

М. А. Стадниченко, ассистент кафедры ботаники

В. Д. Поликсенова, кандидат сельскохозяйственных наук,
доцент кафедры ботаники

Белорусский государственный университет, г. Минск

МЕТОДИКА И ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ТОМАТА И ПЕРЦА К ВОЗБУДИТЕЛЮ СЕРОЙ ГНИЛИ

РЕЗЮМЕ

*Серая гниль (возбудитель *Botrytis cinerea* Pers.) – распространенное заболевание культур перца и томата. Патоген относится к группе некотрофных паразитов, не обладает специфичностью, что затрудняет создание устойчивых сортов пасленовых культур. Усовершенствованная методика искусственного заражения и модифицированная шкала оценки поражения позволяют дифференцировать генотипы томата и перца по степени устойчивости.*

Ключевые слова: серая гниль, ботритиоз, перец, томат, методика, фитопатологическая оценка, устойчивость, поражаемость.

ВВЕДЕНИЕ

Возбудитель серой гнили (*Botrytis cinerea* Pers.) ежегодно отмечается на культуре перца и томата. Болезнь широко распространена и наиболее вредоносна в годы с обильными атмосферными осадками в загущенных посадках открытого грунта, а также в пленочных и остекленных теплицах при чрезмерном поливе и неравномерном распределении воздушных потоков. Первичными источниками инфекции являются конидии и склеротии патогена, сохранившиеся в почве, на растительных остатках, на поверхности культивационных сооружений и инвентаря в межвегетационный период [11]. Гриб, как правило, проникает через ранки, устьица, но при определенных условиях может проникать через неповрежденные ткани [1]. Заражению подвержены все части растения – стебли, листья, верхушки побегов, плоды, цветочные кисти. Стеблевая форма наиболее вредоносна, так как приводит к быстрой и полной гибели растений [13]. Как правило, молодые растения более устойчивы к серой гнили и начинают болеть с фазы плодоношения при травмировании во время ухода.

Цикл развития *B. cinerea* достаточно сложен и включает септированный мицелий, плеоморфное конидиальное спороношение (микро- и макроконидии), видоизменение в виде склеротиев, содержащих много гаплоидных и разнокачественных ядер. Конидиеносцы многоклеточные, более или менее разветвленные, оканчивающиеся зубчиками, на которых расположены тесно скученные конидии (рис. 1, а). Склеротии серовато-белые, потом почти черные, с бугорчатой поверхностью (рис. 1, б). Крайне редко встречается сумчатая стадия

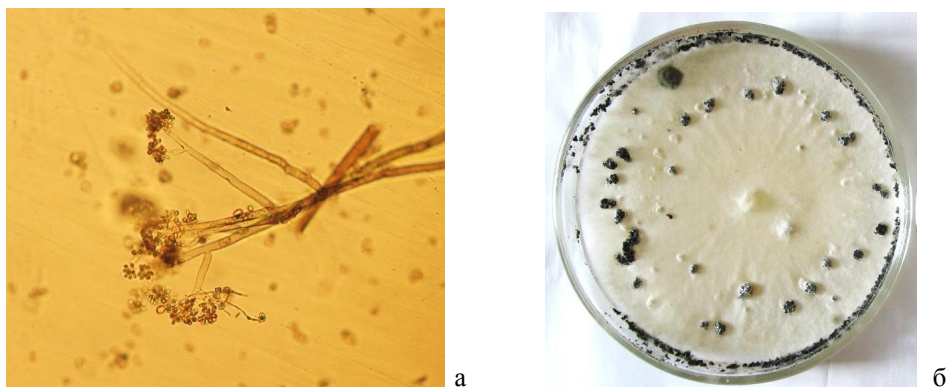


Рисунок 1 – Конидиеносцы с конидиями (а) и склеротии (б) патогена

(телеоморфа *Botryotinia fuckeliana* de Bary), которая образуется на мертвом субстрате и не играет существенной роли в распространении патогена.

Симптомы ботритиоза на томатах проявляются начиная с периода плодообразования, особенно при повышенной, хотя бы кратковременно, влажности воздуха. На зеленых плодах вначале образуются мелкие, водянистые пятна, которые со временем увеличиваются в размерах, сливаются и охватывают весь плод [10, 11, 14]. На листьях и стеблях возможно развитие некроза, который резко ограничен от живых тканей и достаточно быстро развивается (рис. 2). В сухую погоду пораженная ткань отмирает, спороношения практически не образуется, но при повышении влажности появляются типичные признаки со спороношением патогена [13].

В закрытом грунте болезнь чаще всего появляется на поверхности стебля в местах излома черешков или кистей. На поверхности стебля появляются бурые пятна, которые быстро развиваются и охватывают стебель по периметру. Внутри стебля наблюдается разрушение сосудов ксилемы и клеток



Рисунок 2 – Симптомы ботритиоза на стеблях томата

коры, растения вначале отстают в росте, а затем увядают. Развитие болезни усиливается, когда резко понижается температура. При повышенной влажности воздуха поражаются также плоды и цветки, на которых пятна имеют округлую форму. Все пораженные части растений покрываются обильным спороношением серого цвета (рис. 3, а). Инфекция распространяется воздушными потоками, с брызгами воды, а также во время сбора плодов и ухода за растениями.

На культуре перца серая гниль в основном развивается в пленочных теплицах на ослабленных растениях или на поврежденных слизнями плодах. На них появляются слегка вдавленные пятна оливково-зеленого цвета, которые со временем охватывают весь плод (рис. 4). На плодах образуется мягкая гниль. Водянистая пятнистость может появляться и на других частях растений: стеблях, листьях и цветках [10, 11]. Поражение распространяется очень быстро, при этом образуя зоны в виде мокнущих, неправильной формы пятен. В условиях высокой влажности на пораженных местах появляется серый налет, представляющий собой бесполое спороношение возбудителя, конидиеносцы с конидиями (рис. 3, б). Споры легко переносятся на соседние плоды и листья и вызывают их заражение.

Оптимальной температурой для прорастания конидий и развития мицелия является 20–26 °С при 95 %-й относительной влажности воздуха [6]. Влага на растениях способствует не только прорастанию спор возбудителя, но и

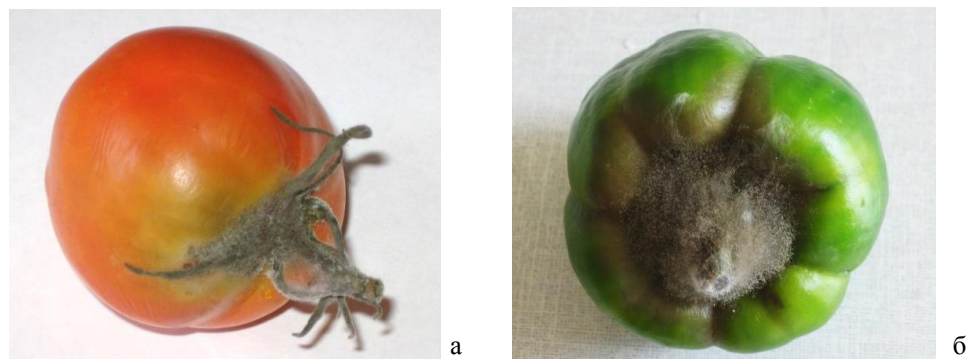


Рисунок 3 – Спорношение возбудителя серой гнили на плодах томата (а) и перца (б)



Рисунок 4 – Некроз и гниль со склероциями на плодах перца, пораженных серой гнилью

стимулирует первоначальное развитие гриба за счет питательных веществ, которые поступают из клеток питающих растений. После того, как гифы гриба проникают внутрь тканей растений, наличие жидкой влаги становится необязательным. *B. cinerea* относится к группе некротрофных паразитов. Обладая токсичными продуктами обмена веществ, гриб предварительно умерщвляет растительные ткани, а затем использует их для сапротрофного питания [14]. Число и природа ферментов, вырабатываемых паразитом, зависят от субстрата и внешних факторов, поэтому скорость роста патогена в период его внедрения и дальнейшего развития в разных условиях может быть очень различной и непредсказуемой.

Возбудитель серой гнили не является узкоспециализированным патогеном, и это исключает наличие иммунных и высокоустойчивых к нему форм. Поэтому для практической селекции интерес могут представлять толерантные и слабопоражаемые образцы [7, 8]. Примерами таких сортообразцов являются гибриды томата для пленочных теплиц Пилигрим F₁, Васильевна F₁ (агрофирма «Ильинична»), оранжевоплодный сорт Руфина (ВНИИССОК). В немногочисленных различных источниках и практической селекции оценку устойчивости томата рекомендуют проводить на естественном инфекционном фоне [7, 12]. Для томата предлагаются методики искусственного заражения плодов, листовых дисков, молодых растений, стеблей [7]. Однако критерии отбора относительно устойчивых форм не приведены. Для культуры перца отсутствуют как рекомендации по методикам искусственного заражения, так и критерии отбора относительно устойчивых форм. Вместе с тем все исследователи стремятся учитывать специфику взаимоотношений растения и патогена, специфику поражения разных органов растений. Так, например, для более эффективной оценки и отбора лука репчатого по признаку устойчивости к серой гнили при хранении были введены промежуточные баллы [16]. Для оценки поражения серой гнилью тюльпанов была использована шкала со своими особенностями [4]. Таким образом, общие существующие методики искусственного заражения и отбора нуждаются в корректировке и адаптации применительно к каждой патосистеме (культуре и возбудителю болезни). В связи с этим важной задачей является экспериментальное обоснование и усовершенствование методических подходов к дифференциации исходного и селекционного материала по устойчивости к серой гнили с учетом поражаемости генотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований служили 38 сортообразцов перца и томата белорусской и зарубежной селекции, предоставленных РУП «Институт овощеводства» (плоды перца) и сортоучастком КУП «Минская овощная фабрика» (отделенные листья), а также боковые побеги (пасынки) из частной коллекции томата. Для инокуляции использовали высокоагрессивный изолят возбудителя серой гнили, выделенный из пораженного плода томата (из коллекции чистых культур кафедры ботаники БГУ). Споры гриба (концентрация

3–4 × 10³ спор/мл) предварительно инкубировали 1,5–2 часа при температуре 20–22 °С в 0,1 М растворе глюкозы для стимулирования прорастания. При заражении листьев от каждого образца растений отбирали по 3 конечных доли 3-го листа от верхушки главного побега. Инокулом с помощью дозаторной пипетки наносили локально на нижнюю сторону листовой доли в область средней жилки, предварительно сделав укол иглой.

Заражение плодов перца производили путем нанесения суспензии спор на их стерильную боковую поверхность, прокалывая кожицу плода. Инокулом на пасынки растений томата наносили диффузно путем опрыскивания. После обработки инокулированные части растений помещали во влажную камеру (95–100 %-я относительная влажность) для стимулирования заражения и дальнейшего развития болезни. Учет развития болезни проводили на 5-й и 10-й день для листьев, на 7-й и 15-й день для плодов с момента инокуляции. Степень поражения при искусственном заражении определяли глазомерно по 5-балльной шкале ВИЗР [9]:

0 – поражение отсутствует;

1 – поражено до 25 % поверхности органа;

2 – поражено до 50 %;

3 – поражено до 75 %;

4 – поражено до 100 %.

Развитие болезни (в %) вычисляли по следующей формуле:

$$R = (\sum(ab) / 4N) \times 100,$$

где R – развитие болезни, %;

$\sum(ab)$ – сумма частот баллов;

a – число растений (органов), пораженных определенным баллом b ;

b – балл поражения;

N – всего учтенных растений (пораженных органов);

4 – высший балл шкалы учета [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Один из способов, применяемых в селекционной работе при фитопатологической оценке – это искусственное внесение инфекционного материала. Важным элементом методики инокуляции является учет количества инфекционной нагрузки и жизнеспособность спор [3]. Нами была проведена серия опытов по изучению условий прорастания конидий гриба *B. cinerea*. Количество инфекционной нагрузки сказывается уже в самом начале заражения. Отмечено, что споры гриба лучше прорастают в массе, чем одиночные конидии, но при увеличении споровой нагрузки (200–300 спор при увеличении микроскопа × 100) происходит самоингибирование, процент проросших конидий снижается. Так, одиночные споры совсем не проросли, а при концентрации 70–100 спор в поле зрения микроскопа × 100 проросло 45 % спор. С добавлением сока листьев перца или томата (1 : 1), а также в 0,1 М растворе глюкозы количество проросших спор существенно увеличивается (рис. 5). Нами экспериментально установлено,

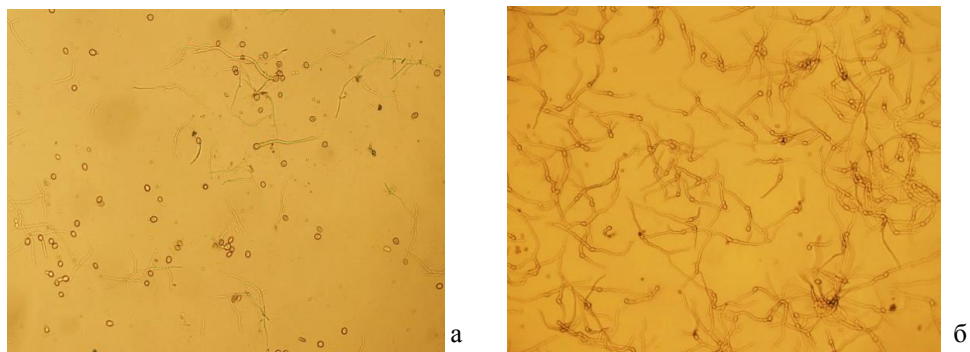


Рисунок 5 – Прорастание спор гриба *B. cinerea* в воде (а) и в растворе глюкозы (б)

что максимальное поражение листьев перца и томата при искусственном заражении наблюдалось при концентрации инокулюма 40–45 спор в поле зрения микроскопа «ZEISS» $\times 400$, или $3\text{--}4 \times 10^3$ спор/мл [15].

Ранее нами была показана значительная неоднородность популяции возбудителя серой гнили по патогенности и агрессивности [12]. В связи с этим рекомендуется для более эффективной оценки ботритиозоустойчивости растений томата и перца на искусственном инфекционном фоне применять высокоагрессивный изолят или составлять инокулюм из нескольких изолятов *B. cinerea*. Подобное мнение высказывают и другие исследователи на основе анализа полиморфизма популяции и полигенности признака вирулентности у *B. cinerea* [17, 18].

В популяции томата и перца, несмотря на отсутствие иммунных источников устойчивости, присутствует варьирование по особенностям поражаемости серой гнилью, поэтому возможен отбор лишь относительно устойчивых генотипов. Но эту относительную устойчивость надо выявить. В связи с этим предлагаем проводить оценку степени устойчивости сортообразцов перца и томата по модифицированной нами шкале, составленной с учетом развития болезни (табл. 1).

Результаты искусственного заражения томата и перца показали, что все образцы поражались серой гнилью. Эффективное заражение связано с созданием провокационных условий – повышением инфекционной способности спор патогена за счет добавления глюкозы, использованием высокоагрессивного изолята гриба с подобранной концентрацией конидий в суспензии, помещением частей растений в условия высокой влажности. Учитывая балл поражения и степень развития болезни, нами проведена фитопатологическая оценка сортообразцов на устойчивость к возбудителю серой гнили (табл. 2–4).

Таблица 1 – Шкала оценки устойчивости томата и перца к серой гнили

Развитие болезни, %	Характеристика реакции сортообразца
До 10	Очень слабopажаемый
11–30	Слабopажаемый
31–50	Среднепоражаемый
51–70	Сильнопоражаемый
71–100	Высоковосприимчивый

Таблица 2 – Поражение плодов перца возбудителем серой гнили и характеристика сортообразца

Сортообразец	Средний балл поражения		Развитие болезни, %	Характеристика
	через 7 дней	через 15 дней		
Тройка	0,6	1,8	29,2	Слабопоражаемый
Булноссе	1,4	1,8	29,5	Слабопоражаемый
Колобок	1,8	3,9	93,8	Высоковосприимчивый
Кубанелла	1,3	3,3	81,3	Высоковосприимчивый
Александр	0,5	1,5	33,4	Среднепоражаемый
Sweet-banana	0,7	2,7	65,6	Сильнопоражаемый
Квадрат гигант	1,6	3,3	84,0	Высоковосприимчивый
Оранж Вондер	0,3	1,5	28,0	Слабопоражаемый
Гуадротто	0,3	0,9	18,8	Слабопоражаемый
Дружок	0,9	2,8	71,9	Высоковосприимчивый
Пионер	1,8	3,3	81,0	Высоковосприимчивый
Ганнибал	1,7	3,4	85,7	Высоковосприимчивый
Оранж кубический	2,1	4,0	100,0	Высоковосприимчивый
Паланочка Бабура	1,6	2,8	67,5	Сильнопоражаемый
Надия	0,5	2,6	65,6	Сильнопоражаемый
Капучино	1,2	2,9	72,0	Высоковосприимчивый
Звезда Востока (красные)	0,7	1,3	30,2	Среднепоражаемый
Звезда Востока (красные в белом)	0,8	2,2	52,0	Сильнопоражаемый
Горький	1,3	3,0	75,0	Высоковосприимчивый

Таблица 3 – Поражение пасынков томата возбудителем серой гнили и характеристика сортообразца

Сортообразец	Средний балл поражения на 7-й день	Развитие болезни, %	Характеристика
Желтоплодные	2,8	80,0	Высоковосприимчивый
Лежебок	1,8	45,0	Среднепоражаемый
Свинг F ₁	1,5	37,5	Среднепоражаемый
Хохлома	3,5	87,5	Высоковосприимчивый
Багата хата	3,5	85,0	Высоковосприимчивый
Вишня желтая (черри)	1,5	37,5	Среднепоражаемый
Вишня красная (черри)	2,9	72,5	Высоковосприимчивый
Вежа	1,4	35,0	Среднепоражаемый

Таблица 4 – Поражение листьев томата возбудителем серой гнили и характеристика сортообразца

Сортообразец	Средний балл поражения		Развитие болезни, %	Характеристика
	через 5 дней	через 10 дней		
Агденис	0,4	1,0	22,7	Слабопоражаемый
Агденис-2	0,5	0,8	19,3	Слабопоражаемый
Раисса	0,8	1,1	25,0	Слабопоражаемый
Радикал	0,7	1,2	29,2	Слабопоражаемый
Барселона	0,9	1,8	39,5	Среднепоражаемый
Фортуна	0,6	1,5	31,3	Среднепоражаемый
Лоридана	1,0	2,0	45,8	Среднепоражаемый
Эмоушн	0,9	1,7	35,4	Среднепоражаемый
№ 72503	1,3	2,0	45,7	Среднепоражаемый

К слабопоражаемым сортообразцам перца были отнесены Гуадротто, Тройка (районированный сорт белорусской селекции), Булноссе, Оранж Вондер, степень развития болезни составила 18,8–29,5 % (см. табл. 2). Звезда Востока (красные) и Александр отмечены как среднепоражаемые (степень развития болезни 30,2 и 33,4 % соответственно), остальные сортообразцы характеризовались как сильнопоражаемые или высоковосприимчивые к возбудителю серой гнили, где степень развития болезни колебалась от 51 до 100 %.

Не отмечено слабопоражаемых образцов томата при искусственном заражении пасынков (см. табл. 3), к среднепоражаемым сортам были отнесены Лежебок, Свинг F₁, Вишня желтая и Вежа, где степень развития болезни составила 35–45 %. Наиболее восприимчивые оказались томаты сортообразцов Желтоплодные, Хохлома, Багата хата и Вишня красная.

Все образцы томатов, представленные Минской овощной фабрикой, показали достаточно высокий уровень устойчивости к возбудителю ботритиоза (см. табл. 4), сильнопоражаемых и высоковосприимчивых сортов не отмечено. Вероятно, сорта, выращиваемые в тепличном комбинате, обладают комплексной устойчивостью к фитопатогенам. Кроме того, листья, которые подвергались заражению, имели утолщенный мезофилл и кутинизированный эпидермис, что затруднило инфицирование. Сортообразцы Агденис, Агденис-2, Раисса и Радикал охарактеризованы как слабопоражаемые, у них степень развития болезни колебалась от 19,3 до 25,0 %, остальные образцы были среднепоражаемые.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами была усовершенствована методика искусственного заражения возбудителем серой гнили и модифицирована шкала оценки поражения для отбора относительно устойчивых сортообразцов томата и перца. Слабо- и среднепоражаемые сортообразцы могут быть рекомендованы для выращивания в условиях Беларуси и дальнейшей селекции на устойчивость к патогену.

Список использованных источников

1. Болезни и вредители овощных культур / В. Г. Иванюк [и др.]. – Минск: Ураджай, 1994. – 352 с.
2. Внутривидовой полиморфизм гриба *Botrytis cinerea* Pers., выделенного с овощных растений сем. Solanaceae / В. Д. Поликсенова [и др.] // Биология, систематика и экология грибов в природных экосистемах и агрофитоценозах: материалы Междунар. науч. конф., Минск, 20–24 сент. 2004 г. – Минск: ИООО «Право и экономика», 2004. – С. 192–195.
3. Гешеле, Э. Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений / Э. Э. Гешеле. – Л.: Колос, 1978. – 206 с.
4. Головченко, Л. А. Возбудители серой гнили декоративных растений в Республике Беларусь / Л. А. Головченко, В. А. Тимофеева // Ботаника (исследования): сб. науч. тр. – Минск, 2009. – Вып. 37. – С. 316–326.
5. Инфекционные и инвазийные фоны в селекции сельскохозяйственных культур: метод. указания и задания / БГСХА; сост.: Е. В. Равков, М. Г. Шекунова. – Горки, 1994. – С. 15–16.
6. Лихачев, А. Н. Токсинообразование как признак внутривидового разнообразия и специализации у возбудителей серой гнили / А. Н. Лихачев // Микология и фитопатология. – 1998. – Т. 32, вып. 6. – С. 52–57.
7. Методические указания по селекции и семеноводству овощных культур, возделываемых в защищенном грунте (томат, перец). – М.: Акад. с.-х. наук, 1976. – С. 52–56.
8. Методы повышения устойчивости сельскохозяйственных культур к болезням / Н. А. Дорожкин [и др.]. – Минск: Наука и техника, 1982. – 216 с.
9. Методы экспериментальной микологии (справочник) / под ред. В. И. Билай. – Киев: Наукова думка, 1989. – 608 с.
10. Определитель болезней растений / М. К. Хохряков [и др.]. – 3-е изд., испр. – СПб.: Лань, 2003. – 592 с.
11. Пивоваров, В. Ф. Пасленовые культуры в Нечерноземной зоне России (томат, перец, баклажан, физалис) / В. Ф. Пивоваров, М. И. Мамедов, Н. И. Бочарникова. – М., 1998. – 295 с.
12. Пинчук, Е. В. Оранжевоплодный сорт Руфина и перспективы его использования в селекционных программах создания новых форм томата для защищенного грунта / Е. В. Пинчук // Овощи России. – 2018. – № 1. – С. 50–55.
13. Поликсенова, В. Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений / В. Д. Поликсенова. – Минск: БГУ, 2008. – 159 с.
14. Попкова, К. В. Общая фитопатология / К. В. Попкова. – М.: Дрофа, 2005. – 399 с.
15. Стадниченко, М. А. Количественная и качественная сторона инфекционной нагрузки гриба *Botrytis cinerea* Pers. / М. А. Стадниченко // Грибы в природных и антропогенных экосистемах: материалы Междунар. конф., посвящ. 100-летию начала работы проф. А. С. Бондарцева в Ботан. ин-те им. В. П. Комарова РАН, СПб., 24–28 апр. 2005 г. – СПб.: Бостон-спектр, 2005. – С. 213–216.

16. Храмцов, А. К. Фитопатоконплексы с участием грибов рода *Botrytis Micheli* на луке репчатом (*Allium cepa* L.) при хранении / А. К. Храмцов // Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Хим., биол., геогр. – 2004. – № 1. – С. 64–68.

17. Breeze, E. Shades of Gray: Genetic Interactions of the Gray Mold, *Botrytis cinerea*, with Wild and Domesticated Tomato / E. Breeze. – Plant Cell. – 2019. – Vol. 31, № 2. – P. 280– 281.

18. Interactions of Tomato and *Botrytis cinerea* Genetic Diversity: Parsing the Contributions of Host Differentiation, Domestication, and Pathogen Variation / N. E. Soltis [et al.]. – Plant Cell, 2019. – Vol. 31, № 2. – P. 502–519.

Поступила в редакцию 17 октября 2019 г.

M. A. Stadnichenko, V. D. Poliksenova

METHODOLOGY AND ASSESSMENT OF TOMATO AND PEPPER RESISTANCE TO CAUSATIVE AGENT OF GREY MOLD

SUMMARY

Grey mold (causative agent Botrytis cinerea Pers.) is a common disease of pepper and tomato crops. The pathogen belongs to the group of necrotrophic parasites, does not have specificity, which makes it difficult to create resistant varieties of the Solanaceae crops. The improved technique of artificial infection and the modified scale of assessment of defeat allow to differentiate tomato and pepper genotypes according to their resistance degree.

Key words: grey mold, botrytis disease, pepper, tomato, methodology, phytopathology assessment, resistance, susceptibility.