

УДК 632:633.491:632.35

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ PECTOBACTERIUM PHYTOPHTHORUM (APPEL) WALDEE В ПАТОГЕНЕЗЕ ЧЕРНОЙ НОЖКИ КАРТОФЕЛЯ

К. В. ПОПКОВА, Ю. И. ШНЕЙДЕР, ЭЛЬ ХАТИБ РАМАДАН САНАА

(Кафедра фитопатологии)

Черная ножка и мокрые гнили клубней картофеля в последние годы получили широкое распространение в основных зонах возделывания этой важной сельскохозяйственной культуры. Эти бактериозы являются причиной значительных ежегодных потерь урожая (10—15%).

В нашей стране основным фитопатогенным видом, вызывающим черную ножку и мокрые гнили клубней картофеля, является *Pectobacterium phytophthorum* (Appel) Waldee. Показано, что популяции штаммов указанного вида обладают неодинаковой вирулентностью [4, 13].

В последние годы исследователями установлено важное значение скрытой (латентной) формы инфекции, позволяющей фитопатогенным видам бактерий разных родов сохраняться длительное время (свыше года) в тканях внешне здоровых растений и клубней [5, 18, 14].

Однако до последнего времени не были выявлены факторы, определяющие возможность существования латентной инфекции, особенности ее возникновения, развития патологического процесса в зависимости от вирулентности возбудителя и особенностей сорта. В патологическом процессе, вызываемом фитопатогенными видами рода *Pectobacterium*, наибольший интерес представляет еще малоизученный вопрос о латентном состоянии возбудителя болезни.

В этой статье рассматриваются данные, полученные нами при изучении указанных вопросов.

Методы исследований

Работа проводилась на кафедре фитопатологии и станции защиты растений Тимирязевской академии в период 1975—1977 гг.

Фитопатогенные бактерии выделяли в чистую культуру по общепринятой методике [1, 2]. Различные штаммы вида *Pect. phytophthorum* были изолированы из клубней и стеблей картофеля, различающихся по своим сортовым признакам и зонам выращивания в Советском Союзе. Бактерии выращивали на картофельном агаре и специальной среде, рекомендованной для выделения фитопатогенных видов *Pectobacterium*. Среду готовили по методике Фридман [16] в модификации Т. П. Облезовой [7] — картофельный агар+0,005% 2-3-5-трифенилтетразолеумхлорид. Гомогенную суспензию бактерий (0,01 мл) в концентрации 1:100 000 высевали на указанную среду для подсчета патогенных штаммов бактерий рода *Pectobacterium*. Из каждого варианта отсевали по 50 окрашенных колоний для последующего определения их вирулентных свойств (биологическим способом) и видовой принадлежности (серологическим методом).

Вирулентность бактерий определяли по методике и шкалам, принятым в НИИКХ [12]. Опыты проводили с клубнями трех сортов кар-

гофеля: Екатерининский — устойчивый к черной ножке, Лорх — среднепоражаемый, Любимец — неустойчивый.

Используемые штаммы *Pect. phytophthorum* различались по своим вирулентным свойствам: шт. 36 — сильновирулентный, шт. 17 — средневирулентный, шт. 251 — слабовирулентный и шт. 78 — авирулентный. Клубни заражали путем уколов в стolonную часть иглой, погружаемой в суспензию чистой культуры возбудителя (концентрация бактериальной суспензии 10 млн. см³), контрольные — иглой, смоченной стерильной водой. Зараженные и контрольные клубни сохраняли в ноябре — апреле в открытом грунте (в горшках, помещенных в траншеи и слегка закрытых обыкновенной почвой), в теплице (в горшках с почвой) и в лаборатории (в пакетах). За состоянием клубней наблюдали в ноябре — апреле, через каждые 30 дней определяли процент заразившихся клубней.

Через 120 дней из пораженного клубня каждого варианта вырезали для микробиологического анализа кусочки (1×1×1 см) на границе между здоровой и пораженной частями.

Определяли форму, цвет и характер роста колоний всех изучаемых бактерий на различных питательных средах: картофельном агаре (КА), мясо-пептонном агаре (МПА), желатине и картофельных косячках; морфологические признаки бактерий — путем рассматривания препаратов в микроскопе с иммерсионной системой, а у ряда штаммов — методом электронной микроскопии [15].

Изучение культуральных и биохимических свойств штаммов при их идентификации проводили с использованием методик, описанных в литературе [1, 2].

Антигенные свойства штаммов *Pect. phytophthorum*, различающихся по вирулентности, изучали, получая антисыворотки, а затем, испытывая их специфичность капельным методом и реакцией иммунодиффузии — в агаровом геле в чашках Петри. Антибактериальные сыворотки готовили к четырем штаммам *Pect. phytophthorum*: авирулентному, слабо-, средне- и сильновирулентному. Для иммунизации кроликов брали одноклеточные чистые культуры каждого штамма возбудителя.

Из чистых культур одного штамма или их смеси готовили суспензии определенной концентрации, которые вводили кроликам внутривенно. Цикл иммунизации включал 7 инъекций через каждые 1—2 дня. Суспензию вводили в возрастающих дозировках от 0,5 до 5 мл при постоянной концентрации антигенов 10⁹ клеток в 1 мл. На 8-й и 10-й дни после последней инъекции у кроликов брали кровь. Титры определяли с помощью реакции агглютинации по капельному методу Дунина — Поповой на предметных стеклах.

Характер наследования признака вирулентности устанавливали путем выделения от каждого штамма 100 «дочерних» колоний и последующего определения их вирулентности.

Количество бактерий в стеблях и клубнях картофеля выявляли, проводя анализ 1 г зараженной ткани с помощью метода последовательных разведений. Суспензию бактерий в количестве 0,1 мл рассеивали в чашки Петри с картофельным агаром и 0,05% трифенолтетразолом. Через 48 ч учитывали колонии, проводя соответствующий пересчет на 1 г ткани.

Полевой опыт был поставлен в 3 повторностях, расположение 10 вариантов рендомизированное, в варианте по 10 клубней.

Внутривидовая изменчивость по признаку вирулентности

В 1974—1976 гг. из различных образцов пораженных растений получено 2470 изолятов бактерий, в том числе 1915, отнесенных к виду *Pect. phytophthorum* по совокупности морфолого-культуральных,

биохимических и антигенных признаков. Для более детального изучения было отобрано 200 штаммов этого вида, различающихся по вирулентности. По этому признаку они были разделены на 4 группы: авирулентные, слабо-, средне- и сильновирулентные.

Детальное изучение показало, что *Pect. phytophthorum* состоит из популяции штаммов различной вирулентности. При сравнительном испытании уровня вирулентности отдельных штаммов на ломтиках клубней подтвердились литературные данные [13] о том, что при сохранении чистых культур на искусственных питательных средах вирулентные свойства у большинства штаммов остаются неизменными. После двухлетнего культивирования на КА признак вирулентности оставался стабильным и лишь у некоторых штаммов ослаблялся по сравнению с вирулентностью исходного штамма (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Сохранение вирулентности штаммами бактерий после 2-годичного выращивания их на КА

Количество изучаемых штаммов	Вирулентность	Авирулентные		Слабовирулентные		Средневирулентные		Сильновирулентные	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
21	Авирулентный	21	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0
35	Слабовирулентный	2	5,7	33	94,3	0	0,0	0	0,0
42	Средневирулентный	0	0,0	2	4,76	40	95,24	0	0,0
40	Сильновирулентный	0	0,0	0	0,0	0	0,0	40	100

У изученных штаммов не менялись существенно и другие биохимические признаки, а отмеченные изменения укладывались во внутривидовое разнообразие.

Установлено, что вирулентность штамма, используемого для иммунизации, имеет существенное значение в определении титра сыворотки. Наиболее высокий титр получен при иммунизации кролика сильновирулентными штаммами (1 : 32 768), а наименьший — слабовирулентными (1 : 256). Высокий титр отмечен при использовании авирулентного штамма. Наблюдалась специфичность антигенных свойств, связанных с вирулентностью. Так, сыворотка каждого из штаммов была активной в отношении гомологичных антигенов и малоактивной при перекрестных реакциях.

В наших экспериментах подтвердились ранее полученные данные о наличии в пределах вида *Pect. phytophthorum* штаммовой антигенной специфичности и определенных серотипов, которые необходимо учитывать при изготовлении поливалентных сывороток [3, 13]. На основании результатов наших исследований можно рекомендовать получение поливалентных сывороток при использовании для иммунизации штаммов с повышенной вирулентностью.

Закономерности наследования признака вирулентности у отдельных штаммов при культивировании их на искусственных питательных средах изучены у 100 «дочерних» колоний вида *Pect. phytophthorum*.

В потомстве всех штаммов отмечено расщепление по признаку вирулентности: у потомства вирулентных штаммов (251, 17, 36) соотношение форм с различной степенью вирулентности (слабовирулентные, средневирулентные и сильновирулентные) было одинаковым (1 : 1 : 1). Потомство этих штаммов различалось только по проценту авирулентных форм: у авирулентного они составляли 9%, средневирулентного — 5%, а у сильновирулентного отсутствовали.

В потомстве авирулентного штамма были формы всех типов, однако преобладали авирулентные (49,0%) и слабовирулентные (32%);

в потомстве сильновирулентного — соответственно сильновирулентные и т. д. Таким образом, обеспечивалось сохранение высокого уровня вирулентности штаммов при культивировании на питательных средах.

Изменение вирулентности штаммов бактерий при контакте с тканями различных по устойчивости сортов картофеля

Большой практический интерес представляет изучение изменчивости фитопатогенного вида *Pect. phytophthorum* по признаку вирулентности при контакте с тканями сортов картофеля, характеризующихся различной устойчивостью к этому возбудителю. Она в конечном итоге определяет возникновение и течение патологического процесса при

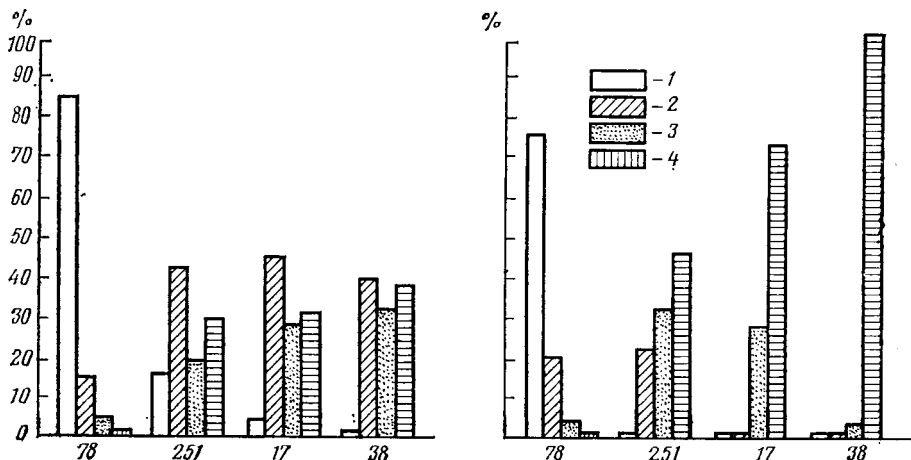


Рис. 1. Соотношения различных по вирулентности форм бактерий в потомстве при развитии штаммов на неустойчивом сорте Любимец (слева) и устойчивом Екатеринбургский.

1 — авирулентный; 2 — слабовирулентный; 3 — средневирулентный; 4 — сильновирулентный.

благоприятных условиях для развития черной ножки и мокрых гнилей клубней картофеля.

Стебли картофеля двух контрастных по устойчивости к черной ножке сортов Любимец (неустойчивый) и Екатеринбургский (устойчивый) заражали штаммами бактерий с различной вирулентностью. После проявления на растениях симптомов болезни была проведена реинокуляция бактерий (по 125—150 колоний каждого штамма), из них у 50 изолятов изучена вирулентность путем заражения ломтиков клубней.

Исследования показали, что в результате взаимодействия патогена и растения-хозяина происходило расщепление потомства по вирулентности, у всех штаммов появлялись формы, отличающиеся от исходных по данному признаку (рис. 1 и 2).

При этом устойчивость сорта оказывала определяющее влияние на характер расщепления и формирование популяции возбудителя. Прежде всего следует отметить, что в потомстве авирулентного штамма (№ 78) появлялись вирулентные формы. Количество слабо- и средневирулентных форм как на неустойчивом сорте Любимец, так и на устойчивом Екатеринбургский было почти одинаковым. Преобладали по количеству авирулентные формы, затем шли слабовирулентные и очень мало было средневирулентных.

Судя по соотношению авирулентных и вирулентных форм, накопление последних происходило медленно. Поэтому маловероятна воз-

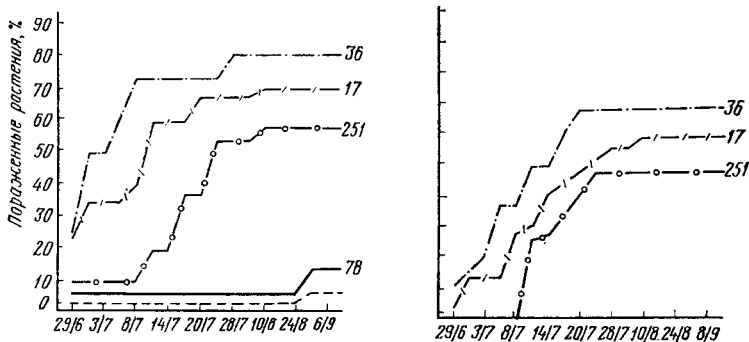


Рис. 2. Проявление симптомов черной ножки на стеблях сортов Любимец (слева) и Гатчинский в период вегетации (1978 г.).

возможность развития патологического процесса в течение одного вегетационного периода на стеблях картофеля при проникновении в них авирулентных форм бактерий. Однако скорость их проникновения и распространения по растению обеспечивала циркуляцию бактерий в направлении клубень — стебли — новые клубни и сохранение возбудителя болезни длительное время в скрытой (латентной) форме. Со временем в результате размножения бактерий и постепенного накопления вирулентных форм этот процесс может привести к возникновению черной ножки на растениях в полевых условиях и массовому развитию мокрых гнилей клубней в период хранения.

Таким образом, нами установлено, что при накоплении и развитии авирулентных штаммов в тканях картофеля появляются вирулентные формы. Количество таких форм со слабой степенью вирулентности у устойчивого сорта равнялось 20%, у неустойчивого — 14%. Средневирулентные формы у обоих сортов составляли 4%. Преобладающая часть бактерий в потомстве авирулентного штамма не обладала вирулентностью.

В случаях вирулентного исходного штамма отмечалось накопление более вирулентных форм бактерий и, что особенно важно, направляющее воздействие на характер этого процесса устойчивости сорта. У сортов с повышенной устойчивостью быстрее накапливались формы с повышенной вирулентностью. В тканях неустойчивого сорта возбудитель черной ножки был представлен популяцией, включающей различные по вирулентности формы примерно в равном количестве при незначительном числе форм авирулентных.

В тканях устойчивого сорта преимущественно накапливались штаммы с повышенной вирулентностью независимо от ее уровня у исходного штамма. При этом степень вирулентности возрастала. У сорта устойчивого отбор высоковирулентных форм возбудителя черной ножки идет направленно и ускоренными темпами, в результате чего вирулентность штамма в процессе развития в тканях указанных растений постепенно нарастает. Очевидно, этим объясняется наблюдаемая отдельными исследователями приуроченность высоковирулентных форм возбудителя черной ножки к устойчивым сортам картофеля [7, 13].

Роль вирулентности возбудителя в патогенезе черной ножки

При изучении взаимоотношений, определяющих особенности воздействия патогена на растение-хозяина, установлено, что определяющее значение в патогенезе черной ножки имеют вирулентность возбудителя и устойчивость сорта. Можно было предположить, что актив-

ность этого процесса связана со скоростью распространения фитопатогенных бактерий по тканям растения и интенсивностью их размножения.

Исследование проводили путем заражения растений неустойчивого к черной ножке сорта картофеля Любимец и устойчивого — Гатчинский. В стебель вводили водную суспензию определенной концентрации и нагрузки двух разных по вирулентности штаммов бактерий по описанной выше методике.

В течение первых четырех часов бактерии распространялись по всем исследуемым зонам. Аналогичные данные были ранее получены

И. И. Рагозиной [8] при заражении этих сортов высоковирулентным штаммом 34 Pect. phytophthogum.

В данном случае, вероятно, имело место «пассивное» механическое передвижение бактерий вместе с током пластических веществ в сосудах. Характер распространения бактерий в стебле в первые 4 ч у вирулентных и авирулентных штаммов был одинаковым. Через 8 ч проявилось четкое различие в распространении бактерий по зонам стебля в зависимости от вирулентных свойств штамма и устойчивости

сорта. Во всех зонах стебля неустойчивого сорта Любимец присутствовало больше бактерий, чем в соответствующих зонах стебля устойчивого сорта Гатчинский. В этот период процессы распространения и размножения бактерий шли одновременно. Поэтому под «накоплением бактерий» мы подразумеваем как их перемещение в зонах, так и увеличение в результате размножения.

В том и другом сорте вирулентный и авирулентный штаммы распространялись по тканям с одинаковой скоростью, однако отмечалось постепенное снижение численности бактерий авирулентного штамма. Можно предполагать, что распространение бактерий авирулентного штамма по стеблю картофеля в конечном итоге приводит к проникновению его в клубни нового урожая без проявления видимых симптомов болезни, т. е. к возникновению скрытой (латентной) формы поражения. В то же время, количество бактерий в тканях определяется вирулентностью штамма: чем она выше, тем больше концентрация бактерий в тканях растения. Следует отметить, что у неустойчивого сорта Любимец количество бактерий авирулентного штамма постоянно выше, чем у устойчивого сорта, поэтому в последний они легче проникают и лучше сохраняются в нем.

Накопление бактерий вирулентных штаммов четко коррелировало со степенью вирулентности возбудителя и устойчивостью сорта. При развитии патологического процесса вирулентность штамма проявляется прежде всего в интенсивности размножения и накопления бактерий в тканях. Если процесс распространения бактерий не взаимосвязан с устойчивостью сорта, то процесс размножения в значительной степени зависит от него. Проведенные исследования показали, что защитная реакция устойчивого сорта состоит в подавлении размножения бактерий. Этот процесс более четко выражен у штамма слабовирулентного и в меньшей степени — у высоковирулентного.

Характер накопления бактерий в стеблях картофеля определяет величину инкубационного периода и связан с тремя факторами: вирулентностью штамма, устойчивостью сорта и условиями окружающей

Т а б л и ц а 2

Инкубационный период (сут)
различных штаммов бактерий
на неодинаковых по устойчивости сортах
(лабораторные условия)

Штамм	Любимец	Гатчинский
78 — авирулентный	—	—
251 — слабовирулентный	6—7	8—9
17 — средневирulentный	4—5	6—7
36 — сильновирulentный	1—2	3—4

среды. Установлено, что при более высокой вирулентности штамма короче инкубационный период (табл. 2).

Устойчивость сорта проявляется в удлинении инкубационного периода при сохранении общей закономерности: у высоковирулентного штамма инкубационный период в стеблях устойчивого сорта короче, чем у штамма маловирулентного.

Особенности развития черной ножки в полевых условиях и роль вирулентности возбудителя при латентной форме зараженности

Зависимость развития черной ножки от вирулентности штамма и устойчивости сорта проявлялась в разных сроках появления больных растений в течение периода вегетации и неодинаковом числе пораженных растений (табл. 3 и 4). По мере нарастания степени вирулентности соответственно увеличивалось число пораженных растений как у неустойчивого, так и у устойчивого сортов. Максимальное поражение наблюдалось при использовании в качестве инокулюма высоковирулентного штамма 36.

Т а б л и ц а 3

Накопление бактерий различной степени вирулентности в клубнях сортов картофеля с различной восприимчивостью к черной ножке (открытый грунт)

Штамм при заражении	Сорт	Изолировано бактерий				
		всего, тыс.	в т. ч., %			
			авирулентных	слабовирулентных	средневирулентных	сильновирулентных
78 — авирулентный	Екатерининский	8,4	74,0	26,0	0	0
	Лорх	11,3	92,0	8	0	0
	Любимец	12,4	68,0	32,0	0	0
251 — слабовирулентный	Екатерининский	12,2	28,0	48,0	2,0	4,0
	Лорх	57,0	24,0	42,0	28,0	6,0
	Любимец	187,0	20,0	44,0	26,0	10,0
17 — средневирулентный	Екатерининский	16,7	30,0	34,0	12,0	24,0
	Лорх	32,0	38,0	38,0	16,0	8,0
	Любимец	91,0	50,0	50,0	0	0
36 — сильновирулентный	Екатерининский	7,9	24,0	70,0	6,0	0
	Лорх	4,3	50,0	50,0	0	0
	Любимец	2,5	52,0	48,0	0	0

Устойчивость сорта к возбудителю черной ножки проявляется наиболее действенно в отношении слабовирулентного штамма. Известно, что защитные реакции в клетках устойчивого сорта осуществляются путем инактивации ферментов (протеолитических и пектолитических), ответственных за вирулентность; при этом процесс размножения слабовирулентного штамма в его тканях существенно замедляется и может протекать бессимптомно.

У устойчивого сорта наблюдается меньше пораженных растений и при их контакте со средневирулентными и сильновирулентными штаммами возбудителя. Разница по количеству пораженных растений между сортами различной устойчивости была наиболее существенной в начальный период развития бактерий в тканях растений. Это согласуется с литературными данными [8, 9, 10] о важной роли на ранних этапах возникновения и развития патологического процесса протеолитических ферментов и особенностей белкового субстрата при заражении картофеля черной ножкой. Исследователями показано, что в тканях сортов, различающихся по устойчивости к черной ножке, активность экзопротеиназы в самые ранние сроки после заражения изменяется по-разному: в тканях восприимчивых сортов она повышается, а у

устойчивого — снижается. В свойствах белков устойчивого и восприимчивого сортов установлены существенные различия, которые обуславливаются разной активностью протеиназ в их тканях. Наблюдается также корреляция между вирулентностью патогена и активностью его протеиназ.

Защитные реакции в растении-хозяине направлены на инактивацию ферментативных систем бактерий. При этом в тканях устойчивых сортов происходит направленный отбор форм бактерий, обладающих повышенной ферментативной активностью в отношении этих растений. В результате расщепления потомства по признаку вирулентности в тканях устойчивого сорта накапливаются формы с разной степенью

вирулентности, в том числе и со слабой. Лишь на более поздних этапах в результате направленного отбора формируется более однородная по вирулентности популяция возбудителя и защитные реакции растений ослабевают.

В начале развития патологического процесса симптомы поражения черной ножкой раньше проявляются на растениях неустойчивого сорта, где в накоплении инфекции принимают участие все вирулентные формы.

Таким образом, степень вирулентности штамма играет существенную роль в возникновении и активном развитии патологического процесса у картофеля. При низком уровне вирулентности возбудителя

Таблица 4
Накопление бактерий различной степени вирулентности при введении в клубень авирулентного штамма 78 (лабораторные условия)

Сорт	Изолировано бактерий				
	всего, тыс.	в т. ч., %			
		авирулентных	слабовирулентных	средневирулентных	сильновирулентных
Екатерининский	1,2	100,0	0	0	0
Лорх	1,9	100,0	0	0	0
Любимец	2,4	92,0	8,0	0	0

патологический процесс на неустойчивом сорте развивается по типу патогенеза на устойчивом сорте. Аналогичный уровень вирулентности на устойчивом сорте может привести к бессимптомному (латентному) течению болезни.

В наших исследованиях по выявлению связи между проявлением болезни в поле и наличием латентной зараженности в клубнях нового урожая установлено, что при сильном ее проявлении в поле в вегетационный период латентная инфекция в клубнях меньше. Авирулентный штамм во время вегетационного периода вызывал лишь в единичных случаях появление симптомов развития черной ножки, но в этом случае была выше скрытая зараженность клубней, особенно на неустойчивом сорте Любимец (23,8 против 12,0% на сорте Гатчинский). Таким образом доказано, что в развитии латентной зараженности важную роль играют вирулентные свойства возбудителя черной ножки.

Роль латентной зараженности клубней в развитии черной ножки

Исследования были выполнены при различных режимах влажности и температуры. Клубни неодинаковых по устойчивости сортов, инфицированные разными по вирулентности штаммами, помещали на хранение в теплицу (при 18—22°C), лабораторию (18—20°C) и открытый грунт.

Развитие патологического процесса в клубнях и их разрушение определялось взаимодействием трех основных факторов: уровнем вирулентности штамма, устойчивостью сорта и внешними условиями. При

этом ведущая роль принадлежала вирулентности. Во всех изучаемых условиях у каждого сорта процент загнивших клубней был наибольшим при использовании сильновирулентного штамма. На втором месте по влиянию на процесс разложения клубней стояла степень устойчивости сорта. Так, во всех вариантах процент загнивших клубней оказался у устойчивого сорта Екатерининский меньше, чем у других сортов.

Степень загнивания клубней в большой мере зависела от условий среды, изменявшихся во время проведения опыта. Однако во всех случаях, как отмечалось выше, поражение клубней было наибольшим при использовании для заражения сильновирулентного штамма у неустойчивых сортов.

Наиболее благоприятно для развития гнилей клубней в наших исследованиях складывались условия в открытом грунте.

При изучении жизнеспособности фитопатогенных бактерий было установлено, что после пяти месяцев хранения в клубнях сорта Любимец, зараженных авирулентным, слабовирулентным и средневирулентным штаммами, их было больше, чем при инфицировании этими же штаммами сорта Екатерининский; сорт Лорх занимал промежуточное положение. Сильные штаммы, напротив, давали больше колоний при изолировании из клубней сортов Лорх и Екатерининский, чем из клубней сорта Любимец. Следовательно, при инфицировании восприимчивого сорта сильным штаммом жизнеспособность фитопатогенных бактерий была меньше, чем при заражении устойчивых сортов. Это объясняется более интенсивным процессом разрушения тканей клубней неустойчивых сортов, что ограничивает дальнейший процесс накопления бактерий.

В период сохранения инфекции у всех штаммов наблюдалось в потомстве появление форм, отличающихся по вирулентности от исходной. В результате этого штаммы представляли собой популяцию, вирулентность которой могла быть выше или ниже исходной.

Авирулентный штамм дает расщепление, в результате чего в нашем опыте в теплице и открытом грунте появились слабовирулентные формы на клубнях всех сортов, в лабораторных условиях появление слабовирулентных форм отмечено только у сорта Любимец. Слабовирулентный штамм в период хранения клубней расщеплялся по признаку вирулентности с появлением средневирулентных форм. Сильновирулентный штамм во всех условиях на всех сортах давал формы с пониженной вирулентностью. В лабораторных условиях на сорте Екатерининский не выявлено вирулентных форм.

Проведенные исследования позволили установить, что в процессе размножения вида *Pect. phytophthorum* в клубнях всех изучаемых сортов происходит расщепление его по признаку вирулентности. Этот процесс наиболее отчетливо проявился на клубнях, сохранявшихся в открытом грунте. Изменившихся по признаку вирулентности форм в этом случае было больше, чем при хранении клубней в теплице и в условиях лаборатории.

Особый интерес представляют изменения, происходившие с авирулентным штаммом (табл. 3).

В условиях открытого грунта авирулентный штамм в клубнях всех сортов давал в потомстве слабовирулентные формы (от 8 до 32%). Накопление бактерий авирулентного штамма находилось в прямой зависимости от степени устойчивости клубней, а именно — наименьшее количество бактерий отмечалось в клубнях устойчивого сорта, наибольшее — в клубнях неустойчивого сорта. Накопление слабовирулентных форм в потомстве авирулентного штамма шло интенсивнее в клубнях неустойчивого сорта Любимец. Это объясняется, по всей вероятности, условиями, определяющими характер взаимоотношений между растениями и бактериями. Исходя из существующих мнений о природе па-

тогенности *Pect. phytophthorum* [6, 11], можно предположить что в клетках клубней устойчивого сорта происходит инактивация ферментов, ответственных за вирулентность. В то же время в клубнях неустойчивого сорта при отсутствии защитных реакций бактерии находятся в благоприятных для их роста и развития условиях. Таким образом, в клубнях неустойчивого сорта наличие авирулентного штамма приводит к накоплению вирулентных форм, что в конечном итоге обуславливает развитие патологического процесса.

Эти данные могут быть использованы для объяснения существования латентной формы черной ножки. Ее наличие в клубнях картофеля неоднократно отмечалось исследователями [7, 14]. Однако до сих пор не было установлено связи между авирулентным состоянием бактерий и патогенными формами. Полученные нами данные позволяют предположить, что латентная форма болезни возникает следующим путем. Проникающие в клубни на ранних этапах их формирования авирулентные штаммы бактерий локализуются в столонной части. При соответствующих условиях (температура, влажность, сортовые особенности) начинается активный процесс накопления бактерий, в том числе и слабо-вирулентных форм. Чем благоприятнее условия, тем быстрее идет накопление бактерий. В клубнях неустойчивого сорта латентная форма может в период зимнего хранения вызвать активное развитие патологического процесса, особенно при повышенной влажности. Поэтому в клубнях неустойчивых сортов продолжительность существования латентной формы будет определяться наличием условий, приводящих к активному накоплению фитопатогенных бактерий. В клубнях устойчивых сортов этот процесс будет протекать гораздо медленнее, поэтому латентная форма может не проявиться весьма долго. Таким образом, в клубнях устойчивого сорта латентная форма может быть одним из основных способов сохранения вида *Pect. phytophthorum* и близких к нему видов. Подтверждением сказанного выше являются результаты аналогичных опытов в условиях лаборатории (табл. 4). Здесь в клубнях устойчивого сорта не наблюдалось появления вирулентных форм, а в клубнях неустойчивого сорта (Любимец) отмечалось очень незначительное их количество.

Таким образом, характер патогенеза при черной ножке и мокрых гнилях, в том числе и существование латентной формы, определялось в основном тремя факторами: вирулентностью возбудителя, условиями внешней среды и особенностями сорта. Взаимодействие этих факторов обуславливало как эпифитотийное развитие черной ножки, так и латентную форму существования возбудителя болезни.

Выводы

1. Установлено наличие внутривидовой изменчивости бактерий вида *Pect. phytophthorum* по признаку вирулентности. При контакте бактерий с тканями растения-хозяина происходит обособление штаммов с разным уровнем вирулентности.

2. Отмечена приуроченность сильновирулентных штаммов к сортам, характеризующимся повышенной устойчивостью к черной ножке. Не наблюдается зависимости между вирулентностью штаммов и их экологическим происхождением.

Вирулентные штаммы не различаются между собой по морфолого-культуральным и биохимическим свойствам.

3. Вирулентность штамма, используемого для иммунизации, имеет существенное значение для определения титра сыворотки. Наиболее высокий титр получен при использовании штамма с сильной вирулентностью. Наблюдается специфичность антигенных свойств, связанных с вирулентностью.

4. При изучении потомства отдельных колоний *Pect. phytophthorum*, выращенных из одной клетки, установлены: расщепление по признаку вирулентности, появление форм с различной вирулентностью, в том числе и авирулентных; длительное существование авирулентных форм бактерий в стеблях картофеля.

5. Вирулентность штаммов бактерий зависит от сорта картофеля. Вирулентность штамма в процессе развития в тканях устойчивого сорта постепенно нарастает.

6. От вирулентности штамма в значительной мере зависит распространение скрытой зараженности — латентной формы *Pect. phytophthorum*. Слабовирулентные штаммы чаще приводят к развитию латентной формы, чем штаммы сильновирулентные. Опасность распространения в клубнях скрытой формы зараженности больше при развитии маловирулентного штамма на устойчивых сортах картофеля.

7. В период зимнего хранения в клубнях, зараженных *Pect. phytophthorum*, происходит расщепление потомства по признаку вирулентности.

Авирулентный штамм дает в потомстве формы слабовирулентные на клубнях всех сортов. Особенно активно идет процесс накопления слабовирулентных форм в клубнях неустойчивого сорта в условиях повышенной влажности и пониженной температуры (1—5°C).

8. В клубнях неустойчивого сорта латентная форма зараженности в период зимнего хранения может вызвать активное развитие патологического процесса, особенно в условиях повышенной влажности. В клубнях устойчивого сорта этот процесс будет протекать значительно медленнее.

9. Характер патогенеза при черной ножке и мокрых гнилях, в том числе и существование латентной формы, определяется в основном соотношением вирулентности возбудителя, условиями внешней среды и особенностями сорта. Взаимодействие этих факторов может обуславливать как эпифитотийное развитие черной ножки, так и латентную форму существования возбудителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бактериальные болезни растений. Под ред. В. П. Израильского. М., «Сельхозгиз», 1960. — 2. Бельтюкова К. И. и др. Методы исследования возбудителей бактериальных болезней растений. Киев, «Наукова думка», 1968. — 3. Боярский Б. Г., Озерова Л. В., Шнейдер Ю. И. Методы получения и применения сывороток, специфичных к штаммам фитопатогенных бактерий — возбудителей бактериозов картофеля. «Изв. ТСХА», 1966, вып. 6, с. 168—178. — 4. Воронкевич И. В. Выживаемость фитопатогенных бактерий в природе. М., «Наука», 1974. — 5. Герасимова Т. П. Фитопатогенные бактерии в здоровых клубнях картофеля. В кн.: Защита растений. М., 1969, с. 91—95. — 6. Горленко М. В. Болезни растений и внешняя среда. М., Изд-во Моск. о-ва испыт. природы, 1950. — 7. Облезова Т. П. Изучение возбудителей черной ножки на разных сортах картофеля. Автореф. канд. дис. М., 1969. — 8. Рагозина И. И. Экзоферменты *Pectobacterium phytophthorum* (Arpel) и их роль в патогенезе черной ножки. Автореф. канд. дис. М., 1970. —

9. Рагозина И. И., Шнейдер Ю. И., Липсиц Д. В. Пектолитические ферменты в культуре *Pect. phytophthorum* и в пораженных ею тканях картофеля. «Докл. АН СССР». Сер. биол., 1969, т. 188, № 4, с. 937—939. — 10. Рагозина И. И., Шнейдер Ю. И., Липсиц Д. В. Активность протеиназ в пораженных «черной ножкой» (*Pect. phytophthorum*) тканях картофеля. «Докл. АН СССР», 1969, т. 184, № 1, с. 242—245. — 11. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенова В. А. Биохимия и физиология иммунитета растений. Изд. 3-е, М., «Высшая школа», 1975. — 12. Шнейдер Ю. И. Оценка устойчивости сортов картофеля. «Защита растений от вредителей и болезней», 1965, № 12, с. 22—23. — 13. Шнейдер Ю. И. Бактериозы картофеля, вызываемые бактериями родов *Pectobacterium*, *Pseudomonas* и *Bacillus*. Автореф. докт. дис. М., 1972. — 14. Шнейдер Ю. И., Герасимова Т. П. О сохранении возбудителя «черной ножки» в клубнях картофеля. «Докл. ВАСХНИЛ», 1965, вып. 8, с. 22—26. — 15. Шнейдер Ю. И.,

Трофимец Л. Н. Диагностика и систематика некоторых фитопатогенных бактерий. «С.-х. биология», 1969, № 1,

с. 63—69. — 16. Friedman B. A. "Phytopathology", 1964, vol. 54, N 4, p. 328—333.

Статья поступила 7 июля 1978 г.

SUMMARY

Factors allowing the latent infection of the wire stem of potatoes to exist and causing the peculiarities of its coming into existence were studied. It has been found that the nature of pathogenesis in the wire stem of potatoes and in the soft rot, including the existence of the latent form, is determined mainly by three factors: the virulence of the causative agent, the environmental conditions and the specific features of the variety. The interaction of these factors may cause both the epiphytotic development of the wire stem and the latent form of the disease agent.