

Российская Академия Сельскохозяйственных Наук  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ ФИТОПАТОЛОГИИ



**Метод оценки частичной (расонеспецифической)  
устойчивости сортов картофеля к фитофторозу  
(*Phytophthora infestans* (Mont.) dBy)**

*(Патент № 2260935. Начало действия 05.06.2003 г.)*

Выходная продукция по заданию 01 Программы фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации на 2001-2005 гг.



Большие Вяземы

2005 год

**Исполнители:**

**Кузнецова Мария Алексеевна**

*Заведующая лабораторией грибных болезней  
картофеля и овощных культур, к.б.н.*

**Филиппов Алексей Васильевич**

*Ведущий научный сотрудник, к.б.н.*

**Гуревич Борис Исаевич**

*Старший научный сотрудник, к.б.н.*

**Рогожин Александр Николаевич**

*Старший научный сотрудник, к.с/х н.*

**Спиглазова Светлана Юрьевна**

*Старший научный сотрудник, к.б.н.*

**Сметанина Татьяна Ивановна**

*Научный сотрудник*

До сих пор основную информацию о частичной расоспецифической устойчивости сортов картофеля к фитофторозу получают по результатам полевых испытаний. Кроме того, существует метод лабораторной оценки принятый в некоторых странах и используемый в некоторых селекционных учреждениях России для предрегистрационных испытаний.

Гарантированные метеорологические и фитосанитарные условия, обеспечивающие достоверную оценку сортов при полевых испытаниях, имеются в долине Толука в Мексике и южной части острова Сахалин. В большинстве других регионов развитие болезни зависит от погоды в период вегетации растений, а также количества инфекционного начала и степени его агрессивности. Поэтому испытания приходится повторять в течение нескольких сезонов.

Метод лабораторной оценки предусматривает тестирование устойчивости к отдельным изолятам патогена только по площади некротизации листьев и глазомерной оценки интенсивности спорообразования.

Недостатками этого метода является малое число изучаемых параметров инфекционного цикла и возможность влияния на результаты оценки расоспецифической устойчивости исследуемого сорта.

Предлагаемый ниже лабораторно-полевой метод основан на совместном использовании искусственного заражения отделенных листьев картофеля и математической модели, имитирующей развитие болезни при стандартных метеорологических условиях и заданном уровне первичной инфекции.

Этот метод способен заменить собой оба вышеприведенных метода, т.к. кроме весомого снижения стоимости испытаний он позволяет повысить их точность и существенно ускорить проведение испытаний.

Преимущества предлагаемого метода по сравнению с принятыми методами оценки фитофтороустойчивости следующие:

- Исключается влияние метеорологических условий на результаты оценки, в связи с чем, нет необходимости в повторении испытаний в течение нескольких лет.
- Возможно одновременное определение устойчивости к изолятам из нескольких географически удаленных популяций патогена в одной лаборатории, что дает возможность отказаться от испытаний, проводимых одновременно в нескольких агроклиматических зонах.
- Результирующим показателем устойчивости является хозяйственно важный признак – процент потерь урожая в результате развития фитофтороза, а не трудно интерпретируемый показатель степени пораженности растений. Потери урожая могут быть разными и при одинаковой пораженности в какую-либо

конкретную дату, т.к. они прямо пропорциональны площади под кривой, описывающей динамику болезни в течение всего периода вегетации.

- Метод позволяет оценивать в лабораторных условиях устойчивость сортов картофеля к изолятам наиболее агрессивных популяций, в т.ч. экзотическим (например, мексиканской или сахалинской).
- Селекция инокулюма на первом этапе позволяет снизить вероятность ошибки тестирования из-за выбора слабопатогенного штамма и исключить влияние расоспецифической устойчивости исследуемых сортов картофеля.
- Предлагаемый метод предполагает тестирование значительно большего числа параметров инфекционного цикла, чем существующий метод лабораторной оценки, а использование математической модели развития фитофтороза значительно увеличивает достоверность результатов.

#### **Последовательность выполнения работы:**

Работа включает два этапа.

I Этап. (Рис.1) Ранней весной изучаемые сорта выращивают в климатической камере до фазы развития 5-6 листьев (по 3-5 растений каждого сорта). Изолированные с растений каждого сорта листья (5 листьев на кювету) инокулируют смесью изолятов тестируемой популяции *P.infestans* (10 изолятов). Инокулюм на листья в виде суспензии зооспорангиев наносят локально (по 1-2 капле на лист). Используют микродозатор, позволяющий наносить капли объемом 10 мкл. После появления на листьях фитофторозных пятен и спороношения, зооспорангии переносят на овсяную агаризованную питательную среду для размножения и повторного тестирования (II Этап). Таким способом из инокулюма элиминируют неэффективные его части, т.е. штаммы, не способные развиваться на изучаемом сорте (в том числе авирулентные к сорту расы).

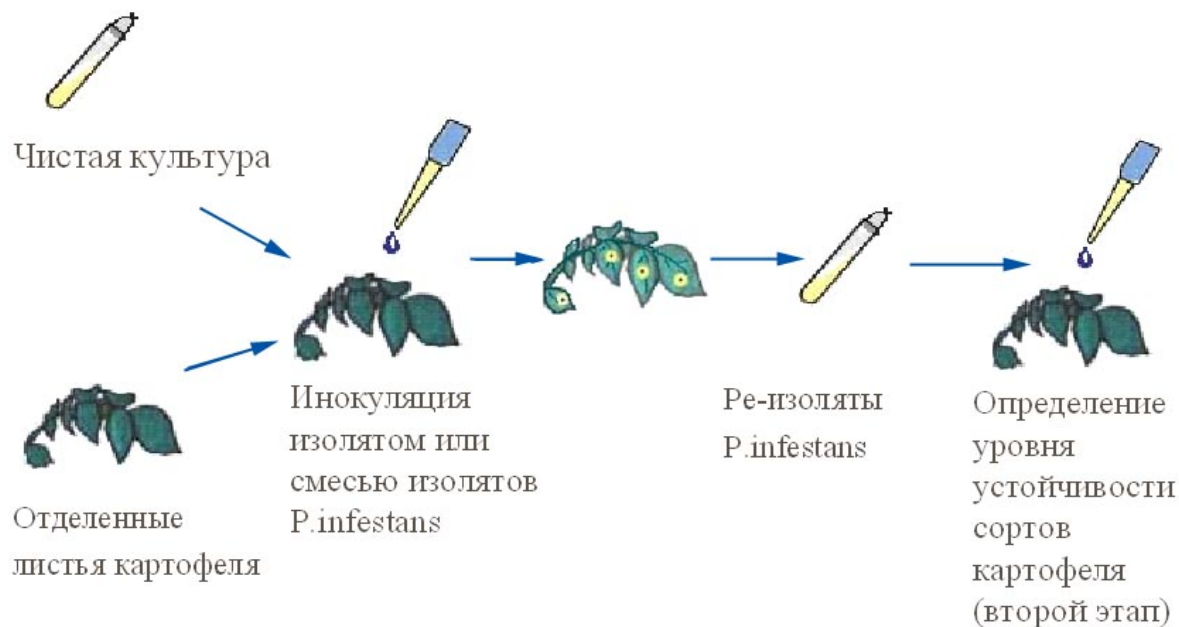


Рис.1. Этап I. Схема приготовления инокулюма

II Этап. (Рис.2) Растения изучаемых сортов и эталонного сорта (по 30 растений, каждый) выращивают в полевых условиях. В фазу развития 7-9 листьев с растений каждого сорта срезают по одному листу (со среднего яруса). Листья переносят в лабораторию и инокулируют реизолятами патогенна. Каждую тестируемую пару «сорт-патоген» сравнивают с эталонной парой. Сравнение показателей, полученных в результате экспериментов (количество некрозов, диаметр некротических пятен и продуктивность спороношения) для каждой пары изолят - сорт, позволяет сделать заключение о различиях в агрессивности между изолятами из регионов и, следовательно, уровне устойчивости испытываемых сортов.

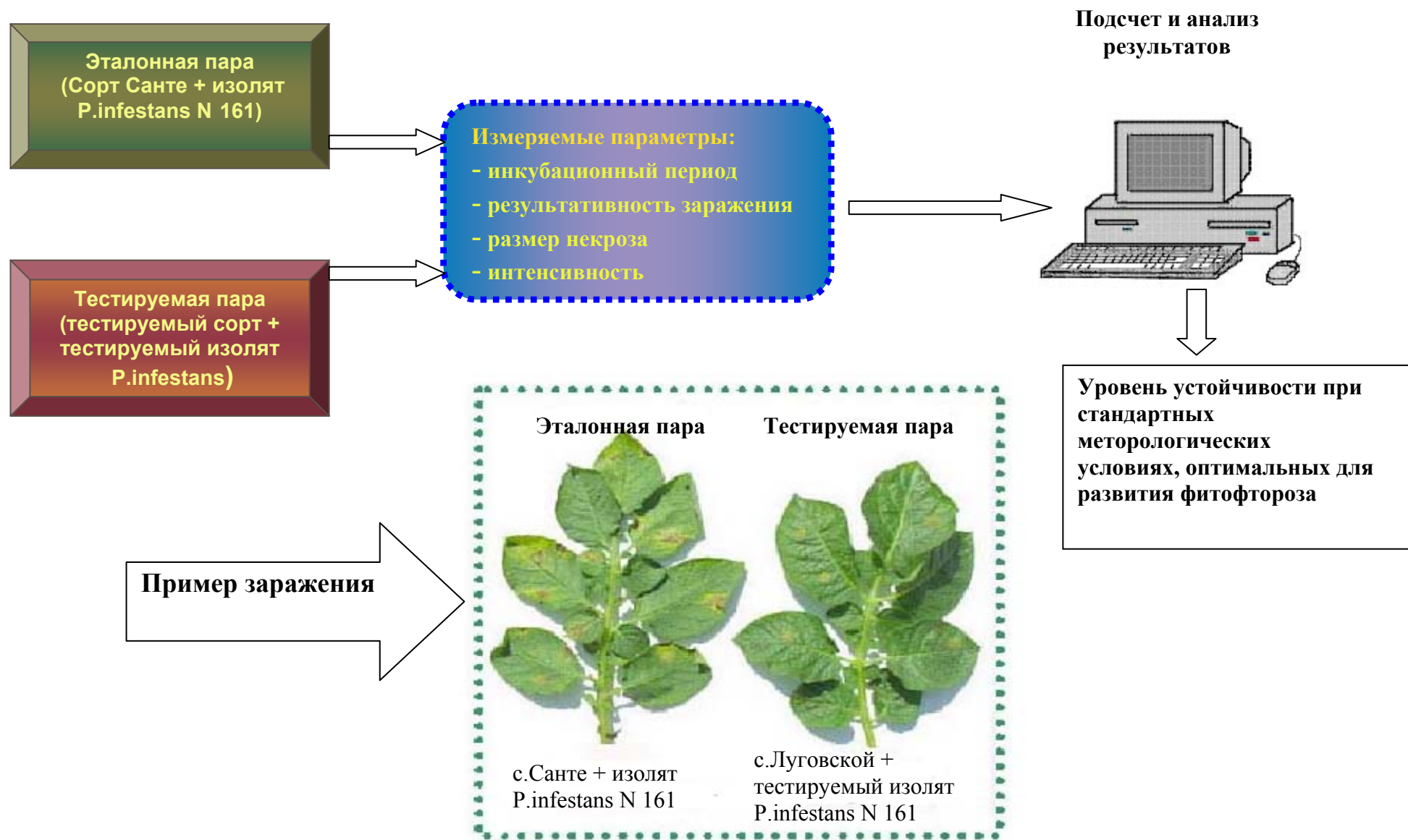


Рис.2. Этап II. Определение уровня устойчивости сортов картофеля

Лабораторные тесты выполняются на отделенных листьях растений анализируемых сортов, заражаемых испытуемыми изолятами *P.infestans* и, параллельно, на листьях сорта-эталона, зараженных эталонным изолятом *P.infestans*.

В качестве сорта-эталона используется сорт Санта, в качестве эталонного штамма *P. infestans* – изолят № 161.

С помощью тестов измеряют основные параметры инфекционного цикла на каждом изучаемом сорте относительно эталонного сорта:

#### 1. Измерение результативности заражения

Проводят на 10 листьях с растений каждого сортообразца. Листья инокулируют путем опрыскивания их суспензией зооспорангиев (300000 шт м<sup>2</sup>). Используют пульверизатор (объем суспензии -5 мл/ кювету). После инокуляции листья выдерживают при 18°C во влажной камере.

Через 3 суток с помощью фотопланиметра определяют площадь листьев и подсчитывают число некрозов на 1 см<sup>2</sup> поверхности листа.

#### 2. Измерение размеров некрозов

Инокулом на листья в виде суспензии зооспорангиев наносят локально (по 1-2 капли на лист). Используют микродозатор, позволяющий наносить капли объемом 10 мкл. Концентрация зооспор такая же, как в предыдущей операции (I этап). Инокулированные листья находятся 18 часов во влажной камере в темноте. Затем с листьев удаляют остатки суспензии фильтровальной бумагой и снова помещают во влажную камеру при температуре 20°C. На 4 сутки измеряют диаметр некрозов.

#### 3. Измерение продуктивности спороношения

Используют листья из предыдущего теста.

Интенсивность спорообразования оценивают двумя способами. Более точным является способ прямого подсчета количества конидий на 1 пятно с помощью камеры Горяева. Для этого 10 долей листа с некрозами помещают в стакан и заливают дистиллированной водой из расчета 1,5 мл на пятно (15 мл). Встряхивают стакан, удаляют листья и измеряют объем жидкости. Затем проводят подсчет числа конидий в камере Горяева и определяют количество конидий на 1 пятно.

Второй способ - визуальная оценка в баллах.

Шкала оценки:

0-1 – конидиальный налет отсутствует или очень слабый, в виде редких участков;

- 2 – конидиальный налет в виде узкой полосы вокруг некроза;
- 3 – конидиальный налет в виде широкой полосы вокруг некроза;
- 4 – конидиальный налет занимает большую часть листовой пластины.

### Определение фитофтороустойчивости растений картофеля

Расчеты проводятся на компьютере по специально разработанной программе или с помощью номограммы (рис. – см. приложение 1) для сортов картофеля трех групп спелости (ранних, средних и поздних). Номограмма включает следующие шкалы:

А - индекс заражения (произведение числа некрозов на их размер), в долях от эталона;

В – инкубационный период, в долях от эталона;

Г – продуктивность спороношения, в долях от эталона;

Б–Расчетные потери урожая в результате поражения ботвы фитофторозом для поздних [L], средних [M] и ранних [F] сортов (Рис.3).

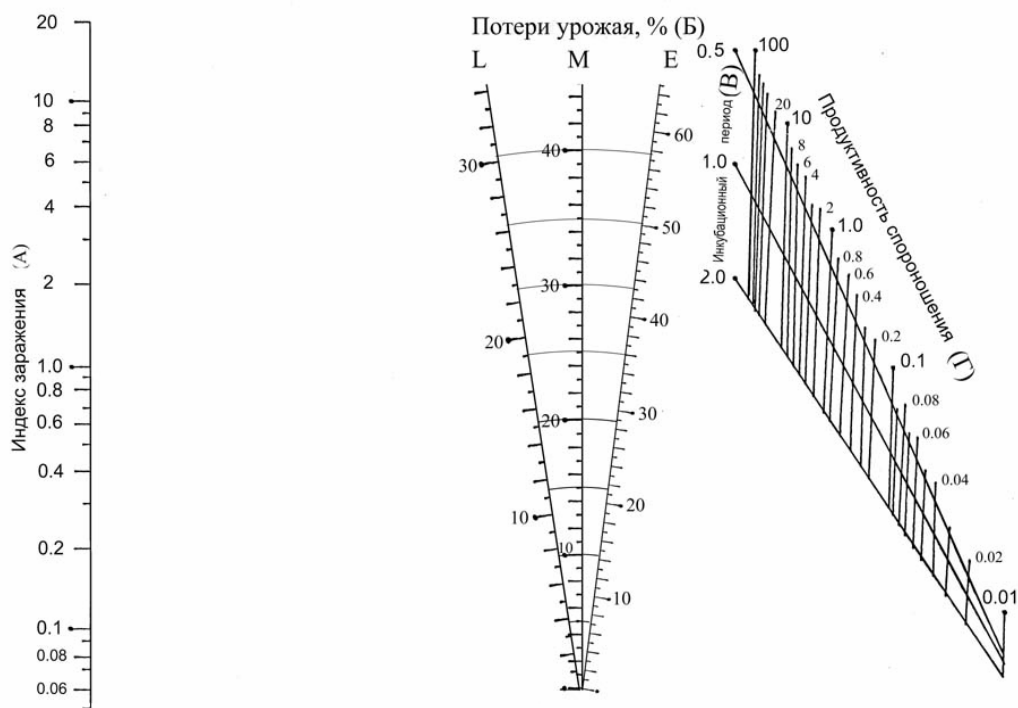


Рис.3. Номограмма для определения потерь урожая картофеля от фитофтороза в результате преждевременного отмирания ботвы при раннем появлении болезни и при благоприятных для нее метеоусловиях для трех групп сортов:

- для раннеспелых [E]
- для среднеспелых [M]
- для позднеспелых [L]



*Пример расчета потерь урожая с помощью номограммы:*

Необходимо оценить величину потерь урожая у среднего по спелости сорта X к изоляту Y возбудителя фитофтороза.

Результаты измерений: продуктивность спороношения на листьях сорта X, зараженного изолятом Y ( $\Gamma_{он}$ ) – 307 шт/см<sup>2</sup>, на эталонном сорте Санте, зараженном эталонным изолятом N161 ( $\Gamma_{эм}$ ) - 12405 шт/см<sup>2</sup>, т.е.:

$$\Gamma = \frac{\Gamma_{он}}{\Gamma_{эм}} = 0,025 ; \quad (1)$$

результативность заражения - соответственно 0,67 и 2,47 пятен на см<sup>2</sup>, средний диаметр пятна на четвертые сутки 7,1 и 15,3 мм, поэтому индекс заражения (A):

$$A = \frac{0,67}{2,47} \times \frac{7,1}{15,3} = 0,126 \quad (2)$$

Продолжительность инкубационного периода на испытуемом сорте и эталоне равна трем суткам, т.е.  $B = 1$ .

На бинарном поле отмечают точку с координатами “1” (на шкале инкубационного периода) и “0,025” (на шкале продуктивности спорообразования). Помеченную точку соединяют по линейке с точкой “0,12” на шкале индекса заражения. Точка пересечения проведенной прямой со шкалой отклика (B) укажет значение индекса вредоносности в процентах. В нашем примере величина потерь урожая равна 7,2%. Для поздних или ранних сортов находят точку пересечения прямой с левой или правой лучевыми линиями соответственно (шкалы B<sub>1</sub> и B<sub>2</sub>).

Отнесение сорта картофеля по полученным данным к той или иной группе частичной расонеспецифической устойчивости проводится согласно приведенной шкалы оценки устойчивости (Рис.4). Расчетные потери урожая могут быть переведены в баллы.

#### **Градации устойчивости сортов картофеля к фитофторозу:**

<b>Уровень устойчивости к фитофторозу по 9-балльной шкале, где 9 – высший уровень устойчивости</b>	<b>Расчетные потери урожая</b>	
<b>Устойчивый (R)</b>	<b>9-8 баллов</b>	<b>&lt; 5%</b>
<b>Умеренно-устойчивый (MR)</b>	<b>7-6 баллов</b>	<b>5-15%</b>
<b>Умеренно-восприимчивый (MS)</b>	<b>5-4 балла</b>	<b>16-35%</b>
<b>Восприимчивый (S)</b>	<b>3-1 балл</b>	<b>&gt; 35%</b>

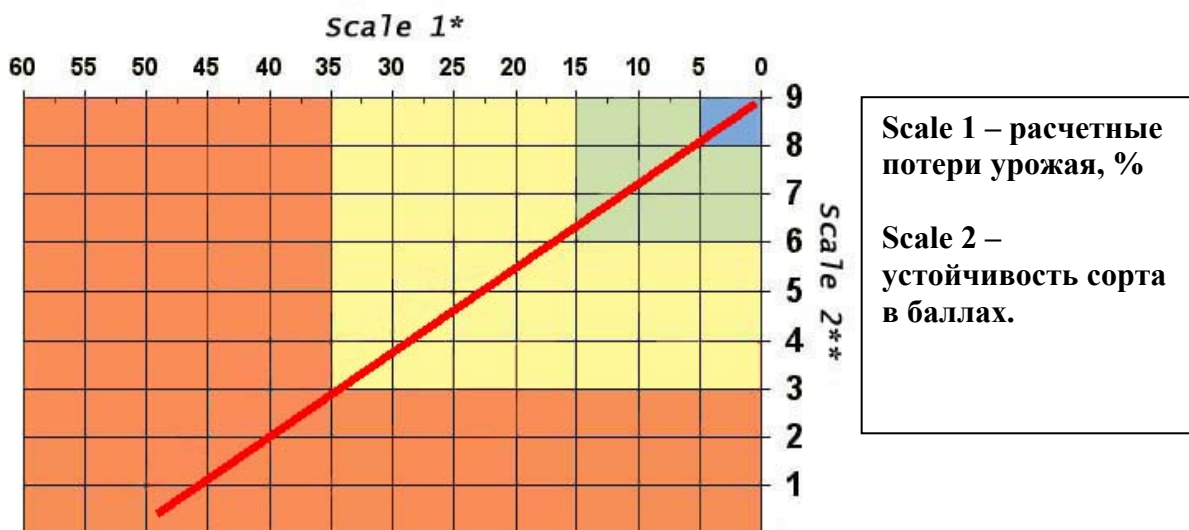


Рис.4. Шкала оценки устойчивости сортов картофеля к фитофторозу

Метод может быть использован фитопатологами, имеющими опыт работы с чистыми культурами возбудителя фитофтороза картофеля.

## **Необходимые оборудование и материалы:**

1. Камера искусственного климата для выращивания растений картофеля.
2. Бокс пылезащитный (типа БП-4-004).
3. Фотопланиметр для измерения площади листьев картофеля.
4. Стерилизатор паровой.
5. Холодильник бытовой.
6. Дистиллятор.
7. Пульверизатор с диаметром выходного отверстия  $1,0 \pm 0,2$  мм.
8. Компьютер.
9. Микроскоп световой биологический.
10. Осветитель (типа ОН-19).
11. Микропипетки
12. Камера Горяева счетная.
13. Кюветы (размер 0,40 x 0,35 м.).
14. Спиртовки.
15. Чашки Петри.
16. Пробирки биологические.
17. Стаканы стеклянные.
18. Цилиндры измерительные.
19. Среды питательные (овсяная с агаром, картофельно-глюкозная и др.)

Кроме того, необходим полевой участок, на котором тестируемые сорта картофеля выращивают с соблюдением принятой агротехники.

Государственное научное учреждение

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии Россельхозакадемии  
(ГНУ ВНИИФ)

143050, Московская область, Одинцовский район, р.п. Большие Вяземы

Тел.: +8(096)592-92-87

Факс: +8-2-334-11-24

e-mail: [vniif@vniif.rosmail.com](mailto:vniif@vniif.rosmail.com)