

УДК 632.4:578.087.1

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СПОРУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПИРИКУЛЯРИОЗА НА ЛИСТЬЯХ РИСА

А. Д. КАШИРКИН, Р. А. АГАФОНОВ, Р. А. БАРАНОВА, Н. А. ТИХОНОВА,
В. А. ШКАЛИКОВ

(Кафедра фитопатологии)

В статье изложена методика компьютерной обработки экспериментальных данных, характеризующих развитие споруляции на листьях риса в условиях искусственного климата. Показана состоятельность полученных оценок для использования их в исследованиях полевой устойчивости.

Спорообразование и спороотделение являются, как известно, классическими объектами исследований в фитопатологии. Однако изучение этих процессов до недавнего времени шло в основном путем анализа механизма их протекания и влияния на него условий внешней среды. Новые направленность и содержание в исследованиях процесса споруляции придает изучение взаимосвязи между его параметрами и характеристиками полевой устойчивости сортов к болезням.

Наличие указанной взаимосвязи установлено в работах [6, 8, 9] для различных систем хозяин — патоген, причем в работах [8, 9] регрессионный анализ показал высокую тесноту связи видимой скорости инфекции по Ван дер Планку [3] с количественными параметрами споруляции, что позволило авторам рассматривать последние в качестве значимых компонент устойчивости сортов.

Согласно данным [9], параметрами, определяющими процесс спорообразования при пирикулярном поражении листа риса, являются максимум кумулятивной споруляции, скорость споруляции и продолжительное периода споруляции. Эти выводы были получены при помощи логической модели Роуза [8], показавшей хорошее качество пригонки к экспериментальным данным в камерных испытаниях для ряда сочетаний сорт риса — изолят патогена. Однако необходимо отметить, что в работе [9], посвященной широкому кругу вопросов исследования компонента полевой устойчивости сортов риса, более чем скупой отражена аналитическая сторона изучения установленных закономерностей споруляции и практически отсутствуют сведения о технике компьютерной обработки данных и о статистических оценках полученных параметров. Последнее обстоятельство не дает возможности составить ясное представление о методах аппроксимации экспериментальных данных, пределах вариабельности найденных параметров, надежности их средних значений и, следовательно, о степени достоверности.

Нами сделана попытка восполнить указанные пробелы в описании получаемых в условиях климатической камеры параметров споруляции возбудителя пирикулярноза (*Puccinia oryzae* Cav.) на листьях риса.

При выполнении экспериментальной части работы мы стремились максимально придерживаться общей схемы и техники постановки опытов в камерах, предложенных в работе [9], однако исходя из поставленной задачи предельно ограничили объем эксперимента. Объектами испытаний служили один изолят Кр.81 гриба *P. oryzae* краснодарской популяции и 4 сорта риса отечественной селекции с достаточно широким спектром восприимчивости к этому изоляту (сорта Дубовский 129, Интенсивный, Спальчик, Авангард).

Растения выращивали в камере искусственного климата при относительной влажности воздуха 95 %, температуре $26 \pm 2^\circ$ днем и $22 \pm 2^\circ$ ночью, освещенности $2 \cdot 10^4$ лк и фотопериоде 12 ч.

Семена растений риса высевали в полиэтиленовые плоские сосуды (плошки) диаметром 140 мм, глубиной 50 мм по 15 шт. на емкость (по 5 емкостей на сорт). После появления всходов в каждой плошке оставляли 5 хорошо развитых растений, остальные удаляли.

В фазу начала появления 4-го листа проводили инокуляцию 3-го листа суспензией спор. Для каждого сорта подбирали предварительно такую концентрацию суспензии, которая обеспечивала проявление инфекции в виде 1—4 изолированных пятен на лист. После инокуляции плошки с растениями помещали на 24 ч во влажную камеру с относительной влажностью воздуха — 100 % и температурой $26 \pm 2^\circ$. Затем их переносили в камеру искусственного климата.

В день проявления признаков заражения из 25 растений каждого сорта отбирали 8—10, у которых примерно посередине 3-го листа имелось изолированное и достаточно удаленное от других пятно. Эти растения служили в качестве повторностей главной части эксперимента.

Листья с отобранными пятнами помещали в чашки Петри диаметром 40 мм, снабженные двумя сквозными диаметрально противоположными прорезями и содержавшие голодный агар. Листья поворачивали верхней стороной к агару, чтобы споры оседали на его поверхность.

Чашки ставили на проволочные сетки, установленные несколько выше верхней кромки плошек так, чтобы лист не испытывал натяжения. Растения, листья которых препарировались, оставляли в камере вместе с остальными растениями. Чашки для сбора спор заменяли каждое утро. Споры, опавшие за сутки, подсчитывали под микроскопом при 600-кратном увеличении. Ежедневно измеряли также размеры пятна. Подсчет спор осуществляли по 10 полям зрения микроскопа. Затем полученные результаты усредняли и пересчитывали на всю площадь пятна. Подсчеты спор и измерения пятен продолжали до прекращения споруляции.

В отличие от работы [9] в наших экспериментах была существенно изменена интерпретация экспериментальных данных, а также введена величина «удельная кумулятивная споруляция» (отношение кумулятивной споруляции перикюляриозного пятна к его площади). В результате получена модифицированная логистическая модель споруляции.

Обработку данных проводили на мини-ЭВМ СМ-4 по специализированным программам, обеспечившим автоматизацию спланированной трехэтапной обработки.

На первом этапе проводили отсев экспериментальных точек по программе выскакивающих значений, основанной на алгоритме [1].

Следующий этап заключался в вычислении значений удельной споруляции за каждые сутки (отношение количества спор за сутки к площади пятна, измеренной перед данными сутками). После суммирования полученных значений получали удельную кумулятивную споруляцию. Далее повторностям значений споруляции для каждого сорта программным путем присваивались координаты корреляционного поля в осях время — выход спор с единицы площади пятна (рис. 1). Таким образом получали группу индивидуальных для каждого пятна динамик развития удельной споруляции.

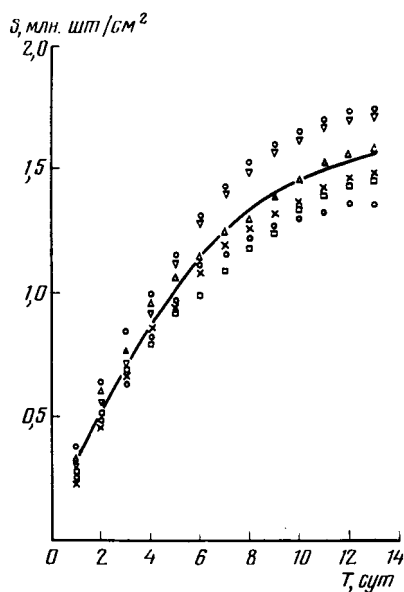


Рис. 1. Экспериментальные значения удельной кумулятивной споруляции пятен перикюляриоза и теоретическая линия регрессии для сорта Дубовский 129.

Последний этап обработки состоял в сглаживании эмпирической линии регрессии, полученной в результате усреднения данных по повторностям за каждые сутки, и вычислении статистических оценок. Теоретическая линия регрессии для сорта Дубовский 129 показана на рис. 1. Она имеет форму кривой, проходящей внутри поля рассеяния экспериментальных точек. Необходимое качество сглаживания было достигнуто за счет применения логической функции следующего вида:

$$S = S_m \frac{1 - \exp [R(T_0 - T)]}{1 + \exp [R(T_0 - T)]}, \quad (1)$$

где S и S_m — текущее и предельное значения удельной кумулятивной споруляции, шт/см²; R — логарифмическая скорость споруляции, шт/сут; T — время споруляции, сут; T_0 — абсцисса начала процесса споруляции, сут.

Подбор параметров S_m , R , T_0 для функции (1) осуществлялся с помощью разработанной нами программы, основанной на методе Монте-Карло [2], который обеспечивает простейший подход к решению нелинейных задач [4]. Сходимость параметров S_m , R , T_0 к наилучшим обеспечивалась минимизацией среднеквадратического отклонения экспериментальных значений от имитируемых теоретических линий регрессии.

Программой предусматривалось прерывание процесса поиска наилучших параметров при стабилизации третьей значащей цифры у S_m . Статистические оценки для полученной теоретической линии регрессии по отношению к совокупности экспериментальных точек выполняли по подпрограмме посредством вычисления следующих показателей:

$$V_i = \frac{100}{S_i} \sqrt{\frac{1}{m-1} \sum_{j=1}^m (S_{ij} - S_i)^2}, \quad (2)$$

$$P_i = \frac{100}{\sum_{j=1}^m S_{ij}} \sqrt{\frac{m}{m-1} \sum_{j=1}^m (S_{ij} - S_i)^2}, \quad (3)$$

$$\eta = \sqrt{\frac{m \sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})^2}{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (S_{ij} - \bar{S})^2}}, \quad (4)$$

Т а б л и ц а 1

Статистические оценки рассеяния по ходу процесса споруляции (сорт Дубовский 129)

Время споруляции, сут	S/S_m	V , %	P , %
1	0,19805	3,461	7,14
2	0,31982	3,529	4,50
3	0,43188	4,027	3,81
4	0,53201	4,192	3,22
5	0,61920	5,211	3,44
6	0,69339	6,199	3,64
7	0,75531	7,327	3,96
8	0,80616	7,776	3,94
9	0,84736	8,174	3,94
10	0,88038	8,262	3,83
11	0,90662	8,258	3,72
12	0,92733	8,325	3,66
13	0,94358	8,285	3,58

где V_i — коэффициент вариации теоретической средней в процентах в i -тые сутки; S_i — теоретическая средняя удельной кумулятивной споруляции для i -тых суток; S_{ij} — экспериментальное значение удельной кумулятивной споруляции в j -той повторности i -тых суток; m — число повторностей; P_i — ошибка теоретической средней в i -тые сут, %; η — теоретическое корреляционное отношение; \bar{S} — среднее экспериментальное значение удельной кумулятивной споруляции; n — число суток, экспериментальные данные для которых включены в расчет.

Аналитические выражения для V_i , P_i и η составлены для конкретного экспериментального материала по определениям [5, 7].

Общие результаты статистического анализа процесса споруляции

Сорт	S_m , млн. шт/см ²	R	T_0 , сут	T_{99} , сут	V , %	P , %	$\bar{\eta}_T$	η_T
1 — Дубовский 129	1,662	0,2615	-0,53	19,7	8,2	3,6	0,964	0,388
2 — Спальчик	1,316	0,1811	0,24	26,8	19,3	8,2	0,893	0,267
3 — Интенсив- ный	0,761	0,5001	-0,05	10,5	8,3	3,2	0,999	0,361
4 — Авангард	0,218	0,5726	-0,24	9,0	37,3	16,4	0,999	0,192

Как видно из рис. 1, разброс экспериментальных точек увеличивается по мере возрастания абсциссы. В табл. 1 приведены коэффициенты вариации и ошибки теоретических средних удельной кумулятивной споруляции, вычисленные за каждые сутки для сорта Дубовский 129. Аналогичные данные получены и для других трех сортов.

В табл. 2 приведены общие результаты статистического анализа споруляции для испытанных сортов. Кроме величин, смысл которых ясен из формул (1) — (4), мы рассматривали теоретическое корреляционное отношение для усредненных значений по повторностям l η , значения которого получали из соотношения (4) путем ввода $m = 1$ и усредненных значений S_{ij} , а также продолжительность споруляции T_{99} — время, отсчитываемое от начального момента споруляции до момента, когда удельная кумулятивная споруляция достигает 99 % предельной, т. е. S_m . Эту величину находили из соотношения (1) после его преобразования к следующему виду:

$$T = T_0 - \frac{1}{R} \ln \frac{1 - S/S_m}{1 + S/S_m} \quad (5)$$

и постановки 0,99 вместо отношения S/S_m .

Следует отметить, что определение продолжительности периода споруляции в форме конкретного числового значения в любом случае связано с наложением какого-то ограничения на величину S . Это обусловлено асимптотическим характером поведения функции $S = S(T)$, которая достигает своего предела S_m только на бесконечности. Мы ввели в качестве такого ограничения величину $S/S_m = 0,99$. Ограничение может быть и иным, например, равным 0,95 или 0,999.

Результаты, приведенные в табл. 2, позволяют четко ранжировать испытанные сорта по степени интенсивности взаимодействия с изолятом Кр—81. Так, по способности пятна к споруляции изучаемые сорта располагаются в убывающий ряд 1—2—3—4; по логарифмической скорости споруляции — 4—3—1—2, а по продолжительности периода споруляции — 2—1—3—4. Ранжирование сортов показало, что для сорта, более устойчивого к патогену, снижается не только число поражений и их размер, как отмечено в работе [9], но и продуцирование спор с единицы площади листовой поверхности. О достоверности ранжирования свидетельствуют полученные значения ошибок теоретических средних.

Высокие значения теоретических корреляционных отношений при сглаживании усредненных экспериментальных значений по повторностям и низкие значения этих показателей для всей совокупности экспериментальных точек указывают либо на наличие каких-то дополнительных, неучтенных в опыте факторов, которые могут быть введены в уравнение регрессии, либо на естественную вариабельность индивидуальной реакции растений. Это может быть выяснено в дальнейшем только при постановке специального исследования.

На рис. 2 показаны кривые споруляции для всех изучаемых сортов, приведенные к безразмерной форме и единому началу координат путем деления текущих значений S на предел S_m и смещения кривых вдоль оси T на соответствующие значения T_0 . Каждая кривая оборвана на своем значении T_{99} . Кривые демонстрируют различия в удельной куму-

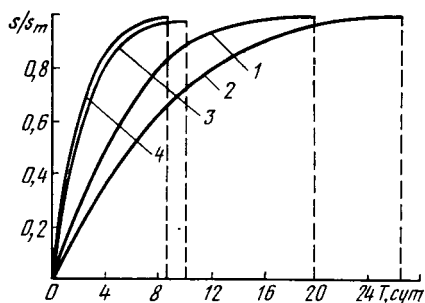


Рис. 2. Графики теоретических линий регрессии для приведенных значений удельной кумулятивной споруляции.
1 — Дубовский 129; 2 — Спальчик; 3 — Интенсивный; 4 — Авангард.

климатических камерах, предложенные в работе [9], а ранее для другого патогена в работе [8], позволяют получать надежные средние значения параметров, описывающих процесс споруляции на основе логистической модели.

2. Для описания процесса споруляции можно предложить модифицированную логистическую модель, которая отличается от модели Роуза тем, что аппроксимирует кумулятивные значения споруляции, отнесенные к площади пятна, и тем самым учитывает изменение размеров пятна во времени.

3. Определение на основе модели таких параметров, как предел удельной кумулятивной споруляции, логарифмическая скорость и продолжительность периода споруляции, позволяет проранжировать сорта по интенсивности взаимодействия с патогеном. Это подтверждает возможность достоверного определения важнейших компонент полевой устойчивости в лаборатории искусственного климата.

Для математической обработки экспериментальных данных о споруляции вследствие их большого объема, специфичности и нелинейности соотношений требуется создание специализированных программных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П., Васильев Н. Н., Амбросов В. А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. —
2. Бусленко Н. П., Голенко Д. И., Соболев И. М. и др. Метод статистических испытаний (Метод Монте-Карло) — М.: Физматгиз, 1962. —
3. Ван дер Планк Я. Е. Болезни растений. М.: Колос, 1966. —
4. Каширкин А. Д., Гришко С. П., Рябчин А. А. Оптимальное проектирование механизма крепы по методу Монте-Карло. — Изв. вузов. Горный журн., 1979, № 4, с. 34—38. —
5. Луконский Я. И. Теория корреляции. Основы статистического изучения связи между величинами. — М.: Госстатиздат, 1961. —
6. Санин С. С., Кайдаш А. С., Чуприна В. П., Бабина Ф. А. Репродуктивная способность гриба *Puccinia Graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erikss et Henn на сортах пшеницы с разной устойчивостью к стеблевой ржавчине. — Микол. и фитопатол., 1978, вып. 12, № 2, с. 132—136. —
7. Урбах В. Ю. Биометрические методы. — М.: Наука, 1964. —
8. Rous D. J., Nelson R. R., Mac Kenzie D. R., Armitage C. R. — *Phytopathology*, 1980, vol. 70, p. 1097—1100. —
9. Villarreal R. L., Nelson R. R., Mac Kenzie D. R., Coffman W. R. — *Phytopathology*, 1981, vol. 71, p. 608—611.

Статья поступила 1 ноября 1985 г.

SUMMARY

Sporulation of periculariosis isolated spots on the leaves of rice plants was studied in the chamber for four combinations of cultivar-isolate KR-81. Modelling by Monte Carlo technique and statistical analysis of empirical curves showing time variation of specific cumulative spot sporulation allowed to obtain a mathematical model which describes this process well enough; they also allowed to calculate safety estimations of the obtained theoretical averages. It is shown that sporulation parameters determined by the model allow to positively rank the tested cultivars according to their sporulating capacity and to the speed and duration of sporulation.