

М. В. Конопацкая, И. Г. Волчкевич

РУП «Институт защиты растений», аг. Прилуки, Минский р-н

СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДИК ОЦЕНКИ СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА КАРТОФЕЛЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS* (WOLL, 1923) BEHRENS

Дата поступления статьи в редакцию: 04.06.2024

Рецензент: канд. с.-х. наук Радивон В. А.

Аннотация. В статье изложены результаты сравнительной оценки устойчивости селекционного материала картофеля к *Globodera rostochiensis* (Woll, 1923) Behrens по стандартной и оптимизированной методикам и стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1). Показано, что при сравнительной оценке селекционных гибридов по стандартной и оптимизированной методикам отмечалось совпадение результатов по степени устойчивости к золотистой картофельной нематоде в 86,7 % случаях, а по оптимизированной методике и стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) – в 80,0 % случаях.

Ключевые слова: картофель, селекционный материал, глободероустойчивость, золотистая картофельная нематода, *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens

Введение. Глободероз картофеля до сих пор остается одной из наиболее вредоносных и опасных болезней картофеля, который при сильном поражении растений может на 70–90 % снизить урожайность культуры [1, 6]. Возбудители данного заболевания – цистообразующие картофельные нематоды (ЦКН) из рода *Globodera*: золотистая картофельная нематода (ЗКН, *G. rostochiensis* (Woll, 1923) Behrens) и бледная картофельная нематода (*G. pallida* (Stone, 1977)), которые являются объектом международного карантинного контроля и включены в список А2 Европейской организации по защите растений [12].

Во всех странах, имеющих очаги цистообразующих картофельных нематод, основным экологически безопасным приемом защиты картофеля является возделывание нематодоустойчивых сортов. Селекционные достижения Беларуси в повышении устойчивости картофеля к *G. rostochiensis* значительны. Так, в настоящее время в «Государственном реестре сортов» насчитывается 179 сортов картофеля, среди них 35 нематодоустойчивых сортов отечественной селекции [2].

Оценка сортообразцов на устойчивость к ЗКН является неотъемлемым звеном селекционного процесса. В настоящее время в Беларуси испытания сортообразцов картофеля различного генетического происхождения на глободероустойчивость проводят в лабораторно-полевых

условиях согласно методическим рекомендациям «Оценка сортов и гибридов картофеля на устойчивость...» (2001 г.) [10].

Однако селекционная работа в этом направлении осложняется тем, что существующие методы тестирования нематодоустойчивости очень трудоемки. Так, оценка степени устойчивости сортообразцов картофеля проводится с использованием биологического тестирования, основанного на учете количества цист на корневой системе растений. В то же время этот метод продолжительный по времени, и его результаты зависят от физиологического состояния исследуемых растений и условий окружающей среды. Кроме того, испытание селекционного материала на восприимчивость к *G. rostochiensis* проводится с использованием высокой инвазионной нагрузки ЗКН патотип Ro1 7 тыс. яиц и личинок (или 25–35 цист) на 100 см³ почвы. Устойчивость образцов определяют через 10 недель после появления всходов, когда на корнях растений появляются золотисто-желтые самки нематоды [10].

Также, необходимо различать не только восприимчивость сортообразца, но и степень устойчивости. Градация устойчивости проводится на основании шкалы, утвержденной в международных стандартах ЕОКЗР РМ 3/68 (1) [11]. Согласно данной тест-процедуре степень устойчивости сортов картофеля к нематоду устанавливается на основании статистических расчетов и определения коэффициента различий восприимчивости стандартного восприимчивого клона и восприимчивости испытываемого сортообразца.

В связи с этим, целью наших исследований являлось усовершенствование метода оценки устойчивости селекционного материала картофеля к *G. rostochiensis* на основе оптимизации плотности инвазионной нагрузки нематоды в почве, сокращения сроков проведения испытаний и трудовых затрат, а также сравнительная оценка устойчивости гибридов картофеля по стандартной и оптимизированной методикам и стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1).

Материалы и методы. Для проведения сравнительной оценки устойчивости к ЗКН по стандартной, оптимизированной методиками и по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) в 2022 г. было проанализировано 7 сортообразцов картофеля с известной степенью устойчивости, в 2023 г. – 15 сортообразцов картофеля, в том числе 4 – с известной степенью устойчивости к глободерозу и 11 – с изучаемой. В качестве эталона использовался восприимчивый сорт Вольтман. Повторность опыта 3-кратная.

При оценке по стандартной методике использовалась нагрузка в 7 тыс. яиц и личинок (или 25–35 цист) на 100 см³ почвы, оценка проводилась в вегетационно-полевых условиях. Оптимизированная методика включает в себя сниженную нагрузку – 3 тыс. яиц и личинок (или 15–20 цист) на 100 см³ почвы, а также выполнение опытов в контролируемых лабораторных условиях (температура 22 °С, фотопериод: 16 ч света и 8 ч темноты, достаточный полив).

Учет образовавшихся на видимой части корневой системы золотисто-желтых цист был проведен через 8 недель по оптимизированной и через 10 – по стандартной методикам после посадки картофеля. В зависимости от степени поражения, образцы относились к различным группам устойчивости [10]:

- 1 группа – 0 цист на корневую систему – устойчивые;
- 2 группа – 1–5 цист на корневую систему – слабопоражаемые;
- 3 группа – свыше 5 цист на корневую систему – восприимчивые.

Для определения нематодоустойчивости по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) по окончании вегетации растений картофеля проводили экстракцию и подсчет цист отдельно для каждого изолированного сосуда. Количество цист определяли флотационным методом. В литровый стакан высыпали 100 см³ просеянной почвы, которую затем заливали водой. Полученную взвесь отстаивали в течение 3–5 минут, после чего верхний слой жидкости со всплывшими цистами и органическими частицами пропускали через фильтр с ячейками размером 200 мкм вложенный в воронку диаметром 10–15 см. Далее полученный фильтрат просматривали под бинокляром и считали общее количество цист [7, 8, 9].

После подсчета общего количества цист в изолированных сосудах, рассчитывали относительную восприимчивость (ОВ) сортообразцов по формуле [11]:

$$ОВ = \frac{Pf(\text{проверяемого})}{Pf(\text{эталонного})} \times 100\%,$$

ОВ – это относительная восприимчивость, %; *Pf(проверяемого)* – конечная инвазионная нагрузка изучаемого сорта; *Pf(эталонного)* – конечная инвазионная нагрузка эталонного восприимчивого сорта.

По результатам дана бальная оценка устойчивости сорта в соответствии со стандартом ЕОКЗР РМ 3/68 (1) (таблица 1).

Таблица 1 – Параметры оценки глобдероустойчивости по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) [11]

Группа устойчивости	Относительная восприимчивость, %	Балл	Степень устойчивости
Устойчивые	<1	9	очень высокая
	1,1–3	8	высокая/очень высокая
	3,1–5	7	высокая
Слабопоражаемые	5,1–10	6	средняя/высокая
	10,1–15	5	средняя
	15,1–25	4	средняя/низкая
Восприимчивые	25,1–50	3	низкая
	50,1–100	2	низкая/очень низкая
	>100	1	очень низкая

Результаты исследований. Согласно литературным данным, испытание на глободероустойчивость считается достоверным, если корневая система восприимчивого эталонного растения поразится ЗКН в сильной степени.

Оценка корневой системы растений в период формирования нематодой золотисто-желтых цист показала, что на сортах картофеля Ласунак, Бриз и Юлия (восприимчивые к ЗКН) образовались золотисто-желтые цисты (во всех сортообразцах более 5 шт./растение), а сорта Нара, Водар, Скарб, и Уладар (устойчивые к ЗКН) – были свободны от инфекции (таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительная оценка стандартного и оптимизированного методов (РУП «Институт защиты растений»)

Сорт, гибрид	Год	Метод			
		стандартный	оптимизированный	стандартный	оптимизированный
		среднее количество цист на корневой системе*, цист/растение		глободероустойчивость	
Вольтман (эталон)	2022	13,3	35,7	восприимчивый	восприимчивый
	2023	8,8	29,5		
Ласунак	2022	24,0	109,7	восприимчивый	восприимчивый
	2023	36,1	54,8		
Бриз	2022	20,0	72,7	восприимчивый	восприимчивый
Юлия	2022	6,0	8,3	восприимчивый	восприимчивый
154023-96	2023	17,9	21,6	восприимчивый	восприимчивый
10255-8	2023	15,7	20,2	восприимчивый	восприимчивый
174149-32	2023	11,1	39,1	восприимчивый	восприимчивый
3765-19	2023	6,2	48,1	восприимчивый	восприимчивый
3668-1	2023	1,7	1,5	слабопоражаемый	слабопоражаемый
10049-85	2023	1,6	3,2	слабопоражаемый	слабопоражаемый
164080-3	2023	1,1	1,1	слабопоражаемый	слабопоражаемый
174138-19	2023	0,0	1,3	устойчивый	слабопоражаемый
189-18-1	2023	0,0	1,4	устойчивый	слабопоражаемый
Нара	2022	0,0	0,5	устойчивый	устойчивый
Водар	2022	0,0	0,0	устойчивый	устойчивый
Скарб	2022	0,0	0,7	устойчивый	устойчивый
	2023	0,0	0,0		
Уладар	2023	0,0	0,0	устойчивый	устойчивый
174109-8	2023	0,0	0,0	устойчивый	устойчивый
10049-80	2023	0,0	0,0	устойчивый	устойчивый

Примечание – «*» – учет проведен в желтую (золотистую) фазу развития ЗКН

Осмотр корней картофеля показал, что на оцениваемых гибридах образовались золотисто-желтые цисты ЗКН, по количеству которых изучаемые сортообразцы характеризовали как восприимчивые, слабопоражаемые или устойчивые. Так, при оценке по оптимизированной методике на корневой системе восприимчивых гибридов образовалось от 20,2 до 109,7 цист/растение, а по стандартной – от 6,2 до 36,1, на слабопоражаемых – соответственно от 1,1 до 3,2 и от 1,1 до 1,7 шт./растение. В то же время корневая система устойчивых гибридов была свободна от цист ЗКН, при проведении оценки по стандартной методике. Однако, при проведении оценки на глободероустойчивость по оптимизированной методике на двух сортообразцах (189-18-1 и 174138-19), которые по стандартной методике были отнесены к устойчивым, образовались золотисто-желтые цисты в количестве 1,3 и 1,4 шт./растение.

С целью определения конечной инвазионной нагрузки, через 12 недель после посадки картофеля в изолированные сосуды, был проведен анализ почвы, по результатам которого установлено, что итоговая популяция на эталонном сорте Вольтман составила 131,5 цист/растение, что позволило провести оценку исследуемых селекционных гибридов картофеля на устойчивость к ЗКН по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) (таблица 3).

Таблица 3 – Оценка глободероустойчивости гибридов картофеля по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) (РУП «Институт защиты растений», 2023 г.)

Сорт, гибрид	Конечная инвазионная нагрузка, цист/растение	Относительная восприимчивость, %	Балл устойчивости	Глободероустойчивость
Вольтман (эталон)	131,5	–	–	восприимчивый
Ласунак	71,7	54,5	2	восприимчивый
Скарб	2,2	1,6	8	устойчивый
Уладар	3,0	2,3	8	устойчивый
3765-19	173,6	132,0	1	восприимчивый
174149-32	123,0	93,5	2	восприимчивый
154023-96	85,7	65,1	2	восприимчивый
10255-8	90,1	68,5	2	восприимчивый
164080-3	30,9	23,5	4	слабопоражаемый
3668-1	22,3	17,0	4	слабопоражаемый
174138-19	5,2	3,9	7	устойчивый
189-18-1	4,3	3,3	7	устойчивый
174109-8	3,7	2,8	8	устойчивый
10049-85	3,2	2,4	8	устойчивый
10049-80	3,1	2,4	8	устойчивый

Проведенная оценка сортов Ласунак, Уладар и Скарб с известной степенью устойчивости к ЗКН, подтвердила их глободероустойчивость по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1).

Оценка исследуемых селекционных гибридов картофеля на устойчивость к ЗКН по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) позволила определить, что четыре сортообразца (3765-19, 174149-32, 154023-96, 10255-8) относятся к восприимчивым, что соответствует их характеристике и по стандартной методике. Однако если сравнивать группы слабопоражаемых и устойчивых сортов, отмечается расхождение в окончательной оценке по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) и стандартной методике (таблица 4). Так, по стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) было выделено 2 слабопоражаемых гибрида и 5 устойчивых. В то же время, согласно стандартной методике к слабопоражаемым сортам относятся 3 сортообразцов, а к устойчивым – 4.

При сравнительной оценке устойчивости селекционных гибридов к глободерозу по стандартной и оптимизированной методикам отмечалось совпадение результатов по 13 сортообразцам из 15 проанализированных (86,7 % случаев). Также, установлено, что при сравнительной оценке селекционных гибридов по оптимизированной методике и стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) отмечалось совпадение результатов по степени устойчивости к ЗКН (патотип Ro 1) по 12 сортообразцам из 15 оцениваемых (80,0 % случаев).

Таблица 4 – Характеристика глободероустойчивости гибридов и сортов картофеля по различным методикам (РУП «Институт защиты растений», 2023 г.)

Сорт, гибрид	Глободероустойчивость по методикам		
	стандартная	оптимизированная	стандарт ЕОКЗР РМ 3/68 (1)
Вольтман	восприимчивый	восприимчивый	восприимчивый
Ласунак	восприимчивый	восприимчивый	восприимчивый
Скарб	устойчивый	устойчивый	устойчивый
Уладар	устойчивый	устойчивый	устойчивый
3765-19	восприимчивый	восприимчивый	восприимчивый
10255-8	восприимчивый	восприимчивый	восприимчивый
174149-32	восприимчивый	восприимчивый	восприимчивый
154023-96	восприимчивый	восприимчивый	восприимчивый
164080-3	слабопоражаемый	слабопоражаемый	слабопоражаемый
3668-1	слабопоражаемый	слабопоражаемый	слабопоражаемый
10049-85	слабопоражаемый	слабопоражаемый	устойчивый
174138-19	устойчивый	слабопоражаемый	устойчивый
189-18-1	устойчивый	слабопоражаемый	устойчивый
174109-8	устойчивый	устойчивый	устойчивый
10049-80	устойчивый	устойчивый	устойчивый

Такое расхождение по степени устойчивости можно объяснить тем, что параметры оценочной шкалы, используемые в настоящее время, отражают сущность реакции сверхчувствительности к внедрению нематод, которая контролируется доминантными генами, но фенотипически проявляется медленно [3, 5]. Замедление реакции сверхчувствительности может быть связано с условиями развития растений картофеля, с неравномерностью внедрения фитогельминта и другими факторами [3, 10]. Кроме того, шкала, используемая в оптимизированном методе, очень жесткая и сортообразцы картофеля из 2-ой группы (слабопоражаемые) включаются в реестр как восприимчивые, хотя многие гибриды в ходе проведения биотеста могут образовывать только единичные цисты [4, 5], например, у гибридов 174138-19 и 189-18-1, на корневой системе образовалось в среднем соответственно только 1,3 и 1,4 цисты/растение, то есть реакция сверхчувствительности еще не до конца закрепились на фенотипическом уровне и в последствии они могут вести себя как устойчивые.

Таким образом, полученные данные по иммунологической оценке сортообразцов картофеля дают возможность использовать усовершенствованную оптимизированную методику для проверки исходного селекционного материала на глободероустойчивость.

Заключение. В 2022–2023 гг. определено, что на корневой системе восприимчивых сортообразцов образовались золотисто-желтые цисты глободеры в количестве от 6,2 до 109,7 цист/растение, слабопоражаемых – от 1,1 до 3,2 цист/растение, а устойчивые сортообразцы – свободны от инфекции.

Установлено, что при сравнительной оценке селекционных гибридов по стандартной и оптимизированной методикам отмечалось совпадение результатов по степени устойчивости к ЗКН в 86,7 % случаях, а по оптимизированной методике и стандарту ЕОКЗР РМ 3/68 (1) – в 80,0 % случаях.

Таким образом, на основании проведенных исследований усовершенствован метод оценки устойчивости селекционного материала к ЗКН, который включает в себя использование инвазионной нагрузки в количестве не менее 3 тыс. яиц и личинок на 100 см³ почвы, проведение предварительного испытания сортообразцов на глободероустойчивость второго года в зимний период в контролируемых климатических условиях, что позволяет снизить плотность инвазионной нагрузки в 2,5 раза, сократить сроки проведения испытаний на 1 год и перераспределить трудовые затраты в течении календарного года в сравнении со стандартной методикой.

Список литературы.

1. Ананьева, И. Н. Видовая идентификация, патотипический состав *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens и устойчивость картофеля к глободерозу: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.11 / И. Н. Ананьева; РНДУП «Ин-т защиты растений НАН Беларуси». – п. Прилуки, Минский р-н, 2005. – 20 с.
2. Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений [Электронный ресурс] / М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, ГУ «Гос. инспекция по испытанию и охране сортов растений»; отв. ред. В.А. Бейня. – Минск : [б. и.], 2023. – 300 с. – Режим доступа: <http://sorttest.by/reg/registry.php>. – Дата доступа: 8.11.2023.
3. Жукова, М. И. Изменчивость глободероустойчивости сортов картофеля / М. И. Жукова, Н. В. Павлючук, О. Н. Зубкевич // Картофелеводство: сб. науч. тр. / РУП «Науч.-практ. центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»; редкол.: С. А. Турко (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2010. – Т. 18. – С. 68–77.
4. Жукова, М. И. Современные проблемы и перспективы их преодоления при оценке устойчивости сортообразцов картофеля к глободерозу / М. И. Жукова, О. Н. Зубкевич, Н. Ю. Проскуренок // Защита растений: сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр НАН Беларуси по земледелию, Ин-т защиты растений; редкол.: Л. И. Трепашко (гл. ред.) [и др.]. – Невиж, 2008. – Вып. 32. – С. 159–171.
5. Как оценивать устойчивость картофеля к *Globodera rostochiensis*? Российскую шкалу пора привести в соответствие с европейской / Е. А. Симаков [и др.]. // Защита и карантин растений. – 2009. – № 1. – С. 28–29.
6. Лиманцева, Л. А. Золотистая картофельная нематода *Globodera rostochiensis* в Северо-западном регионе РФ: состав популяции, источники и доноры устойчивости: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.07 / Л. А. Лиманцева; ГНУ ВИР. – СПб, 2010. – 21 с.
7. Матвеева, М. А. Методические указания по выявлению цист картофельной нематоды в растительных материалах и в почве / М. А. Матвеева, Т. Н. Якубович, Л. С. Дроздов. – М. : «Колос», 1972. – 16 с.
8. Методические указания по выявлению, идентификации и ликвидации золотистой картофельной нематоды (*Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens) и бледной картофельной нематоды (*Globodera pallida* (Stone) Behrens) / А. В. Пискун [и др.]. – Минск : Колорград, 2017. – 24 с.
9. Методические указания по проведению регистрационных испытаний нематод для защиты картофеля от стеблевой (*Ditylenchus* spp.) и цистообразующих (*Globodera* spp.) нематод / М. В. Конопацкая [и др.]; Науч.-практ. центр НАН Беларуси по земледелию, Ин-т защиты растений. – Минск : Колорград, 2020. – 22 с.
10. Методические указания по оценке устойчивости льна к фузариозному увяданию, антракнозу и пасмо. Оценка сортов и гибридов картофеля на устойчивость к раку и глободерозу на совмещенном и раздельном фонах : метод. материал / БелНИИ защиты растений; сост.: Д. Е. Портянкин, Б. С. Толкачев. – Минск : [б. и.], 2001. – 24 с.
11. Тестирование сортов картофеля для оценки их устойчивости к *Globodera rostochiensis* и *Globodera pallida* [Электронный ресурс] // ГУ «Гл. гос. инспекция по семеноводству, карантину и защите растений». – Режим доступа: [https://ggiskzr.by/doc/mezhdunarodnoe-sotrudnichestvo/EPP0_PM_3-68\(1\)_ru.pdf](https://ggiskzr.by/doc/mezhdunarodnoe-sotrudnichestvo/EPP0_PM_3-68(1)_ru.pdf) – Дата доступа: 11.02.2024.
12. EPP0 A1 List of pests recommended for regulation as quarantine pests [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A1_list/ – Date of access: 11.02.2021.

M. V. Konopatskaya, I. G. Volchkevich

RUE «Institute of Plant Protection», Priluki, Minsk region

**COMPARISON OF VARIOUS METHODS FOR
EVALUATING POTATO BREEDING MATERIAL FOR
RESISTANCE TO *GLOBODERA ROSTOCHIENSIS*
(WOLL, 1923) BEHRENS**

Annotation. The article presents the results of a comparative assessment of the resistance of potato breeding material to *Globodera rostochiensis* (Woll, 1923) Behrens using standard and optimized methods and EPPO standard PM 3/68 (1). It was shown that in a comparative assessment of breeding hybrids using standard and optimized methods, there was a coincidence of results on the degree of resistance to *G. rostochiensis* in 86.7 % of cases, and according to the optimized method and EPPO standard PM 3/68 (1) – in 80.0 % cases.

Key words: potato, breeding material, resistance to *Globodera rostochiensis*, golden potato nematode, *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens.