

Оригинальные статьи / Original articles

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-3-77-80>
УДК 635.21:631.524.86

Мацшина Н.В., Дидора А.С.,
Собко О.А., Ким И.В., Волков Д.И.

ФГБНУ «Федеральный научный центр агробио-
технологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»
692539, РФ, Приморский край,
г. Уссурийск, ул. Воложенина, 30
E-mail: cabinet.315@yandex.ru

Конфликт интересов: Авторы заявляют
об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мацшина Н.В., Дидора
А.С., Собко О.А., Ким И.В., Волков Д.И. Оценка
устойчивости сортов и гибридов картофеля к
Phytophthora infestans Mont. de Bary в
Приморском крае. *Овощи России*. 2020;(3):77-80.
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-3-77-80>

Благодарности. Авторы выражают глубочай-
шую признательность Вознюк В.П. за предостав-
ленные для экспериментов гибриды.

Поступила в редакцию: 07.04.2020

Принята к печати: 07.05.2020

Опубликована: 25.07.2020

Natalia V. Matsishina,
Anastasia S. Didora, Olga A. Sobko,
Irina V. Kim, Dmitry I. Volkov

Federal State Budget Scientific Institution "Federal
Scientific Center of agrobiotechnologies in the Far
East named after A. K. Chaika"
30, Vologenina st., Ussuriisk, Primorie Territory,
Russia, 692539
E-mail: cabinet.315@yandex.ru

Conflict of interest: The authors declare
no conflict of interest.

For citation: Matsishina N.V., Didora A.S., Sobko
O.A., Kim I.V., Volkov D.I. Preliminary study of pota-
to varieties and hybrids laboratory resistance to
Phytophthora infestans Mont. de Bary in the
Primorsky Territory. *Vegetable crops of Russia*.
2020;(3):77-80. (In Russ.)
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-3-77-80>

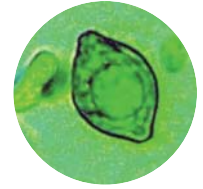
Acknowledgment. The authors express their
deepest gratitude to V.P. Voznyuk. for the hybrids
provided for experiments.

Received: 07.04.2020

Accepted for publication: 07.05.2020

Accepted: 25.07.2020

Оценка устойчивости сортов и гибридов картофеля к *Phytophthora infestans* Mont. de Bary в Приморском крае



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Фитофтороз (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary) – одна из самых вредоносных, быстро распространяющихся грибных болезней картофеля, которая резко снижает его урожай и поражает клубни во время хранения. Количественное проявление частичной устойчивости в пределах одного и того же сорта картофеля зависит от метеорологических условий и инфекционной нагрузки. Поэтому её объективную оценку получают при испытании сортов в регионах, стабильно благоприятных для развития патогенов (о. Сахалин и центральная Мексика), или в стандартных лабораторных условиях при использовании климатических камер и молекулярно-генетических методов. Целью данной работы была лабораторная оценка устойчивости сортов и гибридов картофеля к фитофторе.

Методика. Приводятся данные по лабораторной оценке устойчивости сортов и гибридов картофеля к фитофторе. Опыт проводили с использованием общепринятых методик по изучению и оценке устойчивости сортов картофеля к фитопатогенам с незначительными модификациями.

Результаты. Установлено, что сорта Смак, Янтарь, Дачный и Казачок являются средне-восприимчивыми к фитофторозу, как это приведено в Каталоге сортов. У сортообразца При-12-35-4 при невысокой степени развития некроза и спороношения у ломтиков наблюдалось поражение 50% поверхности клубней с активным спороношением и вызревaniem двухжгутиковых зооспор. Гибриды При-11-12-5, При-12-18-7 демонстрировали высокий балл развития некрозов и спороношения с незначительным превышением этих показателей по клубням (1,17-1,05 раза). Среди гибридов и сортов картофеля выделился образец При-11-31-24, у которого средний балл по спороношению и некрозу ломтей составлял 1,44 и 1,42 соответственно, по поражению клубня – 1,72.

Ключевые слова: фитофтора, картофель, гибрид, сорт, зооспоры, селекция, Приморский край.

Preliminary study of potato varieties and hybrids laboratory resistance to *Phytophthora infes- tans* Mont. de Bary in the Primorsky Territory

ABSTRACT

Relevance. Late blight (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary) is one of the most harmful, rapidly spreading potato fungal diseases, which dramatically reduces its yield and affects tubers during storage. The quantitative manifestation of partial resistance within the same potato variety depends on meteorological conditions and the infectious load. Therefore, its objective assessment is obtained when testing varieties in regions that are stably favorable for the development of pathogens (Sakhalin Island and central Mexico), or in standard laboratory conditions using climatic chambers and molecular genetic methods. The aim of this work was a laboratory assessment of the potato varieties and hybrids resistance to late blight.

Methods. Data on laboratory assessment of the potato varieties and hybrids resistance to late blight are presented. The experiment was carried out using generally accepted methods for the study and assessment of the potato varieties resistance to phytopathogens with minor modifications.

Results. It was established that the varieties Смак, Янтарь, Дачный and Казачок are medium susceptible to late blight, as shown in the Catalog of varieties. In the variety specimen Pri-12-35-4, with a low degree of necrosis and sporulation development, slices showed damage to 50% of the tubers surface with active sporulation and maturation of double-flagellated zoospores. Hybrids Pri-11-12-5, Pri-12-18-7 showed a high score for the development of necrosis and sporulation with a slight excess to these indicators for tubers (1.17-1.05 times). Among hybrids and varieties of potatoes, a sample of Pri-11-31-24 stood out, with an average score for sporulation and slice necrosis of 1.44 and 1.42, respectively, for tuber damage - 1.72.

Keywords: late blight, potato, hybrid, variety, zoospores, selection, Primorsky Territory.

Введение

Сокращение посевных площадей под картофелем при одновременной интенсификации отрасли приводит к необходимости выведения новых высокопродуктивных сортов, устойчивых к болезням и вредителям. Для решения этой проблемы необходимо выделение новых источников ценных признаков для важнейших направлений селекции картофеля. Для удобства использования нового исходного материала целесообразно его представлять в виде рабочих признаков коллекций для целей селекции: скороспелость, продуктивность, повышенное содержание крахмала, устойчивость к болезням: фитофторозу, вирусным болезням; устойчивость к картофельной нематоде (*Globodera rostochiensis* Woll., Ro1) и др. признаки.

Фитофтороз (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary) – одна из самых вредоносных, быстро распространяющихся болезней картофеля, которая резко снижает его урожай и поражает клубни во время хранения. Проявляется она чаще всего с конца мая по август. Особенно быстро распространяется в дождливые годы, а также при резкой смене дневной и ночной температур, сопровождающейся обильными росами и туманами. Первоначальная причина возникновения болезни – посаженные в почву зараженные клубни картофеля [8]. На пораженных ростках во влажной почве или внутри разросшегося куста образуются споры паразита, которые заражают почву и рядом находящиеся здоровые растения. С каплями дождя или росы споры проникают в почву, где заражают клубни нового урожая картофеля. У пораженных растений картофеля вначале на кончиках листьев в нижнем ярусе появляются темно-бурые мокнущие пятна. Они могут возникать в любом месте стебля, но чаще всего ближе к верхушкам. Длительная теплая и влажная погода способствует быстрому развитию болезни. Надземная часть растений в течение нескольких суток (7–10 суток) превращается в черную гниющую массу [2]. Особенно вредоносен фитофтороз в Приморском крае. Потери урожая паслёновых

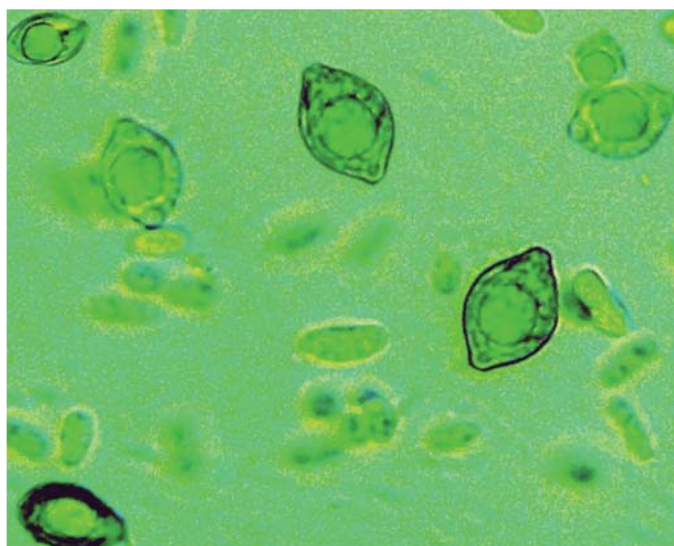


Рис. 1. Кондии *Ph. infestans*, 20х, Levenhuk D740T, 5,1 Мпикс (фото авторов)
Fig. 1. Conidia *Ph. infestans*, 20х, Levenhuk D740T, 5.1 megapixels (photo authors)

могут составлять до 70%, в благоприятные для развития патогена годы с влажной, прохладной погодой – до 94%.

Количественное проявление частичной устойчивости в пределах одного и того же сорта картофеля зависит от метеорологических условий и инфекционной нагрузки. Поэтому её объективную оценку получают при испытании сортов в регионах, стабильно благоприятных для развития патогенов (о. Сахалин и центральная Мексика), или в стандартных лабораторных условиях при использовании климатических камер [12, 13] и молекулярно-генетических методов.

Целью данного эксперимента была предварительная оценка гибридов картофеля на фитофтороустойчивость методами инокуляции патогена в «ломтики» и на клубни для подбора родительских пар в скрещивания, а также изучение вирулентности местных штаммов фитофторы.

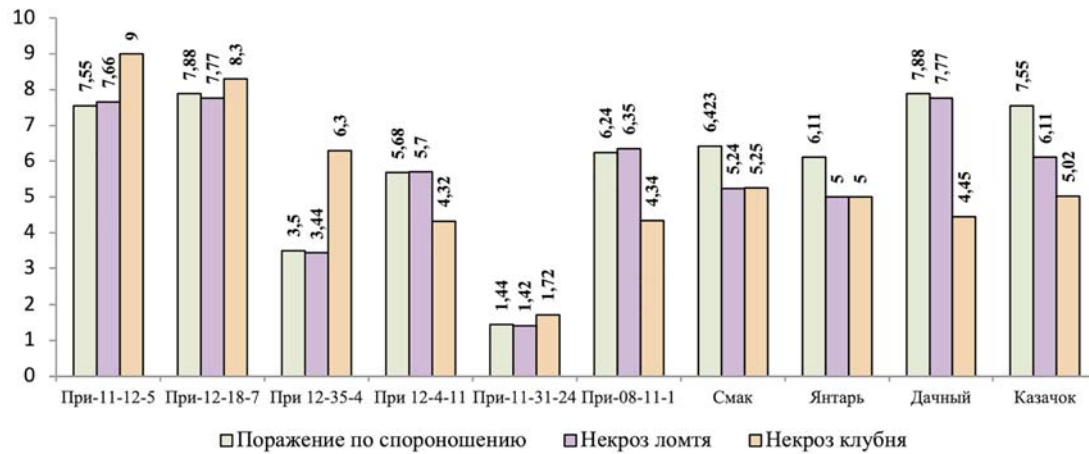
Материалы и методы.

В эксперименте использовали гибриды и сорта селекции отдела картофелеводства ФГБНУ ФНЦ агробиотехнологий ДВ им. А.К. Чайки: Дачный, Янтарь, Казачок, Смак, При-08-11-1, При-11-12-5, При-11-31-24, При-12-4-11, При-12-35-4, При-12-18-7. Оценку проводили методом ломтиков и путем заражения клубней суспензией изолятов *Ph. infestans*.

Для оценки устойчивости от каждого испытуемого образца брали 5 клубней без механических повреждений и визуальных признаков заболеваний. Перед заражением клубни мыли, затем погружали на 3-5 минут в суспензию зооспорангиев (концентрация от 10-12 до 25-30 конидий в поле зрения микроскопа при малом увеличении по Дорожкину и др.) (рис. 1) [10, 11].

Зараженные клубни помещали во влажные камеры (эксикаторы с увлажненной фильтровальной бумагой). В течение опыта влажность поддерживалась на уровне 80-90%, а температура – 18...20°C. Учет осуществлялся через 21 день от момента заражения, при этом учитывалась сначала степень поражения поверхности клубня, а затем глубина некроза путем разрезания клубня в продольном направлении. Средний балл пораженности определяли с учетом названных показателей по 9-балльной шкале, где 9 – поражение свыше 75% поверхности, а 1 – отсутствие поверхностного поражения и некроза.

Кроме того, из клубней испытуемого образца вырезали сдвоенные ломтики толщиной около 10 мм каждый. На нижний ломтик пипеткой наносили каплю инокулята плотностью около 3×10^4 конидий/мл, инкубировали в термостате VS-1201 при температуре 18°C в течение 7 суток. Степень пораженности учитывали по интенсивности спороношения на 5 и 7 сутки по 9-балльной шкале, где 9 – спороношение занимает свыше 75% поверхности ломтика, 1 – симптомы поражения отсутствуют [10, 11]. В эксперименте использовался штамм фитофторы, собранный в 2019 году на производственных посадках картофеля в селе Пуциловка Уссурийского района Приморского края. Патоген культивировался в лабораторных условиях на среде Хелла со строгим соблюдением температурного режима, способствующего образова-



Примечание: $R^2 = 0,0311$.

Note: $R^2 = 0.0311$.

Рис. 2. Пораженность гибридов и сортов картофеля в лабораторном эксперименте, балл
Fig. 2. The defeat of potato hybrids and varieties in a laboratory experiment, points

нию двухжгутиковых зооспор (25°C, 87% влажность). Агрессивность штамма устанавливалась по Дорожжину и др. [10] методом определения дозы инфекции, необходимой для заражения восприимчивого сорта Августин. Листья заражались инокулятом в концентрациях 1-3, 10-12, 25-30 спор в микрокамерах в 15-кратной повторности. Через 12 часов микрокамеры снимали, листья отделяли от растений и переносили на влажные камеры, где вели ежедневные наблюдения и отмечали дату появления первых признаков болезни (конец инкубационного периода). Степень поражения и процент развития болезни, интенсивности спороношения и диаметр поражения листа учитывали на восьмой день после заражения, на пятый после снятия листа. Полученные показатели соотносились с таковыми, известными по литературным источникам. Инкубационный период и агрессивность штамма Пуциловка-2019 достоверно ($\epsilon = 0,287$) совпадали с таковыми для R1.3.4.

Для микроскопирования применяли Levenhuk D740T, 5,1 Мпикс.

Результаты и обсуждение

В результате исследований было выявлено, что сорта Смак, Янтарь, Дачный и Казачок являются средневосприимчивыми к фитофторозу, как это приведено в Каталоге сортов.

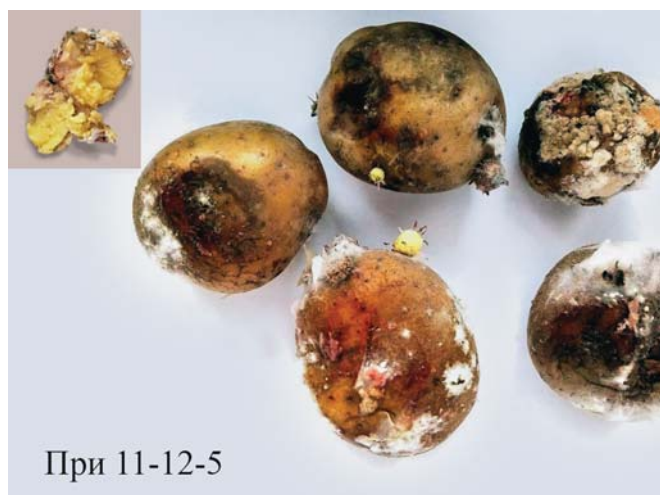


Рис. 3. Совокупное поражение клубней гибрида При-11-12-5 (фото авторов)
Fig. 3. The total defeat of the hybrids tubers Pri-11-12-5 (photo authors)

Гибриды, передаваемые в Госсортоиспытание, демонстрировали неоднородность реакций (рис.2). Так, у сортообразца При-12-35-4 при невысокой степени развития некроза и спороношения у ломтиков наблюдалось поражение 50% поверхности клубней с активным спороношением и вызреванием двухжгутиковых зооспор.

Гибриды При-11-12-5, При-12-18-7 демонстрировали высокий балл развития некрозов и спороношения с незначительным превышением этих показателей по клубням (1,17-1,05 раза).



Рис. 4. Клубни гибрида При-11-31-24, демонстрирующего высокую степень устойчивости к поражению фитофторой (фото авторов)
Fig. 4. Pri-11-31-24 hybrid tubers, demonstrating a high degree of resistance to late blight (photo of the authors)

Кроме того, у образца При-11-12-5 наблюдалось сопутствующее развитие ризоктониоза, вертициллёза, парши и бактериальных гнилей, вероятно инфицировавших клубни во время вегетации (рис. 3). При этом у При-12-4-11 и При-08-11-1 наблюдалась реакция, схожая с ответом на заражение у сорта Дачный.

Среди гибридов и сортов картофеля выделился образец При-11-31-24, у которого средний балл по спороношению и некрозу ломтей составлял 1,44 и 1,42 соответственно, по

поражению клубня – 1,72, пораженная ткань занимала до 10% поверхности и разреза клубня (рис. 4).

Устойчивость картофеля к заражению патогенами определяется пероксидазами. Наиболее убедительным доказательством важности пероксидаз в защитных реакциях растений можно считать уровень их локального накопления в зоне инфицирования, выявляемого цитохимическими методами [11]. Способность пероксидаз защищать растения от патогенов, наряду с их токсичностью [1,5,9], включает также полимеризацию фенольных соединений – монолигнолов – в лигнин [4].

Эти ферменты играют ключевую роль в процессах, связанных с межклеточными взаимодействиями, а также с реакциями адаптации растений к постоянно меняющимся условиям окружающей среды [3].

Известно, что полифенолоксидазы катализируют окисление фенолов до хинонов, поэтому, чтобы изучить их роль в защите от патогенов, были созданы растения табака, сверхэкспрессирующие этот фермент, а также растения с недостаточным уровнем полифенолоксидаз. Подавление экспрессии полифенолоксидазы приводит к повышению чувствительности растений к патогенам, тогда как сверхэкспрессия вызывает их устойчивость [7]. Наряду с этим комплексом, ответ-

ственным за образование некрозов, в тканях устойчивых сортов действует и другой механизм, обуславливающий появление фитоалексинов. Считается, что для картофеля характерны два фитоалексина сесквинтерпеноидной природы – риштин и любимин, которые определяют антибиотические свойства сортов [6.]

Вопрос о корреляции между фитоалексинной, пероксидазной активностью и степенью устойчивости исследуемых гибридов к фитофторозу остается открытым и требует дополнительного изучения с привлечением биохимических и молекулярно-генетических методов.

Заклучение

Таким образом, по результатам предварительного лабораторного исследования устойчивости сортов и гибридов картофеля к фитофторозу можно сделать следующие выводы:

1. Сорта Смак, Янтарь, Дачный и Казачок являются средневосприимчивыми к фитофторозу.
2. Гибриды При-11-12-5, При-12-18-7, При-12-35-4, При-12-4-11, При- 08-11-1 восприимчивы к *Phytophthora infestans*.
3. Образец При-11-31-24 устойчив к фитофторозу, что требует подтверждения биохимическими и молекулярно-генетическими методами.

Об авторах:

Мацишина Наталия Валериевна – кандидат биол. наук, ст. научный сотрудник лаб. селекционно-генетических исследований полевых культур, <https://orcid.org/0000-0002-0165-1716>

Дидора Анастасия Сергеевна – мл. научный сотрудник лаб. селекционно-генетических исследований полевых культур

Собко Ольга Абдулалиевна – мл. научный сотрудник лаб. селекционно-генетических исследований полевых культур

Волков Дмитрий Игоревич – зав.отделом картофелеводства

Ким Ирина Вячеславовна – кандидат с.-х. наук, вед. научный сотрудник лаб. болезней картофеля

About the authors:

Natalia V. Matsishina – Cand. Sci. (Biology), senior researcher of breeding and genetic research laboratory, <https://orcid.org/0000-0002-0165-1716>

Anastasia S. Didora – junior researcher of breeding and genetic research laboratory

Olga A. Sobko – junior researcher of breeding and genetic research laboratory

Dmitry I. Volkov – manager potato laboratory

Irina V. Kim – Cand. Sci. (Agriculture), leading researcher of potato pathology laboratory

• Литература

1. Akhunov A.A., Golubenko Z., Khashimova N.R., Mustakimova E.Ch., Vshivkov S.O. Role of chitin-specific peroxidases in wilt-resistant cotton. *Chemical Natural*. 2008;(44):493–496.
2. Céspedes M.C., Cárdenas M.E., Vargas A.M., Rojas A., Morales J.G. Jiménez P., Berna A. J., Restrepo S. Physiological and molecular characterization of *Phytophthora infestans* isolates from the Central Colombian Andean Region. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2013;30(2):81–87.
3. Eckardt N.A. Viral defense and counterdefense: a role for adenosine kinase in innate defense and RNA silencing. *Plant Cell*. 2003;15(12):2758–2761.
4. Fagerstedt K.V., Kukkola E.M., Koistinen V.V., Takahashi J., Marjamaa K. Cell wall lignin is polymerised by class III secreted plant peroxidases in Norway spruce. *Journal Integration Plant Biology*. 2010;52(2):186–194.
5. Ghosh M. Antifungal properties of haem peroxidase from *Acorus calamus*. *Annual Botany*. 2006;98(6):1145–1153.
6. Hooker W.J., Potter H.S. Late blight of potato and tomato. *Extencion bulletin*. 1967;(575):110–115
7. Thipyapong P., Hunt M.D., Steffens J.C. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. *Planta*. 2004;(220):105–117.
8. Vega-Sánchez M.E., Erselius L.J., Rodriguez A.M., Bastidas O., Hohl H.R., Ojiambo P.S., Mukalazi J., Forbes G.A. Host adaptation to potato and tomato within the US-1 clonal lineage of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*. 2000;(49):531–539.
9. Ye X.Y., Ng T.B. Isolation of a novel peroxidase from French bean legumes and first demonstration of antifungal activity of a non-milk peroxidase. *Life Science*. 2008;(71):667–1680.
10. Дорожкин Н.А., Ремнева З.И., Бельская С.И., Псарева В.В. Фитофтороз картофеля и томатов. Минск, «Ураджай». 1976. 209 с.
11. Каримова В.К., Нечай Н.Л., Есимсеитова А.К., Нурмаганбетова А.Н., Измаганбетова А.Ж., Какимжанова А.А. Использование изолятов гриба *Phytophthora infestans* в клеточной селекции картофеля. *Биотехнология. Теория и практика*. 2015;(3):23–26.
12. Сорокань А.В., Кулуев Б.Р., Бурханова Г.Ф., Максимов И.В. РНК-сайленсинг гена анионной пероксидазы приводит к снижению устойчивости растений картофеля к *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. *Молекулярная биология*. 2014;48(5):814–823.
13. Филиппов А.В. Фитофтороз картофеля. Приложение к журналу «Защита и карантин растений». 2012;(5):87.

• References

1. Akhunov A.A., Golubenko Z., Khashimova N.R., Mustakimova E.Ch., Vshivkov S.O. Role of chitin-specific peroxidases in wilt-resistant cotton. *Chemical Natural*. 2008;(44):493–496.
2. Céspedes M.C., Cárdenas M.E., Vargas A.M., Rojas A., Morales J.G. Jiménez P., Berna A. J., Restrepo S. Physiological and molecular characterization of *Phytophthora infestans* isolates from the Central Colombian Andean Region. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2013;30(2):81–87.
3. Eckardt N.A. Viral defense and counterdefense: a role for adenosine kinase in innate defense and RNA silencing. *Plant Cell*. 2003;15(12):2758–2761.
4. Fagerstedt K.V., Kukkola E.M., Koistinen V.V., Takahashi J., Marjamaa K. Cell wall lignin is polymerised by class III secreted plant peroxidases in Norway spruce. *Journal Integration Plant Biology*. 2010;52(2):186–194.
5. Ghosh M. Antifungal properties of haem peroxidase from *Acorus calamus*. *Annual Botany*. 2006;98(6):1145–1153.
6. Hooker W.J., Potter H.S. Late blight of potato and tomato. *Extencion bulletin*. 1967;(575):110–115
7. Thipyapong P., Hunt M.D., Steffens J.C. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. *Planta*. 2004;(220):105–117.
8. Vega-Sánchez M.E., Erselius L.J., Rodriguez A.M., Bastidas O., Hohl H.R., Ojiambo P.S., Mukalazi J., Forbes G.A. Host adaptation to potato and tomato within the US-1 clonal lineage of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*. 2000;(49):531–539.
9. Ye X.Y., Ng T.B. Isolation of a novel peroxidase from French bean legumes and first demonstration of antifungal activity of a non-milk peroxidase. *Life Science*. 2008;(71):667–1680.
10. Dorozhkina N.A., Remneva Z.I., Belskaya S.I., Psareva V.V. Late blight of potato and tomato. *Minsk, "Uradgay"*. 1976. 209 p.
11. Karimova V.K., Nechay N.L., Esimseitova A.K., Nurmaganbetova A.N., Izmaganbetova A.Zh., Kakimzhanova A.A. 2015. Use of *Phytophthora infestans* fungal isolates in cell selection of potatoes. *Biotechnology. Theory and practice*. 2015;(3):23–26. (In Russ.)
12. Sorokan A.V., Kuluev B.R., Burkhanova G.F., Maksimov I.V. RNA silencing of the anionic peroxidase gene reduces the resistance of potato plants to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Molecular biology*. 2014;48(5):814–823. (In Russ.)
13. Filippov A.V. Potato late blight. *Supplement to the journal "Plant Protection and Quarantine"*. 2012;(5):87. (In Russ.)