

Н.Н.Гринько, кандидат биологических наук

Адлерская опытная станция, Россия

В.И.Сидляревич, кандидат биологических наук

Т.Н.Жердецкая, научный сотрудник

Белорусский НИИ защиты растений

УДК 632.482.112

Структура популяций и дифференциация рас *Pseudoperonospora cubensis* (berk.et. curt.) Rostow. по признаку вирулентности

В статье дан подбор тест-сортов семейства Cucurbitacea, позволяющий дифференцировать расы возбудителя ложной мучнистой росы огурца, которые необходимо учитывать при создании инфекционных фонов для оценки и отбора селекционного материала, а также защиты культуры от болезни

In the article the selection of the test-varieties of Cucurbitacea family permitting to differentiate races of cucumber false mildew agent is given which should be taken into account for creation of infection background for an evaluation and sampling of a selection material, and also crop protection against the disease

Несмотря на актуальность проблемы контроля за появлением и накоплением новых вирулентных генотипов в природной популяции возбудителя ложной мучнистой росы, применительно к задачам практической селекции, до последнего времени она, практически, не решена /15/. Обусловлено это отсутствием стабильного набора сортов-дифференциаторов и иммунных реакций внутри генотипов *Cucumis* L. Это затрудняет четкую градацию фиксированных рас, так как международная номенклатура их пока не создана /2/.

Обобщение имеющихся литературных данных выявило различие мнений по вопросу внутривидовой дифференциации *P.cubensis*. Экспериментально доказано, что отсутствие в наборе тест-сортов иммунных форм обеспечивает скользкий тип совместимости, различающийся по степени поражения, позволяет фиксировать только патотипы /1/.

Так, из числа изолятов возбудителя, собранных в Израиле, Японии и США, выделено 5 патотипов, характеризующихся высоким типом совместимости с *Cucumis sativus* и *C.melo* var. *reticulata*. Патотип I развивался только на этих

видах, а патотип 2 дополнительно заражал *C. melo* var. *colomon*. Патотип 3 инфицировал *C. sativus*, *C. melo* var. *reticulatus*, *C. melo* var. *colomon* и *C. melo* var. *acidulus*. Совместимость со всеми вышеперечисленными видами и с *Citrullus lanatus* зарегистрирована у патотипа 4. Патотип 5 заражал виды, восприимчивые к патотипу 4, а также *Cucurbita maxima*, *C. pepo* и *C. moscata* /16/. Инкубирование на дыне и тыкке патотипа 5 в течение 18 генераций доказало значительное влияние видов растений-хозяев в селекции факторов вирулентности *P. cubensis* и позволило объяснить ежегодное возникновение новых патотипов в условиях, где возделываются эти культуры /17/.

Изучение структуры Ленинградской, Московской, Майкопской и Молдавской популяций на эмпирическом тест-наборе генотипов огурца обеспечило выделение региональных патотипов /2/. В условиях Беларуси зафиксировано 2 патотипа гриба: патотип 1 совместим только с растениями огурца посевного *Cucumis* subsp. *sativus* L., а патотип 2 инфицирует также этот вид и тыквы крупноплодные *Cucurbita maxima* /9/.

Имеются сообщения и об идентификации рас *P. cubensis*. Так, дифференциация различий между 18 сортами 6 родов семейства *Cucurbitaceae* по способности поддерживать начавшийся процесс заражения и споруляции на них *P. cubensis* (число образовавшихся пятен, время между моментом инокуляции и появлением симптомов болезни) позволила выделить 2 новые расы на дыне. При этом размеры спорангиеносцев и спорангиев, а также число зооспор, продуцируемых одним спорангием, зарегистрированные у изолятов различных рас патогена, были идентичны /12/.

Установлена совместимость 37 перспективных сортов из 12 видов и подвидов тыквенных культур с физиологическими расами *P. cubensis*, изолированными из растений огурца (C_1 — C_2) и дыни (M_1 — M_2) в Японии /14/.

В Украине зарегистрировано от 11 до 19 рас патогена, при этом наиболее вирулентная, занимающая до 80% в популяции патогена, встречалась во всех зонах возделывания огурца /8,10/. Характерно, что уровень вирулентности популяций, распространенных на Украине и Дальнем Востоке был выше, чем в Белоруссии и Болгарии /7/. В Болгарии идентифицированы 2 расы *P. cubensis* /11/.

Уровень вирулентности популяций патогена на Черноморском побережье Краснодарского края ранее не изучался. Косвенным свидетельством внутривидовой изменчивости патогена в наших условиях служит факт усиления восприимчивости к патогену гибрида F_1 3691 ТСХА, обладающего высоким уровнем устойчивости к ложной мучнистой росе. До эпифитотии 1986г. степень развития болезни составляла в среднем 2,3—4,9%, а к 1990г. она повышалась на 45% и более, при 100%-ном поражении гибрида. Изменение устойчивости едва ли объяснимо условиями выращивания и фенотипическими особенностями гибрида, находящегося на экологическом испытании с 1982г. /3/.

Исследования, проводимые нами на Адлерской опытной станции ВНИИР им. Н.И.Вавилова и в БелНИИЗР (1994—1998гг.), предусматривали создание набора сор-

тов, отвечающих требованиям хорошей дифференцирующей способности, чтобы количество вирулентных клонов в популяции к проверяемым сортам не превышало 50%. Выделение тест-сортов явилось итогом изучения их на инфекционном фоне более 300 сортообразцов из мировой коллекции ВНИИР и отечественной селекции.

Использование для этой цели известного в литературе тест-набора генотипов /7/ показало в наших условиях их слабую дифференцирующую способность. Количество вирулентных к ним клонов составляло более 75%. В связи с отсутствием иммунных видов рода *Cucumis* L. решено было включить в тест-набор универсально восприимчивый сорт Нежинский 12, относительно устойчивые — Дальневосточный 27, Конкурент, *Lagenaria siceraria*, *Luffa aegyptica*, *Cucumis anguria* и генетически устойчивый *Secium edule*. Вирулентность каждой популяции ежегодно оценивали на 100 моноспоровых культурах *P. cubensis*, размножение и выделение которых проводили на листьях восприимчивого гибрида F_1 Апрельский. С растений огурца, выращенных в теплице до фазы 3—4 настоящих листьев, срезали 3-й лист и помещали верхней стороной вниз на дистиллированную воду в чашки Петри. Микроманипулятором на листья наносили по 2 капли суспензии зооспорангиев плотностью 1—3 шт в поле зрения микроскопа (увеличение 9×10) и скальпелем равномерно распределяли по поверхности. Суспензию зооспорангиев готовили по методике /3/. После инокуляции листья инкубировали под светоустановкой при температуре 23—25°C и освещении 5 тыс.лк. 14—16 ч в течение суток. На 3-и сутки ткань с единичным хлоротичным пятном вырезали и помещали в чашку Петри с дистиллированной водой для образования споронотения. По нашему мнению, пятно представляло собой результат заражения одним зооспорангием, о чем свидетельствует их низкая концентрация в суспензии. Моноспоровую культуру размножали на гибриде F_1 Апрельский, а из полученного споронотения готовили суспензию (15—20 зооспорангиев в поле зрения микроскопа, увеличение 9×10) для заражения тест-сортов. Их выращивали в климокамере с целью изолирования от случайного инфицирования патогеном. В фотокюветы верхней стороной вниз на дистиллированную воду помещали 3-й лист и закрывали стеклом. Инокуляцию тест-сортов и инкубирование листьев проводили вышеописанным способом. Иммунологические реакции сортов-дифференциаторов на заражение клонами *P. cubensis* устанавливали на 8-е сутки по шкале: R- устойчивый, пятна отсутствуют или при реакции сверхчувствительности они единичные, некротические, визуальное споронотение не наблюдается; S- восприимчивый, пятна крупные, сливающиеся, со споронотением, ткань отмирает. Номера расам присваивали по системе Хабгуда /13/. Сорто-дифференциаторы располагали в строго определенном порядке, присваивая каждому бинарный номер от 2^0 до 2^6 . Номер расы определяли суммированием числа бинарных номеров сортов, проявивших реакцию восприимчивости к клонам.

Подобранный состав тест-сортов показал хорошую

способность дифференцировать расы (табл.1). Варьирование типов совместимости сортов-дифференциаторов с клонами *P.cubensis* позволило идентифицировать 12 иммунологических комбинаций, рас и составить ключ для их определения (табл.2). Все выделенные расы достаточно вирулентны, но сложные высоковирулентные — 30, 31, 53, 61 и 63 поражали 4—5 сортов-дифференциаторов.

Таблица 1. Номенклатура рас возбудителя ложной мучнистой росы огурца

№ расы	Бинарные номера восприимчивых сортов	Номера восприимчивых сортов	Шкала бинарных номеров
6	2 ¹ , 2 ²	2, 3	2, 4
7	2 ⁰ , 2 ¹ , 2 ²	1, 2, 3	1, 2, 4
12	2 ² , 2 ³	3, 4	4, 8
14	2 ¹ , 2 ² , 2 ³	2, 3, 4	2, 4, 8
20	2 ² , 2 ⁴	3, 5	4, 16
30	2 ¹ , 2 ² , 2 ³ , 2 ⁵	2, 3, 4, 5	2, 4, 8, 16
31	2 ⁰ , 2 ¹ , 2 ² , 2 ³ , 2 ⁴	1, 2, 3, 4, 5	1, 2, 4, 8, 16
38	2 ¹ , 2 ² , 2 ⁵	2, 3, 6	2, 4, 32
44	2 ² , 2 ³ , 2 ⁵	3, 4, 6	4, 8, 32
53	2 ⁰ , 2 ² , 2 ⁴ , 2 ⁵	1, 3, 5, 6	1, 4, 16, 32
61	2 ⁰ , 2 ² , 2 ³ , 2 ⁴ , 2 ⁵	1, 3, 4, 5, 6	1, 4, 8, 16, 32
63	2 ⁰ , 2 ¹ , 2 ² , 2 ³ , 2 ⁴ , 2 ⁵	1, 2, 3, 4, 5, 6	1, 2, 4, 8, 16, 32

Анализ расового состава популяций в 1994—1998 гг. показал, что ежегодно встречались 5 рас, в 1995—1997 гг. и 1998 г. соответственно 12 и 9. Появление в 1995 г. 5 новых рас свидетельствует о накоплении новых генотипов патогена, способствующих более выраженному расширению спектра вирулентных свойств *P. cubensis*. Характерно, что все высоковирулентные расы, за исключением 30, превалялись в 1994—1995 гг. и в популяциях доля их составила (в %) 81,7 и 67,5, что выше соответственно в 5,5 и 3,1 раза, чем средневирулентных (табл.3).

Следует отметить, что полученные нами результаты не согласуются с известными сведениями, указывающими на наличие в популяции патогена только одной высоковирулентной 95 расы в Украине /10/. По нашему мнению,

Таблица 3. Частота встречаемости рас *P.cubensis* (%)

Номер расы	Годы				
	1994	1995	1996	1997	1998
6	0,0	7,5	9,8	7,1	8,0
7	0,0	2,5	3,9	4,3	5,7
12	10,0	5,0	6,4	10,5	12,4
14	0,0	2,5	4,5	13,0	0,0
20	0,0	2,5	6,1	9,2	14,9
30	8,3	7,5	4,9	3,6	0,0
31	13,3	12,5	8,5	4,3	0,0
38	8,3	7,5	10,0	8,2	15,4
44	0,0	5,0	12,6	14,5	23,7
53	11,7	10,0	8,4	6,4	3,5
61	16,7	12,5	11,0	9,2	8,0
63	31,7	25,0	13,9	9,7	8,4

более высокая вирулентность популяций патогена объясняется тем, что Черноморское побережье России, в отличие от других регионов, является постоянным многолетним очагом вредоносности ложной мучнистой росы огурца. Наличие нескольких высоковирулентных рас патогена подтверждает и установленный нами факт дифференцированных реакций *Cucurbitaceae* на внедрение патогена и проявление различных симптомов пероноспороза даже внутри одного вида /5/. По-видимому, со-вмещением *P.cubensis*, имеющего в популяции только одну высоковирулентную расу, с геноти-

пами хозяина самого широкого спектра, невозможно вызвать повсеместно эпифитотию пероноспороза огурца.

В популяции патогена в 1996—1997 гг. высоковирулентные расы составили соответственно (в %) 46,7 и 33,2, что свидетельствует о снижении их доли в 1,9 раза по сравнению с 1994—1995 гг. В 1998 г. наблюдалась элиминация высоко- и средневирулентных рас патогена 30, 31 и 14. Варьирование расового состава и повышение в популяции средне- и слабовирулентных рас, по нашему мнению, объясняется введением в культуру новых, относительно устойчивых к пероноспорозу, генотипов огурца /4/, а также согласуется с фактом закономерного снижения вредоносности в последующие годы /6/.

Таблица 2. Расы *P.cubensis* и их определение на сортах-дифференциаторах

Номер расы	Тест-сорта и их бинарные номера						
	Дальневосточный 27 2 ⁰ 1	Конкурент 2 ¹ 2	Нежинский 12 2 ² 4	<i>Lagenaria siceraria</i> 2 ³ 8	<i>Luffa aegyptica</i> 2 ⁴ 16	<i>Cucumis anguria</i> 2 ⁵ 32	<i>Sechium edule</i> 2 ⁶ 64
6	R	S	S	R	R	R	R
7	S	S	S	R	R	R	R
12	R	R	S	S	R	R	R
14	R	S	S	S	R	R	R
20	R	R	S	R	S	R	R
30	R	S	S	S	S	R	R
31	S	S	S	S	S	R	R
38	R	S	S	R	R	S	R
44	R	R	S	S	R	S	R
53	S	R	S	R	S	S	R
61	S	R	S	S	S	S	R
63	S	S	S	S	S	S	R

Результаты проведенных нами исследований показывают, что на подобранном наборе сортов-дифференциаторов получены сведения о расовом составе возбудителя ложной мучнистой росы огурца на Черноморском побережье Краснодарского края, которые необходимо учитывать при создании инфекционных фондов для оценки и отбора селекционного материала.

Литература

1. Власова Э.А. Особенности патогенеза ложной мучнистой росы огурца // Тез. докл. IX Всесоюз. совещ. по иммунитету растений к болезням и вредителям; Минск, сент. 1991. — Минск, 1991. — Т.2. — С.188-190.
2. Власова Э.А. Проблема устойчивости огурца к ложной мучнистой росе // Защита растений от вредителей и болезней в условиях экологизации с.-х. производства: Сб. науч. тр. Санкт-Петербургский Государственный университет. — Санкт-Петербург, 1992. — С. 32-41.
3. Гринько Н.Н., Жердецкая Т.Н. Пероноспороз огурца: Обзор информ. / БелНИИТИ. — Минск, 1991. — 63с.
4. Гринько Н.Н., Жердецкая Т.Н., Стрижак Т.В., Сидляревич В.И. Оценка генотипов огурца на устойчивость к комплексу болезней // Защита раст.: Сб. науч. тр. / БелНИИЗР. — Минск, 1997. — Вып. XX. — С.122-128.
5. Гринько Н.Н. Совместимость редких тыквенных растений с *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostow. // Интродукция нетрадиционных и редких сельскохозяйственных растений: Тез. докл. Всерос. науч.-произв. конф. Пенза, 24—28 июня 1998г. — Пенза, 1998. — Т.3 — С.70-71.
6. Гринько Н.Н., Жердецкая Т.Н., Белуга А.Н. Солнечно обусловленная цикличность эпифитотий ложной мучнистой росы огурца // Защита раст.: Сб. науч. тр. / БелНИИЗР. — Минск, 1998. — Вып. XXI. — С.94-104.
7. Лесовой М.П., Лоханская В.И., Скрипник Н.В. Идентификация рас возбудителя ложной мучнистой росы огурца и определение устойчивости селекционного материала: Метод. рекомендации. — Киев, 1992. — 9с.
8. Лоханская В.И., Скрипник Н.В. Устойчивость сортов огурца к ложной мучнистой росе // Тез. докл. IX Всесоюз. совещ. по иммунитету растений к болезням и вредителям; Минск, сент. 1991. — Минск, 1991. — Т.1 — С.117-118.
9. Налобова В.Л. Фитопатологические основы селекции огурца на устойчивость к болезням: Автореф. дис. д-ра с.х. наук. — Минск, 1998. — 40с.
10. Скрипник Н.В. Устойчивость сортов огурца к ложной мучнистой росе // Эколого-экон. основы усовершенств. интегр. систем защиты раст. от вредителей, болезней и сорняков: Тез. докл. науч.-произв. конф. Минск—Прилуки, 14—16 февр. 1996. — Минск, 1996. — Ч.11. — С.37-38.
11. Angelow D. Two races of *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostow. in cucumber in Bulgaria // Растениевед. науки. — 1994. — 31. — №7-10. — С.35-38.
12. Bains S.S., Sharma N.K. Differential response of certain cucurbits to isolates of *Pseudoperonospora cubensis* and characteristics of identified races // Phytophylactica. — 1986. — 18. — №1. — P. 31-33.
13. Habgood R.M. Designation of physiological races of plant pathogenes // Nature. — 1970. — Vol. 227. — №5264. — P. 1268-1269.
14. Inaba T., Morinaka T., Namaya E. Physiological races of *Pseudoperonospora cubensis* isolated from cucumber and muskmelon in Japan // Bull. Nat. Inst. Agro-Environ. Sci. — 1986. — №2. — С.35-43.
15. Mende G., Krumbein G. Ausbreitung und Möglichkeit zur Bekämpfung des Falscher Mehltaus der Gurke in DDR // Gartenbau. — 1986. — 33. — №6. — S. 170-172.
16. Thomas C.E., Inaba T., Cohen Y. Physiological specialization in *Pseudoperonospora cubensis* // Phytopathology. — 1987. — 77. — №12. — P.1621-1624.
17. Thomas C.E., Jourdain E.Z. Host effect on selection of virulence factors affecting sporulation by *Pseudoperonospora cubensis* // Plant Disease. — 1992. — 76. — №9. — С. 905-907.