

УДК 632.3.01/.09:633.491

## ВИРУЛЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЧЕРНОЙ НОЖКИ И МОКРЫХ ГНИЛЕЙ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ — И УСТОЙЧИВОСТЬ ЕГО К БАКТЕРИОЗАМ

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

(Кафедра фитопатологии, Научно-исследовательский институт  
картофельного хозяйства)

Бактериозы картофеля — черная ножка, кольцевая, бурая и мокрые гнили клубней — являются причиной гибели 10—15 % его урожая. Данные заболевания возникают преимущественно в период хранения клубней и связаны с паразитической деятельностью фитопатогенных и полусапрофитных видов бактерий, относящихся к родам *Pectobacterium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* и *Bacillus*. Главную роль при этом играют бактерии рода *Pectobacterium*.

В последние годы исследования, проведенные в Тимирязевской академии и Научно-исследовательском институте картофельного хозяйства, показали, что развитию мокрых гнилей способствует латентная (скрытая) форма инфекции [6, 13], позволяющая фитопатогенным бактериям разных видов сохраняться длительное время (свыше года) в тканях внешне здоровых клубней [1, 13]. Латентная форма зараженности существенно осложняет проведение защитных мероприятий.

В настоящее время выявлены сорта картофеля, устойчивые к бактериозам [11, 12]. Однако накапливаются факты, свидетельствующие о потере устойчивости их в различных экологических зонах страны. Поэтому выявление факторов, определяющих состояние устойчивости картофеля к бактериозам, имеет большое практическое значение.

Среди причин, влияющих на данный признак, важную роль может играть вирулентность фитопатогенных бактерий. Установлено наличие внутривидовой изменчивости бактерий вида *Pect. phytophthogum* [6, 13] и других видов возбудителей бактериальных гнилей. Доказана взаимосвязь между устойчивостью сорта и вирулентностью возбудителя. Однако до последнего времени не были выявлены механизмы, определяющие характер проявления устойчивости в зависимости от вирулентных свойств возбудителей бактериозов. В этой статье рассматриваются данные, полученные нами при изучении указанных вопросов.

### Методы исследований

Опыты проводили в 1975—1979 гг. на кафедре фитопатологии и Станции защиты растений Тимирязевской академии, а также в НИИКХ. Вирулентность штаммов фитопатогенных бактерий определяли путем искусственных заражений неустойчивого к черной ножке сорта картофеля Любимец и устойчивого сорта Гатчинский водными суспензиями чистых культур возбудителей. Растения выращивали в теплице в горшках со стерильной почвой (песок и чернозем 1:1) при температуре 20—24°. Через месяц после их посадки в каждый стебель на высоте 5 см от поверхности почвы шприцем вводили 0,1 см<sup>3</sup> бактериальной суспензии (концентрация по бактериальному стандарту мутности

$10^7$  клеток в 1 мл). К местам заражения прикладывали вату, смоченную в стерильной воде, и завязывали полиэтиленом. В контрольные растения вводили стерильную воду. Каждым штаммом заражали по 10 растений. Степень вирулентности отдельных штаммов устанавливали по развитию болезни, которое оценивали по 4-балльной шкале [11]. Для того чтобы узнать количество бактерий в инфицированных стеблях, анализировали 1 г зараженной ткани методом последовательных разведений. Суспензию бактерий в количестве 0,1 мл рассеивали в чашки Петри с картофельным агаром и 0,05 % трифенолтетразолом. Через 48 ч учитывали выросшие колонии и производили пересчет на 1 г ткани.

Воздействие фитопатогенных бактерий на клубень определяли путем искусственных заражений 4 штаммами: штамм 78 — авирулентный, штамм 251 — слабовирулентный, штамм 17 — средневирулентный и штамм 36 — сильновирулентный. Для этого взяли клубни сортов картофеля, характеризующихся неодинаковой устойчивостью к черной ножке: Екатерининский с повышенной устойчивостью, Любимец восприимчивый. Вирулентность штаммов устанавливали по методике и шкалам НИИКХ [12].

Опытные клубни заражали путем уколов в столонную часть иглой, погружаемой в чистую культуру возбудителя (концентрация бактериальной суспензии  $10$  млн/см<sup>3</sup>), контрольные — иглой, смоченной в стерильной воде. Клубни в течение 6 мес (ноябрь — апрель) сохраняли в лабораторных условиях (в пакетах), в теплице (в горшках со стерильной почвой) и в открытом грунте (в горшках, помещенных в траншеи и слегка закрытых обыкновенной почвой). Через каждые 30 дней после заражения определяли процент заразившихся клубней.

### Результаты исследований

Штаммы фитопатогенного вида *Pect. phytophthorum* и близких к нему видов *Pect. agoideae* и *Pect. carotovorum* характеризуются неодинаковой вирулентностью [6, 12]. При этом было установлено, что при культивировании и сохранении чистых культур этих видов бактерий на искусственных питательных средах вирулентные свойства отдельных штаммов остаются в течение длительного времени стабильными или изменяются в незначительной степени. Так, у высоковирулентного штамма 34 *Pect. phytophthorum*, выделенного в 1962 г., вирулентные свойства, а также морфолого-культуральные и биохимические признаки сохраняются неизменными в течение 18 лет.

При изучении патогенеза черной ножки и мокрых гнилей клубней [6] отмечено, что возбудитель болезни характеризуется изменчивостью вирулентных свойств, которая возникает при контакте бактерий с тканями картофеля сортов неодинаковой устойчивости к определенному патогену.

В наших исследованиях в процессе накопления и размножения бактерий в стеблях четко прослеживается взаимосвязь двух факторов: вирулентности штаммов возбудителя и устойчивости сортов. Указанные отношения между растением-хозяином и патогеном определяют характер накопления и изменения в популяции возбудителя в растении. При этом могут появиться формы, отличающиеся от исходных по признаку вирулентности. Наблюдается прямая связь между уровнем вирулентности штаммов и интенсивностью накопления бактерий в стеблях (табл. 1, рис. 1). При этом устойчивость сорта оказывает определяющее влияние на формирование популяции возбудителя.

Бактерии авирулентного штамма в стеблях не накапливаются, их число даже постепенно уменьшается. Это, по всей вероятности, объясняется неспособностью данных форм получать от растения необходимое

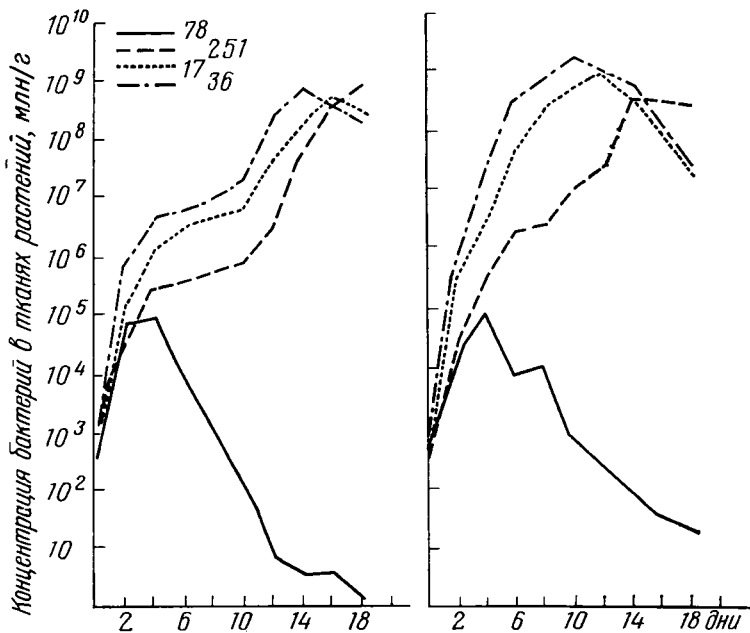


Рис. 1. Накопление различных по вирулентности штаммов *Pect. phytophthorum* в тканях неустойчивого сорта Любимец (слева) и устойчивого сорта Гатчинский.

питание. Частичное выживание авирулентного штамма, очевидно, связано с появлением форм, отличающихся от исходных по признаку вирулентности. Незначительное количество этих бактерий не приводит к возникновению явного патологического процесса, но их наличие в латентной форме в стеблях в последующем может привести к проникновению бактерий в клубни нового урожая. Различий в поведении авирулентного штамма в стеблях сортов, различных по устойчивости к черной ножке и мокрым гнилям клубней, не отмечено.

Исходя из существующих взглядов на природу патогенности [2, 3, 4] можно предположить, что бактерии авирулентного штамма не индуцируют те защитные реакции, которые осуществляются в клетках устойчивых к патогену растений в ответ на заражение. Наиболее вероятными в защитных реакциях растений картофеля на внедрение *Pect. phytophthorum* являются процессы, приводящие к инактивации ферментов, ответственных за вирулентность. Это, в частности, было установлено при изучении механизма воздействия фитопатогенного вида *Pect. phytophthorum* на ткани сортов картофеля, различающихся

Таблица 1

Накопление бактерий в начале заражения (числитель) и через 12 дней (знаменатель) в стеблях различных по устойчивости сортов в зависимости от вирулентности штамма

| Сорт       | Штамм           |                 |                 |                 |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|            | 78              | 251             | 17              | 36              |
| Любимец    | $57 \cdot 10^2$ | $42 \cdot 10^2$ | $35 \cdot 10^2$ | $39 \cdot 10^2$ |
|            | $29 \cdot 10^2$ | $21 \cdot 10^7$ | $82 \cdot 10^8$ | $85 \cdot 10^8$ |
| Гатчинский | $66 \cdot 10^2$ | $51 \cdot 10^2$ | $32 \cdot 10^2$ | $46 \cdot 10^2$ |
|            | $68 \cdot 10^4$ | $43 \cdot 10^6$ | $57 \cdot 10^7$ | $33 \cdot 10^8$ |

по устойчивости к черной ножке [7—9]. Показано, что активность экзопроотеиназ *Pect. phytophthorum* в самые ранние сроки после заражения в тканях восприимчивых сортов повышается, а у устойчивых — снижается. Обнаружены также существенные различия между белками, выделенными из клубней устойчивых и восприимчивых к черной ножке сортов картофеля, по отношению к протеолитическим ферментам *Pect. phytophthorum*, а также корреляционная связь между патогенностью паразита и активностью его протеиназ.

Штаммы бактерий накапливаются в стеблях в прямой зависимости от степени их вирулентности. Наименее активно этот процесс происходил у слабовирулентного штамма 251, наиболее активно — у сильновирулентного штамма 36 (табл. 1).

Устойчивость сорта оказывает определяющее влияние на формирование популяции возбудителя. Нами установлено, что в стеблях устойчивого сорта в отличие от неустойчивого накопление бактерий идет медленнее. Наиболее четко роль устойчивости сорта проявилась в варианте, где для заражения был использован сильновирулентный штамм 36: на 12-й день в стеблях растений устойчивого сорта Гатчинский концентрация бактерии была  $33 \cdot 10^8$ , а у неустойчивого сорта Любимец —  $85 \cdot 10^8$ . С течением времени эта разница постепенно сократилась. Отбор высоковирулентных форм возбудителя черной ножки идет направленно, и вирулентность штаммов возрастает. Происходит стабилизирующий отбор по признаку вирулентности под влиянием сорта. В тканях устойчивого сорта накапливаются штаммы с повышенной вирулентностью. Нарастание числа высоковирулентных бактерий достигает такого уровня, при котором защитные реакции растения-хозяина уже не могут обезвреживать фитопатогенные бактерии. В таких условиях высоковирулентный штамм обеспечивает развитие патологического процесса и в тканях устойчивого сорта. Этим объясняется приуроченность высоковирулентных форм возбудителя черной ножки к устойчивым сортам.

Защитные реакции у устойчивого сорта проявляются в замедленном накоплении бактерий. При этом чем выше уровень вирулентности у патогена, тем менее активны защитные реакции растения-хозяина. Последние наиболее сильны на начальных этапах патологического процесса — в первые 2—4 дня после заражения.

Наличие у бактерий признака вирулентности в широком диапазоне — от слабо- до сильновирулентного — обеспечивает развитие патологического процесса в сортах с разной степенью устойчивости. Замедленное накопление бактерий наблюдается в случае пониженной вирулентности штамма и при активной защитной реакции устойчивого сорта.

Продолжительность инкубационного периода определяется вирулентностью штаммов и устойчивостью сорта. Так, у сорта Любимец продолжительность инкубационного периода слабо-, средне- и сильновирулентных штаммов составила соответственно 12—13; 10—11 и 8—9 сут, а у сорта Гатчинский — 16—17; 14—15 и 11—12 сут.

Чем выше вирулентность штамма, тем короче инкубационный период. Замедленное накопление бактерий в тканях растений, несомненно, приводит к удлинению инкубационного периода, особенно при воздействии слабовирулентного штамма на устойчивое растение. Однако и в этом случае, как показывают наши данные, накопление бактерий происходит достаточно быстро, в результате чего патологический процесс развивается в стеблях как неустойчивого, так и устойчивого сортов.

Таким образом, основным фактором, определяющим возможность размножения бактерий в тканях стеблей картофеля, является вирулентность штамма. Устойчивость сорта может влиять лишь на скорость

размножения бактерий, но не в силах полностью подавить этот процесс.

Известно, что состояние устойчивости сорта может существенно меняться в зависимости от количества и качества инокулюма. В связи с этим важное значение приобретает изучение процессов, связанных с существованием и накоплением вирулентных форм бактерий в устойчивом сорте. В развитии бактериальных болезней картофеля главным источником инфекции являются зараженные посадочные клубни. Поэтому на характер развития болезни в поле может влиять количество бактерий, участвующих в патологическом процессе в материнском клубне.

С целью исследования процесса накопления вирулентных форм бактерий в клубнях были поставлены специальные опыты с заражением клубней разных по устойчивости сортов разными по вирулентности штаммами *Pect. phytophthorum*. Из устойчивых был взят сорт Екатеринбургский, из неустойчивых — Любимец. Зараженные клубни хранили в пакетах в условиях лаборатории, в теплице и в открытом грунте.

Установлено, что процесс разрушения клубней определяется взаимодействием трех основных факторов — уровня вирулентности штамма, устойчивости сорта и условий, в которых развивается патологический процесс. При этом ведущая роль принадлежит вирулентности штамма. Так, во всех изучаемых условиях на клубнях всех сортов наибольший процент загнивших клубней был отмечен в варианте с сильновирулентным штаммом (табл. 2). Но при заражении одним и тем же штаммом устойчивый сорт Екатеринбургский имел меньший процент загнивших клубней, чем Любимец (рис. 2).

Условия, в которых находились клубни на протяжении периода исследования, существенно влияли на процесс разрушения клубней, однако не в такой степени, чтобы изменить отмеченные выше тенденции. И в лабораторных условиях, и в открытом грунте при заражении силь-

Т а б л и ц а 2

Пораженность клубней мокрой гнилью (% к контролю)  
при разных условиях хранения в течение 4 мес

| Штамм             | Екатерининский |             |              |              | Любимец       |             |              |              |
|-------------------|----------------|-------------|--------------|--------------|---------------|-------------|--------------|--------------|
|                   | здо-<br>ровые  | загнивание  |              |              | здо-<br>ровые | загнивание  |              |              |
|                   |                | сла-<br>бое | сред-<br>нее | силь-<br>ное |               | сла-<br>бое | сред-<br>нее | силь-<br>ное |
| В пакетах         |                |             |              |              |               |             |              |              |
| Авирулентный      | 100,0          | 0,0         | 0,0          | 0,0          | 87,5          | 12,5        | 0,0          | 0,0          |
| Слабовирулентный  | 75,0           | 12,5        | 12,5         | 0,0          | 50,0          | 12,5        | 12,5         | 25,0         |
| Средневирулентный | 62,5           | 12,5        | 12,5         | 0,0          | 25,0          | 25,0        | 12,5         | 37,0         |
| Сильновирулентный | 50,0           | 0,0         | 25,0         | 25,0         | 0,0           | 0,0         | 0,0          | 100,0        |
| В теплице         |                |             |              |              |               |             |              |              |
| Авирулентный      | 100,0          | 0,0         | 0,0          | 0,0          | 100,0         | 0,0         | 0,0          | 0,0          |
| Слабовирулентный  | 75,0           | 0,0         | 12,5         | 12,5         | 50,0          | 25,0        | 25,0         | 0,0          |
| Средневирулентный | 50,0           | 37,5        | 12,5         | 0,0          | 50,0          | 25,0        | 25,0         | 0,0          |
| Сильновирулентный | 50,0           | 33,5        | 12,5         | 0,0          | 37,5          | 50,0        | 12,5         | 0,0          |
| В открытом грунте |                |             |              |              |               |             |              |              |
| Авирулентный      | 87,5           | 12,5        | 0,0          | 0,0          | 75,0          | 0,0         | 12,5         | 12,5         |
| Слабовирулентный  | 62,5           | 0,0         | 12,5         | 25,0         | 0,0           | 0,0         | 0,0          | 100,0        |
| Средневирулентный | 50,0           | 12,5        | 37,0         | 0,0          | 0,0           | 0,0         | 0,0          | 100,0        |
| Сильновирулентный | 12,5           | 12,5        | 25,0         | 25,0         | 0,0           | 0,0         | 0,0          | 100,0        |

ным штаммом клубней сорта Любимец они полностью сгнили, а у сорта Екатерининский в этих условиях сгнило только 25 % клубней. Во всех вариантах клубни неустойчивого сорта гниют интенсивнее, чем устойчивого. Процесс развития гнилей, зависящий от устойчивости сорта, имеет большое значение для накопления инфекционного фона.

Инфицированные клубни, не сгнившие в процессе хранения, несут латентную инфекцию, приводящую к заражению растений в процессе вегетации. Поскольку самое большее количество клубней сохраняется у устойчивого сорта, можно предполагать, что он своеобразно способствует накоплению бактерий из года в год в системе стебли — клубни.

Это подтверждается наблюдениями за развитием бактериозов картофеля в полевых условиях. Так, в опытах НИИКХ при изучении устойчивости сортов к бактериальным болезням установлено, что поражение клубней нового урожая при использовании зараженного посадочного материала в значительной степени зависело от устойчивости сорта. Так, пораженность клонов и клубней кольцевой гнилью при искусственном заражении в 1972—1973 гг. составила: у неустойчивого сорта Камераз — соответственно 52,6 и 11,5 %, у среднепоражаемого сорта Фитофтороустойчивый — 15,7 и 5,0 и устойчивого сорта Лорх — 10,0 и 1,8 %. В другом опыте в 1967 г. [5] с устойчивым сортом Камераз, неустойчивым Любимец и среднепоражаемым

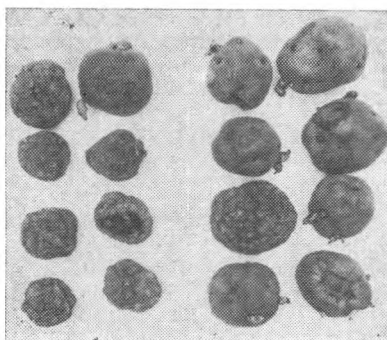


Рис. 2. Пораженность клубней картофеля сорта Любимец (слева) и Екатерининский сильновирулентным штаммом возбудителя черной ножки (через 2 мес после заражения).

Лорх при искусственном заражении посадочного материала (по 50 клубней каждого сорта) в первом случае оказались пораженными черной ножкой 9 % клубней нового урожая, из них 7,0 % в латентной форме, во втором — соответственно 21,0 и 18,0, в третьем — 12,0 и 11,0 %.

Таким образом, у устойчивого сорта одновременно идут два взаимосвязанных процесса — стабилизирующий отбор вирулентных форм возбудителя и накопление латентной зараженности клубней. Особое значение приобретает последний процесс в условиях, благоприятствующих накоплению бактерий в клубнях. Активно воздействуют на зараженность картофеля погодные условия, удобрения, условия хранения и т. д. Поэтому устойчивость сортов к бактериозам может быстро снижаться, если не соблюдается комплекс профилактических мероприятий по борьбе с бактериозами.

Итак, устойчивость сорта может снижаться в результате накопления вирулентных форм возбудителя. Наличие латентной зараженности увеличивает вероятность накопления инфекции черной ножки и мокрых гнилей клубней картофеля. Ускоряется снижение устойчивости при совместном выращивании различных по устойчивости сортов и форм картофеля. В связи с этим устойчивость сорта к бактериальным заболеваниям при размножении клубнями будет постепенно снижаться. Основываясь на механизмах, обуславливающих этот процесс, следует считать целесообразным периодическое оздоровление клубней от бактерий теми же методами, которыми достигается оздоровление от вирусных инфекций (меристемные культуры, термотерапия, серологический метод и др.). Этот путь может обеспечить длительное сохранение признака устойчивости у картофеля к болезни, а следовательно, значительное снижение потерь урожая.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимова Т. П. Фитопатогенные бактерии в здоровых клубнях картофеля. — В кн.: Защита растений. М.: Наука, 1969, с. 91—95. — 2. Горленко М. В. Болезни растений и внешняя среда. М.: Изд-во Московского общ-ва испыт. природы, 1950. — 3. Горленко М. В. Происхождение и эволюция паразитизма фитопатогенных бактерий и некоторые спорные вопросы учения о бактериозах растений. — В кн.: Бактер. болезни растений и методы борьбы с ними. Киев: Наукова думка, 1968, с. 17—25. — 4. Липсиц Д. В. Биохимия устойчивости картофеля к заболеваниям. В кн.: Результаты исслед. по селекции и семеноводству картофеля. М.: НИИКХ, 1970, с. 131—142. — 5. Облезова Т. П. Изучение возбудителей черной ножки на разных сортах картофеля. — Автореф. канд. дис. М., 1969. — 6. Попкова К. В., Шнейдер Ю. И., Эль Хатиб Рамадан Санаа. Изменчивость вирулентных свойств *Pectobacterium phytophthorium* (Appel) Waldee в патогенезе черной ножки. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 1, с. 127—138. — 7. Рагозина И. И., Шнейдер Ю. И., Липсиц Д. В. Активность протеиназ в пораженных черной ножкой (*Pectobacterium phytophthorium*) тканях картофеля. — Докл. АН СССР. Сер. биолог., 1969, т. 184, № 1, с. 242—245. — 8. Рагозина И. И., Шнейдер Ю. И., Липсиц Д. В. Пектолитические ферменты в культуре *Pectobacterium phytophthorium* и в пораженных ею тканях картофеля. — Докл. АН СССР. Сер. биолог., 1969, т. 188, № 4, с. 937—939. — 9. Рагозина И. И. Экзоферменты *Pectobacterium phytophthorium* (Appel) Waldee и их роль в патогенезе черной ножки. — Автореф. канд. дис. М., 1970. — 10. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенова В. А. Биохимия и физиология иммунитета растений. Изд. 3-е. М.: Высшая школа, 1975. — 11. Шнейдер Ю. И. Оценка устойчивости сортов картофеля. — Защита растений от вредителей и болезней, 1965, № 12, с. 22—23. — 12. Шнейдер Ю. И. Бактериозы картофеля, вызываемого бактериями родов *Pectobacterium*, *Pseudomonas* и *Bacillus*. — Автореф. докт. дис. М., 1972. — 13. Шнейдер Ю. И., Герасимова Т. П. О сохранности возбудителя черной ножки в клубнях картофеля. — Докл. ВАСХНИЛ, 1965, вып. 8, с. 22—26.

*Статья поступила 4 июня 1980 г.*

## SUMMARY

The correlation between the virulence of strains of potato bacterioses agents (wire stem and soft rots of tubers) and resistance of the variety has been studied. It is found that accumulation of virulent forms of bacterioses agents in tubers results in gradual reduction of varietal resistance. That is why it is recommended from time to time to remove bacteria from tubers by means of meristem cultures. This may ensure prolonged preservation of resistance of the potato variety to bacterioses.