (Q2); 2 статьи в научных журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 3 публикации в материалах международных научно-практических конференций. h-индекс автора — 2.

Структура и объём диссертации. Общий объём диссертационной работы составляет 140 страниц. Диссертация состоит из введения, основной части, включающей 4 раздела, заключения, рекомендаций производству и приложения. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 34 рисунками, содержит 1 приложение. Список использованных источников включает 289 работ отечественных и зарубежных ученых.