

УДК 633.491:630\*443

## ИНДУЦИРОВАНИЕ ФИТОФТОРОУСТОЙЧИВОСТИ КАРТОФЕЛЯ В ПРОЦЕССЕ ОЗДОРОВЛЕНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА Н. Л. БЕЛЯЕВА

(Кафедра фитопатологии)

Показана возможность индукции фитопфороустойчивости у проросточных растений картофеля сорта Невский путем добавления в питательную среду комплексов ридомила и фунгицида ридомила. Установлено, что при этом возникает эффект повышенной устойчивости, который обнаруживается у растений следующего поколения. Названы препараты и концентрации, обеспечивающие значительное увеличение индуцированной устойчивости. Рассматривается влияние используемых препаратов на урожайность картофеля следующего поколения.

В последние годы значительно возрос интерес исследователей к проблемам индуцированной устойчивости (ИУ), которая, будучи локальной или системной, длительной или кратковременной, эффективна против широкого круга патогенов [6, 16].

У растений ИУ может быть активирована с помощью самих патогенов, их гиповирулентных штаммов, а также непатогенных организмов. Примером индуцированной устойчивости с помощью самого патогена служат работы Куча по иммунизации тыквенных растений [22, 23]. В качестве неинфекционного индуктора биотического происхождения успешно используется липогликопротеидный комплекс (ЛГП-комплекс), полученный из мицелия возбудителя фитофтороза картофеля [17].

ИУ можно вызвать и с помощью химических иммунизаторов, включающих биологически активные вещества и химические средства защиты растений. Действие их обусловлено влиянием на возбудителя болезни через измененный

обмен веществ растения-хозяина [15, 19].

По некоторым данным, с помощью химической иммунизации в первые критические периоды роста и развития можно ограничить или даже полностью предупредить воздействие паразитов на ткани растений, повысив устойчивость последних [1, 4].

Методы клеточной и тканевой культуры представляют определенный интерес для возможной иммунизации, так как позволяют подвергнуть растение различным воздействиям на самых ранних стадиях развития при высокостандартизованных условиях выращивания.

В литературе имеются сведения об обработке калусных культур препаратами биотических элизиторов [9, 21, 25] и культуральными фильтратами [24]. Последние использовались также в качестве добавок к питательной среде [20, 21]. При этом наблюдалось индуцирование защитных реакций: синтез фитоалексинов, сверхчувствительное покоричнение каллуса, блокирование роста патогена.

Ранее в Тимирязевской академии была установлена возможность индуцирования устойчивости картофеля к фитофторозу на этапе ускоренного размножения оздоровленного от вирусов материала *in vitro* путем введения в питательную среду некоторых абиотических иммунизаторов [13].

Имеются данные, что устойчивость к фитофторозу у растений-регенерантов, полученных методом культуры клеток, сохраняется у взрослых растений в полевых условиях [5].

В нашей работе ставилась цель — проверить возможность индуцирования фитофтороустойчивости пробирочных растений картофеля с помощью комплексонов и ридомила и определить длительность этого эффекта.

#### Методика

Исследования проводились на кафедре фитопатологии и в лаборатории защиты растений Тимирязевской академии в 1989—1990 гг. Объектом исследования служил картофель сорта Невский, безвирусная культура которого была получена в НИИКХ. В качестве питательной среды при выращивании регенерантов использовали модифицированную среду Мурасиге — Скуга с добавлением витаминов,  $\alpha$ -НУК, ИУК, феруловой кислоты, кинетина, гибберелина и активированного угля. Комплексоны и ридомил вносили в нее в дозах, считающихся оптимальными [13].

Растения-регенеранты черенковали по общепринятой методике [18]. Условия культивирования следующие: освещенность около 4 тыс. люкс в течение 16 ч в сутки; температура на свету 20—25°, в темноте — 18—20 °С. Высоту пробирочных растений измеряли на 10, 20, 30-й день после черенкования.

На 35-й день растения-регенеранты высаживали из пробирок в керамические горшочки с почвенной смесью, состоящей из равных частей торфа, перегноя и песка, и выращивали в условиях теплицы. Полученные в первый год опыта клубни следующей весной высаживали в горшочки, а затем — в поле при ширине междурядий 0,7 м и расстоянии между растениями в рядке 0,3 м. Для инокуляции использовали сложную расу *Phytophthora infestans*, полученную во ВНИИФ, а также культуру гриба, выделенную нами из больных клубней.

Искусственное заражение отделенных листьев проводили по обычной методике [5]. У регенерантов заражали по одному листочку с 10 растений варианта, концентрация инокулюма при этом составляла 10—13 конидий в поле зрения микроскопа (ПЗМ) при увеличении 120. У взрослых растений в каждом варианте инокулировали по 3 листа среднего яруса с тремя верхними долями, причем инфекционную нагрузку увеличивали до 20—25 конидий в ПЗМ ( $\times 120$ ).

Учет пораженности листочков и интенсивности спороношения гриба проводили через 3 сут после заражения, используя 3-балльные шкалы [13].

В случае заражения взрослых растений учеты проводили на 5-й и 7-й день после заражения. Пораженность листьев определяли путем измерения диаметра фитофторозных пятен, развитие спороношения — по 4-балльной шкале [12], устойчивость листьев — по 9-балльной шкале СЭВ [8], ботвы в полевых условиях на естественном инфекционном фоне — трижды с интервалами 5—7 дней по 9-балльной шкале СЭВ [8].

Значения индекса поражения, баллы оценки поражения и интен-

сивности спороношения были преобразованы в соответствующие показатели по формуле  $\sqrt{x+1}$  [2].

Все данные опыта подвергнуты статистической обработке по Доспехову [2] в вычислительной лаборатории Тимирязевской академии на компьютере СМ-4-20.

### Результаты

На первом этапе укоренения и роста черенков (на 10-й день после черенкования) в вариантах с добавлением в питательную среду ZnOЭДФ и NiOЭДФ наблюдалось существенное замедление роста растений. На 20-й день заметных отклонений в росте уже не было. Месяц спустя после черенкования только те растения, что выросли на среде с добавлением ридомила, были менее развиты (табл. 1).

Таблица 1  
Динамика роста растений картофеля (мм, в среднем) при добавлении химических соединений в питательную среду

Вариант (соединение, добавленное к среде Мурасиге — Скуга, и дозы, мг/л)	На 10-й день	На 20-й день	На 30-й день
ZnOЭДФ, 50	6,9	43,0	81,4
CuOЭДФ, 50	12,3	51,9	86,2
MnOЭДФ, 50	12,8	47,9	80,1
MoOЭДФ, 50	14,4	49,7	76,2
NiOЭДФ, 50	9,1	54,8	79,3
K <sub>2</sub> ZnOЭДФ, 50	12,1	52,3	76,7
Ридомил, 460	12,5	43,9	63,4
Контроль (чистая среда)	13,7	48,0	78,2
HCP <sub>05</sub>	3,9	9,8	10,7

Полученные результаты в целом согласуются с данными, приводимыми в литературе [13]. Различия касаются лишь времени проявления угнетения роста в случае применения каждого иммунизатора. Так, при использовании ридомила торможение роста отмечено на 20-й день после черенкования.

Анализ внешнего вида растений

в момент их высадки в горшочки показал, что добавление в питательную среду ZnOЭДФ давало хорошо развитые растения, CuOЭДФ — мощные, MnOЭДФ, MoOЭДФ, NiOЭДФ — средне развитые, K<sub>2</sub>ZnOЭДФ — хорошо развитые с крупными листочками, ридомила — слаборазвитые растения с мелкими, свернутыми внутрь листочками. Растения в контроле были хорошо развиты.

Как видно из табл. 2, поражение листочков в результате искусственного заражения на 35-й день после черенкования было существенно меньше, чем в контроле, при внесении в среду ZnOЭДФ, MnOЭДФ, NiOЭДФ и ридомила. Показатель интенсивности спороношения возбудителя при этом был достоверно ниже в вариантах с ZnOЭДФ, CuOЭДФ, NiOЭДФ, K<sub>2</sub>ZnOЭДФ и ридомилом. Отмеченная в нашем опыте наивысшая степень иммунизации в варианте с ридомилом согласуется с литературными данными [13].

Иммунизирующее действие комплексов можно объяснить их

Таблица 2  
Поражение фитофторозом листочков картофеля, развивающихся на 35-й день после черенкования

Вариант	Поражение, балл	Интенсивность спороношения, балл	Пораженность, %	Развитие болезни, %
ZnOЭДФ	1,21	1,00	50	50
CuOЭДФ	1,56	1,04	90	75
MnOЭДФ	1,38	1,16	60	40
MoOЭДФ	1,50	1,19	90	75
NiOЭДФ	1,31	1,04	60	40
K <sub>2</sub> ZnOЭДФ	1,60	1,07	90	80
Ридомил	1,17	1,00	40	20
Контроль (чистая среда)	1,64	1,27	100	85
HCP <sub>05</sub>	0,22	0,18	—	—

влиянием на активность ферментов растения. Так, цинк входит в состав ряда ферментов; в том числе карбоангидразы, медь — в состав аскорбинатоксидазы. Ионы марганца активируют фермент фосфоглюкомутазу, а также наряду с ионами никеля — аргиназу [11]. О цинке, кроме того, известно, что он принимает непосредственное участие в синтезе хлорофилла и оказывает влияние на фотосинтез и углеводный обмен [3].

Имеются сведения об усилении устойчивости картофеля к фитофторозу вследствие увеличения активности пероксидазы под влиянием микроэлементов [10].

Ридомил как производное ацилаланина обладает более ярко выраженным действием на патоген через растение, нежели *in vitro*. Следовательно, именно на способности этого фунгицида изменять обмен веществ растения-хозяина в сторону, неблагоприятную для возбудителя фитофтороза, и основано его иммунизирующее действие. Вероятно, в силу указанных причин происходит сдвиг обмена веществ растения-хозяина в направлении образования фунгитоксических соединений. Так, при иммунизации картофеля с помощью микроэлементов и ридомила отмечали усиление образования фитоалексинов в ответ на последующий контакт с патогенами [14, 15].

Повторное искусственное заражение растений показало, что эффект иммунизации сохранялся спустя 78 дней после высадки растений в горшочки. Так, диаметр фитофторозного пятна был существенно меньше у растений, выросших на питательной среде с добавлением ZnOЭДФ, CuOЭДФ, ридомила.

По интенсивности спороношения существенных различий не выявлено. Показатель индекса пораже-

ния существенно превышал аналогичный показатель в контроле в случае применения MoOЭДФ. Использование ридомила, напротив, приводило к меньшему поражению, чем в контроле (табл. 3).

Т а б л и ц а 3  
Характер проявления устойчивости листьев картофеля к фитофторозу на 78-й день после пересадки в почву (на 7-й день после заражения)

Вариант	Диаметр поражения, мм	Интенсивность спороношения, балл	Индекс поражения
ZnOЭДФ	11,6	1,38	1,91
CuOЭДФ	10,3	1,48	1,92
MnOЭДФ	14,8	1,64	2,61
MoOЭДФ	22,3	2,00	4,13
NiOЭДФ	15,2	1,26	1,84
K <sub>2</sub> ZnOЭДФ	16,6	1,27	1,78
Ридомил	11,9	1,28	1,56
Контроль	17,7	1,51	2,61
НСР <sub>05</sub>	5,5	0,40	0,86

На 2-й год опыта листья растений следующего поколения, взятые в фазу бутонизации, были искусственно заражены. Более устойчивыми в сравнении с контролем оказались листья растений из вариантов с ZnOЭДФ, MnOЭДФ, ридомилом (табл. 4).

Метеорологические условия 1990 г. были исключительно благоприятными для развития эпифитотии фитофтороза. Это позволило оценить устойчивость ботвы на естественном инфекционном фоне. При первом учете существенно более устойчивыми по сравнению с контролем оказались растения в варианте с MnOЭДФ.

Второй учет не выявил скольких-нибудь существенных различий в устойчивости растений различных вариантов.

При третьем учете, проведенном в момент наивысшего развития болезни, большая устойчивость отме-

Таблица 4

Устойчивость к фитофторозу (средний балл) картофеля в полевых условиях

Вариант	Искусственное заражение (учет на 7-й день после инокуляции)	Естественное		
		16/VIII	23/VIII	29/VIII
ZnOЭДФ	7,22	8,80	8,30	7,90
CuOЭДФ	5,00	8,70	8,20	6,70
MnOЭДФ	6,78	9,00	8,00	7,40
MoOЭДФ	5,22	8,90	7,90	6,50
NiOЭДФ*	5,44	—	—	—
K <sub>2</sub> ZnOЭДФ	6,33	8,70	8,10	7,00
Ридомил	7,00	8,80	8,20	7,50
Контроль (чистая среда)	5,00	8,60	8,10	6,00
НСР <sub>05</sub>	1,18	0,36	0,44	0,97

\* Ко времени проведения учетов на естественном инфекционном фоне большая часть растений погибла в результате действия случайных факторов.

чена в варианте с ZnOЭДФ, MnOЭДФ, K<sub>2</sub>ZnOЭДФ и ридомилом (табл. 4).

Таким образом, иммунизирующее действие некоторых соединений, использованных нами, оказалось достаточно длительным. Подобные сведения имеются в литературе. Так, микроэлементы, примененные в качестве иммунизаторов картофеля к парше обыкновенной, сохраняли последствие в течение 1—3 лет в зависимости от препарата [14]. Обработка клубней картофеля ридомилом повышала содержание фитоалексинов в клубнях нового урожая [12].

Анализ урожая в нашем опыте показал, что в вариантах с применением иммунизаторов он был ниже, чем в контроле. Средняя масса клубней с одного куста составила в варианте ZnOЭДФ 0,26 кг; CuOЭДФ — 0,43, MnOЭДФ — 0,48, MoOЭДФ — 0,41, K<sub>2</sub>ZnOЭДФ — 0,45, ридомил — 0,53, а в контро-

ле — 0,61 кг при НСР<sub>05</sub> 0,22 кг. Существенная разница отмечена между контролем и вариантом с ZnOЭДФ. Между тем именно в этом варианте отмечен самый высокий уровень устойчивости. По мнению некоторых исследователей, у устойчивых сортов в отличие от сильно поражаемых в ответ на заражение гораздо сильнее активируются как окисление, так и фосфорилирование [7]. Поскольку субстратом дыхания являются моносахара, то при его усилении содержание крахмала в клубнях оказывается пониженным, что и приводит, вероятно, к падению урожайности. Однако следует отметить, что при выращивании картофеля на семена повышение урожайности не является непременно важным представляется получение здорового семенного материала.

## Выводы

1. С помощью химических соединений (комплексонатов и ридомила) возможно создание индуцированной устойчивости к фитофторозу у растений картофеля сорта Невский в процессе ускоренного размножения оздоровленного от вирусов материала. Эффект иммунизации обнаруживался и у растений следующего поколения.

2. Значительный уровень индуцированной устойчивости достигался при добавлении в среду Мурасиге — Скуга ZnOЭДФ и MnOЭДФ в концентрации 50 мг/л и ридомила в дозе 460 мг/л.

3. Добавление в питательную среду ZnOЭДФ и ридомила приводило к некоторому угнетению регенерантов до высадки их в почву. В варианте с ZnOЭДФ влияние препарата сказывалось на растениях следующего поколения, что выражалось в снижении урожайности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дорожкин Н. А., Панасевич С. Г. Условия питания и фитофтороустойчивость картофеля.— В сб.: Картофельводство и плодовоовощеводство.— Минск, 1978, вып. 3, с. 95—101.— 2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта.— М.: Агропромиздат, 1985.— 3. Дунин М. С., Младенов М. Р. Влияние цинка на устойчивость льна к фузариозу.— Вест. с.-х. науки, 1968, № 12, с. 29—32.— 4. Иванюк В. Г. Влияние биологически активных веществ на устойчивость томатов к макроспориозу в онтогенезе.— В кн.: Интенсификация овощеводства в Белоруссии.— Минск, 1985, с. 140—141.— 5. Кукушкина Л. Н., Дорошенко А. А., Тензина Т. В. Изучение и оценка регенерантов картофеля на устойчивость к фитофторе *in vivo* и *in vitro*.— Использование клеточных технологий в селекции картофеля / Науч. тр. НИИКХ.— М., 1987, с. 52—56.— 6. Куч Дж. Множественные механизмы, скорости реакций и индуцированная устойчивость растений.— В кн.: Борьба с болезнями растений: устойчивость и восприимчивость.— М.: Колос, 1984, с. 250—262.— 7. Меглицкий Л. В., Озерецковская О. Л. Фитоиммунитет.— М.: Наука, 1968.— 8. Методические указания по оценке селекционного материала картофеля на устойчивость к фитофторозу, ризоктониозу, бактериальным болезням и механическим повреждениям.— М.: ВАСХНИЛ, 1980, с. 1—26.— 9. Мусаев Д. и др. Образование фитоалексина в культуре каллусных тканей.— Хлопководство, 1987, № 3, с. 45—47.— 10. Петрова Т. В. Характер действия микроэлементов на вирулентность фитофторы и устойчивость картофеля.— В кн.: Микроэлементы в биосфере Карелии и сопредельных районов.— Петрозаводск, 1985, с. 80—84.— 11. Плешков Б. П. Биохимия с.-х. растений.— М.: Колос, 1980.— 12. Попкова К. В. Фитофтора картофеля.— М.: Колос, 1972.— 13. Сальседо К. Р. Методы создания индуцированной устойчивости пасленовых к фитофторозу.— Автореф. канд. дис.— М., 1988.— 14. Сергеев В. В. Влияние химической иммунизации на устойчивость картофеля к парше обыкновенной.— Защита растений, 1983, вып. 8, с. 58—64.— 15. Тютчев С. Л. Механизмы действия и особенности использования фунгицидов-иммунизаторов.— В кн.: Химический метод защиты растений от грибных болезней.— Л.: Колос, 1985, с. 27—36.— 16. Тютчев С. Л. Механизмы защитных реакций на вирусную инфекцию и пути использования факторов индуцированного иммунитета в совершенствовании средств и методов защиты растений от болезней.— Индуцированная устойчивость с.-х. культур к фитопатогенам / Тез. докл. науч.-практич. семинара.— Ростов-на-Дону, 1989, с. 4—6.— 17. Чалова Л. И., Барамидзе В. Г., Юганова Л. А. и др. Изолирование и характеристика индуктора защитных реакций картофеля из цитоплазматического содержимого возбудителя фитофтороза.— Докл. АН СССР, 1977, т. 235, № 5, с. 1215—1218.— 18. Шмыгля В. А., Лодочкин П. И. Оздоровление картофеля, пораженного вирусом.— М.: ТСХА, 1983.— 19. Arimoto Y., Homma Y.— Sci. Pap. Inst. Phys. a. Chem. Res., 1985, vol. 79, N 4, p. 128—131.— 20. Behnke M.— Theor. a. Appl. Genet., 1979, vol. 55, N 2, p. 69—73.— 21. Buatti M., Marcheschi G., Venturo R. e. a.— Plant Breed, 1987, vol. 98, N 4, p. 346—348.— 22. Kuc J., Shockley G., Kearney K.— Physiol. Plant Pathol., 1975, vol. 7a, p. 195—199.— 23. Kuc J., Richmond S.— Phytopathol., 1977, vol. 67, p. 533—536.— 24. Rohrer F., Fritze-meier K.-H., Scheel D., Hahlbrock K.— Planta, 1987, vol. 170, N 4, p. 556—561.— 25. Storti E., Pelucchini D., Tegli S., Scala A.— Phytopathol. Z., 1988, vol. 121, N 3, p. 275—282.

Статья поступила 24 января 1991 г.