

Патогенность Московского изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в отношении культуры свеклы столовой

С. А. ВЕТРОВА, Е. Г. КОЗАРЬ, К. С. МУХИНА, В. А. ЗАЯЧКОВСКИЙ

Федеральный научный центр овощеводства, ул. Селекционная, 14, пос. ВНИИССОК, Одинцовский р-н, Московская обл., 143080, Российская Федерация

Резюме. Исследования проводили с целью оценки патогенных свойств Московского изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в отношении растений свеклы столовой для выделения источников устойчивости к нему на основе иммунологической оценки *in vitro* сортовых и гибридных популяций свеклы столовой. Изолят *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* выделяли с пораженных корнеплодов свеклы столовой и идентифицировали с использованием фитопатологических и молекулярных методов. Заражение растений свеклы столовой проводили в серии независимых опытов: путем погружения черешка отделенных листьев в бактериальную суспензию патогена и инфильтрации в паренхиму листа; путем инокуляции высечек корнеплодов пяти популяций свеклы столовой в шестикратной повторности. Контроль – стерильная вода. Бактериальную суспензию концентрацией 1×10^8 КОЕ/мл готовили на основе двухсуточной культуры (среда LB). Установлена высокая агрессивность Московского изолята бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в отношении разных органов растений свеклы столовой. При инфильтрации бактериальной суспензии на поверхности паренхимы листовой пластинки уже на 2...3 сутки образовывались водянистые округлые и эллипсовидные пятна диаметром 3...5 мм, а на 10 сутки наблюдали полное побурение и усыхание всей листовой пластины. Существует сортоспецифичность реакции по характеру распространения патогена при инокуляции дисков корнеплодов *in vitro*. Наименьший средний показатель глубины зоны поражения зафиксирован у сорта Одростковская – 1,2 мм, объема зоны поражения у сорта Любава – 55 мм³, сорт Маруся поражался сильнее других исследуемых генотипов – соответственно 1,7 мм и 235 мм³. Выявлен внутривидовой полиморфизм проанализированных сортов по уровню устойчивости индивидуальных корнеплодов к *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*. В пределах каждого из них отобраны лучшие отдельные генотипы с наименьшей степенью поражения при искусственной инокуляции и в результате инбридинга получено семенное потомство для дальнейшей селекции на иммунитет.

Ключевые слова: свекла столовая (*Beta vulgaris* L.), *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, патогенность, устойчивость, симптомы бактериоза.

Сведения об авторах: С. А. Ветрова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник (e-mail: lana-k2201@mail.ru); Е. Г. Козарь, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник; К. С. Мухина, аспирант; В. А. Заячковский, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник.

Для цитирования: Патогенность Московского изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в отношении культуры свеклы столовой / С. А. Ветрова, Е. Г. Козарь, К. С. Мухина и др. // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 10. С. 63–69. doi: 10.53859/02352451_2024_38_10_63

Pathogenicity of Moscow isolate of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in relation to red beet crop

S. A. Vetrova, E. G. Kozar', K. S. Mukhina, V. A. Zayachkovskii

Federal Scientific Center of Vegetable-Growing, ul. Selektionnaya, 14, pos. VNISSOK, Odintsovskii r-n, Moskovskaya obl., 143080, Russian Federation

Abstract. The studies were conducted to evaluate the pathogenic properties of the Moscow isolate *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in relation to beet plants to identify sources of resistance to it based on the *in vitro* immunological assessment of varietal and hybrid populations of beet. The isolate *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* was isolated from affected beet roots and identified using phytopathological and molecular methods. Beet plants were infected in a series of independent experiments: by immersing the petiole of separated leaves in a bacterial suspension of the pathogen and infiltrating into the leaf parenchyma; by inoculating root cuttings of five beet populations in six replicates. Control – sterile water. Bacterial suspension with a concentration of 1×10^8 CFU/ml was prepared on the basis of a two-day culture (LB medium). High aggressiveness of the Moscow isolate of the bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* towards different organs of red beet plants was established. During infiltration of the bacterial suspension on the surface of the leaf blade parenchyma, watery round and elliptical spots with a diameter of 3–5 mm were formed already on the 2nd–3rd day, and on the 10th day, complete browning and drying of the entire leaf blade was observed. There is variety-specificity of the reaction by the nature of the pathogen spread during inoculation of root crop disks *in vitro*. The smallest average value of the depth of the affected zone was recorded for the Odnorostkovaya variety – 1.2 mm, the volume of the affected zone for the Lyubava variety – 55 mm³, the Marusya variety was affected more strongly than other studied genotypes – 1.7 mm and 235 mm³, respectively. Intrapopulation polymorphism of the analysed varieties was revealed by the level of resistance of individual root crops to *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*. Within each of them, the best individual genotypes with the lowest degree of damage during artificial inoculation were selected and, as a result of inbreeding, seed progeny was created for further selection for immunity.

Keywords: red beet (*Beta vulgaris* L.); *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*; pathogenicity; resistance; symptoms of bacterial blight

Author Details: S. A. Vetrova, Cand. Sc. (Agr.), senior research fellow (e-mail: lana-k2201@mail.ru); E. G. Kozar', Cand. Sc. (Agr.), leading research fellow; K. S. Mukhina, post graduate student; V. A. Zayachkovskii Cand. Sc. (Agr.), senior research fellow.

For citation: Vetrova SA, Kozar' EG, Mukhina KS, et al. [Pathogenicity of Moscow isolate of *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in relation to red beet crop]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(10):63–9. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_10_63

Значительные потери урожая при выращивании свеклы вызывают различные болезни. Зачастую в условиях открытого грунта отмечают смешанную вирусную, бактериальную и грибную инфекции [1]. В связи с изменениями запросов рынка и сельскохозяйственного производства, а также широким использованием в селекции свеклы столовой цитоплазматической мужской стерильности, раздельноплодности и других селекционно ценных и хозяйственно значимых признаков, возрастает потребность в генетически

разнообразном исходном материале [2]. Однако, при обмене семенами и маточными корнеплодами между регионами и странами существует вероятность занесения и распространения ранее незарегистрированных болезней различной этиологии. Развитию болезней способствует ряд факторов: различная устойчивость сортов и гибридов, климатические условия, обилие насекомых-переносчиков, несоблюдение агротехнических мероприятий, необходимых для нормального роста и развития растений [3].

Поражение растений бактериозами приводит к угнетению роста, быстрому отмиранию пораженных тканей или полной гибели всего растения, и как следствие, к значительным потерям урожая, ухудшению товарности продукции и снижению сроков ее хранения [4, 5]. Растения свеклы поражают 11 видов бактерий, нанося вред на разных стадиях развития – от проростков до корнеплодов. Наибольший вред растениям столовой, сахарной и кормовой свеклы причиняет рак корней (*Agrobacterium tumefaciens*), который широко распространен во всех зонах возделывания и проявляется в виде наростов разного размера на корнеплодах, в редких случаях на листьях [6]. В ряде работ сообщают о возрастании вредоносности сосудистого бактериоза, распространившегося на культуре сахарной свеклы в Центрально-Черноземном регионе. Сосудистый бактериоз проявляется в увядании листьев, потере тургора корнеплодов во второй половине вегетации вследствие развития бактерий в сосудистой системе и выделения ими токсических веществ [7]. Предполагают, что «сосудистый бактериоз» вызывает комплекс патогенных бактерий из родов *Pectobacterium* spp., *Pseudomonas* spp. и *Pantoea agglomerans* [8, 9].

Особую опасность для растений представляют бактериозы, которые по симптоматике сходны с грибными болезнями, что затрудняет их своевременную идентификацию. К таковым относят бактериальный ожог и бактериальная пятнистость листьев, возбудители – *Pectobacterium carotovorum* subsp. *betavascularum* и *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*. Эти болезни сосудисто-паренхиматозного характера могут поражать сахарную, кормовую и столовую свеклу на всех стадиях развития (проростки, вегетирующие растения и корнеплоды). Пораженные проростки обычно погибают или вырастают с перетяжкой корневой шейки. У взрослых растений появляются пятна на листьях круглой или неправильной формы, от 5 до 20 мм в диаметре, от светло- до темно-коричневого цвета, которые часто окружены темной каймой или «водянистым» кольцом. При дальнейшем развитии возбудители системно поражают сосуды листьев, черешков и стеблей растений, с дальнейшим проникновением в корнеплод, вызывая побурение сосудистых пучков [6, 9]. Патогены сохраняются в пораженных семенах, в грунте на остатках больных растений, в виде внутренней инфекции маточных корнеплодов без внешнего проявления симптомов бактериоза [6].

Бактериальные болезни встречаются во всех зонах возделывания свеклы, но развитие заболевания протекает наиболее интенсивно в южных регионах с жарким и сухим климатом. Однако симптомы бактериальной листовой пятнистости очень схожи с признаками поражения листьев церкоспорозом, а симптомы бактериального ожога – с фузариозным увяданием [7], поэтому эти заболевания долгое время не фиксировали на посевах свеклы в Российской Федерации. Первое сообщение об эпифитотии бактериального ожога в условиях Краснодарского края появилось только в 2017 г., где было зарегистрировано поражение 50 % производственных посевов свеклы сахарной. Позже, в результате широкого фитомониторинга в Краснодарском крае (сахарная свекла) и в Московской области (столовая свекла), изучения диагностических признаков штаммов возбудителей, выделенных с пораженных бактериозом растений, был также обнаружен фитопатогенный вид *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* [10].

Своевременное выделение и точная идентификация возбудителей способствуют не только контролю распространения новых вредоносных болезней на посевах и посадках свеклы столовой, разработке эффективных

способов борьбы для предотвращения их развития, но также в рамках опережающей селекции дают возможность оценить селекционный и коллекционный материал и выделить источники устойчивости к этим видам возбудителей.

Цель исследования – изучение патогенных свойств Московского изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в отношении растений свеклы столовой и выделение источников устойчивости на основе иммунологической оценки *in vitro* коллекционного и перспективного селекционного материала.

Условия, материалы и методы. Фитосанитарный мониторинг развития бактериальной инфекции на корнеплодах после хранения осуществляли в 2019–2023 гг. в Одинцовском районе Московской области на базе опытно-производственного отдела и лаборатории селекции и семеноводства столовых корнеплодов ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства.

Работу по выделению и изучению патогенных свойств выделенных изолятов *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* проводили в лаборатории молекулярно-иммунологических исследований, подтверждение видового статуса изолятов бактерий осуществляли методом молекулярного маркирования в ООО ИЦ «ФитоИнженерия» (г. Москва). Полная схема проведения видовой идентификации с подробным описанием использованных праймеров и методик представлена в работе А.Н. Игнатова и др. [10].

Материалом для исследования служили: московские изоляты *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, выделенные из пораженных растений свеклы столовой, выращенных в открытом грунте Московской области; отделенные листья и корнеплоды сортов свеклы столовой селекции ФГБНУ ФНЦО и коллекционных образцов иностранной селекции.

Выращивание растений свеклы столовой осуществляли согласно общепринятым методикам в поле основного севооборота и пленочной теплице (Буренин В. И., Пивоварова Н. С., Власова Э. А. Методические указания по изучению и поддержанию мировой коллекции корнеплодов. Л.: ВНИИР им. Вавилова, 1989. 88 с.). Предшествующими культурами в зависимости от года выращивания были капуста, огурец, лук, томаты. Почва опытного участка – дерново-подзолистая тяжелосуглинистая с мощностью пахотного горизонта 20...23 см, характеризуется следующими агрохимическими показателями: pH_{KCl} – 5,6...6,1 (потенциометрический метод), содержание гумуса – 1,8...2,0 % (по Тюрину), подвижный фосфор (P_2O_5) – 420...480 мг/кг (по Кирсанову), калий (K_2O) – 165 мг/кг (по Кирсанову), сумма обменных оснований (S) – 18,9 мг-экв./100 г (трилометрический по Каппену-Гильковицу).

Метеорологические условия в периоды вегетации 2019, 2021 и 2022 гг. можно охарактеризовать как теплые и засушливые (рис. 1, 2). Температура воздуха в среднем за вегетацию в 2019 г. превышала среднесезонную на 1,3 °C, в 2021–2022 гг. – на 2,5 °C. В летние месяцы среднесуточная температура была выше среднесезонной на 1,5...3,6 °C, при дефиците осадков (ГТК = 0,6...1,4). Период вегетации 2020 г. отличался прохладным и влажным летом (ГТК = 2,8). Температура воздуха в среднем за вегетацию составляла 13,3 °C, что на 3,2 °C ниже нормы. Вегетационный период 2023 г. характеризовался неравномерным выпадением осадков, с наименьшим их количеством в августе (40 % от нормы, ГТК = 0,5). В июле количество выпавших осадков превышало среднесезонное количество на 36 % (ГТК = 2,1).

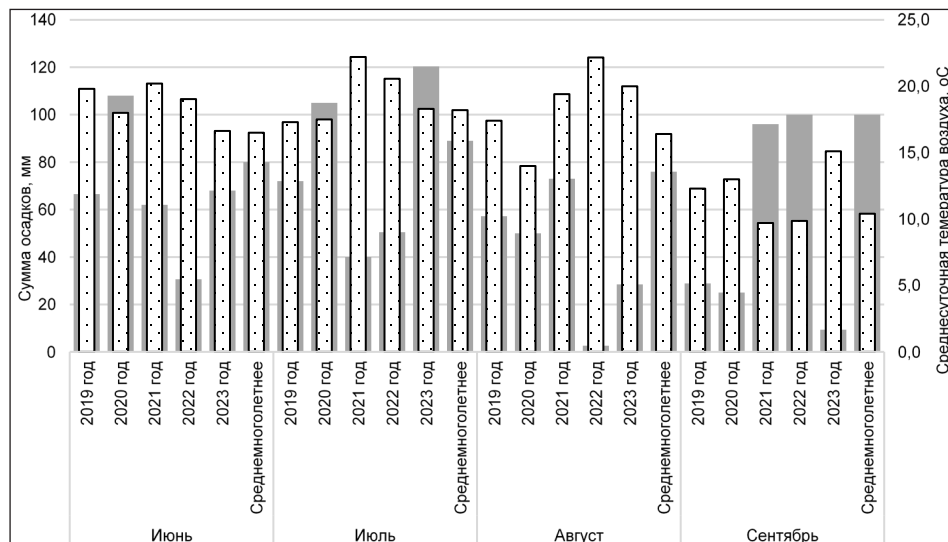


Рис. 1. Сумма осадков и среднесуточная температура воздуха в периоды вегетации свеклы столовой в годы исследований: □ – сумма осадков, мм; ■ – среднесуточная температура воздуха, °C.

Во время уборки товарные корнеплоды каждого образца без признаков поражения болезнями помещали в сетки и закладывали в контейнеры на хранение во второй декаде сентября. Хранение осуществляли в овощехранилище при температуре 1...2 °C и влажности 90...92 %, в течение семи месяцев (до II декады апреля).

Фитосанитарное обследование в период хранения *in vivo*, выбраковку и анализ пораженных корнеплодов при весеннем анализе с идентификацией видового состава фитопатогенов проводили по соответствующим методикам и определителям (Schaad N. W. *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria* (3rd ed). St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2001. Р. 3; Билай В. И., Элланская И. А. *Основные микологические методы в фитопатологии. Методы экспериментальной микологии*. К.: Наукова думка, 1982. С. 418–430). Учитывали число корнеплодов, пораженных бактериальной гнилью, с дальнейшим расчетом распространённости (Р %) бактериоза по стандартной формуле: $P = n/N \times 100$, где n – число пораженных корнеплодов, N – общее число учетных корнеплодов.

Корнеплоды с симптомами поражения бактериозом, после фоторегистрации, тщательно промывали под водопроводной водой, затем подвергали поверхностной стерилизации, погружая в 50 % раствор гипохлорита

натрия на 5 мин, после чего дважды промывали в стерильной воде. Для получения чистых культур возбудителей, кусочки ткани с пораженных частей корнеплодов отделяли препаровальной иглой или скальпелем и высевали в чашки Петри на питательную агаризованную среду LB (Luria Bertani Broth, Miller), с последующими пассажами до получения чистых культур. Изоляты выращивали в термостате при температуре 28 °C.

Для изучения патогенных свойств выделенного изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* и оценки устойчивости растений свеклы столовой прово-

дили в серии независимых опытов с использованием различных вариантов заражения. Изолят культивировали на питательной среде LB в течение 48 ч при температуре 28 °C и готовили в стерильной водопроводной воде бактериальную суспензию концентрацией $\times 10^8$ КОЕ/мл. В качестве тест-объектов использовали корнеплоды и листья четырех сортов свеклы столовой селекции ФГБНУ ФНЦО и гибрида иностранной селекции Ред Марио.

В первом опыте работу проводили на отделенных листьях двух сортов свеклы столовой Бордо односемянная и Любава. Листья поверхностно стерилизовали 70 % этанолом с последующей промывкой стерильной водой. Заражение проводили двумя способами: 1) путем инфильтрации бактериальной суспензии в паренхиму листа в районе центральной жилки с помощью шприца, с дальнейшим погружением черешка листа в емкость со стерильной водой; 2) путем погружения черешка отделенного листа непосредственно в пробирку с бактериальной суспензией патогена. В контролях обоих вариантов использовали стерильную воду. Опыт закладывали в четырехкратной повторности (по четыре растения каждого сорта). Симптомы и характер распространения симптомов поражения (пятна, увядание, высыхание) регистрировали в динамике ежесуточно в течение 10 суток.

Во второй серии опытов использовали метод инокуляции высечек (дисков) корнеплодов (Самохвалов А. Н. *Методы селекции овощных растений на устойчивость к болезням*. М.: АО «Моспромстройматериалы», 1997. 206 с.) пяти популяций свеклы столовой (Маруся, Любава, Бордо односемянная, Одноростковая, Ред Марио) в шестикратной повторности. Для этого, после стерилизации, отрезали 1/3 боковой части пронумерованных маточных корнеплодов, делили на диски размером 4×3×1 см

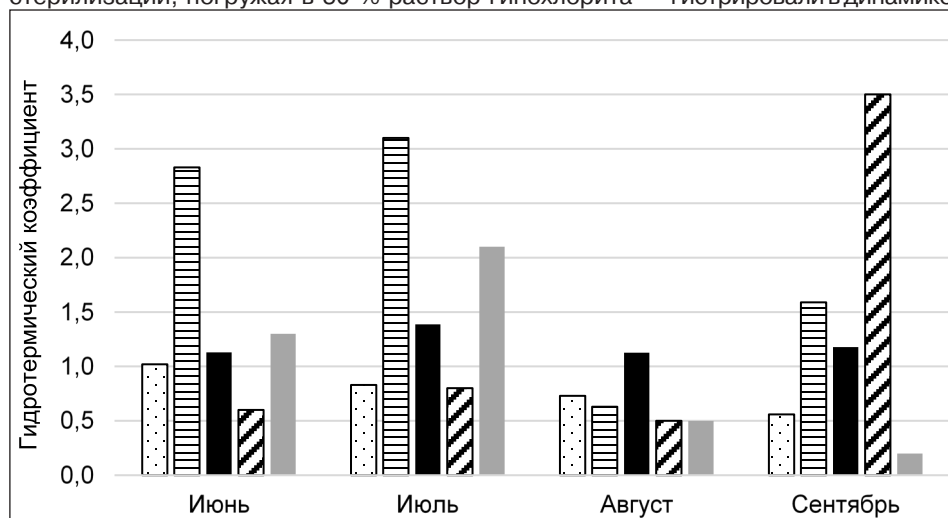


Рис. 2. Гидротермический коэффициент по месяцам вегетации свеклы столовой в годы исследований: □ – 2019 г., ▨ – 2020 г., ■ – 2021 г., ▤ – 2022 г., ▩ – 2023 г.

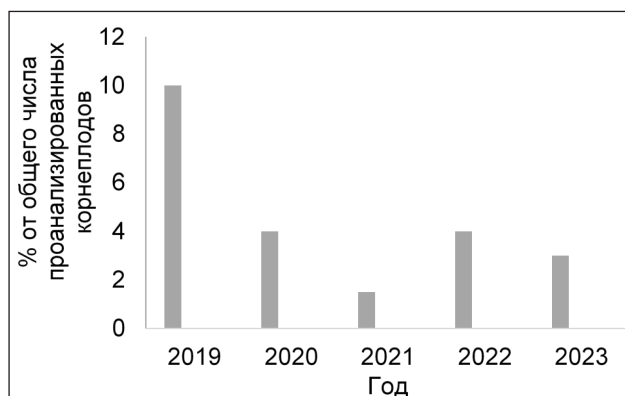


Рис. 3. Доля корнеплодов свеклы столовой, пораженных бактериозами в разные годы исследований.

и помещали в пластиковые контейнеры. Затем в центральной части дисков стерильной иглой от шприца делали два укола глубиной 3 мм на расстоянии примерно 1 см друг от друга и дозированно вносили по 200 мкл инокулята в каждый прокол. В контейнерах создавали условия влажной камеры и помещали в

Дифференциацию маточных корнеплодов по группам устойчивости (ГУ) осуществляли в зависимости от показателя степени развития болезни (R , %) по следующей градации: У – устойчивые ($R = 0\%$, $V_p < 10 \text{ мм}^3$); ОУ – относительно устойчивые ($R = 1...20\%$, $V_p = 10...100 \text{ мм}^3$), СВ – средневосприимчивые ($R = 21...50\%$, $V_p = 101...500 \text{ мм}^3$) и В – восприимчивые ($R > 50\%$, $V_p > 500 \text{ мм}^3$).

На основании иммунологической оценки отбирали наиболее устойчивые к *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* корнеплоды и высаживали в отдельные изоляторы для скрещиваний и получения семенного потомства.

В ходе работы оценивали объем и глубину зоны поражения. Статистический анализ экспериментальных данных проводили методами дисперсионного анализа с использованием пакета ANOVA программы Microsoft Excel 2016 для Windows 10 и Statistical 7.0. Расчет HCP_{05} средней арифметической ($\bar{x}$), стандартного отклонения (Sx) и коэффициента генетической вариации (Cv , %) (Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М: Агропромиздат, 1985. 351 с.). Для определения значимости различий в патогенности бактерии *Pseudomonas*

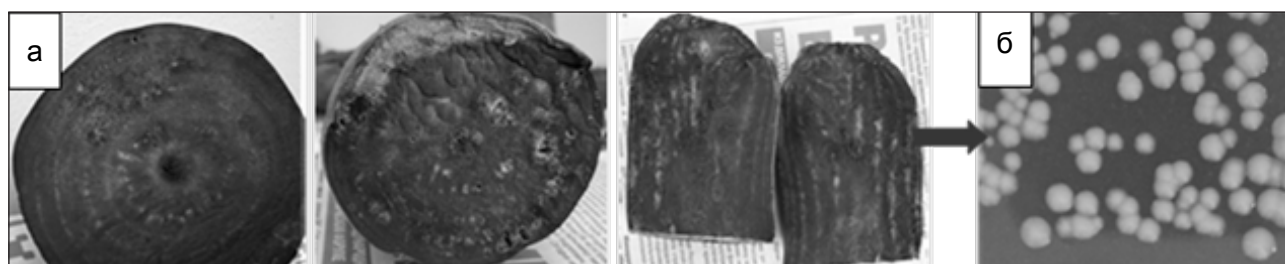


Рис. 4. Характер проявления симптомов при поражении корнеплодов свеклы столовой *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* на естественном инфекционном фоне (а) и внешний вид колоний возбудителя (б) на питательной агаризованной среде LB (2019 г.).

термостат при температуре 28°C . Учет степени поражения оценивали на десятые сутки после заражения, измеряя диаметр и глубину с последующим расчетом объема зоны поражения (V_p , мм^3), который считают наиболее информативным критерием оценки агрессивности патогенов и уровня устойчивости генотипов корнеплодных культур [11].

syringae pv. *aptata* относительно испытанных сортов свеклы столовой использовали тест Дункана с вероятностью 95 % ($p \leq 0,05$) (Duncan D. B. Multiple Range and Multiple F Tests // Biometrics. 1955. Vol. 11. No. 1. P. 1–42).

Результаты и обсуждение. В результате ежегодной фитопатологической экспертизы было показано, что наибольший ущерб корнеплодным культурам во время хранения в условиях Московской области наносит кагатная гниль, вызываемая комплексом фитопатогенов. Основу патогенного комплекса, как правило, составляют грибы из родов: *Fusarium* spp. (фузариоз), *Phoma* spp. (фомоз), *Alternaria* spp. (черная сухая гниль) [12, 13]. Вместе с тем, были зарегистрированы корнеплоды, пораженные бактериозом, распространенность которого в разные годы исследований изменялась от 2 % в 2021 г. до 10 % в 2019 г. (рис. 3).

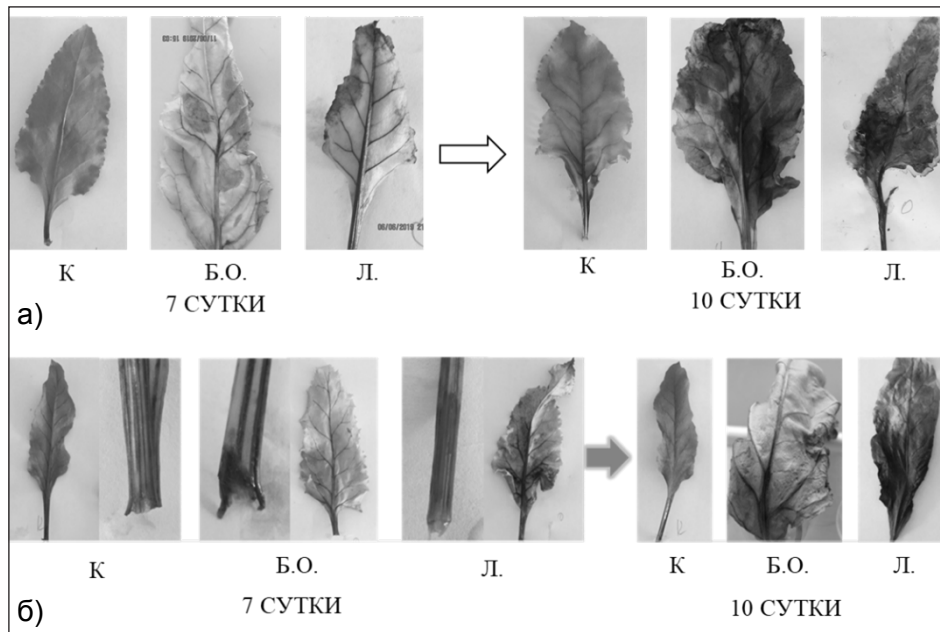


Рис. 5. Симптомы поражения листьев свеклы столовой на 7 и 10 сутки при инокуляции каплями бактериальной суспензии паренхимы листа (а) и при системном поражении путем погружения черешка листа в бактериальную суспензию (б): К – контроль; Б.О. – Бордо односемянная; Л. – Любава.

В ходе анализа, помимо часто встречаемой бактериальной гнили, вызываемой бактериями рода *Pectobacterium*, при визуальном обследовании образцов южного происхождения на разрезе корнеплодов без внешних признаков по-

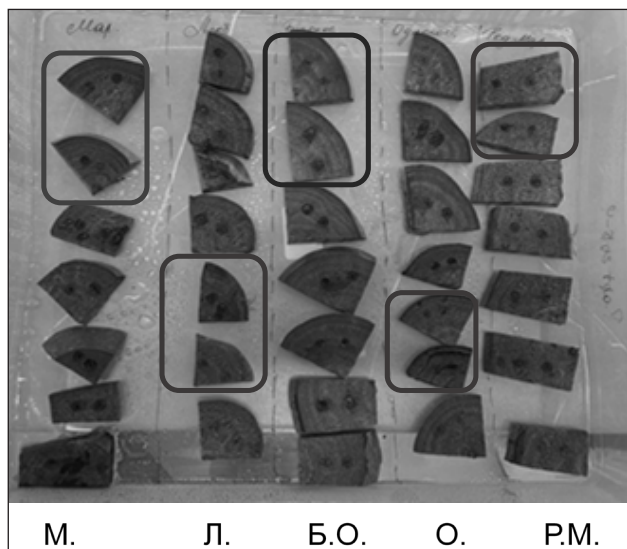


Рис. 6. Характер проявления симптомов при искусственном заражении корнеплодов образцов свеклы столовой *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* на 7 сутки после заражения: М. – Маруся; Л. – Любава; Б.О. – Бордо односемянная; О. – Одноростковая; Р.М. – Ред Марио F₁ (рамкой обведены высечки корнеплодов с наименьшим поражением в пределах сорта).

ражения, наблюдали сухой некроз в зоне сосудистых пучков, в виде продольных некрозов бурой окраски с образованием полости (рис. 4 а). Во влажной камере в области пораженных участков отмечали появление капель бактериального экссудата. При посеве на питательную среду выросли колонии серо-белого цвета, круглые, в форме яичницы-глазуньи, слегка флуоресцирующие (см. рис. 4 б).

Согласно результатам молекулярного анализа, выделенный изолят бактерий с указанными симптомами поражения, отнесен к виду *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*.

Поскольку в большинстве случаев *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* возбудитель бактериальной пятнистости листьев и очень редко проявляется в виде сосудистого бактериоза корнеплодов, в первой серии опытов изучение патогенных свойств выделенного изолята проводили на отделенных листьях двух сортов свеклы столовой – Любава и Бордо односемянная. По результатам теста была показана высокая агрессивность анализируемого изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*. При инфильтрации бактериальной суспензии на поверхности паренхимы листовой пластинки у обоих

анализируемых сортов уже на 2...3 сутки образовались водянистые округлые и эллипсовидные пятна диаметром 3...5 мм. По мере развития болезни пятна приобретали бурую окраску с подсохшими темно-коричневыми краями и на 7 сутки достигали диаметра до 12 мм. Пятна были видны с адаксиальной и абаксиальной сторон листа. У сорта Любава наблюдали подсыхание и скручивание кончика листа. На 10 сутки у обоих сортов зафиксировано практически полное побурение и усыхание всей листовой пластины (рис. 5).

При погружении черешка листа в бактериальную суспензию у сорта Любава на вторые сутки появились симптомы в виде продолговатых некрозов на центральной жилке. На седьмые сутки в опытном варианте у обоих сортов наблюдали начало ослизнения основания черешка. Кроме этого, у сорта Любава зарегистрированы бурые расплывчатые пятна, в большей степени выраженные у основания листовой пластинки и занимающие около 40 % всей поверхности листа. На десятые сутки у сорта Любава было поражено уже около 80 % листовой пластинки. Пораженная ткань приобрела темно-коричневую, почти черную окраску. У сорта Бордо односемянная наблюдали потерю тургора, краевой некроз и постепенное усыхание ткани листовой поверхности, начиная с основания листовой пластины (см. рис. 5). При обоих способах заражения из пораженных тканей были реизолированы бактерии с идентичными характеристиками колоний, что и испытываемый изолят из пораженных тканей сосудов корнеплодов, то есть подтверждены постулаты Коха.

При анализе результатов искусственной инокуляции дисков корнеплодов суспензией изолята *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, помимо расчетного показателя «объем зоны поражения», важным критерием служила глубина поражения. Эти два показателя дают более полное представление о характере развития патогена в тканях корнеплода и позволяют выявить сортоспецифичность реакции на заражение пяти образцов свеклы столовой. При заражении дисков корнеплодов бактериальной суспензией наблюдали симптомы в виде черных пятен различной формы, как правило, с четкой границей, впоследствии с образованием скудного бактериального экссудата на поверхности пораженной зоны (рис. 6).

По характеру распространения инфекции в тканях корнеплода между сортами отмечены некоторые различия. Так, у гибрида Ред Марио патоген медленно проникал вглубь тканей - до 1 мм на седьмые сутки, и преимущественно распространялся по поверхности диска корнеплода, что определило быстрое увеличение объема зоны поражения до 162 мм³. У сорта Любава, напротив, в первую очередь наблюдали быстрое поражение внутренних тканей, с дальнейшим постепенным расширением внешнего диаметра зоны поражения по поверхности диска. В результате к моменту учета опыта глубина поражения дисков этого сорта была больше чем

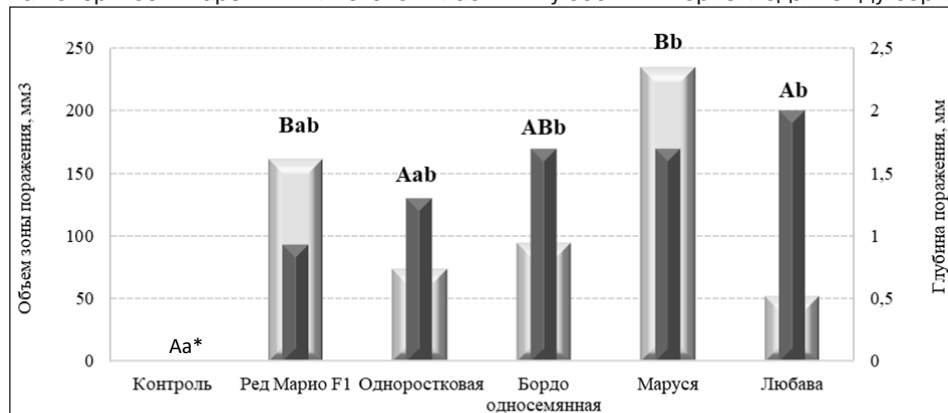


Рис. 7. Объем и глубина зоны поражения дисков корнеплодов разных сортов свеклы столовой при искусственном заражении *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*.: ■ – объем зоны поражения, мм³; ■ – глубина поражения, мм; * – существенность различий с вероятностью 95 % согласно тесту Дункана между сортами по показателю «объем зоны поражения» обозначена заглавными буквами (А, В), по «глубине поражения» – прописными (а, в).

глубина поражения дисков этого сорта была больше чем

Таблица. Характеристика индивидуальных генотипов популяций свеклы столовой по устойчивости к *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* по результатам искусственного заражения в условиях *in vitro*

Номер корнеплода	Средний объем зоны поражения, мм ³	Средняя глубина поражения, мм	Группа устойчивости
Любава			
1*	36	1,5	ОУ
2	102	2,8	СВ
3*	11	0,8	ОУ
4	101	3,1	СВ
5	41	1,3	ОУ
6	39	1,2	ОУ
x	55	2,0	-
Sx	38	1,0	-
Cv%	68	58	-
Одноростковая			
1*	77	1,0	ОУ
2	101	2,3	СВ
3*	13	0,5	ОУ
4	101	1,2	СВ
5	84	0,5	ОУ
6	109	1,7	СВ
x	81	1,2	-
Sx	36	0,7	-
Cv	44	58	-
Бордо односемянная			
1*	30	1,5	ОУ
2*	72	1,8	ОУ
3	91	0,8	СВ
4	169	2,1	СВ
5	112	1,0	СВ
6	109	1,0	СВ
x	97	1,4	-
Sx	47	0,5	-
Cv	48	39	-
Маруся			
1*	29	2,3	ОУ
2	573	1,5	В
3	103	1,3	СВ
4	257	1,3	СВ
5	270	1,5	СВ
6	180	2,1	СВ
x	235	1,7	-
Sx	189	0,4	-
Cv	80	26	-
Ред Марио F1			
1	162	1,5	СВ
2	135	1,0	СВ
3	191	0,8	СВ
4	170	1,1	СВ
5	130	0,9	СВ
6	179	1,2	СВ
x	161	1,1	-
Sx	24	0,3	-
Cv	15	24	-
HCP	05 частных различий	40	0,2

*отобранные для дальнейших исследований корнеплоды с наименьшим объемом зоны поражения дисков при искусственной инокуляции.

у других изученных образцов, в среднем на 0,3...0,9 мм, а объем зоны поражения, напротив, был наименьшим, и составлял 55 мм³.

Максимальный средний объем зоны поражения зафиксирован при инокуляции дисков сорта Маруся, который был больше, чем у всех изученных образцов в 1,4...4,5 раза, а глубина зоны поражения составляла 1,7 мм и была сравнима с сортами Бордо односемянная и Любава (рис. 7).

Во всех исследуемых сортах свеклы столовой выявлена индивидуальная вариабельность по устойчивости генотипов к штамму *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* – от относительно устойчивых до восприимчивых, соот-

ношение которых отвечает за уровень устойчивости популяции в целом. В пределах изученных сортовых популяций наибольшая доля корнеплодов (67 %) с объемом зоны поражения до 100 мм³, соответствующем группе относительно устойчивых, выделена в сорте Любава. В сортах Одноростковая и Бордо односемянная зона поражения у половины изученных корнеплодов также не превышала 100 мм³, тогда как у сорта Маруся – 67 % инокулированных корнеплодов поражаются в большей степени и были отнесены к средневосприимчивым. В гибридной популяции Ред Марио большинство инокулированных корнеплодов незначительно отличались между собой по объему зоны поражения и все были отнесены к группе средневосприимчивых (см. табл.).

По итогам последующей иммунологической оценки маточных корнеплодов перед высадкой, в пределах каждого сорта были отобраны корнеплоды с наименьшим объемом зоны поражения дисков, которые высаживали в индивидуальные изоляторы с целью получения инбредных потомств и дальнейшего поиска источников устойчивости свеклы столовой к бактериозу, вызываемому *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, для создания отечественных сортов и гибридов в селекции на иммунитет (см. табл.).

Выводы. В результате проведенных исследований доказана высокая агрессивность Московского изолята бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в отношении разных органов рас-

тений свеклы столовой при искусственной инокуляции: появление некротических пятен на отделенных листьях уже на 2...3 сутки и полная гибель на 10 сутки; на высеках корнеплодов быстрое увеличение объема зоны поражения, который на 7 сутки превышал 100 мм³ у 60 % инокулированных корнеплодов.

Выявлена сортоспецифичность реакции по характеру распространения патогена при инокуляции дисков корнеплодов *in vitro*. Наименьшая усредненная глубина зоны поражения зафиксирована у сорта Одноростковая (1,2 мм), а ее объем – у сорта Любава (55 мм³). Сильнее других исследуемых генотипов поражался сорт Маруся – соответственно 1,7 мм и 235 мм³. Выявлен внутривидовой

ляционный полиморфизм проанализированных сортов по уровню устойчивости индивидуальных корнеплодов к *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*. В зависимости от образца коэффициенты варьирования показателей «объем зоны поражения» и «глубина поражения» составляли 15...80 % и 24...58 % соответственно. В пределах каждого из них отобраны лучшие отдельные генотипы с наименьшей степенью поражения, при искусственной инокуляции и в результате инбридинга получено семенное потомство для дальнейшей селекции на иммунитет. Доля отобранных относительно устойчивых генотипов составляла 17...67 % в зависимости от сорта, или 33 % от общего числа проанализированных маточных корнеплодов.

Литература.

1. *Fusarium species causing pepper wilt in Russia: Molecular identification and pathogenicity* / I. Engalycheva, E. Kozar, S. Frolova, et al. // *Microorganisms*. 2024. Vol. 12. No. 2. Article 343. <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/2/343> (дата обращения: 10.05.2024). doi: 10.3390/microorganisms12020343.
2. *Factors to affect inbred beet plants while developing material for linear selection* / M. I. Fedorova, E. G. Kozar, S. A. Vetrova, et al. // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019. Vol. 4. No. 23. P. 439–447. doi: 10.18699/VJ19.512.
3. *Sharma S., Cramer C. S. Selection progress for resistance to Fusarium basal rot in short-day onions using artificial inoculation mature bulb screening* // *Horticulturae*. 2023. Vol. 9. No. 1. Article 99. doi: 10.3390/horticulturae9010099.
4. *Genetic diversity and pathogenicity of Pseudomonas syringae pv. Aptata isolated from sugar beet* / I. Nolic, S. Stankovic, T. Dimkic, et al. // *Plant Pathology*. 2018. Vol. 67. P. 1194–1207. doi: 10.1111/ppa.12831.
5. Егорова М. И., Пузанова Л. Н., Смирнова Л. Ю. Разработка дескрипторов для органолептической оценки сахарной свеклы с идентификацией болезней // *Достижения науки и техники АПК*. 2020. Т. 34. № 1. С. 56–61. doi: 10.24411/0235-2451-2020-10111.
6. Лазарев А. М., Попов Ф. А. Бактериозы свеклы // *Защита и карантин растений*. 2014. № 12. С. 27–29.
7. Герр Е. С., Стогниенко О. И. Гнили сахарной свеклы, сопряженные с повреждениями минующими фитофагами // *Биосфера*. 2022. Т. 14. № 4. С. 295–299. doi: 10.24855/biosfera.v14i4.696.
8. О дрім-генотипировании возбудителей бактериозов картофеля, их антагонистов и бактерий-деструкторов для решения задач защиты растений и экологии / В. П. Терлецкий, А. М. Лазарев, И. И. Новикова и др. // *Сельскохозяйственная биология*. 2021. Т. 56. № 5. С. 910–923. doi: 10.15389/agrobiology.2021.5.910rus.
9. Селиванова Г. А. Болезни сахарной свеклы при интенсификации технологии выращивания культуры // *Земледелие*. 2013. № 4. С. 31–35.
10. Ожог листьев и гниль корнеплодов сахарной свеклы, вызванные *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* в Российской Федерации / А. Н. Игнатов, Ю. С. Паньчева, М. В. Воронина и др. // *Сахар*. 2018. № 7. С. 14–17.
11. Скрининг коллекционных образцов моркови столовой и поиск источников устойчивости к белой гнили / Т. О. Тихонова, Е. Г. Козарь, И. А. Енгальчева и др. // *Таврический вестник аграрной науки*. 2023. № 4 (36). С. 159–173. doi: 10.5281/zenodo.10280831.
12. Оценка устойчивости селекционного материала свеклы столовой к болезням хранения / С. А. Ветрова, Е. Г. Козарь, И. А. Енгальчева и др. // *Биосфера*. 2022. Т. 14. № 4. С. 282–287.
13. Скрининг селекционных линий свеклы столовой по устойчивости к фомозу / С. А. Ветрова, Е. Г. Козарь, И. А. Енгальчева и др. // *Таврический вестник аграрной науки*. 2023. Т. 4. № 36. С. 38–50.

References

1. Engalycheva I, Kozar E, Frolova S, et al. *Fusarium species causing pepper wilt in Russia: Molecular identification and pathogenicity*. *Microorganisms* [Internet]. 2024 [cited 2024 May];12(2): Article 343. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/2/343>. doi:10.3390/microorganisms12020343.
2. Fedorova MI, Kozar EG, Vetrova SA, et al. *Factors to affect inbred beet plants while developing material for linear selection*. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;4(23):439-47. doi: 10.18699/VJ19.512.
3. Sharma S, Cramer CS. *Selection progress for resistance to Fusarium basal rot in short-day onions using artificial inoculation mature bulb screening*. *Horticulturae*. 2023;9(1): Article 99. doi:10.3390/horticulturae9010099.
4. Nolic I, Stankovic S, Dimkic T, et al. *Genetic diversity and pathogenicity of Pseudomonas syringae pv. Aptata isolated from sugar beet*. *Plant Pathology*. 2018;67:1194-207. doi: 10.1111/ppa.12831.
5. Egorova MI, Puzanova LN, Smirnova LY. [Development of descriptors for organoleptic evaluation of sugar beet with disease identification]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2020;34(1):56-61. doi: 10.24411/0235-2451-2020-10111. Russian.
6. Lazarev AM, Popov FA. [Beet bacterioses]. *Zashchita i karantin rastenij*. 2014;(12):27-9. Russian.
7. Gerr ES, Stognienko OI. [Sugar beet rot associated with damage by mining phytophages]. *Biosfera*. 2022;14(4):295-9. doi: 10.24855/biosfera.v14i4.696. Russian.
8. Terletsky VP, Lazarev AM, Novikova II, et al. [On dream genotyping of potato bacteriosis pathogens, their antagonists and destructive bacteria for solving plant protection and ecology problems]. *Sel'skhozaystvennaya biologiya*. 2021;56(5):910-23. doi: 10.15389/agrobiology.2021.5.910rus. Russian.
9. Selivanova GA. [Diseases of sugar beet in the intensification of crop cultivation technology]. *Zemledelie*. 2013;(4):31-5. Russian.
10. Ignatov AN, Panycheva YuS, Voronina MV, et al. [Leaf burn and rot of sugar beet root crops caused by *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* in the Russian Federation]. *Sakhar*. 2018;(7):14-7. Russian.
11. Tikhonova TO, Kozar EG, Engalycheva IA, et al. [Screening of collection samples of table carrots and the search for sources of resistance to white rot]. *Tavricheskij vestnik agrarnoj nauki*. 2023;(4):159-73. Russian. doi: 10.5281/zenodo.10280831.
12. Vetrova SA, Kozar EG, Engalycheva IA, et al. [Assessment of the resistance of the breeding material of table beet to storage diseases]. *Biosfera*. 2022;14(4):282-7. Russian.
13. Vetrova SA, Kozar EG, Engalycheva IA, et al. [Screening of table beet breeding lines for resistance to phomosis]. *Tavricheskij vestnik agrarnoj nauki*. 2023;4(36):38-50. Russian.

Поступила в редакцию 26.05.2024 После доработки 17.06.2024 Принята к публикации 11.09.2024