Защита картофеля

№1, 2015

ISSN 2221-2396

Научно-практический журнал

Учредитель и главный редактор:
С. Н. Еланский

Редколлегия:
Б.В. Анисимов, В.Н. Зейрук, М. А. Кузнецова, А. В. Николаев, К. А. Пшеченков, Е. А. Симаков, А.Н. Смирнов, З. А. Сташевски, А. В. Филиппов.

E-mail: zakartofel@gmail.com

Сайт: http://www.kartofel.org

Полная или частичная перепечатка материалов только с письменного разрешения редакции

© редакция журнала “Защита картофеля”, 2015.

Содержание

Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ с использованием молекулярных маркеров.
В.А. Бирюкова, И.В. Шмыгля, С.Б. Абросимова, Т.И. Запекина, А.А. Мелешин, А.В. Митюшкин, В.В. Мананков **3**

Особенности развития фитофтороза в России
С.Н. Еланский **8**

Урожай и заболеваемость различных сортов картофеля.
А. В. Бутов, А. А. Мандрова **12**

Вирулентность штаммов *Alternaria alternata* к сортам картофеля и томата.
Л.Ю.Кокаева, Н.Н.Кудрявцева, М.А.Побединская, Б.Т.Зайчик, С.Н.Еланский **14**

Анализ гибридного материала по параметрам адаптивности и стабильности для создания новых сортов картофеля в Средневолжском регионе.
А.Л. Бакунов, А.В. Милехин, Н.Н. Дмитриева, С.Л. Рубцов, О.А. Вовчук **19**

Радиационные методы обработки клубней картофеля при хранении.
А.В. Тихонов, М.К. Деревягина, С.В. Васильева, В.Н. Зейрук **22**

Ингибирование прорастания клубней картофеля при воздействии электронного пучка с энергией 1 мэв.
А.С. Алимов, У.А. Близнюк, П.Ю. Борщеговская, С.Н. Еланский, А.П. Черняев, Д.С. Юров **26**

Устойчивость российских и европейских штаммов *Colletotrichum coccodes* к некоторым фунгицидам
И.А.Кутузова, И.А. Григорович, М.А.Побединская, Г.Л.Белов, С.Н.Еланский **30**

Contents

The search for sources of resistance genes to pathogens among the samples of plant breeding and genetics collections of All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming using molecular markers.
Biryukova V. A., Shmyglya I. V., Abrosimova S. B., Zapekina T. I., Meleshin A. A., Mityushkin A. V., Manankov V.V. **3**

Late blight of potato in Russia.
Elansky S.N. **8**

Yield and morbidity of different potato varieties.
Butov A.V., Mandrova A.A **12**

Virulence of Alternaria alternata strains isolated from different organs of host plants toward different potato and tomato cultivars.
L.Yu. Kokaeva, N.N. Kudryavtzeva, M.A. Pobedinskaya, N.V. Statsyuk, B.T. Zaitchik, S.N. Elansky **14**

Analysis of a hybrid material on parameters of ecological plasticity and stability for creation of new potato varieties in Middle Volga region.
Bakunov A.L., Milekhin A. V., Dmitrieva N. N., Rubtsov S. L., Vovchuk O. A. **19**

Radiological methods for treatment of potato tubers in storage.
Tikhonov A.V., Derevyagina M.K, Vasil'eva S.V., Zeyruk V.N. **22**

Germination inhibition of potato tubers under the influence of the electron beam with energy of 1 Mev.
Alimov A.S., Bliznuk U.A., P.Y. Borschegovskaya P.Y., Elansky S.N., Chernyaev A.P., Yurov D.S. **26**

Resistance of Russian and European strains of *Colletotrichum coccodes* to selected fungicides.
Kutuzova I.A., Grigorovich I.A., Pobedinskaya M.A, Belov G.L, Elansky S.N. **30**

Поиск источников генов устойчивости к патогенам среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ с использованием молекулярных маркеров

В.А. Бирюкова, И.В. Шмыгля, С.Б. Абросимова, Т.И. Запекина, А.А. Мелешин, А.В. Митюшкин, В.В. Мананков

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий р-н, п. Красково-1, ул. Лорха, д.23, Россия.

Аннотация

Проведён молекулярный скрининг образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ на наличие генов устойчивости с использованием молекулярных маркеров. Выявлены новые генетические источники. Показана интрогрессия ДНК маркёров в поколении гибридов. По результатам исследования выделены генотипы с комплексной устойчивостью к патогенам, которые представляют особый интерес для дальнейшей селекции.

Ключевые слова: *молекулярные маркеры, устойчивость к цистообразующим нематодам, устойчивость к раку, устойчивость к вирусным болезням*

Одной из важнейших задач в создании сортов картофеля нового поколения является повышение уровня устойчивости к наиболее вредоносным и повсеместно распространённым болезням – фитофторозу, вирусам, картофельной цистообразующей нематоде, альтернариозу, ризоктониозу, бактериальным гнилям. Успех в выведении сортов, обеспечивающих комплексную защиту от патогенов, во многом зависит от подбора и систематизации исходных форм, мобилизации в селекционных программах культурных и дикорастущих видов *Solanum* – источников устойчивости, и создания на их основе эффективных доноров (межвидовых гибридов или предсортов). Молекулярные маркеры, тесно сцепленные с генами устойчивости, значительно интенсифицируют поиск селекционно-ценных образцов, позволяя существенно расширить выборку тестируемого материала и одновременно отобрать генотипы с комплексом олигогенов, и как результат – значительно сократить временные затраты на создание новых форм картофеля.

Цель наших исследований – выделить генотипы с генами, контролирующими устойчивость к картофельным цистообразующим нематодам (КЦН) (*Globodera rostochiensis* Woll. и *Globodera pallida* (Stone) Behrens), раку (*Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival. и вирусным болезням (YVP, XVP) картофеля, с использованием метода молекулярного маркирования среди образцов селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ.

Автор для переписки: Бирюкова В.А.
E-mail: vika_biryukova@inbox.ru

Материалы и методы

Селекционный материал. Материалом для исследований служили световые ростки и молодые листья полевых растений, а также пробирочные in vitro растения из коллекций ВНИИКХ. Для молекулярного скрининга использовались формы, отселектированные по комплексу агрономических признаков (урожайность, пригодность к промпереработке, крахмалистость, форма клубня). Знаком * отмечены образцы отдела генетики и лаборатории столовых сортов, ** – образцы лаборатории сортов для переработки.

Молекулярно-генетический анализ проводился на препаратах тотальной ДНК, выделенной из растений картофеля по протоколу, основанному на методе Saghai-Maroof и др. (1984). Для оценки исследуемого материала на наличие генов устойчивости картофеля использовали молекулярные маркеры, приведенные в Таблице 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и условия проведения ПЦР реакции взяты из литературных источников. Для амплификации и электрофореза фрагментов ДНК использовали стандартные методы. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере PTC-100 (MJ Research).

Результаты и их обсуждение

Маркер-опосредованная селекция (МОС) на устойчивость к КЦН начиналась с всемирного скрининга родительских селекционных линий. Широкое применение в селекции картофеля получил SCAR маркер TG 689, сцепленный с локусом доминантного гена *H1*. Проведённый ранее скрининг 109 сортов картофеля отечественной и зарубежной селекции с использованием TG 689 позволил установить высокий уровень корреляции между

наличием маркерных аллелей и фенотипической устойчивостью сортов картофеля (Бирюкова и др., 2008). Схожие результаты исследований, полученные Milczarek et al., (2011) и Galek et al. (2011), подтвердили пригодность маркера TG689 для идентификации сортов, устойчивых к *G. rostochiensis*. Однако Schultz et al. (2012) на выборке из более 300 генотипов картофеля выявили более специфичный по сравнению с TG 689 маркер 57R, сцепленный с локусом гена *H1*.

SCAR маркеры TG 689 и 57R гена *H1* обнаружены у сортов картофеля селекции ВНИИКХ и совместного авторства с другими учреждениями (Аспия, Баритон, Батя, Десница, Жуковский ранний, Загадка, Красавица, Крепыш, Лукьяновский, Малиновка, Маэстро, Метеор, Россиянка, Юбиляр) и у большинства (80%) нематодоустойчивых гибридов картофеля. 57 R маркер дополнительно детектирован у 12% генотипов резистентных к нематоде, у которых отсутствовал TG 689.

В последнее время для отбора селекционно-ценных генотипов используются ДНК маркеры генов *Gro1* и *Gpa2*, которые полностью охарактеризованы на молекулярном уровне. Ген *Gro1* обеспечивает практически абсолютную устойчивость ко всем патотипам G. rostochiensis, что свидетельствует о его высокой селекционной ценности. Локус гена *Gro 1* был отселектирован Gebhardt et al. (2006) с помощью специфических праймеров, подобранных к *Gro1-4* генам-кандидатам (Gro1-4 маркер). Asano et al. (2012) разработали более специфичный маркер Gro1-4-1.

В качестве эффективного источника гена *Gro1-4* выделена форма *Solanum chacoense* Bitter 58 d-22, полученная от самоопыления *S. chacoense* К-3693 (по данным ВИР ранее был как *S. commersonii* Dun.). Через амфидиплоид *S. vernei* Bitt. et Wittm. (К-5428) x *S. chacoense* f. *commersonii* 58 d-22 (2n = 24) от этого дикого вида происходят нематодоустойчивые исходные формы 591m-29 и 655 m-30, на основе которых выведены сорта Слава Брянщины, Брянский деликатес и популяция 92.13 (Ресурс x 655m-30) (Симаков и Яшина, 2012), в которых был обнаружен маркер Gro1-4-1. Другим источником *Gro1-4* является сорт Лира селекции ВНИИКХ, созданный на основе фертильного гибрида 80-1, выделенного в популяции Фанал x Смена, содержащего генетический материал *S. acaule* Bitt.

Показана интрогрессия маркера Gro1-4-1 от межвидового беккросса 655m-30 в популяции гибридов 2643* (Слава Брянщины x 92.4-75); 2505* (Брянский деликатес x Пушкинец); 2596* и 2513* (Лира x Ausonia), 93.13* (Жуковский ранний x 655m-30) и 2646*, (92.13-186 x 91.30-66). Все вышеперечисленные генотипы картофеля отселектированы по ряду других хозяйственно-ценных признаков, и представляют интерес как доноры и родительские линии для дальнейшей селекции на нематодоустойчивость.

Молекулярно-генетический анализ устойчивости к золотистой картофельной нематоде позволил проследить наследование маркера Gro1-4-1 в поколении гибридов от сорта Alwara и от сортов Roko (Alwara x MA 81-536) и Arosa (Alwara x Duca), созданных на его основе и используемых в качестве исходных форм в программах по гибридизации ВНИИКХ. Сорт Alwara является источником не только гена *Gro1-4*, но и *Gpa2* устойчивости к бледной картофельной нематоде, а также генов Ry_{sto} и *Rx1*, которые контролируют иммунитет к вирусам У и Х, соответственно.

Используя маркерные технологии можно идентифицировать в одном генотипе комплекс генов устойчивости к *G. rostochiensis*, которые обеспечивают более надежную и продолжительную защиту. В связи с этим наибольшую селекционную ценность представляют образцы картофеля, которые по результатам молекулярного скрининга содержат два гена *H1* и *Gro1-4*. Это сорт Roko, гибриды 4421-22** (Roko x Русский сувенир), 1575-3**, 1575-7**, 1575-18**(Arosa x Наяда), 93.13-212* (Жуковский ранний x 655m-30), 2643-7* (Слава Брянщины x 92.4-75), 2714-71* (Жуковский ранний x Белоусовский), 2646-11* (92.13-186 x 91.30-66), 4741-45* (93.14-99 x Ausonia), гибриды популяции 4704* (Roko x Русский сувенир). Вовлечение таких сортов и гибридов в процесс дальнейшей гибридизации в качестве исходных родительских форм значительно повышает процент устойчивых генотипов в последующем потомстве.

Несмотря на соблюдение строгих карантинных мероприятий на территории РФ, нельзя исключить появления других патотипов Ro2-5 и более агрессивного вида *Globodera pallida* из-за регулярного завоза семенного картофеля. Поэтому селекция на устойчивость к КЦН должна проводиться на основе интрогрессии генов, обеспечивающих комплексную защиту картофеля ко всем патотипам нематоды.

Маркер доминантного гена *Gpa 2*, контролирующий устойчивость к бледной картофельной нематоде, идентифицирован в сортах Мастер, Вектор и Великан. Сорта Батя, Дарёнка, Дарковичский, Жуковский ранний, Маэстро, Метеор, Россиянка, Утёнок, Юбиляр и гибриды 2652-12* и 2652-30* (Малиновка x 93.20-12) по результатам молекулярно-генетического анализа несут два гена *H1* и *Gpa2*, а гибриды 2646-11* (92.13-186 x 91.30-66) и 1327-1** (Лира x Raja) - три гена *H1*, *Gro1*, *Gpa2* и являются источниками устойчивости к обоим видам КЦН.

<u>МОС на устойчивость к вирусу Y.</u> Большинство генотипов коллекции ВНИИКХ (более 95%) содержат доминантные гены иммунитета к вирусу Y, переданные от разных источников (Ry_{adg}, Ry_{chc}, Ry_{sto}) (Симаков и Яшина, 2012).

SCAR маркер RYSC3-320 гена Ry_{adg} обнаружен у широко используемой в селекции формы 128-6, сочетающей вирусоустойчивость с полевой устойчивостью к фитофторозу, и созданных с его участием Y-иммунных сортов Осень, Рамзай, Голубизна, Эффект, а также у сорта Брянский ранний, полученных на основе ценного источника крайней устойчивости к вирусу У из Великобритании в виде смеси семян от самоопыления восьми гибридов беккроссов (F2Bn+2), происходящего от *Solanum stoloniferum* Schlecht. Показано наследование маркера RYSC3-320 гена Ry_{adg} от формы 128-6 в поколении гибридов.

STS маркер YES3-3A гена Ry_{sto} идентифицирован у

сортов Колобок, Москворецкий, Сокольский, Накра, Ресурс, Юбилей Жукова и формы 92.13-163* (Ресурс X 655 m–30)), полученных на основе 5-видовых венгерских гибридов 69.54.03.259, KZ-1001, KE 23, а также у сортов Башкирский, Бирюч, Ильинский, Метеор. Выявлена интрогрессия Rysto от сорта Alwara в сорта Roko (Alwara x MA 81-536) и Arosa (Alwara x Duca) и в популяции гибридов 4707* (Alwara x 88.17/72), 4701* (Alwara x Русский сувенир), 1575** (Arosa x Наяда), 4421*,** (Роко x Рус сувенир), 4434** (Roko x Аврора), 4547-5** (Roko x Романце).

RAPD маркер 38-530 гена Ry_{chc} детектирован у 65% образцов, в том числе у гибридов 88.16/20, 88.34/14, которые являются супер-опылителями, и у сортов, полученных на их основе: Никулинский, Брянский деликатес, Брянский надёжный, Ветеран, Русский сувенир, Слава Брянщины, Лакомка, Метеор. Высокая частота встречаемости 38-530 связана с широким использованием в селекционной работе беккроссов, происходящих от двух форм дикого диплоидного вида *S. chacoense* (f. *garciae* 55d и f. *commersonii* 58d). Более специфичный маркер Ry186 обнаружен у сорта Белоснежка, созданного на основе другой формы *S. chacoense* и у сорта Башкирский.

Сорта Эффект, Метеор, Фрителла, Вектор и ряд гибридов содержат два гена, обеспечивающих иммунитет к вирусу Y. Использование таких форм картофеля в процессе гибридизации повышает выход устойчивых генотипов в потомстве.

МОС на устойчивость к вирусу X. Другой важный вирус – вирус картофеля X (PVX) вызывает слабую мозаику. Устойчивость к вирусу X контролируется доминантным геном *Rx1* или *Rxadg*, источником которого, как и *Gpa 2* и *H1*, является *Solanum andigenum* Juz. et Buk. (главным образом CPC 1673-20). *Rx1* картирован на 12 хромосоме и был охарактеризован на молекулярном уровне. На основе информации о нуклеотидной последовательности *Rx*, разработан STS маркер PVX, сцепленный с *Rx1*. Кроме того, ген *Gpa2* расположен близко (меньше 200 Кб) к *Rx1*, и эти гены генетически сцеплены (Mori, 2011). Вместе с устойчивостью к PVX, *Gpa2* мог быть неосознанно интродуцирован во многие сорта.

Практически все сорта, созданные во ВНИИКХ

Таблица 1

ДНК-маркеры, используемые для оценки генотипов картофеля

Ген	Маркер (тип)	Нуклеотидные последовательности праймеров (5`→ 3`)	Размер фрагмента (п.н.)	Литературный источник
ДНК маркеры устойчивости к вирусу Y				
Ryadg	RYSC3 (SCAR)	F: ATACACTCATCTAAATTTGATGG	321	Kasai et al., 2000)
		R: AGGATATACGGCATCATTTTTCCGA		
Rychc	38-530 (RAPD)	TTCGAGCCAG	530	Hosaka et al., 2001
	Ry186 (STS)	F: TGGTAGGGATATTTTCCTTAGA	587	Mori et al., 2011.
		R: GCAAATCCTAGGTTATCAACTCA		
Rysto	YES3-3A (STS)	F: TAACTCAAGCGGAATAACCC	341	Song et al., 2005
		R: AATTCACCTGTTTACATGCTTCTTGTG		
ДНК маркеры устойчивости к *Globodera rostochiensis*				
H1	TG 689 (SCAR)	F: TAAAACTCTTGGTTATAGCCTAT	141	Brodie et al. , 1999, Бирюкова и др., 2008
		R: CAATAGAATGTGTTGTTTCACCAA		
	57 R (SCAR)	F: TGCCTGCCTCTCCGATTTCT	450	Schultz et al., 2012
		R: GGTTCAGCAAAAGCAAGGACGTG		
Gro1-4	Gro 1-4-1 (STS)	F: AAGCCACAACTCTACTGGAG	602	Asanol et al., 2012
		R: GATATAGTACGTAATCATGCC		
ДНК маркеры устойчивости к *Globodera pallida*				
Gpa2	Gpa2-2 (STS)	F: GCACTTAGAGACTCATTCCA	452	Asanol et al., 2012
		R: ACAGATTGTTGGCAGCGAAA		
ДНК маркер устойчивости к *Synchytrium endobioticum*				
Sen1	NL 25 (SCAR)	F: TATTGTTAATCGTTACTCCCTC	1400	Hehl et al., 1999
		R : AGAGTCGTTTTACCGACTCC		
ДНК маркер устойчивости к вирусу X				
Rx1	PVX (STS)	F: ATCTTGGTTTGAATACATGG	1230	Mori et al., 2011.
		R: CACAATATTGGAAGGATTCA		

совместно с другими учреждениями, в которых был идентифицирован маркер PVX: Баритон, Батя, Великан, Жуковский ранний, Мастер, Маэстро, Метеор, Россиянка, Утёнок, Юбиляр, а также гибриды с *Rx1* имеют *Gpa2*. Исключением являются сорта Ресурс и Юбилей Жукова, полученные на основе другого источника устойчивости к вирусу X – *Solanum acaule* Bitt., и у которых по результатам молекулярного анализа обнаружен не только маркер PVX (*Rx acl*), но и маркер YES3-3A гена Ry_{sto}, и сорт Ильинский (только *Rx1*).

Заключение.

Молекулярно-генетический анализ позволил выявить новые источники генов устойчивости к картофельным цистообразующим нематодам (КЦН) (*Globodera rostochiensis* Woll. и *Globodera pallida* (Stone) Behrens), раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival. и вирусным болезням (YVP, XVP) картофеля.

Из 510 образцов картофеля селекционно-генетических коллекций ВНИИКХ, проскринированных с помощью молекулярных маркеров, отобрано 37 форм (7%) с комплексной устойчивостью к патогенам, представляющих особый интерес для дальнейшей селекции (Таблица 2).

Результаты селекции генотипов с использованием метода молекулярного маркирования генов, обеспечивающих защиту картофеля к болезням и вредителям, в большинстве случаев согласуются с фенотипической устойчивостью сортов и гибридов картофеля, что указывает на достаточно высокий уровень эффективности используемых ДНК маркеров. Кроме того, информация о наличии маркерных компонентов генов устойчивости, полученная в ходе исследований, в спорных случаях позволяет более точно интерпретировать данные фенотипической оценки образцов картофеля.

Таблица 2

Генотипы с комплексом маркеров генов устойчивости

Признаки	Комплекс R генов (генотип по МОС)	Название сорта или гибрида
ракоустойчивость, нематодоустойчивость, иммунитет к УВК, иммунитет к ХВК	***Sen1H1Gro1Gpa2RyadgRychc Rx1***	2646-11* (92.13-186 x 91.30-66)
	Sen1H1Gro1Gpa2Rychc Rx1	1327-1** (Лира x Raja)
	Sen1H1Gpa2 RyadgRychc Rx1	Метеор
	Sen1H1Gpa2Rychc Rx1	2747-34*, 2747-25* (Вектор x Романо), 2546-14* (Эффект x Пушкинец), 1370-33**(Лира x Ausonia), 1604-2**(96.5-7 x Maestro), 4622-4** (Победа x Victoria)
	Sen1Gro1Gpa2Rysto Rychc Rx1	2646-13* (92.13-186 x 91.30-66), 4707-32* (Alwara x 88.17/72)
	Sen1Gro1Gpa2Rychc Rx1	4707-35*(Alwara x 88.17/72)
	Sen1Gro1Gpa2RystoRx1	Alwara, 4707-14*(Alwara x 88.17/72)
	Sen1 Gpa2 Rysto RychcRx1	4707-16*(Alwara x 88.17/72)
	Sen1 Gpa2 Ryadg RychcRx1	Вектор
	Sen1 Gpa2 Ryadg Rx1	2657-5* (Эффект x Вектор)
ракоустойчивость, нематодоустойчивость, иммунитет к УВК	***Sen1 H1 Gro1 Rysto Rychc***	Roko, 1575-3**и 1575-18** (Arosa x Наяда), 4434-1** (Roko x Аврора), 4421-16* и 4704-61* (Roko x Русский сувенир)
	Sen1 H1 Rysto Ryadg Rychc	92.13-163* (Ресурс x 655m - 30),
	Sen1 H1 Gro1 Rysto	4421-12** (Poko x Русский сувенир), 4624-6**
	Sen1 H1 Gro1 Rychc	2445-105* (Эффект x Аспия), 2646-7* (92.13-186 x 91.30-66), 4741-45* (93.14-99 x Аусония)
	Sen1 H1 Gpa2 Rychc	4622-4** (Победа x Victoria)
	Sen1 H1 Ryadg Rychc	4616-6** (Courage x 128/6), 4659-2**, 2671-7* (2387-21 x Талисман), 4605-35* (Батя x 2107-13)
	Sen1 H1Rysto Rychc	4547-5** (Roko x Романце), 2651-36* (Никулинский x 1976-36)
	Sen1 Gro1 Rysto Rychc	Arosa

Список цитированной литературы.

1. Бирюкова В.А., Журавлев А.А., Абросимова С.Б., Костина Л.И., Хромова Л.М., Шмыгля И.В., МорозоваН.Н., Кирсанова С.Н. Использование молекулярных маркеров генов *H1* и *Gro1* устойчивости к золотистой картофельной нематоде. // Доклады РАСХН.— 2008.—№ 6. — С.3-6.
2. Симаков Е.А., Яшина И.М. Использование межвидовых гибридов-беккроссов в селекции картофеля на устойчивость к патогенам. // Картофелеводство. Сборник научных трудов. Материалы научной конференции «Мировые генетические ресурсы картофеля и их использование в современных направлениях селекции (к 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова) / Россельхозакадемия Всерос. НИИ картоф. хоз-ва; М.: 2012.— С. 52-60.
3. Asano K, Kobayashi A, Tsuda S, Nishinaka M, Tamiya S. DNA marker assisted evaluation of potato genotypes for potential resistance to potato cyst nematode pathotypes not yet invading into Japan. // Breed. Sci. —2012.—V.62.— P. 142-150.
4. Galek R, Rurek M, De Jong WS, Pietkiewicz G, Augustyniak HC, Sienkiewicz ES. Application of DNA markers linked to the potato *H1* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of *Globodera rostochiensis*. // J. Appl. Genet. —2011. —V.52. —P.407-411.
5. Gebhardt C, Bellin D, Henselewski H, Lehmann W, Schwarzfischer J, Valkonen JPT. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. // Theor Appl Genet.—2006.—V.112.—P. 1458-1464.
6. Hehl R, Faurie E, Hesselbach J, Salamini F, Whitham S, Baker B, Gebhardt C. TMV resistance gene N homologues are linked to S*ynchytrium endobioticum* resistance in potato. // Theor Appl Genet.—1999.—V.98.—P.379-386.
7. Hosaka K, Hosaka Y, Mori M, Maida T, and Matsunaga H. Detection of a simplex RAPD marker linked to resistance to potato virus Yin a tetraploid potato. // American Potato Journal.— 2001.—V.78.—P.191-196.
8. Kasai K, Morikawa Y, Sorri VA, Valkonen JPT, Gebhardt C, and Watanabe KN. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ryadg* based on a common feature of plant disease resistance genes. // Genome.—2000.—V.43.—P.1-8.
9. Milczarek D, Flis B, Przetakiewicz A. Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. // Am. J. Potato Res.—2011.—V.88.—P.245-255.
10. Mori K, Sakamoto Y, Mukojima N, Tamiya S, Nakao T, Ishii T, Hosaka K. Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. // Euphytica.—2011.—V.180.—P.347-355.
11. Sagai-Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW. Ribosomal dNA spacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1984.—V.81.—P. 8014-8018.
12. Schultz L, Cogan NOI, McLean K, Dale MFB, Bryan GJ, Forster JW, Slater AT. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for H1-conferred potato cyst nematode resistance in potato (Solanum tuberosum L.). // Plant Breed.—2012.—V.131.—P.315-321.
13. Song YS, Hepting L, Schweizer G, Hartl L, Wenzel G, and Schwarzfischer A. Mapping of extreme resistance to PVY (Rysto) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines // Theoretical and Applied Genetics.—2005.—V.111.—P.879-887.

The search for sources of resistance genes to pathogens among the samples of plant breeding and genetics collections of All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming using molecular markers

V.A. Biryukova, I.V. Shmyglya, S.B. Abrosimova, T.I. Zapekina, A.A. Meleshin, A.V. Mityushkin, V.V. Manankov

All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming. 140051, Kraskovo-1, Lorh str.,23. Moscow region, Russia.

Abstract

The molecular screening was performed for detection of the presence of resistance genes among the samples of plant breeding and genetics collections of All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming using molecular markers. New genetic sources were identified and the introgression of resistance genes was shown in the generation of hybrids. The results of the study of the selected genotypes with complex resistance genes to pathogens are of of particular interest for further breeding.

Keyword: *molecular screening, resistance genes*

Особенности развития фитофтороза в России

С.Н.Еланский

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова. Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1.
ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий р-н, п. Красково-1, ул. Лорха, д.23, Россия.

Аннотация

Фитофтороз, вызываемый оомицетом Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, является одним из самых опасных заболеваний картофеля и томата. На частных огородах картофель возделывается без интенсивного применения фунгицидов, с плохой агротехникой, высоким разнообразием сортов и со слабым контролем семенного материала. В «огородных» популяциях P. infestans наблюдается высокое генотипическое разнообразие, присутствуют штаммы обоих типов спаривания, различающиеся по устойчивости к фунгицидам, в пораженных образцах образуются ооспоры. «Огородные» популяции преобладают в большинстве регионов России, поскольку на частных огородах выращивается почти 90% урожая картофеля. На частных огородах часто высаживают импортный продовольственный картофель. Высокое генотипическое разнообразие и половой процесс в «огородных» популяциях позволяет нам не опасаться завезенных с семенным картофелем опасных клональных линий, поскольку их генотипы вовлекаются в половой процесс в «огородных» популяциях и перерабатываются на менее опасные комбинации генов. Частные огороды часто служат источником инокулюма для коммерческих посадок. Для генетически выровненных обрабатываемых фунгицидами промышленных посадок прилетевшие с «огородных» популяций штаммы менее опасны, чем попавшие с семенным картофелем. Клубни семенного картофеля были выращены, как правило, на полях с хорошей агротехникой и интенсивной химзащитой. Генотипы изолятов, поразивших клубни, адаптированы к развитию на своём сорте. Эти штаммы значительно опаснее для коммерческих посадок в сравнении с инокулюмом, происходящим с частных огородов.

Ключевые слова: *фитофтороз, защита картофеля, Phytophthora infestans.*

Одним из самых опасных заболеваний картофеля и томата является фитофтороз, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Этот фитопатоген отличаются высокой вредоносностью, т.к. при подходящих погодных условиях способен массово развиваться и вызывать большие потери урожая, а также сильной изменчивостью, что позволяет ему быстро преодолевать устойчивость сортов и токсичное действие фунгицидных препаратов. К настоящему времени не создано сортов картофеля и томата, полностью устойчивых к этим патогенам. Единственным вариантом защиты от фитофтороза является использование химических средств защиты растений.

Эпифитотия фитофтороза инициируется первичным инокулюмом. В Европе в качестве первичного инокулюма рассматривают инфекцию, попавшую в почву с больными семенными клубнями, перезимовавшие в почве ооспоры (толстостенные половые структуры *P. infestans*), а также зооспорангии, принесенные ветром с растений, выросших из перезимовавших клубней на прошлогодних полях («волонтерные» растения), либо на кучах отбракованных при закладке на хранение клубней. Из них наиболее опасным источником инфекции считаются растения, выросшие на кучах отбракованных клубней, т.к. там количество проросших клубней часто значительно, и зооспорангии могут с них разноситься на большие расстояния. Остальные источники (ооспоры, «волонтерные» растения) не столь опасны, т.к. растения на одних и тех же полях не принято выращивать чаще, чем один раз в 3-4 года. Инфекция от больных семенных клубней также минимальна в связи с хорошей системой контроля над семенным материалом.

В целом количество первичного инокулюма в европейских популяциях ограничено, в связи с чем нарастание эпидемии происходит достаточно медленно и поддается успешному контролю с помощью химических фунгицидных препаратов.

В России ситуация кардинально другая. Большая часть урожая картофеля и томата выращивается на небольших частных огородах; защитные мероприятия на них либо вообще не проводятся, либо фунгицидные обработки проводятся в недостаточном числе и начинаются уже после появления фитофтороза на ботве. В результате частные огороды выступают как основной источник инфекции, с них зооспорангии

Автор для переписки: Еланский С.Н.
E-mail: snelansky@gmail.com

ветром переносятся на коммерческие посадки. Это подтверждается нашими прямыми наблюдениями в Московской, Брянской, Костромской, Рязанской областях: поражение растений на частных огородах наблюдалось до начала обработок фунгицидами коммерческих посадок. Впоследствии эпидемия на крупных полях сдерживается применением фунгицидных препаратов, в то время как на частных огородах наблюдается бурное развитие фитофтороза. В случае неправильных или «малобюджетных» обработок коммерческих посадок очаги фитофтороза появляются и на полях; в дальнейшем они активно развиваются, захватывая все большие площади.

Инфекция, развивающаяся на частных огородах, оказывает существенное влияние на эпидемии на коммерческих полях. Во всех картофелеводческих регионах России площадь, занятая картофелем на частных огородах, в разы превосходит суммарную площадь полей крупных производящих организаций. В таких условиях частные огороды можно рассматривать как глобальный ресурс инокулюма для коммерческих полей.

Попробуем выявить те свойства, которые характерны для популяций *P. infestans* на частных огородах. Посадка не прошедшего семенной и карантинный контроль продовольственного картофеля, семян томата, полученных от сомнительных зарубежных производителей, многолетнее выращивание картофеля и томата на одних и тех же площадях, неправильные обработки фунгицидами или их полное отсутствие ведут к тяжелым эпифитотиям в частном секторе., следствием которых является свободное скрещивание, гибридизация и ооспорообразование на частных огородах. В результате наблюдается очень высокое генотипическое разнообразие, когда практически каждый штамм уникален по своему генотипу (Elansky et al., 2001), а распределение генотипов в популяциях удовлетворяет соотношению Харди-Вайнберга (Аматханова и др., 2004), что свидетельствует в пользу свободного скрещивания в популяциях. В пораженных органах растений активно происходит образование ооспор (Смирнов, Еланский 1999). Посадка семенного картофеля различного генетического происхождения делает маловероятным появление клональных линий, специализированных к поражению какого-либо сорта. Штаммы, селектирующиеся в подобном случае, отличаются универсальностью по отношению к поражаемым сортам, большинство из них имеют близкое к максимальному число генов вирулентности (Аматханова и др., 2004, Шеин и др., 2009). Это сильно отличается от системы «клональных линий», типичных для крупных полей сельхозорганизаций с правильно поставленной системой защиты от фитофтороза. «Клональные линии» (когда все штаммы возбудителя фитофтороза на поле представлены одним или несколькими генотипами) повсеместно распространены в странах, где картофелеводство ведется исключительно крупными хозяйствами: США, Нидерланды, Дания и др. (Goodwin et al., 1994, Дьяков, Еланский, 2007, Cooke et al., 2006). «Клональные линии» в конце 20 века были широко распространены в Азиатской и Дальневосточной частях России (Elansky et al., 2001), что, по-видимому, связано с использованием для посадки исключительно картофеля собственного производства одних и тех же сортов. Последнее время ситуация в этих регионах также начала меняться в сторону повышения генотипического разнообразия популяций (С.Н.Еланский, неопубликованные данные).

Отсутствие интенсивных обработок фунгицидными препаратами имеет и другой, прямой результат – на огородах не происходит накопления устойчивых штаммов. Действительно, наши результаты показывают, что на частных огородах реже, чем на коммерческих посадках, выявляются устойчивые к металаксилу штаммы (Еланский и др., 2007).

Близлежащие посадки картофеля и томата на огородах облегчают миграцию штаммов между этими культурами, в результате чего в последнее десятилетие среди штаммов, выделяемых с картофеля, повысилась доля несущих ген устойчивости к сортам вишневидного томата T1, ранее характерного только для «томатных» штаммов. Штаммы с геном T1 в большинстве случаев высокоагрессивны как по отношению к картофелю, так и к томату.

В последние годы фитофтороз на томате стал проявляться во многих случаях раньше, чем на картофеле. Источником заражения рассады томата могут быть ооспоры, находящиеся в почве, либо ооспоры, присутствующие в семенах томата, или прилипшие к ним (Rubin et al., 2001). С конца 20 века в магазинах появилось большое количество недорогих фасованных семян, преимущественно импортного производства, на использование которых и перешла большая часть мелких производителей. С семенами могут приходить штаммы с генотипами, типичными для регионов их выращивания. В дальнейшем эти генотипы включаются в половой процесс на частных огородах, что ведет к появлению совершенно новых генотипов.

Таким образом, частные огороды являются глобальным «плавильным котлом», в котором в результате обмена генетическим материалом перерабатываются существующие генотипы и появляются абсолютно новые. При этом их селекция проходит в условиях, сильно отличающихся от создаваемых для картофеля в крупных хозяйствах: отсутствие фунгицидного пресса, сортовой выравненности посадок, преобладание растений, пораженных разными формами вирусной и бактериальной инфекции, соседство с томатами и дикими пасленовыми, активное скрещивание и ооспорообразование, возможность для ооспор вызывать возобновление заболевания на следующий год. Все это приводит к очень высокому генотипическому разнообразию приусадебных популяций. В условиях эпифитотии на огородах происходит очень быстрое распространение фитофтороза и выброс огромных количеств спор, перелетающих на близлежащие коммерческие посадки. Однако, попав на коммерческие поля с правильной системой агротехники и химзащиты, прилетевшие споры практически не имеют возможности инициировать тяжелую эпидемию на поле, что связано с отсутствием устойчивых к

фунгицидам и специализированных к выращиваемому сорту клональных линий.

Другим источником первичного инокулюма могут быть пораженные клубни, попавшие в коммерческие посадки с семенным материалом. Эти клубни были выращены, как правило, на полях с хорошей агротехникой и интенсивной химзащитой. Генотипы изолятов, поразивших клубни, адаптированы к развитию на своём сорте. Эти штаммы значительно опаснее для коммерческих посадок в сравнении с инокулюмом, происходящим с частных огородов. В пользу этого предположения говорят и результаты наших исследований. Популяции, выделенные с крупных полей с правильно проводимой химзащитой и хорошей агротехникой, не отличаются высоким генотипическим разнообразием. Часто это несколько клональных линий, отличающихся высокой агрессивностью и преобладанием устойчивых к фунгицидам штаммов.

Штаммы с коммерческого семенного материала могут попасть в популяции на огородах и включиться в процессы, идущие в них. Однако в условиях огорода их конкурентоспособность будет значительно ниже, чем на коммерческом поле, и вскоре они перестанут существовать в виде клональной линии, но их гены могут быть использованы в «огородной» популяции.

Инфекция, развивающаяся на «волонтерных» растениях и на кучах отбракованных при уборке клубней для России не столь актуальна, т.к. в основных картофелеводческих регионах России наблюдается глубокое зимнее промерзание почвы, и растения из перезимовавших в почве клубней развиваются редко. Более того, как показывают наши эксперименты, возбудитель фитофтороза как правило не выживает при отрицательных температурах даже на сохранивших жизнеспособность клубнях. В аридной зоне, где практикуется выращивание раннего картофеля, фитофтороз встречается достаточно редко из-за сухого и жаркого сезона вегетации.

Таким образом, в настоящее время мы наблюдаем разделение популяций *P. infestans* на «полевые» и «огородные». Однако последние годы наблюдаются процессы, ведущие к сближению и взаимопроникновению генотипов из этих популяций. Среди них можно отметить общее повышение грамотности мелких производителей, появление доступных мелких фасовок семенного картофеля, распространение фунгицидных препаратов в мелкой фасовке, утрата населением страха перед «химией». Появляются ситуации, когда благодаря активной деятельности одного поставщика целые поселки оказываются засаженными семенными клубнями одного сорта и обеспечены мелкими фасовками одних и тех же пестицидов. Вполне можно предположить, что картофель того же сорта окажется и на коммерческих посадках поблизости.

С другой стороны, некоторые торгующие пестицидами компании продвигают «бюджетные» схемы химобработок. В этом случае количество обработок снижается и предлагаются самые дешевые фунгициды, причем упор делается не на недопущение развития фитофтороза вплоть до скашивания ботвы, а на некоторую задержку эпифитотии с целью увеличения выхода урожая. Такие схемы экономически обоснованы при выращивании продовольственного картофеля из низкосортного семенного материала, когда о получении высокого урожая речь в принципе не идет. Однако в этом случае, в отличие от огородных популяций, выровненный генетический фон картофеля позволит отобраться специфическим физиологическим расам фитопатогенов, очень опасным для данного сорта.

Тенденции к сближению «огородного» и «полевого» способов производства картофеля представляются нам довольно опасными. Для предотвращения их негативных последствий как в приусадебном, так и в коммерческом секторе потребуется как контроль сортимента семенного картофеля и ассортимента фунгицидов, предлагаемых частникам в мелкой фасовке, так и отслеживание схем защиты картофеля и применения фунгицидных препаратов в коммерческом секторе.

Из-за слабого развития семеноводства в России большие объемы семенного картофеля завозятся из-за рубежа. Вместе с ним будут завозить и новые, возможно высокопатогенные и устойчивые к фунгицидам штаммы возбудителей болезней, в т.ч. фитофтороза. В России их генофонд будет вовлечен в естественный процесс селекции новых генотипов, приспособленных к нашим условиям и поражению возделываемых в России сортов.

На участках частного сектора наблюдается интенсивное развитие не только фитофтороза, но и альтернариоза. Большинство владельцев ЛПХ специальных мер для защиты от альтернариоза не предпринимают, принимая развитие альтернариоза за естественное увядание ботвы или развитие фитофтороза. Поэтому при массовом развитии альтернариоза на восприимчивых сортах приусадебные участки могут служить источником инокулюма и для коммерческих посадок. Работа выполнена при частичной поддержке Российского Научного Фонда (проект N 14-50-00029).

Список цитированной литературы

1. Аматханова Ф.Х., Дьяков Ю.Т., Петрунина Я.В., Побединская М.А., Еланский С.Н., Козловская И.Н., Козловский Б.Е., Морозова Е.В., Смирнов А.Н. Популяции *Phytophthora infestans* на Северном Кавказе// Микология и фитопатология.—2004.—Т.38.—В.3.—С.71-78.

2. Дьяков Ю.Т., Еланский С.Н. Популяционная генетика *Phytophthora infestans*. В кн.: Микология сегодня. Т.1. / Под ред. Дьякова Ю.Т., Сергеева Ю.В. М.: Национальная академия микологии, 2007.—С.107-139.

3. Еланский С.Н., Апрышко В.П., Милютина Д.И., Козловский Б.Е. Устойчивость российских штаммов *Phytophthora infestans* к фунгицидам металаксил и диметоморф// Вестник московского университета. Серия 16. Биология. —2007.— №1.— С.14-18.

4. Смирнов А.Н., Еланский С.Н. Образование ооспор в полевых популяциях *Phytophthora infestans* в Московской области // Микология и фитопатология.—

1999.—Т.33.—В.6.—С.421-425.

5. Шеин С.А., Милютина Д.И., Козловская И.Н., Морозова Е.В., Побединская М.А., Еланский С.Н. Генотипическое разнообразие *Phytophthora infestans* в республике Марий Эл// Микология и фитопатология.—2009.—Т.43.—В.4.—С.358-363.

6. Cooke LR, Carlisle D J, Donaghy C, Quinn M, Perez F M, Deahl K L. The Northern Ireland *Phytophthora infestans* population 1998–2002 characterized by genotypic and phenotypic markersю// Plant Pathology.— 2006.—V.55.—P.320-330.

7. Elansky S, Smirnov A, Dyakov Y, Dolgova A, Filippov A, Kozlovsky B, Kozlovskaya I, Russo P, Smart C, Fry W. Genotypic analysis of Russian isolates of *Phytophthora infestans* from the Moscow Region, Siberia and Far Eeast // J. Phytopathology.—2001.—V.149.—P.605-611.

8. Goodwin SB, Cohen BA, Fry WE. Panglobal distributin of single clonal lineage of the Irish potato famine fungus // Proc. Natl. Acad Sci. USA.—1994.— V.91.—P.11591-11595.

9. Rubin E, Baider A, Cohen Y. *Phytophthora infestans* produced oospores in fruits and seeds of tomato // Phytopathology.—2001.—V.91.—P. 1074-1080.

Late blight of potato in Russia

S.N. Elansky

Moscow Lomonosov State University, Moscow, 119991, Russia, Leninskie gory, 1.
All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming. 140051, Kraskovo-1, Lorh str.,23. Moscow region, Russia.

Abstract

Late blight, caused by oomycete Phytophthora infestans (Mont.) de Bary, is one of the most dangerous disease of potato and tomato. In private gardens potato cultivation is characterized with slow rate of fungicide applications, only a few artificial techniques, high diversity of cultivars and sporadic control of seed material. "Garden" populations of P. infestans has a high genotypic diversity, with both mating types. They are different in resistance to fungicides. Oospores are often formed in the blighted samples. "Garden" populations predominate in most regions of Russia, as in private gardens are grown almost 90% of the potato harvest. High genotypic diversity and sexual process in the "garden" populations allow us not to be afraid of abroad dangerous clonal lines from imported seed potato because of sexual recombination with "garden" genotypes resulting in less dangerous gene combination. Thus, private gardens play a buffer role, not allowing developing highly aggressive and resistant to fungicides strains that cause severe destruction of commercial potato farming.

Keywords: *late blight, potato diseases, Phytophthora infestans*

Урожай и заболеваемость различных сортов картофеля

А. В. Бутов[1], А. А. Мандрова[2]

1 – Елецкий государственный университет им. И. А. Бунина. Россия, Липецкая обл., г. Елец, ул. Коммунаров, д.28.
2 – Совет депутатов города Ельца.

Аннотация

В агрофирме «Анненское» Воронежской области в производственных условиях в 2011 -2012 гг. проведен учет урожая и заболеваемости четырех сортов картофеля различной скороспелости. Лучший урожай клубней получен на сортах Удача и Пикассо. Пораженность болезнями на сортах Удача и Романо была в 2-3 раза выше, чем на Жуковском раннем и Пикассо (7,1-5,0%, против 2,3 и 2,6%).

Ключевые слова: *картофель, сорта, урожай, заболеваемость.*

В 2011-2012 гг. по поручению генерального директора агрофирмы «Анненское» И. С. Ахмедова были проведены учеты заболеваемости растений картофеля в период вегетации, а также оценен урожай клубней различных сортов при уборке.

Посадки картофеля в агрофирме в 2011-2012 гг. составляли около 300 га и располагались в Верхнехавском районе Воронежской области. Почва – выщелоченный среднесуглинистый чернозем с содержанием гумуса в пахотном слое 7,3-7,5%. Под картофель вносили минеральные удобрения из расчета: азота 90, фосфора 150 и калия 120 кг д.в. на 1 га. Сорта картофеля: Жуковский ранний, Удача (ранний), Романо (среднеранний), Пикассо (позднеспелый). Структура посадок сортов картофеля в 2011 году составляла: Жуковский – 11%, Удача – 40%, Романо – 24%, Пикассо – 25%; в 2012 году – 12, 35, 26 и 27% соответственно.

Технология возделывания картофеля включала элементы голландской технологии: междурядья 75 см, густота посадки 55 тыс. клубней на гектар. Убирали картофель немецким картофелеуборочным комбайном и взвешивали по каждому сорту со всей площади на автомобильных весах.

Учет грибных и бактериальных болезней проводили по ботве в фазе полного цветения, в том числе с выкопкой больных кустов и осмотром подземной части стеблей, а также материнского клубня. Для этого по диагонали посадок каждого сорта осматривали по 100 кустов картофеля в 4-х кратной повторности, т.е. по каждому сорту диагностировали по 400 растений картофеля. Урожайность картофеля по сортам и заболеваемость растений в период вегетации (по ботве) представлены в таблице.

В благоприятном для картофеля 2012 году самый высокий урожай клубней получен на сортах Удача и Романо, 44,0 и 41,1 т/га соответственно (табл.1). В 2011 году из-за засухи в первой половине вегетации сорт Романо развивался медленно, формировал мало стеблей (2-3 шт.), в итоге и урожай клубней оказался ниже всех остальных сортов. И наоборот, поздний сорт Пикассо успешно использовал в 2011 г. осадки второй половины вегетации (июль-август) и сформировал лучший по погодным условиям этого года урожай – 25,8 т/га. В среднем за 2 года на сорте Удача получен урожай 33,6 т/га; Пикассо – 32,2; Романо – 30,7 и Жуковском раннем – 28,5 т/га. Наши данные свидетельствуют, что в производстве картофеля для нивелирования погодных условий целесообразно возделывать 3-4 сорта различной скороспелости.

Учет болезней по сортам в фазу полного цветения растений картофеля показал, что сорт Удача в большей мере был поражен грибными болезнями (табл.1). Тревожным сигналом для хозяйства является появление, хотя и в небольшом количестве, бактериальных болезней. Семенной материал по сортам Удача и Романо не менялся несколько лет. Это, по-видимому, и сказалось на накоплении болезней по сорту Удача до 7,1% и по сорту Романо до 5,0%. Сорта Жуковский ранний и Пикассо имели меньшую заболеваемость – 2,3 и 2,6% соответственно. Выявлен неблагоприятный фактор – появление в ЦЧР фузариозной столонной гнили, которая ранее обнаруживалась только в южных регионах страны. Признаки заболевания макроспориозом и альтернариозом по поражению ботвы очень схожи. Поэтому эти заболевания не разграничивают. Хотя по поражению клубней это разные заболевания. Макроспориозом (альтернариозом) растения картофеля всех сортов были поражены в большей мере, чем другими грибными болезнями. В фазу цветения растений картофеля, когда проводился учет болезней, не было выявлено признаков фитофтороза. В 2011, 2012 годах и несколько лет

Автор для переписки: Мандрова А.А
E-mail: annaelets@yandex.ru

Таблица 1.
Урожай и заболеваемость сортов картофеля.

Сорт	Урожай, т/га			Пораженность растений болезнями в 2011-2012 годах, %						
					в том числе					
	2011	2012	сред-нее	всего	фомоз	фузариоз-ная сто-лонная гниль	ризокто-ниоз	альтер-нариоз	черная ножка	кольцевая гниль
Жуковский ранний	24,3	32,7	28,5	2,3	0	0,3	0,1	1,8	0,1	0
Удача	23,1	44,0	33,6	7,1	1,7	1,4	1,3	2,3	0,3	0,1
Романо	20,2	41,1	30,7	5,0	0,6	0,8	1,6	1,7	0,2	0,1
Пикассо	25,8	38,6	32,2	2,6	0	0,4	0,7	1,4	0,1	0

до этого наблюдалось «затишье» (отсутствие) этого заболевания в Воронежской и Липецкой областях.

Таким образом, в агрофирме «Анненское» Воронежской области в среднем за 2011-2012 годы более урожайными оказались сорта Удача и Пикассо. Урожай клубней сорта Удача составил 33,6 т/га, Пикассо – 32,2 т/га. Сорта Удача и Романо в 2-3 раза больше поражаются болезнями, чем другие, и требуют обновления семян и профилактических мероприятий.

Yield and morbidity of different potato varieties

A.V. Butov[1] , A.A. Mandrova[2]

1 - Bunin Yelets State University
2 - The Board of Deputies of the city Elets

Abstract

In agrofirm " Annenskoe" (Voronezh region) in the years 2011 -2012 under industrial conditions account of the harvest and diseases of four potato varieties with different maturity was done. Maximal tuber yield was obtained on varieties Udacha and Picasso. Infection rate on varieties Udacha and Romano was 2-3 times higher than in Zhukovsky ranniy and Picasso (7,1-5,0 % compared to 2,3 and 2,6 %).

Keywords: *Potato, Varieties , Crop, Disease*

Вирулентность штаммов *Alternaria alternata* к сортам картофеля и томата

Л.Ю.Кокаева[1], Н.Н.Кудрявцева[2], М.А.Побединская[1], Б.Т.Зайчик[2], С.Н.Еланский[1,3]

1 – Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Ленинские Горы, д.1, 119991, Россия
2 – Институт биохимии имени А.Н.Баха, Ленинский проспект, 33-2, Москва, 119071, Россия
3 – ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий р-н, п. Красково-1, ул. Лорха, д.23, Россия.

Аннотация

A. alternata - один из возбудителей альтернариоза - опасного заболевания картофеля и томата, распространенного практически по всему ареалу возделывания этих культур. В работе исследована вирулентность и агрессивность изолятов A. alternata, выделенных из листьев и клубней картофеля, листьев и плодов томата в отношении 13 сортов картофеля разных групп спелости и 5 сортов крупноплодного томата. У 2-х выделенных из листьев томата изолятов, сильно различающихся по вирулентности, была изучена активность субтилизино- и трипсиноподобных сериновых протеиназ.

Проведенная работа показала наличие внутривидовых различий в вирулентности и агрессивности у A. alternata в отношении листьев разных сортов картофеля и томата. Некоторые изоляты успешно заражали сорта, не поражаемые другими изолятами, что может свидетельствовать в пользу наличия генов специфической устойчивости к A. alternata у некоторых сортов картофеля и томата.

Также исследования показали, что различия в активности сериновых протеиназ наблюдаются не только на межвидовом, но и на внутривидовом уровне и связаны с вирулентностью и агрессивностью штаммов. Высокий уровень трипсиноподобной активности секретируемых сериновых протеиназ наблюдается у изолятов с высокой патогенностью, в связи с чем этот показатель может использоваться в качестве маркера при исследовании вирулентности и агрессивности штаммов A. alternata.

Ключевые слова: *фитофтороз, защита картофеля, Phytophthora infestans.*

Alternaria alternata (Fr.) Keissl. – широко распространенный гриб, относящийся к классу Ascomycetes, способный к сапротрофному и паразитическому существованию. *A. alternata* наряду с *A. solani* Sorauer является возбудителем опасного заболевания картофеля и томата – альтернариоза, распространенного практически по всему ареалу возделывания этих культур.

До недавнего времени считалось, что поражать растения способен лишь крупноспоровый вид *A. solani*, в то время как мелкоспоровый *A. alternata* является вторичным фитопатогеном и способен заражать растения лишь в комплексе с *A. solani*, либо существовать к сапротрофно на некрозах листьев и других органов, вызванных другими фитопатогенами. Однако к настоящему времени накопились данные о том, что *A. alternata* может самостоятельно вызывать заражения. До сих пор практически неисследованными остаются вопросы вариабельности вирулентности и агрессивности штаммов *A. alternata* в связи с видовой и органотропной специализациями.

Большую роль в питании некротрофных фитопатогенов, к которым относятся и возбудители альтернариоза, играют секретируемые во внешнюю среду гидролитические ферменты, которые делают макромолекулярные соединения доступными для использования в пищевых целях. К группе гидролитических ферментов относятся и протеазы. Внеклеточные протеазы, выделяемые грибами, способны мацерировать ткани растения и разрушать компоненты клеточной стенки, что позволяет преодолевать естественную резистентность растения-хозяина. Таким образом, они выполняют функцию не только пищеварительных ферментов грибов, но и во многих случаях участвуют в процессе патогенеза. В настоящее время имеются данные, позволяющие предположить, что сериновые экзопротеиназы, секретируемые некоторыми растительными патогенными грибами, могут рассматриваться как факторы патогенности. Так в работе (Dunaevskii et al., 2006) было показано, что фитопатогенные грибы, в том числе и *A. alternata*, секретируют в окружающую среду трипсиноподобные и субтилизиноподобные протеазы. Хотя синтез протеиназ – конститутивный,

Автор для переписки: Еланский С.Н.
E-mail: snelansky@gmail.com

спектр протеаз фитопатогенных видов, в том числе и некротрофных, должен отличаться от спектра протеаз сапротрофов. В настоящей работе мы предположили, что различия в уровнях секреции трипсиноподобных и субтилизиновых протеиназ могут проявляться не только на межвидовом, но и на внутривидовом уровнях и служить маркерами вирулентности и агрессивности изолятов.

Материалы и методы

Сорта картофеля и томата и их культивирование.

В работе использовали сорта картофеля разных групп спелости российской и белорусской селекции: ранние Зорачка и Лилея белорусская, среднеранние Бриз, Манифест, Романо, Невский, среднеспелые Волат, Лад, Скарб и Янка, среднепоздние Вектар Белорусский, Журавинка и Рагнеда (всего 13 сортов), а также коммерческие сорта крупноплодного томата Дубрава, Томск, Ла-Ла-Фам, Верлиока и Бычье сердце. Все растения выращивали в изолированной от окружающей среды теплице; для посадки использовали оздоровленные пробирочные растения. Культивирование проводили на обогащенном торфяном субстрате (производство ЗАО «МНПП «ФАРТ») при 20-24°С и естественном фотопериоде. Полив производили по мере необходимости, удобрениями растения во время вегетации не подкармливали. Для заражения брали листья 4-6 ярусов, считая от верхушки. Листья помещали в стеклянные чашки Петри на предметные стекла на увлажненную стерильной дистиллированной водой фильтровальную бумагу.

Происхождение изолятов.

В работе использовали изоляты, выделенные из пораженных образцов картофеля и томата (таблица 1). Выделение изолятов проводили со свежесобранных листьев картофеля и томата, а также плодов томата. Клубни картофеля брали в течение 10 дней после уборки, выделение проводили только с конидиеносцев, появившихся на живой ткани клубня. Пораженные образцы закладывали во влажные камеры; выделение проводили с границы живой и здоровой ткани. Штамм PPL 31 был передан сотрудниками лаборатории микологии и фитопатологии ВНИИ защиты растений.

Получение инокулюма и заражение растений

Для получения инокулюма изоляты выращивали на картофельно-морковной агаризованной питательной среде в течение времени, необходимого для формирования конидий (7-10 дней). Конидии *A. alternata* смывали с колоний в стеклянных чашках Петри, добавляя 10 мл стерильной воды. Для получения конидий *A.solani* применяли другой метод: после инкубации в течение 7-10 дней удаляли воздушный мицелий, после чего чашки облучали ультрафиолетом и помещали в холодильник (+5°С) на ночь. Для заражения использовали суспензию конидий в концентрации 100 шт/мкл. Через 3 дня инкубации споры смывали с поверхности среды 10 мл стерильной дистиллированной воды. На поверхность листа дозатором наносили каплю (10 мкл) суспензии конидий и столько же стерильной воды в контроле. Учет заражения проводили на 7-е сутки инкубирования при комнатной температуре. Все эксперименты проводили в 3-х повторностях.

Подготовка материала для анализа ферментативной активности.

Грибы выращивали на жидкой картофельной среде (Valueva et al., 2013). Через 5, 10, 18 суток роста мицелий отбирали на предварительно взвешенный бумажный фильтр Whatman No. 41. После отбора на фильтр мицелий отмывали от остатков среды стерильной дистиллированной водой, высушивали в течение 8 часов (дальнейшей потери веса при более длительном периоде сушки не наблюдали) при температуре 90°С, охлаждали в десикаторе и взвешивали. Культуральную жидкость, оставшуюся после извлечения мицелия, использовали при оценке ферментативной активности.

Оценка ферментативной активности.

Ферментативную активность сериновых протеиназ определяли по методу Эрлангера (Erlanger et al., 1961) с использованием синтетических субстратов: BAP-NA (Nα-benzoyl-DL-arginine-nitroanilide) при оценке трипсиноподобной активности и Z-AALpNA (N-car-

Таблица 1.
Характеристики изолятов, использованных в работе.

Название штамма	Видовая принадлежность	Регион выделения	Растение-хозяин, сорт, орган	Год выделения
RPL 16	*A. alternata*	Рязанская обл	картофель, сорт Рагнеда, лист	2012
RPL 21	*A. alternata*	Рязанская обл	картофель, сорт Рагнеда, лист	2012
KPT 1	*A. alternata*	Костромская обл.	Картофель, сорт Удача, клубень	2013
KPT 4	*A. alternata*	Брянская обл.	Картофель, сорт Брянская роза, клубень	2013
METL 5	*A. alternata*	Mari-El	Крупноплодный томат, лист	2007
METL 12	*A. alternata*	Mari-El	Крупноплодный томат, лист	2007
MTF 7	*A. alternata*	Московская обл.	Крупноплодный томат, плод	2013
PPL 31	*A. solani*	Приморский край	Картофель, лист	2006
VTL 16	*A. solani*	Воронежская обл.	Крупноплодный томат, лист	2014

bobenzyloxy-L-Ala-L-Ala-L-Leu-pNa) при оценке субтилизиноподобной активности. Начальная концентрация субстрата составляла 0.5 mM. Одна единица активности (U) – количество фермента, которое гидролизует 1 nM субстрата за 1 мин. Все эксперименты, связанные с оценкой ферментативной активности, выполняли в 3-х повторностях.

Результаты и обсуждение

Вирулентность и агрессивность в отношении сортов картофеля и томата.

Все исследованные изоляты, выделенные с листьев картофеля и томата, плодов томата, клубней картофеля смогли заразить листья картофеля и томата. Дисперсионный анализ (ANOVA) показал, что факторы «сорт» и «изолят», как и их комбинация, не влияют на фактор «диаметр некроза» ($P<0,05$ для всех вариантов). В то же время наблюдались существенные различия в вирулентности изолятов в отношении листьев разных сортов картофеля и томата. Так, все изучаемые изоляты и взятый для контроля штамм *A. solani* смогли заразить сорта картофеля Невский, Лад, Волат, Бриз, Зорачка (табл. 2). Наиболее устойчивыми оказались сорта Лилея белорусская и Янка (поразились только 1 изолятом) и Рагнеда (поразилась 2 изолятами). Интересно, что эти сорта, а также Романо и Журавинка, не поразились взятым для контроля изолятом *A. solani*.

Исследование на листьях томата показало, что только сорт Дубрава поразился всеми исследуемыми изолятами, сорта Бычье сердце и Верлиока поразились только одним из трех исследованных штаммов *A. alternata* и контрольным *A. solani* (табл. 3).

Ни один из исследованных изолятов не показал себя вирулентным в отношении всех исследуемых сортов картофеля. Наибольшей вирулентностью отличались 2 изолята, выделенные из клубней картофеля (KPT 1 и KPT 4) , и один - из листьев томата METL 5, которые смогли заразить листья 10-11 из 13 исследованных сортов. Наименьшей вирулентностью отличался штамм, выделенный из пораженного плода томата (MTF 7), заразивший листья 7 сортов. Изолят *A. solani* (PPL 31) не показал высокой вирулентности, заразив листья 8 из 13 сортов картофеля.

Аналогичная ситуация наблюдалась при изучении вирулентности в отношении сортов томата. Листья всех исследуемых сортов смог заразить только изолят *A. solani*. Изоляты *A. alternata*, выделенные с плода томата (MTF 7) и METL 5 с листа томата заразили листья 4 сортов, а изолят METL 12 - листья только 1 сорта.

В работе изучали только один компонент агрессивности - диаметр некроза на зараженном листе. Исследования показали, что наиболее агрессивными в отношении листьев картофеля разных сортов были штаммы, выделенные из клубня картофеля (KPT 1

Таблица 2.
Патогенность исследуемых штаммов по отношению к сортам картофеля

Исследуемый сорт картофеля	Диаметр некроза*, мм								Кол-во вирулентных изолятов
	A. alternata							*A. solani*	
	картофель, листья		картофель, клубни		томат, плод	томат, листья		Картофель, листья	
	RPL 16	RPL 21	KPT 1	KPT 4	MTF 7	METL 5	METL 12	PPL 31	
Невский	18	20	15	10	15	10	3	10	8
Лад	4	4	25	24,5	3	5	15	8	8
Волат	3	3	6,5	10	3	10	3	10	8
Бриз	10	10	30	5	25	15	20	20	8
Зорачка	3	3	8	15	3	4	3	7	8
Манифест	2	2	3	5	3	8	0	15	7
Вектор	8	0	15	0	8	20	15	5	6
Журавинка	5	5	0	20	0	10	10	0	5
Романо	0	2	5	20	0	10	2	0	5
Скарб	0	5	20	6	0	4	0	27	5
Рагнеда	0	0	0	20	0	20	0	0	2
Янка	0	0	7	0	0	0	0	0	1
Лилея	0	0	0	5	0	0	0	0	1
Всего поражаемых сортов	8	9	10	11	7	11	8	8	
Средний диаметр некроза	4.1±1.7**	4.2±1.7	10.4±3.1	10.8±2.6	4.6±2.4	9±2.1	5.5±2.2	7.8±2.7	

** – представлены данные, усредненные по 3-м повторностям, ** – доверительный интервал для уровня значимости 0,05.*

Таблица 3
Патогенность исследуемых штаммов по отношению к сортам томата

Исследуемый сорт томата	Диаметр некроза, мм				Кол-во вирулентных изолятов
	A. alternata			*A.solani*	
	Томат, плод	Томат, листья			
	MTF 7	METL 5	METL 12	VTL 16	
Дубрава	10	18	10	35	4
Томск	10	5	0	15	3
Ля-ля-фам	5	5	0	5	3
Верлиока	5	0	0	5	2
Бычье сердце	0	20	0	5	2
Всего поражаемых сортов	4	4	1	5	
Средний диаметр некроза, мм	**6±2.1****	**9.6±4.5**	**2±2**	**13±6.7**	

** – представлены данные, усредненные по 3-м повторностям,*
*** – доверительный интервал для уровня значимости 0,05.*

и KPT 4) и METL 5 из листа томата (усредненный по заражению всех сортов диаметр некроза 8,9-10,8 мм). Эти же штаммы были вирулентны в отношении максимального числа сортов картофеля (поражали листья 10-11 сортов, табл. 2). Изоляты METL 5 и KPT 4 вызвали значительные некрозы (диаметром по 20 мм) на листьях сорта Рагнеда, который не поразился другими изолятами, включая *A. solani*. Изолят KPT 4 был единственным, успешно заразившим сорт Лилея белорусская, а KPT 1 - сорт Янка.

Сильные отличия в диаметрах некрозов отмечены и при заражении сортов томата (таблица 3). Штамм METL 12 смог успешно заразить листья сорта Дубрава, но не заразил остальные сорта. Штамм METL 5 вызвал сильное поражение у листьев сортов Дубрава и Бычье сердце (диаметры поражения 18-20мм), а штамм *A. solani* сильно поразил сорт Дубрава (диаметр - 35 мм).

Секреция сериновых протеиназ.

Для изучения секреции сериновых протеиназ были выбраны 2 изолята, выделенные с листьев томата и сильно различающиеся по вирулентности и агрессивности в отношении как листьев картофеля, так и томата - METL 12 и METL 5.

Результаты проведенного исследования показали, что динамика секреции сериновых протеиназ была схожей для обоих штаммов: резкое повышение активности с 5 до 10 суток роста и такой же резкий спад к 18 суткам. У обоих изолятов максимальная активность секретируемых протеиназ наблюдалась на 10 сутки роста (табл. 4).

Если активность трипсиноподобных и субтилизиноподобных протеиназ рассматривать по отдельности, то выявляется интересная закономерность. У более агрессивного штамма METL 5 на 10 сутки роста была значительно выше активность трипсиноподобной протеиназы, чем у менее агрессивного METL 12. В то же время у значительно менее патогенного штамма METL 12 существенно выше субтилизиноподобная активность. Полученные нами данные соответствуют результатам других исследований. Так, в работе Дунаевского и др. (2006) показано, что сапротрофные виды *Trichoderma harcianum*, *Penicillium terlikowskii*, *Penicillium chrysogenum* отличаются высокой активностью субтилизиноподобных протеиназ и не производят трипсиноподобные протеиназы, в то время как фитопатогенные виды *Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Ulocladium botrytis* наряду с субтилизиноподобной производят и трипсиноподобную протеиназу.

Проведенная работа показала наличие внутривидовых различий в вирулентности и агрессивности у *A. alternata* в отношении листьев разных сортов картофеля и томата. Некоторые изоляты успешно заражали сорта, не поражаемые другими

Таблица 4.
Динамика секреции сериновых протеиназ штаммами METL 5 и METL 12.

Штамм	Активность сериновых протеиназ, U*/г сухого мицелия					
	Трипсиноподобная (субстрат BApNa)			Субтилизиноподобная (субстрат Z-AALpNa)		
Сутки роста	**5**	**10**	**18**	**5**	**10**	**18**
METL 12	8**	162	4,2	22	14092	433
METL 5	0	298	2,9	46	1635	36

** U – количество фермента, которое гидролизует 1 nM субстрата за 1 мин.*
*** – представлены данные, усредненные по 3-м повторностям.*

изолятами, что может свидетельствовать в пользу наличия генов специфической устойчивости к *A. alternata* у сортов картофеля и томата.

Также исследования показали, что различия в активности сериновых протеиназ наблюдаются не только на межвидовом, но и на внутривидовом уровне и связаны с вирулентностью и агрессивностью штаммов. Хотя оба исследованных изолята были выделены из живого листа томата, по-видимому, они различаются по трофической приуроченности: более патогенный с высоким уровнем трипсиноподобной активности штамм METL 5 способен поражать живые ткани листьев, а значительно менее агрессивный и вирулентный METL 12 с высоким уровнем субтилизиноподобной активности развивается на отмершей ткани и активно утилизирует субстрат как сапротроф. Таким образом, высокий уровень трипсиноподобной активности внеклеточных сериновых протеиназ наблюдается у изолятов с высокой патогенностью, в связи с чем этот показатель может использоваться в качестве маркера при исследовании вирулентности и агрессивности штаммов *A. alternata*.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда (грант N 14-50-00029).

Список цитированной литературы

1. Dunaevskii YE, Gruban TN, Belyakova GA, Beloserskii MA. Extracellular proteinases of filamentous fungi as potential markers of phytopathogenesis// Microbiologia.— 2006.— V. 75(6).— P. 747-751.

2. Erlanger DF, Kokowsky N, Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin// Arch Biochem Biophys.— 1961.—V.95.— P.271-278. DOI.org/10.1016/0003-9861(61)90145-X

3. Valueva TA, Kudryavtzeva NN, Gvozdeva EL, Sof'in AV, Il'ina NY, Kladnitskaya GV, Pobedinskaya MA, Elansky SN (2013) Serine proteinases secreted by two isolates the fungus *Alternaria solani*// J Basic Applied Sci.—2013.—V.9.—P.105-115. DOI.org/10.6000/1927-5129.2013.09.17

Virulence of Alternaria alternata strains isolated from different organs of host plants toward different potato and tomato cultivars

L.Yu. Kokaeva[1], N.N. Kudryavtzeva[2], M.A. Pobedinskaya[1], B.T. Zaitchik[2], S.N. Elansky[1,3]

1 – Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory, 1-12, Moscow, 119899 Russia

2 – Bach Institute of Biochemistry, Leninsky Prospect 33-2, Moscow 119071, Russia

3 – All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming. 140051, Kraskovo-1, Lorh str.,23. Moscow region, Russia.

Abstract

Alternaria alternata is one of the causal agents of the early blight, a dangerous disease of potato and tomato, which is common for almost all regions, where these crops are grown. In this study the virulence and aggressiveness of A. alternata isolates, obtained from the leaves and tubers of potato and leaves and fruits of tomato, has been studied on 13 potato cultivars of different maturity groups and 5 large-fruited tomato cultivars. In the case of two isolates, obtained from tomato leaves and significantly differing in their virulence, the activity of subtilisin- and tripsin-like serine proteases has been also analyzed.

The performed study has revealed intraspecific differences in the virulence and aggressiveness of A. alternata toward the leaves of different potato and tomato cultivars. Some isolates successfully infected cultivars, highly resistant toward other isolates, which probably evidences that some potato and tomato cultivars have genes of specific resistance to A. alternata.

In addition, the revealed difference in the activity of serine proteases is observed on both interspecific and intraspecific levels and correlated with the virulence and aggressiveness of isolates. A high level of tripsin-like activity of secreted serine proteases is observed in highly pathogenic isolates. Thus, this parameter can be used as a marker for the study of the virulence and aggressiveness of A. alternata isolates.

Keywords: *Alternaria alternata, virulence, aggressiveness, serine protease activity*

Анализ гибридного материала по параметрам адаптивности и стабильности для создания новых сортов картофеля в Средневолжском регионе

А.Л. Бакунов, А.В. Милехин, Н.Н. Дмитриева, С.Л. Рубцов, О.А. Вовчук

ФГБНУ Самарский НИИ сельского хозяйства, 446254, Самарская обл., пос. Безенчук ул. К. Маркса, 41.

Аннотация

На основе анализа данных по урожайности за 2012-2014 годы проведена оценка общей и специфической адаптивной способности и стабильности селекционного материала с применением различных методик. Идентифицированы генотипы, наиболее адаптированные к агроэкологическим условиям Самарской области. Выявлено высокое соответствие между показателями генотипов по Кильчевского, Хотылевой (1985) и по Неттевичу, Моргуновой, Максименко (1985).

Ключевые слова: *картофель, гибридный материал, урожайность, генотип, адаптивность, стабильность*

Картофель в Среднем Поволжье традиционно относится к числу важнейших сельскохозяйственных культур и используется, прежде всего, на продовольствие, а также для переработки и кормовых целей.

Большинство сортов из имеющегося сортимента характеризуются низкой устойчивостью к неблагоприятным факторам среды, поэтому на современном этапе одной из главных задач селекции является повышение адаптивного потенциала новых сортов. Только имея информацию о потенциальной продуктивности, адаптивности и стабильности сорта, его способности отзываться на улучшение условий выращивания, можно эффективно использовать сорт при разных уровнях энергозатрат: в интенсивных технологиях, в широком производстве, на приусадебных участках (Добруцкая Е. Г., Пивоваров Е. Ф., 2000).

Под адаптацией понимается процесс или результат процесса любых изменений в структуре или функциях организма, обеспечивающих способность к существованию в данной среде. При этом принято различать общую и специфическую адаптацию (Жученко А. А., 1980, 1988).

Специфическая адаптация обеспечивает генотипу высокую продуктивность в ограниченных условиях среды. Она характеризует возможность растения максимально использовать благоприятные условия среды и противостоять существующим в данной местности стрессам: болезням, вредителям, повышенной или пониженной температуре. Общая же адаптация характеризует способность сорта образовывать фенотипы, адаптированные к разным средам, реализовывать потенциальную продуктивность при ежегодных флуктуациях агроклиматических условий (Добруцкая Е. Г., Пивоваров Е. Ф., 2000). В настоящее время разработаны различные способы оценки адаптивности и стабильности генотипов.

Автор для переписки: Бакунов А.Л.
E-mail: bac24@yandex.ru

Материал и методика

Гибридный материал картофеля конкурсного испытания выращивался на опытных полях Самарского НИИСХ в 2012-2014 годах. Предпосадочная обработка почвы включала осеннюю зяблевую вспашку, весной – покровное боронование и глубокую культивацию. Посадка проводилась малогабаритной селекционной сажалкой в первой декаде мая. Уход за растениями включал две междурядные обработки, обработки гербицидами и инсектицидами. Картофель возделывался при орошении, поливная норма составляла по годам 1300-1400 м3/га.

Изучено 20 перспективных по комплексу хозяйственно-ценных признаков гибридов картофеля, полученных из ВНИИ картофельного хозяйства. Стандартом служил сорт Ароза. С целью выявления материала, наиболее адаптированного к условиям Самарской области, проводили оценку общей и специфической адаптивной способности генотипов. Посадка, наблюдения и учеты проводились согласно Методическим указаниям по технологии селекционного процесса картофеля (2006). Данные по урожайности обрабатывались методом двухфакторного дисперсионного анализа (Доспехов Б. А., 1985). Параметры адаптивной способности и стабильности селекционного материала определяли по методикам А. В. Кильчевского, Л. В. Хотылевой (1985) и Э. Д. Неттевича, А. М. Моргунова, М. И. Максименко (1985). Фактором среды при этом служили различные климатические условия года.

Результаты и обсуждение

Дисперсионный анализ показателей урожайности гибридов картофеля в различных средах выявил достоверность различий между эффектами генотипов, сред и их взаимодействий. Это позволило определить следующие параметры генотипов: ОАС – эффект общей адаптивной способности; σ2 САС – варианса специфической адаптивной способности, определяющая стабильность генотипа, СЦГ – критерий, позволяющий отбирать генотипы по адаптивности с учётом стабильности (Кильчевский А. В., Хотылева Л. В., 1985). Кроме того, определены индекс стабильности и показатель уровня и стабильности урожайности сорта (Пусс) по методике Э. Д. Неттевича, А. М. Моргунова, М. И. Максименко (1985).

Установлено, что на изменчивость признака урожайности картофеля в большей степени оказывал влияние фактор экологической изменчивости, то есть изменения условий выращивания по годам. Вклад этого фактора составил 40,19%. Вклад генотипа в общую изменчивость составлял 15,82%, а взаимодействия генотипа и среды – 16,63%.

Анализ полученных данных показал, что максимальную урожайность в среднем за 2012-2014 годы имели гибриды 1599-3 (36,5 т/га), 1603-13 (35,7 т/га), 1332-13/43К (35,5 т/га), 1603-8 (34,1 т/га), 1596-2 (34,0 т/га). Они же характеризовались наибольшим эффектом ОАС. В целом показатели ОАС варьировали от 8,38 у гибрида 1599-3 до –6,22 у гибрида 4431-1/369. Минимальные величины этого показателя отмечены у генотипов 4431-1/369, 1575-6/25ОИ, Ароза, 1575-18/6ОИ, 1607-3/39П (табл.1).

Высокой стабильностью генотипа отличались образцы 94.2.3-2, 1603-13, 1603-18-63П, 1600-6/6П, 1600-17/27П, их варианса σ2 САС составляла от 12,02 до 37,96. При этом из группы генотипов с высокой ОАС лишь гибрид 1603-13 характеризуется высоким показателем стабильности (σ2 САС = 16,34). Остальные образцы этой группы имели среднюю и низкую стабильность.

На основе определения показателя СЦГ выявлены генотипы, сочетающие высокую продуктивность и стабильность. Лучшими по этому показателю оказались гибриды 1603-13, 1332-13/43К, 1600-6/6П, 1600-17/27П, 1603-8. Значение СЦГ этих образцов варьировало от 29,03 до 21,71 (табл. 1). Следует отметить, что из указанной группы лишь три образца имеют высокие показатели общей адаптивной способности. Гибриды 1600-6/6П и 1600-17/27П характеризуются достаточно низкими показателями ОАС (ранги 10 и 8), но за счёт высокой стабильности генотипа занимают 3 и 4 места по показателю СЦГ.

Напротив, гибрид 1599-3, имеющий лучший показатель ОАС, за счет низкой стабильности генотипа имеет лишь 11 ранг по СЦГ.

Выявлено высокое соответствие между показателями генотипов по Кильчевскому, Хотылевой и параметрами, определенными по методике Неттевича и др. Так, коэффициент корреляции между СЦГ и Пусс составил 0,95, а между вариансой σ2 САС и индексом стабильности –0,74 (высокой стабильности генотипа соответствует более низкое значение σ2 САС и более высокое значение индекса стабильности). Гибриды 1603-13, 1332-13/43К и 1600-6/6П являются лучшими как по критерию СЦГ, так и по показателю Пусс.

Таким образом, селекционная ценность генотипа определяется совокупностью показателей его адаптивной способности и стабильности. При этом можно выделить образцы с максимальной урожайностью и достаточно высокой средовой устойчивостью.

Таблица 1.

Параметры адаптивной способности и стабильности гибридного материала картофеля, 2012-2014 гг.

Селекционный номер	Урожай-ность, т/га	ОАС	σ^2 САС	СЦГ	Индекс стабиль-ности	$П_{усс}$
1599-3	36,5	8,38	192,79	13,59	0,94	133,48
1603-13	35,7	7,58	16,34	29,03	2,68	372,25
1332-13/43К	35,5	7,38	47,67	24,11	1,71	263,15
1603-8	34,1	5,98	56,35	21,71	1,47	195,07
1596-2	34,0	5,88	80,92	19,16	1,24	164,05
1602-1	33,4	5,28	118,03	15,47	1,00	129,90
1604-21/141	32,9	4,78	120,86	14,76	0,96	122,88
1600-17/27П	31,9	3,78	37,96	21,73	1,53	189,87
1598-4	31,2	3,08	119,20	13,18	0,87	105,62
1600-6/6П	31,2	3,08	25,28	22,90	1,73	210,02
1603-18/63П	28,7	0,58	22,18	20,93	1,54	172,02
1406-7/26К	27,8	-0,32	120,43	9,69	0,69	74,66
46-2м/40К	27,3	-0,82	151,70	6,98	0,59	62,66
94.2.3-2	27,1	-1,02	12,02	21,38	1,72	181,29
4422-14	26,8	-1,32	90,40	11,11	0,73	76,07
1544-1/5К	26,7	-1,42	98,68	10,31	0,69	71,69
1607-3/39П	26,3	-1,82	134,28	7,18	1,54	59,33
1575-18/6ОИ	26,3	-1,82	63,48	13,15	0,83	84,90
Ароза, ст.	25,7	-2,42	140,44	6,15	0,54	54,00
1575-6/25ОИ	25,2	-2,92	94,67	9,14	0,63	61,74
4431-1/369	21,9	-6,22	67,76	8,32	0,56	47,71

Создание сортов картофеля с широкой экологической пластичностью предполагает оценку гибридного материала в различных почвенно-климатических условиях. Изучение набора генотипов в течение трех различных по климатическим условиям лет с применением различных методик оценки позволило выявить наиболее адаптированный к условиям региона селекционный материал конкурсного испытания для выведения на его основе новых сортов картофеля.

Показано, что применение для определения параметров адаптивности и стабильности генотипов картофеля методик Кильчевского, Хотылевой (1985) и Неттевича, Моргунова, Максименко (1985) дает практически сходные результаты. Таким образом, более простая в использовании методика Неттевича и др. может применяться для оценки селекционного материала картофеля наряду с общепринятой методикой Кильчевского и Хотылевой.

Список цитированной литературы

1. Добруцкая Е. Г., Пивоваров Е. Ф. Экологическая роль сорта в XXI веке // Селекция и семеноводство. — 2000. — №1. — С.3-5

2. Жученко А. А. Экологическая генетика культурных растений. / Кишинев: Штиинца, 1980. — С.239-326

3. Жученко А. А. Адаптивный потенциал культурных растений. / Кишинев: Штиинца, 1988. — С.26-36

4. Методические указания по технологии селекционного процесса картофеля/ Симаков Е. А., Склярова Н. П., Яшина И. М. — М.: ООО Редакция журнала «Достижения науки и техники АПК». — 2006.

5. Кильчевский А. В., Хотылева Л. В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды // Генетика. — 1985. — Т. 21. — №9. — С.1481-1497

6. Неттевич Э. Д., Моргунов А. И., Максименко М. И. Повышение эффективности отбора яровой пшеницы на стабильность урожайности и качество зерна // Вестник с.-х. науки. — 1985. — №1. — С.66-73.

Analysis of a hybrid material on parameters of ecological plasticity and stability for creation of new potato varieties in Middle Volga region

A.L. Bakunov, A.V. Milekhin, N.N. Dmitrieva, S.L. Rubtsov, O.A. Vovchuk

Samara Scientific Research Institute of Agriculture

Abstract

Based on the analysis of yield data for the 2012-2014 assessed general and specific adaptive capacity and stability of breeding material using different techniques. The most adapted to the agro-ecological conditions of the Samara region potato genotypes are identified. A high correlation between indicators of genotypes defined by the method Kilchevsky, Khotyleva (1985) and parameters defined by the method of Nettevich, Morgunova, Maksimenko (1985) is established.

Keywords: *potato, hybrid material, productivity, genotype, adaptability, stability*

Радиационные методы обработки клубней картофеля при хранении

А.В. Тихонов[1], М.К. Деревягина[2], С.В. Васильева[2], В.Н. Зейрук[2]

1 – ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии, Калужская обл., г. Обнинск, Россия.
2 – ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий р-н, п. Красково-1, ул. Лорха, д.23, Россия.

Аннотация

Показана положительная эффективность радиационных методов обработки клубней картофеля сорта Сантэ при закладке на хранение в борьбе фитопатогенами: паршой обыкновенной, паршой серебристой и кольцевой гнилью.

Ключевые слова: *Картофель, генератор СВЧ, магнетрон, УФ, тепловизор, Гамма-установка, парша обыкновенная, парша серебристая, кольцевая гниль.*

Картофель – одна из самых популярных сельскохозяйственных культур, используемая как в свежем виде, так и для переработки на картофелепродукты, основные из которых чипсы, картофель-фри, пюре, крахмал, спирт, а также на кормовые цели. Одной из причин низкой урожайности картофеля является широкое распространение болезней. В настоящее время в России насчитывается около 30 наиболее распространенных болезней, ежегодные потери урожая от которых составляют от 23 до 50 % (Зейрук, 2015).

Важной особенностью картофеля является и то, что вследствие вегетативного размножения большинство поражающих его болезней передается через семенные клубни, которые и являются первичным источником инфекции для последующего заражения посадок. Большое значение для развития болезней картофеля имеют условия хранения клубней. При нарушении этих условий значительно возрастают распространенность и степень развития грибных и бактериальных болезней (Воловик и др., 1989).

Применение физических методов в агропромышленном производстве в последнее время находит все более широкое распространение, хотя химическая обработка овощей и фруктов является основной, очень эффективной и увеличивает сроки их хранения, но такая обработка становится со временем менее действенной, так как у патогенов развивается резистентность к ней (Wilson et al., 1994). Для нашего эксперимента выбирались доступные и простые в использовании физические факторы: УФ, СВЧ и гамма-излучения (Лукьянов, 2007, Полевик, 2007, Юсупова, 2008).

Автор для переписки: Зейрук В.Н.
E-mail: vzeyruk@mail.ru

Материалы и методы.

В опыте использовались клубни картофеля сорта Сантэ, которые отбирали согласно ГОСТ Р 53136-2008 «Картофель семенной. Технические условия» размером 30-60 мм по наибольшему поперечному диаметру. Перед закладкой на хранение клубни картофеля были рассортированы по поражению фитопатогенами: паршой обыкновенной, паршой серебристой и кольцевой гнилью.

Картофель после разовой обработки хранился в неблагоприятных условиях в течение 107 дней в подвальном помещении при температуре 10-12ºС и относительной влажности 85-95%. Облучение клубней картофеля производили однократно перед закладкой на хранение.

Дозы облучения клубней картофеля, пораженных паршой обыкновенной и паршой серебристой, перед закладкой на хранение составили для УФ и СВЧ 1 кДж/м2; гамма-облучение проводилось в дозах 5, 10, 50, 100 и 150 Гр. Клубни, пораженные кольцевой гнилью, облучали СВЧ в дозе 1 кДж/м2, и гамма-облучением в дозах 10 и 100 Гр (в связи с недостаточным количеством пораженного материала).

В качестве источников бактерицидного ультрафиолетового излучения использовали безозоновые лампы низкого давления фирмы Philips типа TUV-75, излучающие ультрафиолет С при максимуме 254 нм. Облучение происходило на роликовом транспортере на расстоянии 0,2 м, при мощности дозы 100 Вт/м^2.

Для обработки клубней электромагнитным СВЧ полем в качестве источника использовался СВЧ генератор немодулированного микроволнового поля частотой 2,45 гГц на базе магнетрона ОМ-75 с рупорным излучателем мощностью 650 Вт, разработанным специально для данного опыта. Плотность потока мощности СВЧ-излучения была выбрана на уровне 55 мВт/см2 при расстоянии до рупора 0,5 м.

Равномерность СВЧ обработки клубней картофеля контролировалось тепловизором SDS HotFind-LT. Как видно на рисунке 1а, после обработки клубней СВЧ температурное поле равномерно распределялось как на поверхности клубня, так и на срезе.

Обработка g-излучением клубней производилась на модернизированной g-установке ГУР-120 в ВНИИСХРАЭ,

заряженной источниками ионизирующего излучения 60Co типа ГИК-7-4 . С помощью универсального дозиметра ДСК-101 в облучательном зале было произведено измерение мощности дозы g-излучения от одного источника. Клубни облучали в разных зонах с мощностями доз 2 Гр/ч, 10 Гр/ч, 40 Гр/ч . Поглощенная доза составила 5Гр, 10Гр, 50Гр, 100Гр, 150Гр и контроль без облучения.

Доза УФ-, СВЧ- и g-облучения варьировалась временем облучения.

Степень развития болезни рассчитывали по формуле Эббота:

$$R = \frac{\sum b}{7n} \times 100 \qquad (1)$$

где: R – степень развития болезней или повреждения ботвы, %;

∑ bt – сумма произведений балла поражения или повреждения на количество растений или клубней, пораженных или поврежденных по этому баллу,

n– Количество растений или клубней в пробе,

7 – высшей балл шкалы учета.

Распространённость болезней рассчитывали по формуле:

$$P = \frac{n \times 100}{N} \qquad (2)$$

где: P - распространённость болезни, %;

n- количество растений или клубней, поражённых болезнью;

N - количество растений или клубней в пробе.

Для статистической обработки и построения графиков результатов опыта использовали программу Microsoft Excel.

Результаты исследований.

Ежемесячное взвешивание клубней в процессе хранения показало достоверное ($p<0,05$) снижение веса облученного картофеля в некоторых вариантах по сравнению с контролем (рис. 2). Поскольку потеря веса клубней при хранении в значительной степени была обусловлена физиологическими процессами, то можно предполагать, что наблюдаемое 2-х и 3-х кратное снижение процента потерь обусловлено ингибированием процессов дыхания и роста картофеля после g-облучения в дозах 100 и 150 Гр. Это предположение подтверждается резким снижением числа проросших глазков у клубней картофеля при облучении дозой 100 Гр и полным ингибированием прорастания при облучении клубней дозой 150 Гр (рис. 3). Аналогичный диапазон ингибирующих доз (100-150 Гр) для картофеля получен и в исследованиях других авторов (Серебреников, 1962). Воздействие СВЧ-облучения также вызывало достоверное ($p<0,05$) снижение процента потерь веса на 11% при хранении в варианте с паршой обыкновенной по сравнению с контролем, но без ингибирования процессов роста, что показало увеличенное количество проросших глазков. УФ-облучение не вызвало достоверного изменения веса по сравнению с контролем.

Также было замечено, что при воздействии СВЧ на клубни картофеля, пораженные паршой обыкновенной, количество пробудившихся глазков (Рис. 3.) в конце эксперимента достоверно ($p<0,05$) больше, чем в контроле. Достоверный эффект изменение количества проросших глазков при УФ обработке по сравнению с контролем не был замечен. Обращает на себя внимание некоторое увеличение числа проростков при дозе 50 Гр, по сравнению с контролем и меньшими дозами облучения, более выражена данная тенденция при учете суммарно верхушечных и боковых проростков. Ранее увеличение интенсивности ростовых процессов отмечали при воздействии ионизирующей радиации на картофель дозами 5 и 10 Гр (Авакян и др., 1964).

Одним из основных показателей сохранности клубней картофеля является поражение фитопатогенами. На рисунке 4 представлена степень развития парши серебристой после хранения в течение 107 суток.

Сравнение распределения пораженных клубней по степени развития болезни методом $\chi 2$ показало, что различия с контролем недостоверны только при гамма-облучении в дозах 5 и 10 Гр. УФ-облучение в дозе 1 кДж/м2 и гамма-облучение в дозе 50 Гр привело к более сильному развитию болезни ($p<0,05$), а увеличение дозы гамма-облучения до 100-150 Гр и СВЧ-облучение в дозе 1 кДж/м2, напротив,

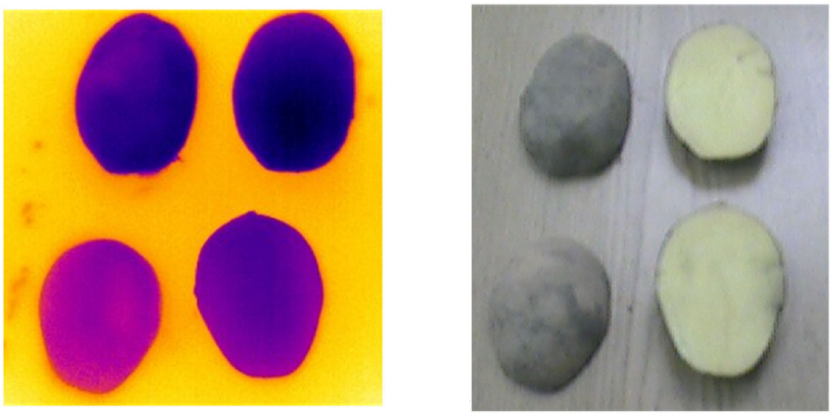

Рис. 1 Фотографии, сделанные тепловизором SDS HotFind-LT: слева – инфракрасный спектр; справа – видимый спектр

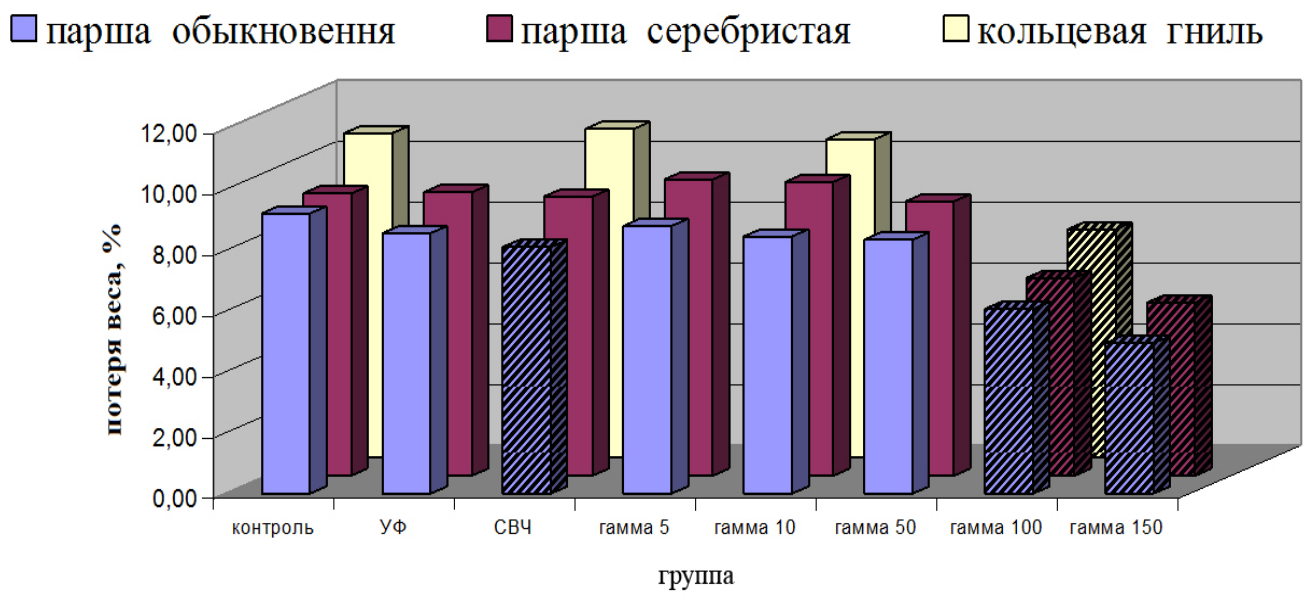

Рис. 2. Потеря веса клубней картофеля после хранения (здесь и далее заштрихованные варианты достоверно отличаются от контроля p<0,05).

затормозило развитие парши серебристой (p<0,05).

Увеличение дозы гамма-облучения от 100 до 150 Гр приводит к достоверному (p<0,05), хотя и незначительному, развитию болезни, что, возможно, обусловлено взаимодействием двух процессов – подавлением микроорганизмов при облучении и ингибированием защитных систем картофеля дозой 150 Гр. Выявленные закономерности требуют дальнейших исследований.

Воздействие СВЧ-излучения в дозе 1 кДж/м^2 вызывало снижение процента потерь веса при хранении, но без ингибирования процессов роста, с увеличением биомассы проросших глазков.

При обработке УФ в дозе 1 кДж изменения процента потерь веса при хранении в сравнении с контролем достоверно не обнаружено, но, так же как и при воздействии СВЧ-излучения, обработка УФ вызвала увеличение биомассы проросших глазков.

Доза гамма-облучения 100 Гр и СВЧ-облучение в дозе 1 кДж/м^2 практически полностью остановили развитие парши серебристой по сравнению с контролем. Увеличение дозы гамма-облучения до 150 Гр привело к незначительно большему развитию болезни, что, возможно, обусловлено ингибированием защитных систем картофеля. Представленные в настоящей работе материалы показывают, что радиационная обработка картофеля в дозах 100-150 Гр может быть эффективна для удлинения срока хранения в свежем виде. При этом картофель теряет способность прорастать и может после радиационной обработки храниться почти в течение целого года.

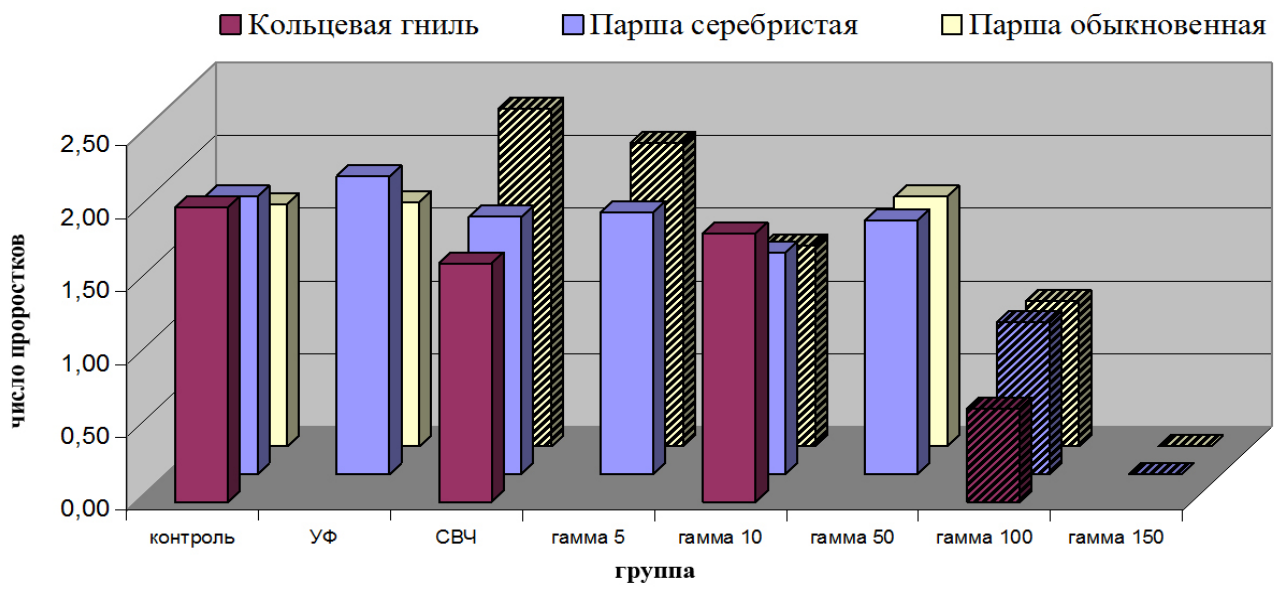

Рис. 3. Среднее число проростков на один клубень после 107 суток хранения картофеля с различными фитопоражениями в неблагоприятных условиях

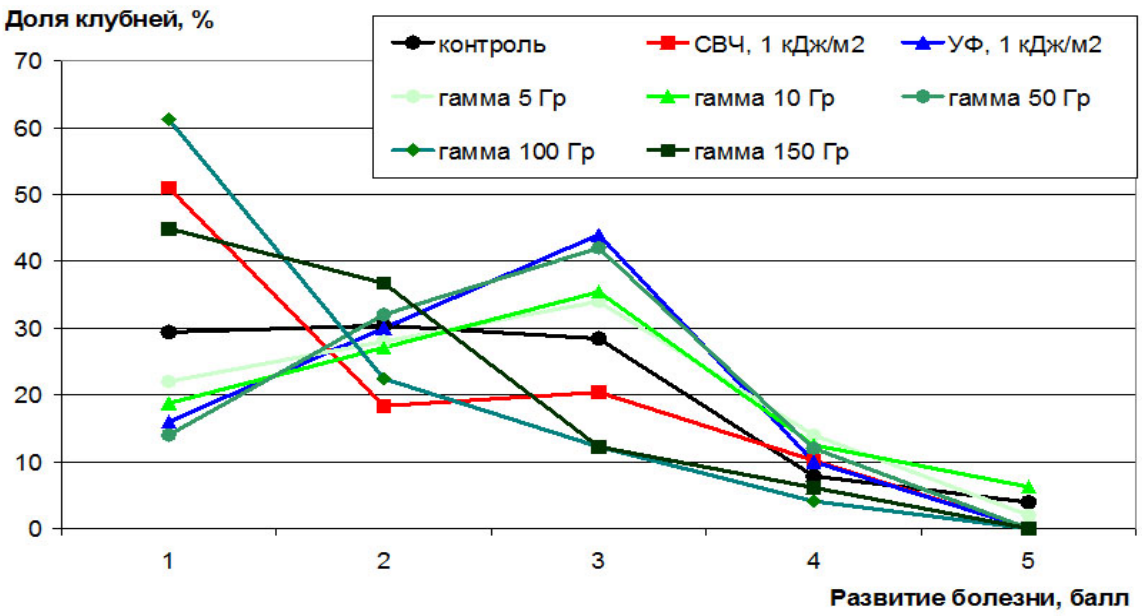

Рис. 4. Развитие парши серебристой после 107 суток хранения картофеля в неблагоприятных условиях

Список цитированной литературы

1. Авакян Ц.М., Семерджян С.П., Атаян Р.Р. Некоторые результаты по выведению из стадии покоя свежеубранных клубней картофеля//Радиобиология.— 1964.— Т. 4.— В. 3.— С.463-464/

2. Воловик А.С., Глез В.М., Замотаев А.И., Зейрук В.И., Литун Б.П. / Справочник . Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков.— М.:ВО – Агропромиздат.—1989.—204 с.

3. Зейрук В.Н. Разработка и совершенствование технологического процесса защиты и хранения картофеля в Центральном регионе Российской Федерации/ Автореф. докт. дисс.— М.:2015.— 44 с.

4. Лукьянов А. А. Влияние свч- и квч-излучения на гетеротрофных и фототрофных партнеров смешанных культур микроорганизмов./Автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. биологических наук. —М.:2007. — 24 с.

5. Полевик Н.Д. Методы и средства борьбы с сорной растительностью с использованием импульсных СВЧ-излучений. /Автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. технич. наук. — Челябинск: 2007. — 24 с.

6. Серебреников В.С. Влияние различных доз гамма-лучей на рост, анатомо-морфологическое строение растений, урожай и качество картофеля / Автореф. дис. кандидата сельскохозяйственных наук.— Ленинград: 1962.— 24с.

7. Юсупова Г. Г. Обеспечение микробиологической стабильности и безопасности зерна, продуктов его переработки и хлеба. /Автореф. диссер. на соискание уч. степени доктора сельскохоз. наук. — М.: 2008. —36 с.

8. Wilson CL, EI Ghaouth A, Chalutz E, Droby S, Stevens C, Lu JY, Khan V, Arul J. Potential of lnduced Resistance to Control Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables // Plant Diseases.—1994.— V. 78(9).— P. 837-844.

Radiological methods for treatment of potato tubers in storage.

A.V. Tikhonov[1], M.K. Derevyagina[2], S.V. Vasilyeva[2], V.N. Zeyruk[2]

1 – All-Russian Research Institute of Agricultural Radiology and Agroecology. Kaluga region, Obninsk, Russia.
2 – All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming. 140051, Kraskovo-1, Lorh str.,23. Moscow region, Russia.

Abstract

Gamma radiation, microwave and UV radiation were used for the treatment of potato tubers (variety Sante) before storage. The efficiency of radiation methods in the control of plant pathogens causing common scab, silver scurf and ring rot was shown.

Keywords: potato diseases, potato storage, common scub, silver scub, ring rot.

Ингибирование прорастания клубней картофеля при воздействии электронного пучка с энергией 1 Мэв

А.С. Алимов[1], У.А. Близнюк[1], П.Ю. Борщеговская[2], С.Н. Еланский[3,4], А.П. Черняев[1,2], Д.С. Юров[1]

1 – Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына МГУ им. М. В. Ломоносова. Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 2.

2 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, физический факультет, кафедра физики ускорителей и радиационной медицины. Россия,119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.

3 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет. Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12.

4 – ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий р-н, п. Красково-1, ул. Лорха, д.23, Россия.

Аннотация

В работе показана эффективность радиационной обработки для ингибирования прорастания клубней картофеля ускоренными электронами с энергией 1МэВ при дозах более 44 Гр. Дозы более 1кГр приводили к гибели клубней картофеля. Проведен анализ внешних признаков клубней сразу после облучения, через 4 и 10 недель хранения.

Ключевые слова: *прорастание клубней картофеля, радиационная обработка*

Введение

Общий объем производства картофеля в России составляет 28-30 млн. тонн в год, при этом из-за его прорастания вследствие нарушений условий хранения теряется значительная часть урожая. Особые сложности с прорастанием наблюдаются при хранении картофеля, предназначенного для переработки на хрустящий картофель, т.к. технология требует хранения при достаточно высокой температуре 8-10ºС. Перерабатывающая промышленность предъявляет высокие требования в отношении качества и сроков хранения овощей, возникает необходимость в длительном хранении и сохранении качества картофеля на оставшиеся девять месяцев до следующего урожая. Следствием прорастания является ухудшение качества картофеля и непригодность его дальнейшего использования для промышленных целей. В течение последних лет выявлен ряд химических препаратов, способных задерживать прорастание картофеля. Современная практика включает в себя использование химических препаратов на основе хлорпрофама, который является регулятором роста растений и гербицидом. Однако это дорого, технически сложно, требует соблюдения защитных мероприятий персоналом хранилища, продукты распада могут сохраняться в клубнях. Использование химических препаратов не допускается при производстве экологически чистой продукции. В последнее время все больше стран, в том числе и Россия, стремятся к снижению использования гербицидов, следовательно, возникает необходимость в применении альтернативных методов контроля прорастания картофеля.

Облучение картофеля ионизирующим излучением является эффективным методом ингибирования прорастания клубней. В мире широко применяется гамма-излучение для облучения различных овощей и фруктов (Nouri et al., 2001; Burton, Hannan, 1957; Rezaee et al., 2001; Ghanekar et al., 1983). В последнее время появились центры облучения разного рода сельскохозяйственных культур электронами, причем облучение проводят как в диапазоне низких энергией порядка 300 кэВ (Hayashi, Todoriki, 2002), так и пучками электронов с энергией 5 МэВ (Frasier et al., 2006). Подобные центры успешно функционируют в таких странах, как США, Япония, Индия, Китай, страны Латинской Америки, Иран, Пакистан и т.д. Большое внимание уделяется исследованию структурных, химических и морфологических свойств картофеля после проведения облучения (Schwinner et al., 1957). Рекомендованные дозы для ингибирования прорастания варьируются от 50 до 250 Гр (Nouri et al., 2001; Burton, Hannan, 1957; Rezaee et al., 2001; Ghanekar et al., 1983, Singh et al., 2010).

Целью данной работы была экспериментальная проверка эффективности использования пучка

Автор для переписки: Борщеговская П.Ю.
E-mail: alexeevapo@mail.ru

ускоренных электронов с энергией 1 МэВ для ингибирования прорастания клубней картофеля, а также поиск наименьшей дозы облучения, при которой происходит остановка прорастания.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования был выбран оздоровленный моноклональный семенной картофель сорта «Невский». Сто клубней одного размера средней массой семь грамм произвольным образом были отобраны, вымыты и высушены. Десять клубней, не подверженных облучению, были оставлены в качестве контрольных образцов.

Клубни картофеля облучали пучком ускоренных электронов промышленного ускорителя электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001 на энергию 1 МэВ со средней мощностью пучка 25 кВт, который может быть использован для реализации целого ряда радиационных технологий (Alimov et al., 2012 a,b; Yurov et al., 2014).

Для каждой дозы облучения произвольным образом выбирали пять клубней, разрезали пополам и помещали на специальную пластину непосредственно перед пучком. Все эксперименты проводились при температуре 20^0C, температура облучаемой пластины, на которую помещались образцы во время облучения, составляла 12^0C, во время облучения нагрева клубней не происходило.

Дозу, полученную картофелем, оценивали по измеренному суммарному заряду электронов, падающих на пластину, на которой находились клубни. При этом учитывали полную площадь пластины, $S_{пласт}$, а также площадь, занятую картофелем, так как измеренный заряд электронов $Q_{изм}$, используемый в дальнейших расчетах для оценки дозы, измерялся только с поверхности пластины, не занятой образцами.

Для расчета поглощенной дозы в картофеле половину клубня рассматривали как полусферу радиуса R, которая обращена выпуклостью вверх. На эту полусферу сверху падает по нормали к поверхности пучок электронов с энергией E_0 (в нашем случае 1МэВ). Поток электронов, т.е. количество электронов N_e, падающих на единицу площади поверхности картофеля S, равен $\Phi=N_e/S=Qk/S*e$, где $Q_к = \{Q_{изм}/[1 -\cdot(S\cdot n)/S_{пласт}] - Q_{изм}\}/n$ - заряд, падающий на один клубень, $S_{пласт}$ – полная площадь пластины, с которой проводится измерение тока, n – количество клубней, непосредственно находящихся под пучком в момент облучения.

Разместим систему координат в плоскости так, что ее начало совпадает с центром полусферы, тогда при фиксированном расстоянии $r=\sqrt{x^2+y^2}$ от начала координат, толщина слоя материала полусферы над данной точкой будет равняться $l=\sqrt{R^2-r^2}=R\sqrt{1-(r/R)^2}$, а количество электронов, падающих на кольцо радиуса r и толщины dr будет равняться $\Phi 2\pi rdr$. Предположим, что при прохождении слоя толщиной l электрон теряет энергию $E(E_0,l)$, при этом не рассеиваясь в среде. При этих условиях выделившаяся в полусфере энергия E_{dep} будет равняться величине

$$E_{dep}=\int_0^R \Phi E\left(E_0, R\sqrt{1-(r/R)^2}\right)2\pi rdr \qquad (1)$$

Предположим, что потери энергии электронов прямо пропорциональны пройденному пути. Тогда потери энергии ΔE при прохождении пути l описываются выражением:

$$\Delta E=\begin{cases} E_0, & l\ge S_{\max}, \\ E_0 l/S_{\max}, & l<S_{\max} \end{cases} \qquad (2)$$

где S_{max} – максимальный пробег электронов в среде. В нашем случае максимальный пробег электронов с энергией 1 МэВ составляет примерно 0,5 см, т.е. меньше радиуса R. Тогда соотношение (1) с учетом (2) преобразуется к виду

$$E_{dep}=\int_0^{R\sqrt{1-(S_{max}/R)^2}} \Phi E_0 2\pi rdr+\int_{R\sqrt{1-(S_{max}/R)^2}}^{R} \Phi E_0 \frac{R\sqrt{1-(r/R)^2}}{S_{max}} 2\pi rdr. \qquad (3)$$

Взяв соответствующие интегралы, приходим к следующему выражению для поглощенной энергии:

$$E_{dep}=\Phi E_0\frac{\pi}{3}\left(3R^2-S_{\max}^2\right)$$

соответствующее значение средней поглощенной в полусфере дозы есть

$$D=\frac{E_{dep}}{m}=\frac{\Phi E_0\frac{\pi}{3}\left(3R^2-S_{\max}^2\right)}{\rho\frac{2}{3}\pi R^3}=\frac{\Phi E_0\left(3-(S_{\max}/R)^2\right)}{2\rho R}. \qquad (4)$$

Таблица 1.
Параметры облучения клубней картофеля пучком ускоренных электронов в дозах 20 – 20000 Гр

N	Измеренный заряд $Q_{изм}$, нКл	Время облучения	Ток пучка	Поглощенная доза, Гр
1	1744	10 сек	70 нА	20
2	3865	37 сек	70 нА	44
3	7815	1 мин 21 сек	70 нА	90
4	15780	2 мин 40 сек	70 нА	182
5	39810	6 мин 32 сек	70 нА	459
6	79540	14 мин 40 сек	70 нА	917
7	159340	13 мин	190 нА	1838
8	397000	2 мин 10 сек	2,6 мкА	4580
9	1593500	9 мин 32 сек	2,6 мкА	20152

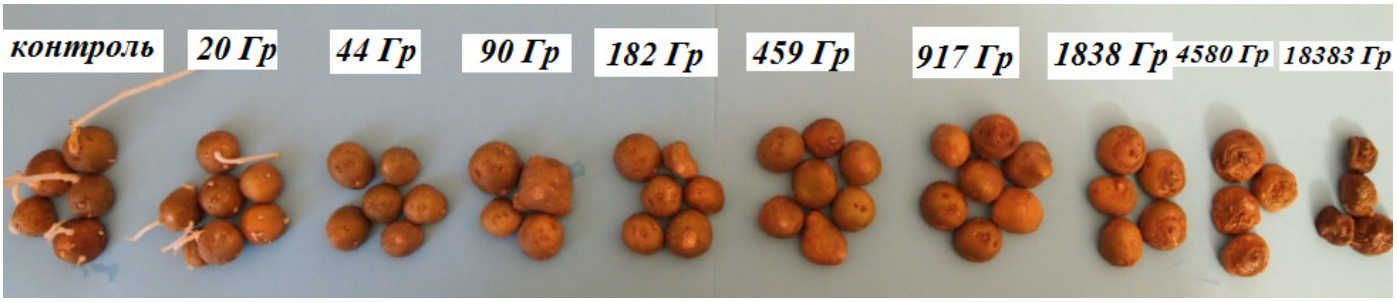

Рис. 1. Фотография контрольных образцов, а также образцов, облученных дозами 20 Гр, 44 Гр, 90 Гр, 182 Гр, 459 Гр, 917 Гр, 1838 Гр, 4580 Гр, 18383 Гр через два с половиной месяца после облучения.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 для каждого измерения приведены соответствующие значения измеренного заряда электронов, падающих на пластину, не занятую клубнями картофеля, время облучения, ток пучка электронов на выходе из ускорителя и соответствующие значения поглощенной дозы, полученные половинками клубней картофеля и рассчитанные по формуле (4). Клубни картофеля облучались дозами 20, 44, 90, 182, 459, 917, 1838, 4580 и 18383 Гр. Погрешность в оценке дозы облучения составляла примерно 10%. После облучения клубни хранились при температуре 15°С.

В первые две недели образцы картофеля, облученные разными дозами, не отличались по внешним признакам: кожура и мякоть были схожи с контрольными образцами. Через 4 недели после хранения контрольные образцы начали прорастать, длина проростков составляла 7 ± 3 мм. У клубней, облученных в дозе 20 Гр, через 4 недели после облучения начали появляться проростки, их длина составляла 2 ± 1 мм, остальные клубни не проросли. Кожура клубней, облученных дозами 1838, 4580 и 18383 Гр потеряла влагу и потемнела. Клубни, облученные дозами 44, 90, 182, 459 и 917 Гр, визуально не изменились.

Визуальный контроль велся на протяжении всего срока хранения картофеля (10 недель). Результат визуального сравнения контрольных образцов, а также облученных различными дозами, через 10 недель после проведения облучения приведен на рис. 1.

Как видно из рис. 1, контрольные образцы проросли, длина проростков варьировалась от 2 мм до 70 мм, средняя длина отростков составляла 22,6 ± 7 мм. У образцов, облученных дозой 20 Гр, также появились проростки, их длина варьировалась от 1 мм до 20 мм, средняя длина составляла 5,8 ± 3,7 мм. У клубней, облученных дозой 44 Гр, даже через 10 недель хранения после облучения проростки не обнаружены.

За все время наблюдения клубни, облученные дозами 44, 90, 182, 459 и 917 Гр, визуально не изменились; морфологические признаки мякоти и кожуры не отличались от признаков необлученных образцов картофеля. У кожуры образцов, облученных дозами 1838, 4580 и 18383 Гр, наблюдалась большая потеря влаги, а также потемнение и потеря влаги в мякоти.

Заключение

Было проведено сравнение внешних признаков картофеля при облучении разными дозами пучков ускоренных электронов с энергией 1МэВ сразу после облучения и через два с половиной месяца хранения. По результатам эксперимента были определены параметры пучка при которых у клубней картофеля теряется способность к прорастанию, но сохраняется целостность мякоти и кожуры.

Показано, что использование ускоренных электронов эффективно для ингибирования прорастания клубней картофеля при облучении дозой 44 Гр, что примерно на 10% меньше минимальной дозы 50 Гр, рекомендованной на сегодняшний день в широкой печати. Облучение дозой 20 Гр замедляло процесс прорастания по сравнению с контрольными образцами, однако ингибирования прорастания в данном случае не произошло. Внешние признаки мякоти и кожуры облученных клубней не отличались от признаков необлученных образцов картофеля. Дальнейшее увеличение дозы облучения приводило к ухудшению внешних признаков, и, в результате, при дозах больших 1кГр – к гибели картофеля. Результаты расчетов показали, что электроны с энергией 1 МэВ проникают внутрь клубней менее, чем на 5 мм, не воздействуя на мякоть, они отдают всю свою энергию поверхностному слою картофеля, повреждая находящиеся в поверхностном слое клубня глазки.

Таким образом проверена возможность ингибирования прорастания картофеля и одновременно сохранение целостности мякоти при соответствующих параметрах пучка ускоренных электронов. Данные эксперимента могут быть использованы при создании установок по радиационной обработке овощных культур.

Список цитированной литературы

1. Nouri J, Toofanian F. Extension of storage of onions and potatoes by gamma irradiation // Pakistan journal of biological science. —2001.—V.4(10).— P. 1275-1278.

2. Burton WG, Hannan RS. Use of γ-radiation for preventing the sprouting of potatoes// Journal of the Science of Food and Agriculture.— 1957.— V.8.P. 707–715.

3. Rezaee M, Almassi M, Majdabadi Farahani A, Minaeia S, Khodadadi M, Agr J. Potato Sprout Inhibition

and Tuber Quality after Post Harvest Treatment with Gamma Irradiation on Different Dates.// Sci. Tech.—2001.— V.13.— P. 829-834.

4. Ghanekar AS, Padwal-Dessi SR, Nadkarni GB, Agric J. Irradiation of potatoes: influence on wound periderm formation and on resistance to soft rot. //Food Chem.—1983.— V.31. —P. 1009-1013.

5. Hayashi T, Todoriki S. Treatment of Foods with Soft-electrons (Low-energy Electrons). //JAERI-Conf.—2002.—V.13.

6. Frazier MJ, Kleinkopf GE, Brey RR, Olsen NL. Potato sprout inhibition and tuber quality after treatment with high-energy ionizing radiation. //American journal of potato research. — 2006. V.83. —I.1.— P. 31-39.

7. Schwimmer S, Burr HK, Harrington WO, Weston WJ. Gamma irradiation of potatoes: effects on sugar content, chip color, germination, greening, and susceptibility to mold. //American potato journal.—1957.— V.34.—P.31-41.

8. Singh S, Singh N, Ezekiel R, Kaur A. Effects of gamma-irradiation on the morphological, structural, thermal and rheological properties of potato starches.// Carbohydrate polymers. —2010.—V.10.— P. 1016.

9. Alimov AS, Ishkhanov BS, Sakharov VP, Pakhomov NI, Shvedunov VI. Method for accelerating electrons in a linear accelerator and an accelerating structure for carrying out said method. US Patent 8,148,923 B2. Apr. 3, 2012a.

10. Alimov A.S., Ishkhanov B.S., Sakharov V.P., Pakhomov N.I., Shvedunov V.I. // Low-injection energy continuous linear electron accelerator. US Patent 8,169,166. May 1, 2012b.

11. Yurov DS, Alimov AS, Ishkhanov BS, Pakhomov NI, Sakharov VP, Shvedunov VI. Industrial Prototype of Compact CW LINAC. /Proceedings of RUPAC2014. Obninsk, Russia.—2014.—P. 248-250.

Germination inhibition of potato tubers under the influence of the electron beam with energy of 1 Mev

A.S. Alimov [1], U.A. Bliznuk[1], P.Y. Borschegovskaya [2], S.N. Elansky[3,4], A.P. Chernyaev [1,2], D.S. Yurov [1]

1 – Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia

2 – Department of Physics of Accelerators and Radiation Medicine, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia

3 – Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia

4 – All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming. 140051, Kraskovo-1, Lorh str.,23. Moscow region, Russia.

Abstract.

Efficiency of radiation processing for germination inhibition of potato tubers by the accelerated electrons with energy 1 Mev is shown at doses more than 44 Gr. Doses more than 1 Kgr led to death of potato tubers. The analysis of external signs of tubers right after radiation, in 4 and 10 weeks of storage is carried out.

Keywords: *: radiation treatment, ionizing radiation, accelerated electrons, potatoes, germination*

Устойчивость российских и европейских штаммов *Colletotrichum coccodes* к некоторым фунгицидам

И.А.Кутузова[1], И.А. Григорович[1], М.А.Побединская[1], Г.Л.Белов[2], С.Н.Еланский[1,2]

1 – Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова. Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1.
2 – ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий р-н, п. Красково-1, ул. Лорха, д.23, Россия

Аннотация

Несовершенный гриб Colletotrichum coccodes (Wallr.) S. Hughes - один из опасных фитопатогенов, поражающих картофель. В последнее время заболевания картофеля, вызываемые C. coccodes, стали достаточно распространенными и наносят, при массовом развитии, значительный урон. В работе проведена оценка на питательной среде устойчивости изолятов C. coccodes, выделенных в 2013-2015 годах во Владимирской, Московской, Костромской областях России, а также из привезенного из Федеративной Республики Германии (ФРГ) семенного картофеля.

Исследования устойчивости штаммов C. coccodes к фунгицидам показали, что хорошим фунгистатическим действием обладали все препараты за исключением пенцикурона. Очень высокую фунгистатическую эффективность показали флудиоксонил и дифеноконазол. Меньшую эффективность в ограничении радиального прироста колоний показали коллоидное серебро, азоксистробин и тиабендазол. Штаммы, сильно отличающиеся по уровням устойчивости, были выявлены в отношении тиабендазола и азоксистробина. Высокая вариабельность в отношении тиабендазола выявлена у изолятов из Германии, а более высокой вариабельностью в отношении азоксистробина отличались российские изоляты. При длительном культивировании на среде с флудиоксонилом изоляты образовывали быстро растущие сектора. Мицелий, взятый из сектора и перенесенный на чашку с вновь разлитой средой с фунгицидом рос намного быстрее, чем исходный изолят. В то же время изоляты, получившие устойчивость к флудиоксонилу, теряли способность к осморегуляции. Это показывает, что в мицелиях исходных изолятов при культивировании на среде с флудиоксонилом произошли мутации устойчивости. Проведенная работа показала, что используемые в защите картофеля фунгициды сильно отличаются по эффективности воздействия на C. coccodes.

Ключевые слова: Colletotrichum coccodes, антракноз, черная пятнистость, болезни картофеля.

Несовершенный гриб *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S. Hughes - один из опасных фитопатогенов, способный поражать не менее 35 растений-хозяев из 13 семейств, в том числе из тыквенных, бобовых и пасленовых (Dillard, 1992). На картофеле *C. coccodes* вызывает симптомы антракноза - появление язв на клубнях, корнях, столонах, стеблях, плодах. Поражает он также и листья. На клубнях картофеля он, как правило, вызывает симптомы серебристой парши - расслоение кожуры клубня. Отличительным признаком поражения *C. coccodes* является наличие мелких точечных черных склероциев на пораженных частях, в связи с чем это заболевание называют «черная пятнистость, или black dot». Симптомы на клубнях часто ошибочно принимают за серебристую паршу, вызываемую другим несовершенным грибом *Helminthosporium solani* Durieu & Mont. Инокулюм *C. coccodes* может сохраняться как в семенных клубнях, так и в почве. После прорастания семенных клубней гриб может заражать ростки, столоны, подземную часть стебля.

Заболевания картофеля, вызываемые *C. coccodes*, сложно поддаются контролю, поскольку коммерческие сорта обладают низким уровнем устойчивости. Эффективность химических средств защиты растений в отношении российских штаммов *C. coccodes* слабо исследована, о наличии устойчивых изолятов в российских популяциях нет данных. В последнее время черная пятнистость и антракноз стали достаточно распространенными заболеваниями на картофеле и наносят, при массовом развитии, значительный урон. Для разработки эффективных мер борьбы необходимо изучение эффективности препаратов фунгицидного действия, прежде всего тех, которые используются для предпосадочной обработки клубней.

Автор для переписки: Еланский С.Н.
E-mail: snelansky@gmail.com

Материалы и методы.

В работе использованы изоляты *C. coccodes* из коллекции авторов, выделенные в 2013-2015 годах во Владимирской, Московской, Костромской областях России, а также из привезенного из Федеративной Республики Германии (ФРГ) семенного картофеля. Тестирование культурально-морфологических и генетических (секвенирование участка ядерных рибосомных генов и межгенных спейсеров) признаков коллекционных изолятов показало их принадлежность к виду *C. coccodes*. Информация о происхождении и количестве протестированных изолятов приведена в таблице 1.

Оценка устойчивости к фунгицидам проводилась в чашках Петри на агаризованной среде сусло-агар с добавлением фунгицидов в концентрациях 1; 10; 100 ppm (при тестировании устойчивости к дифеноконазолу и азоксистробину использовали также концентрацию 0,1 ppm) по действующему веществу и на среде без фунгицида (контроль). В работе концентрация фунгицидов приведена в ppm: 1 ppm = одна миллионная часть; 1 ppm=1 мкг/мл=1 мг/л. Для изучения устойчивости исследуемый изолят агаровым блоком высевали в центр чашки Петри. Чашки инкубировали при комнатной температуре (22-24°С). Когда диаметр контроля достигал 60-80% от диаметра чашки Петри, проводили замер двух взаимно перпендикулярных радиусов исследуемых колоний;после измерения радиусы усредняли. Эксперименты проводили в трёх повторностях, результаты которых впоследствии также усредняли. Для каждого изолята с помощью математической обработки определяли показатели EC_{50} (концентрация фунгицида, необходимая для замедления скорости радиального прироста колонии в 2 раза относительно бесфунгицидного контроля) и EC_{90} (концентрация фунгицида, необходимая для замедления скорости радиального прироста колонии на 90% относительно бесфунгицидного контроля).

В работе протестирована устойчивость изолятов *C. coccodes* к фунгицидам дифеноконазол (в работе использовали препарат Скор), азоксистробин (Квадрис), флудиоксанил (Максим), пенцикурон (Престиж), тиабендазол (Текто), Зерокс (модифицированное коллоидное серебро).

Дифеноконазол – системный фунгицид, обладающий длительным защитным и лечебным действием против широкого круга растительных патогенов. Азоксистробин – системный фунгицид для защиты картофеля и овощных культур открытого и защищенного грунта (томаты, огурцы), а также виноградной лозы от основных болезней, таких как настоящая и ложная мучнистая роса, альтернариоз, фитофтороз, милдью и оидиум. Флудиоксонил – контактный фунгицид с длительным защитным и слабым системным действием. Применяется в России в качестве фунгицида для предпосевного протравливания семян зерновых культур, гороха, подсолнечника, сахарной свеклы, а также для обработки клубней картофеля перед посадкой и перед закладкой на хранение. Пенцикурон является контактным фунгицидом с длительным защитным действием, применяется для предпосадочного протравливания семенных клубней картофеля. Тиабендазол входит в состав сжигаемых шашек Вист и применяется для фумигации помещения под картофель, а также обработки клубней после их загрузки на хранение. Зерокс – новый контактный фунгицидный препарат широкого спектра действия против фитопатогенных бактерий, грибов и оомицетов, действующим веществом которого являются наноразмерные частицы коллоидного серебра, поверхностно модифицированные экологически безопасным биоразлагаемым амфотерным поверхностно-активным веществом. Используется для предпосадочной обработки семян и опрыскивания вегетирующих растений (Мыца и др., 2014).

Результаты и их обсуждение.

Исследования устойчивости штаммов C. coccodes к фунгицидам (табл. 2,3) показали, что эффективным фунгицидным действием обладали дифеноконазол (препарат Скор) (EC_{90} не превышал 1,37 ppm) и коллоидное серебро (Зерокс) (EC_{90} < 37 ppm). На средах с другими препаратами изоляты *C. coccodes* медленно продолжали свой рост, к моменту измерений диаметр колонии на среде с фунгицидом (100 ppm) превышал 10% от контроля. Поскольку тестирования на средах с большими концентрациями фунгицидов не проводилось, точного значения EC_{90} установить не удалось.

Оценка показателя EC_{50} (табл. 3) показала, что хорошим фунгистатическим действием обладали все препараты за исключением пенцикурона. Крайне низкая эффективность пенцикурона в отношении *C. coccodes* отмечена и в работе французских исследователей (Andrivon et al., 1997). Очень высокую эффективность показали флудиоксонил и дифеноконазол, для них показатель EC_{50} не превышал 1 ppm. Меньшую эффективность в ограничении радиального прироста колоний показали коллоидное серебро, азоксистробин и тиабендазол. Штаммы, сильно отличающиеся по уровням устойчивости

Таблица 1.
Использованные в работе изоляты *C. coccodes*.

Происхождение изолятов	Сорт картофеля	Год выделения	Кол-во изолятов
Германия	Дельфине, Эстрелла, Альвара, Сафия	2013	17
Владимирская обл., Гусь-Хрустальный р-н	Удача	2013	3
Костромская обл., Костромской р-н	Удача	2014	20
Московская обл, Солнечногорский р-н	Невский	2014	2
Всего			**42**

(EC_{50}), были выявлены в отношении тиабендазола и азоксистробина. Причем, что интересно, высокая вариабельность в отношении тиабендазола выявлена у изолятов из Германии (показатель дисперсии равен 308,6 против 9,2 у российских), а более высокой вариабельностью в отношении азоксистробина отличались российские изоляты (234 против 0,0001 у европейских). Вариабельность устойчивости к тиабендазолу была отмечена и при анализе французских изолятов *C. coccodes* (Andrivon et al., 1997). В целом, уровни устойчивости в отношении всех фунгицидов, кроме тиабендазола, у германских изолятов отличались низкой вариабельностью. Возможно, это связано с интенсивными химическими обработками и правильным чередованием фунгицидов в Германии, что не позволяет появляться устойчивым изолятам.

При длительном культивировании на среде с флудиоксонилом изоляты гриба не погибали, а продолжали очень медленно расти. Через 15-20 суток роста более половины исследованных изолятов образовали быстро растущие сектора (рис. 1). Мицелий, взятый из устойчивого сектора и перенесенный на чашку с вновь разлитой средой с фунгицидом рос намного быстрее, чем исходный изолят. На 9-е сутки исходный изолят еще не перешел

Таблица 2.
Устойчивость *C. coccodes* к фунгицидам. Показатель EC_{90}.

Фунгицид	Страна	Кол–во протести-рованных изолятов	Вариабель-ность EC_{90}, ppm	Среднее EC_{90}, ppm	Дисперсия среднего	Число штаммов с различными EC_{90}:			
						<1	1-10	10-100	>100
Пенцикурон (Престиж)	РФ	25	—*	>100	—	0	0	0	25
	ФРГ	15	—	>100	—	0	0	0	15
Коллоидное серебро (Зерокс)	РФ	14	2,1-75,3	36,9	796,5	0	4	10	0
	ФРГ	15	8,5-9,1	9,05	0,7	0	15	0	0
Азоксистробин (Квадрис)	РФ	21	—	>100	—	0	0	0	21
	ФРГ	16	—	>100	—	1	0	0	15
Флудиоксонил (Максим)	РФ	25	—	>100	—	0	0	1	24
	ФРГ	15	—	>100	—	0	2	8	5
Дифеноконазол (Скор)	РФ	23	0,06-4,1	1,37	1,4	18	5	0	0
	ФРГ	16	0,06-1	0,33	0,08	15	1	0	0
Тиабендазол (Текто, Вист)	РФ	24	—	>100	—	0	0	0	24
	ФРГ	15	—	>100	—	0	0	0	15

*Прим. * - не удалось посчитать.*

Таблица 3.
Устойчивость *C. coccodes* к фунгицидам. Показатель EC_{50}.

Фунгицид	Страна	Кол–во протести-рованных изолятов	Вариабель-ность EC_{50}, ppm	Среднее EC_{50}, ppm	Дисперсия среднего	Число штаммов с различными EC_{50}:			
						<1	1-10	10-100	>100
Пенцикурон (Престиж)	РФ	25	—*	>100	—	0	0	0	25
	ФРГ	15	—	>100	—	0	0	0	15
Коллоидное серебро (Зерокс)	РФ	14	1,2-7,0	4,7	3,5	0	14	0	0
	ФРГ	15	4,7-5,5	5,3	0,04	0	15	0	0
Азоксистробин (Квадрис)	РФ	21	0,07 - 19	3,7	23,4	11	9	2	0
	ФРГ	16	0,06-0,1	0,08	0,0001	16	0	0	0
Флудиоксонил (Максим)	РФ	25	0,6-0,9	0,8	0,01	25	0	0	0
	ФРГ	15	0,6-0,7	0,6	0,002	15	0	0	0
Дифеноконазол (Скор)	РФ	21	0,06 - 0,12	0,07	0,0002	21	0	0	0
	ФРГ	16	0,05-0,07	0,06	0,00003	16	0	0	0
Тиабендазол (Текто, Вист)	РФ	24	1,5 - 12,3	7,0	9,2	0	21	3	0
	ФРГ	15	0,9-50,3	10,8	308,6	8	4	3	0

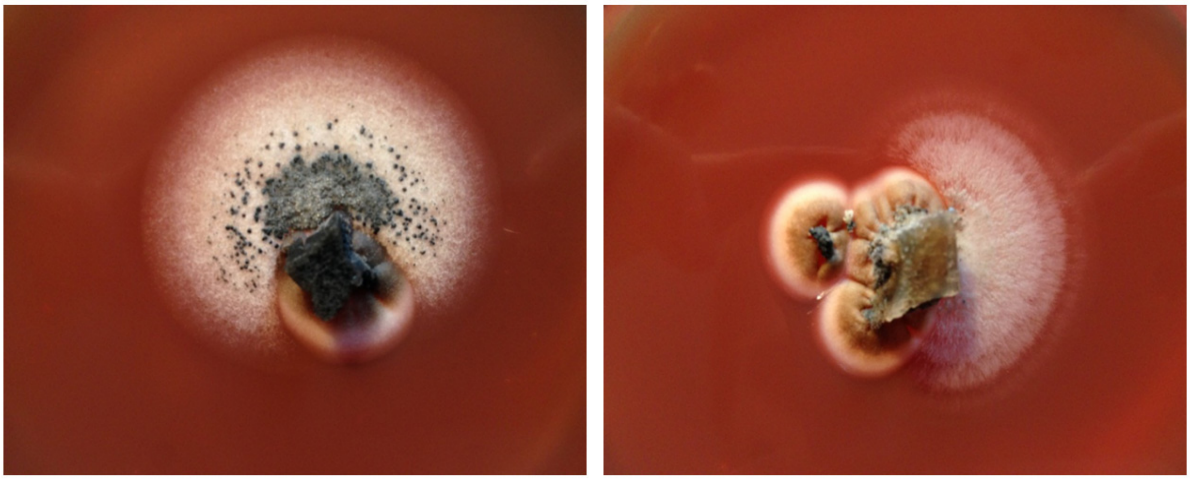

Рис. 1. Образование изолятами *C. coccodes* устойчивых секторов после длительного культивирования на среде с флудиоксонилом.

на агаризованную среду с фунгицидом, в то время как изолят из устойчивого сектора активно на ней рос (рис.2). Это свидетельствует в пользу того, что в мицелиях исходных изолятов при культивировании на среде с флудиоксонилом произошли мутации устойчивости.

Аналогичное явление резкого повышения устойчивости к флудиоксонилу было отмечено при исследованиях, проведенных с грибом *Neurospora crassa*. В работе (Zhang, et al., 2002) сообщалось, что флудиоксонил активировал фосфорилирование МАР-киназ генов осморегуляции *Neurospora crassa*, в результате чего гриб начинал накапливать глицерин, который, в свою очередь, увеличивал внутриклеточное давление. Избыточная концентрация глицерина приводила к тому, что мембраны сильно раздувались и в дальнейшем разрывались, вызывая гибель гриба. В случае мутаций гена осморегуляции Os-2 N. crassa приобретал устойчивость к фунгициду, однако терял способность к осморегуляции. Kojima (2004) показал, что флудиоксонил запускает фосфорилирование МАР-киназ родственного для *N.crassa* гена Os2p у *Colletotrichum lagenarium*, *C. heterostrophus* и *Botrytis cinerea*, вызывая аналогичное проявление устойчивости к фунгициду. Наши предварительные исследования показали, что штаммы *C. coccodes* с приобретенной устойчивостью к флудиоксонилу заметно хуже растут в условиях осмотического стресса (рис.2).

Картофель – высокоурожайная и достаточно дорогая в производстве культура, в связи с чем стоимость потерь урожая от развития грибных заболеваний весьма высока. Проведенная нами работа показала, что используемые в защите картофеля фунгициды сильно отличаются по эффективности воздействия на исследованные штаммы *C. coccodes*. При планировании защитных мероприятий обязательно следует учитывать эффективность фунгицидных препаратов. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-02512).

Список цитированной литературы.

1. Мыца Е.Д., Еланский С.Н., Кокаева Л.Ю., Побединская М.А., Игнатов А.Н., Кузнецова М.А., Козловский Б.Е., Денисов А.Н., Жеребин П.М., Крутяков Ю.А. Новый препарат Зерокс – оценка

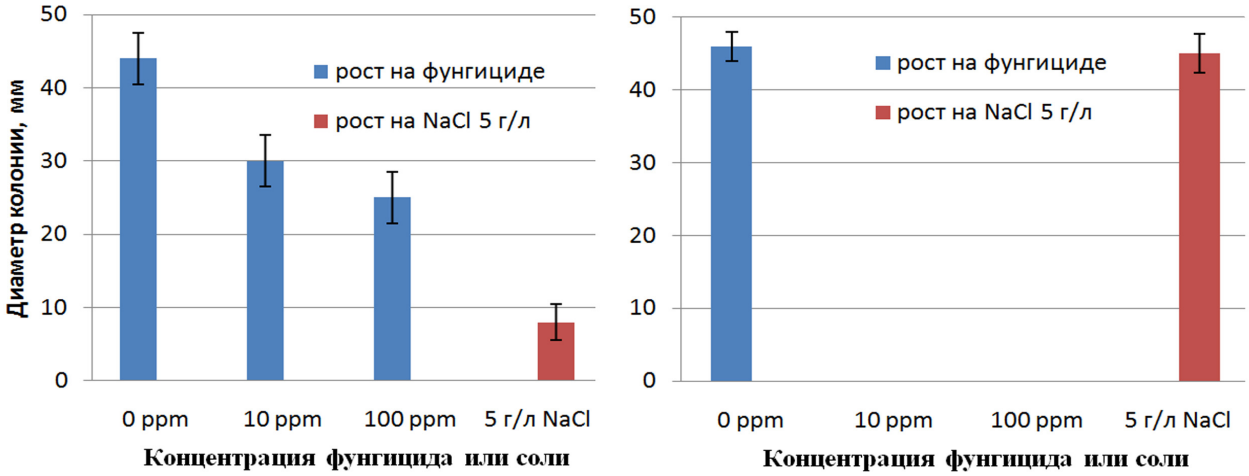

Рис. 2. Диаметры колоний мутантного (слева) и исходного (справа) штаммов *C. coccodes* на среде с флудиоксонилом без NaCl, и с NaCl без флудиоксонила на 9 сутки роста. Планки погрешностей - доверительный интервал для уровня значимости 0,05.

фунгицидного и бактерицидного эффекта *in vitro*.// Достиж. науки и техн. АПК. —2014.— Т.28(12).— С. 16-19.

2. Andrivon D, Ramage K, Guerin G, Lukas JM, Jouan B. Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrchum coccodes* in French potato-producing areas// Plant Pathology.— 1997.— V. 46.— P. 722-728.

3. Dillard HR. *Colletotrichum coccodes*: the pathogen and its hosts. In: Bailey JA, Jeger MJ, eds. Colletotrichum: Biology, Pathology and Control. Wallingford, UK: CAB International. —1992.— P.225-236.

4. Kojima K, Takano Y, Yoshimi A, Tanaka C, Kikuchi T, Okuno T. Fungicide activity through activation of a fungal signalling pathway.// Mol. Microbiol. —2004.— V.53.— P.1785-1796.

5. Zhang Y, Lamm R, Pillonel C, Lam S, Xu JR, 2002. Osmoregulation and Fungicide Resistance: the *Neurospora crassa* os-2 Gene Encodesa HOG1 Mitogen-Activated Protein Kinase Homologue.// Appl. Environ. Microbiol.—2001.—V.68(2). P.532-538.

Resistance of Russian and European strains of Colletotrichum coccodes to selected fungicides

I.A.Kutuzova[1], I.A.Grigorovich[1], M.A.Pobedinskaya[1], G.L.Belov[2], S.N.Elansky[1,2]

1 – Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory, 1-12, Moscow, 119899 Russia
2 – All-Russian A.G. Lorh Research Institute of Potato Farming. 140051, Kraskovo-1, Lorh str.,23. Moscow region, Russia.

Abstract

Imperfect fungus Colletotrichum coccodes (Wallr.) S. Hughes is one of the most virulent potato pathogens. In recent times potato diseases caused by C. coccodes became more common and in case of intense development they lead to significant losses of yield. During our research the evaluation of resistance of C. coccodes strains to chemicals on nutrition media was performed. C. coccodes strains were isolated in 2013-2015 years from Russian infected material (from potato tubers of Vladimir, Moscow and Kostroma Regions) and from German infected material (from imported seed potato tubers).

According to results, most of tested antifungal chemicals show a good fungistatic activity to C. coccodes strains (except pencikuron). The very high fungistatic activity was shown by fludioxonil and difenoconazole. Less effective in limitation of radial growth were colloidal Ag (silver), azoxystrobin and thiabendazole. Tested strains showed significant differences in resistance to thiabendazole and azoxystrobin. Wide range of variability concerning resistance to thiabendazole was found among C. coccodes strains from Germany, while strains with Russian origin showed the wide variability in resistance to azoxystrobin.

During prolongated (>15-20 days) cultivation of strains on nutrition media with fludioxonil strains formed rapidly growing sectors. And when mycelium from such sector was transferred to a new Petri dish with nutrition media plus the same fungicide, the strain from the sector showed a higher growth rate, than the initial isolate. This shows some kind of resistance mutations which occur with a strain during cultivation on a media with fludioxonil.

The conducted research demonstrates that fungicides, which are commonly used for potato protection, have considerable differences in effectiveness against tested strains of C. coccodes.

***Keywords**: Colletotrichum coccodes, blach dot, potato diseases.*