



УЧЕБНИК



ИММУНИТЕТ РАСТЕНИЙ



«КолосС»

ВВЕДЕНИЕ

Авторы: В. А. Шкаликов (введение, главы 1...3), Ю. Т. Дьяков (глава 4), П. Смирнов (разделы 5.1...5.3), Ф. С.-У. Джалилов (разделы 5.4...5.5), М. (тройков (главы 6...9), Ю. Б. Коновалов (глава 10), В. В. Грищенко (глава 11)

Редактор *И. А. Фролова*

Рецензенты: доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии растений МСХА *Е. И. Кошкин*; доктор сельскохозяйственных наук, профессор *К. И. Помазков* (зав. кафедрой защиты растений РУДН)

Иммунитет растений/ В. А. Шкаликов, Ю. Т. Дьяков, И58 А. Н. Смирнов и др.; Под ред. проф. В. А. Шкаликова. — М.: КолосС, 2005. — 190 с, [4] л. ил.: ил. — (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).

ISBN 5-9532-0328-4

Изложена история возникновения и развития учения об иммунитете растений. Рассмотрены современные представления и закономерности, определяющие существование у растений признаков устойчивости; факторы пассивного, активного и приобретенного иммунитета; генетика, биохимия и молекулярная биология иммунитета растений; специализация патогенов; методы инокуляции растений при оценке на устойчивость, механизмы изменчивости у патогенов, основы иммунитета и устойчивости растений к насекомым-вредителям. Отдельная глава посвящена селекции сельскохозяйственных культур на устойчивость.

Для студентов высших учебных заведений, обучающихся по агрономическим специальностям, а также для студентов государственных университетов.

УДК 632(075.8)
ББК 44я73

ISBN 5—9532—0328—4

© Коллектив авторов, 2005
© Издательство «КолосС», 2005

Основатель учения об иммунитете растений Н. И. Вавилов, положивший начало изучению его генетической природы, считал, что устойчивость растений к возбудителям болезней выработалась в процессе тысячелетней эволюции в центрах происхождения. В случае приобретения растениями генов устойчивости возбудители могли поражать растения благодаря появлению новых физиологических рас, возникающих в результате гибридизации, мутации, гетерокариозиса и других процессов. Внутри популяции микроорганизма возможны сдвиги численности рас в связи с изменением сортового состава растений того или иного района. Появление новых рас возбудителя может быть связано с потерей устойчивости сорта, некогда устойчивого к данному патогену.

Иммунитет растений контролируется сравнительно небольшим числом генов, поддающихся учету при гибридологическом анализе. Известно, что устойчивость или восприимчивость растений представляют собой результат взаимодействия двух геномов (растения и паразита), что объясняет многообразие как генов устойчивости растений к одному и тому же виду возбудителя, так и физиологических рас патогена, способных преодолевать действие этих генов. Подобное многообразие является следствием параллельной эволюции паразита и растения-хозяина.

В соответствии с теорией Вандерпланка все гены устойчивого растения (R-гены) неизбежно должны быть преодолены генами вирулентности паразита, поскольку темп его размножения намного выше, чем у растения. В то же время в природе постоянно можно встретить растения, устойчивые ко всем известным расам патогенов, в силу наличия у этих растений так называемой полевой устойчивости, контролируемой полигенами, каждый из которых не дает видимого эффекта устойчивости, однако их различные сочетания определяют ту или иную ее степень. В связи с большим разнообразием патогенов и защитных реакций растений единой теории иммунитета растений нет.

Еще Н. И. Вавилов подразделял иммунитет растений на структурный и химический. Так, в одних случаях иммунитет растений может определяться недостатком в них каких-либо необходимых для фитопатогена веществ, в других — биосинтезом фитоалексинов — веществ, вредных для паразита, причем их образование может вызвать большое число элиситоров. Так, известно более 200 соединений, которые могут вызывать накопление пизатина в го-

рохе, фазеоллина в фасоли, глицеоллина в сое. Кроме того, накопление таких веществ может происходить под действием микроорганизмов и физиологических стрессов. Возможно, что эти соединения вызывают временное нарушение метаболизма растений, что химически выражается как возникновение сигналов тревоги. Такие сигналы могут инициировать каскад событий, приводящих к синтезу и накоплению в растениях фитоалексинов.

По данным Д. Т. Страхова, в тканях, устойчивых к болезням растений, происходят регрессивные изменения патогенных микроорганизмов, связанные с действием ферментов растений, его обменными реакциями.

Б. А. Рубин с сотрудниками связывал реакцию растений, направленную на инактивацию возбудителя болезни и его токсинов, с деятельностью окислительных систем и энергетическим обменом клетки. Разнообразные ферменты растений характеризуются разной устойчивостью к продуктам жизнедеятельности патогенных микроорганизмов. У иммунных форм растений доля участия ферментов, связанных к метаболитам патогенов, выше, чем у неиммунных. Наиболее устойчивы к воздействию метаболитов окислительные системы (пероксидазы и полифенолоксидазы), а также ряд флавоновых ферментов.

У растений, как и у беспозвоночных животных, не доказана способность вырабатывать антитела в ответ на появление в организме антигенов. Только у позвоночных имеются специальные органы, клетки которых вырабатывают антитела. В инфицированных тканях иммунных растений образуются полноценные в функциональном отношении органоиды, обуславливающие присущую иммунным формам растений способность повышать при инфекции энергетическую эффективность дыхания. Нарушение дыхания, вызываемое болезнетворными агентами, сопровождается образованием различных соединений, выполняющих роль своеобразных химических барьеров, препятствующих распространению инфекции.

Характер ответных реакций растений на повреждения вредителями (образование химических, механических и ростовых барьеров, способность к регенерации поврежденных тканей, замена утраченных органов) играет важную роль в иммунитете растений к насекомым-вредителям. Так, ряд метаболитов (алкалоиды, гликозиды, терпены, сапонины и др.) оказывают токсическое действие на пищеварительный аппарат, эндокринную и другие системы насекомых и прочих вредителей растений.

В селекции растений на устойчивость к заболеваниям и вредителям большое значение имеет гибридизация (внутривидовая, межвидовая и даже межродовая). На основе автополиплоидов получают гибриды между разнохромосомными видами. Подобные полиплоиды созданы, например, М. Ф. Терновским при выведении сортов табака, устойчивых к мучнистой росе. Для создания

устойчивых сортов можно использовать искусственный мутагенез, а у перекрестноопыляемых растений — отбор среди гетерозиготных популяций. Так Л. А. Ждановым и В. С. Пустовойтом были получены сорта подсолнечника, устойчивые к заразику.

Для длительного сохранения устойчивости сортов предложены следующие способы:

- создание многолинейных сортов путем скрещивания хозяйственно ценных форм с сортами, несущими разные гены устойчивости, благодаря чему у полученных гибридов не могут накопиться в достаточном количестве новые расы патогенов;
- сочетание в одном сорте R-генов с генами полевой устойчивости;
- периодическая смена сортового состава в хозяйстве, что приводит к повышению устойчивости.

В последние годы развитие растениеводства в нашей стране было сопряжено с рядом негативных процессов, связанных с загрязнением окружающей среды и растениеводческой продукции ксенобиотиками, высокими экономическими и энергетическими затратами. Максимальное использование биологического потенциала сельскохозяйственных культур может стать одним из альтернативных путей развития агрономического сектора сельскохозяйственного производства. Определенные надежды в этом отношении связывают с генной инженерией — комплексом методологических подходов, позволяющих изменять конструкцию генома растения путем переноса в него чужеродных генов, что дает возможность получать новые формы растений, значительно расширить процесс манипуляции с геномом растения и сократить временные затраты на получение новых сортов сельскохозяйственных культур. В последнее время методы создания трансгенных растений начинают использовать для получения растений, устойчивых к вирусным, грибным и бактериальным болезням, а также к некоторым вредителям (колорадскому жуку, кукурузному стеблевому мотыльку, хлопковым моли и совке, табачной листовёртке и др.). По своим методам и объектам данное направление резко отличается от традиционной селекции на иммунитет растений, но преследует ту же цель — создание форм, обладающих высокой устойчивостью к вредным организмам.

Блестящее обоснование роли устойчивых сортов в защите растений дано Н. И. Вавиловым, который писал, что среди мер защиты растений от разнообразных заболеваний, вызываемых паразитическими грибами, бактериями, вирусами, а также различными насекомыми, наиболее радикальным средством борьбы является введение в культуру иммунных сортов или создание таковых путем скрещивания. В отношении хлебных злаков, занимающих три четверти всей посевной территории, замена восприимчивых сортов устойчивыми формами, по существу, является наиболее доступным способом в борьбе с такими инфекциями, как ржавчина,

мучнистая роса, пыльная головня пшеницы, различные фузариозы, пятнистости.

Отечественный и мировой опыт ведения сельского хозяйства показывает, что защита растений должна базироваться на комплексных (интегрированных) системах мероприятий, основа которых — наличие устойчивых к болезням и вредителям сортов сельскохозяйственных культур.

В последующих главах будут рассмотрены основные закономерности, определяющие наличие у растений признаков устойчивости, пути их эффективного использования в процессе селекции, способы придания растениям индуцированного иммунитета.

1. ИСТОРИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ УЧЕНИЯ ОБ ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ

Представления об иммунитете стали складываться уже в глубокой древности. По свидетельству исторических хроник древней Индии, Китая и Египта, еще за много веков до нашей эры население Земли страдало от эпидемий. Наблюдая за их возникновением и развитием, люди приходили к выводу, что далеко не каждый человек подвержен воздействию болезни и что однажды переболевший какой-либо из этих страшных болезней не заболевает ею вторично.

К середине II в. до н. э. представление о неповторяемости заболевания человека такими болезнями, как чума и другие, становится общепринятым. Тогда же для ухода за больными чумой начали широко использовать переболевших ею. Логично предположить, что именно на данном этапе развития человеческого общества на основании данных, полученных при наблюдении за распространением эпидемиологических заболеваний, возникла иммунология. С самого начала своего развития она стремилась использовать собранные наблюдения для практической защиты населения от различных болезней. На протяжении многих веков для предохранения людей от оспы тем или иным путем осуществляли преднамеренное заражение этим заболеванием, после чего организм становился невосприимчивым к нему. Так были разработаны способы получения иммунитета к этому заболеванию. Однако при широком применении таких способов были выявлены его основные недостатки, заключающиеся в том, что у многих из привитых оспа протекала в тяжелой форме, нередко со смертельным исходом. Кроме того, привитые часто становились источником инфекции и способствовали поддержанию эпидемии оспы. Однако несмотря на очевидные недостатки, способ преднамеренного заражения наглядно доказал возможность искусственного приобретения иммунитета посредством перенесения заболевания в легкой форме.

Эпохальное значение в развитии иммунитета имела работа английского врача Эдуарда Дженнера (1798), в которой он подытожил результаты 25-летних наблюдений и показал возможность прививок коровьей оспы людям и приобретения ими иммунитета к аналогичному заболеванию человека. Прививки эти получили название вакцинации (от лат. *vaccinus* — коровий). Работа Дженнера была выдающимся достижением практики, но без объяснения причины (этиологии) инфекционных заболеваний она не могла способствовать дальнейшему развитию иммуноло-

гии. И лишь классические работы Луи Пастера (1879), вскрывшие причины инфекционных болезней, позволили по-новому взглянуть на результаты Дженнера и по достоинству оценить их, что оказало влияние как на последующее развитие иммунологии, так и на работы самого Пастера, предложившего использовать ослабленных возбудителей болезней для вакцинации. Открытия Пастера заложили фундамент экспериментальной иммунологии.

Высший вклад в науку об иммунитете внес русский ученый И. И. Мечников (1845—1916). Его труды легли в основу теории иммунитета. Как автору фагоцитарной теории защиты организма животного и человека от патогенов И. И. Мечникову в 1908 г. была присуждена Нобелевская премия. Сущность этой теории заключается в том, что все животные организмы (от амёбы до человека включительно) обладают способностью с помощью особых клеток — фагоцитов — активно захватывать и внутриклеточно переваривать микроорганизмы. Используя кровеносную систему, фагоциты активно передвигаются внутри живых тканей и концентрируются в местах проникновения микробов. В настоящее время установлено, что животные организмы осуществляют защиту от микробов с помощью не только фагоцитов, но и специфических антител, интерферона и т. д.

Значительный вклад в развитие иммунологии внесли работы Н. Ф. Гамалея (1859-1949) и Д. К. Заболотного (1866-1929).

Несмотря на успешное развитие учения об иммунитете животных, представления об иммунитете растений развивались чрезвычайно медленно. Одним из основоположников иммунитета растений был австралийский исследователь Кобб — автор теории о механической защите растений от возбудителей болезней. К механическим защитным приспособлениям автор относил такие особенности растения, как утолщенная кутикула, своеобразное строение цветков, способность к быстрому образованию на месте повреждения наружных тканей раневой перидермы и др. Впоследствии такой способ защиты получил название пассивного иммунитета. Однако механическая теория не могла исчерпывающе объяснить такое сложное многообразное явление, как иммунитет.

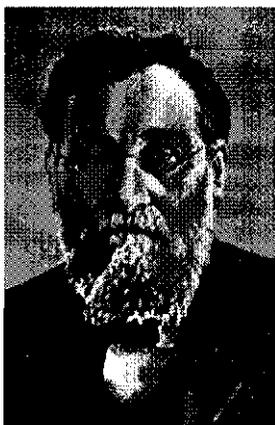
Очередная теория иммунитета, предложенная итальянским ученым Комесом (1900), основана на том, что иммунитет растений зависит от кислотности клеточного сока и содержания в нем **Сахаров**. Чем выше содержание органических кислот, дубильных веществ и антоцианов в клеточном соке растений того или иного сорта, тем более он устойчив к поражающим его болезням. Сорта с высоким содержанием сахаров и относительно малым кислот и дубильных веществ более восприимчивы к болезням. Так, у устойчивых к милдью и мучнистой росе сортов винограда кислотность (% сухого вещества) составляет 6,2... 10,3, а у восприимчивых — от 0,5... 1,9. Однако теория Комеса не универсальна и не может объяснить все случаи проявления иммунитета. Так, изучение мно-

гих разновидностей пшеницы и ржи, обладающих неодинаковой восприимчивостью к ржавчине и головне, не выявило четкой корреляции между иммунитетом и содержанием кислот в тканях листьев. Аналогичные результаты были получены и для многих других культурных растений и их патогенов.

В начале XX в. появились новые гипотезы, авторы которых пытались объяснить причины иммунитета растений. Так, английский исследователь Масси предложил хемотропическую теорию, согласно которой иммунитетом обладают такие растения, в которых отсутствуют вещества, необходимые для привлечения паразитов. Исследуя возбудителей болезней огурца и томата, он показал, что сок восприимчивых сортов способствовал прорастанию спор патогенов, в то время как сок устойчивых сортов тормозил этот процесс. Хемотропическая теория подверглась серьезной критике со стороны ряда исследователей. Наиболее обстоятельную критику этой теории дал Н. И. Вавилов, который считал маловероятным, что клеточный сок, содержащийся в вакуолях, мог дистанционно действовать на гифы грибов и что некоторые вещества, выделяемые из тканей наружу, нельзя отождествлять с клеточным соком, полученным при отжимании субстратов, на которых выращивали гриб.

Существовала гипотеза зависимости устойчивости растений к заболеванию от осмотического давления сока и тургора клеток, согласно которой устойчивые растения имеют более высокое осмотическое давление клеточного сока, чем паразит. Однако в опытах Н. И. Вавилова было показано, что это далеко не всегда справедливо. Например, у персидской пшеницы, обладающей высокой устойчивостью к мучнистой росе, осмотическое давление клеточного сока ниже, чем у восприимчивых сортов. Следовательно, и эта гипотеза, как и ранее рассмотренные, не могла объяснить всего многообразия взаимоотношений паразитов и растений-хозяев. Несмотря на то что до сих пор не создано единой теории иммунитета, фитопатология и энтомология накопили много данных, позволяющих объяснить причины устойчивости растений к отдельным болезням и вредителям.

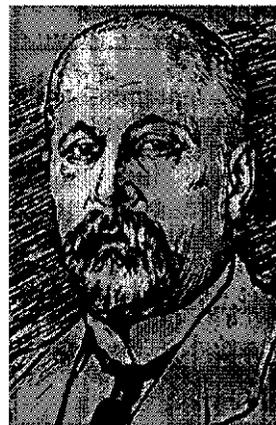
Защита растений от болезней путем создания и возделывания устойчивых сортов известна с глубокой древности. Стихийно проводившийся в местах, благоприятных для развития возбудителей определенных болезней, искусственный отбор на устойчивость к ним привел к созданию сортов сельскохозяйственных растений, обладающих повышенной устойчивостью к этим заболеваниям. Стихийные бедствия, вызванные распространением особо опасных заболеваний (ржавчина зерновых, фитофтороз картофеля, оидиум и милдью винограда), стимулировали зарождение научно обоснованной селекции растений на иммунитет к заболеваниям. В 1911 г. состоялся I съезд по селекции, где с обобщающим докладом «О значении селекции в деле борьбы с грибными заболевани-



И. И. Мечников



Н. И. Вавилов

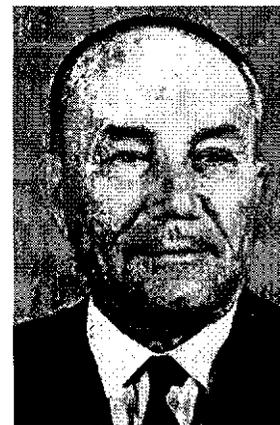


А. А. Ячевский

ями культурных растений» выступил А. А. Ячевский (1863—1932). Приведенные в докладе данные свидетельствовали о том, что успешная работа по созданию устойчивых к болезням сортов невозможна без разработки теории иммунитета растений к инфекционным заболеваниям.

В нашей стране основоположником учения об иммунитете растений является Н. И. Вавилов. Первые его работы по иммунитету растений были опубликованы в 1913 и 1918 гг., а монография «Иммунитет растений к инфекционным болезням», вышедшая в 1919 г., была первой попыткой широкого обобщения и теоретического обоснования всего материала, накопившегося к тому времени в области изучения иммунитета. В эти же годы появились работы Н. И. Литвинова (1912) по оценке устойчивости хлебных злаков к ржавчине и Е. Н. Ирецкой (1912) о методах селекции злаков на ржавчиноустойчивость. Однако эти работы остались лишь эпизодами в научной деятельности авторов.

Работы Н. И. Вавилова «Учение об иммунитете растений к инфекционным заболеваниям» (1935), доклады на I Всесоюзной конференции по борьбе с ржавчиной хлебных злаков в 1937 г. и на Биологическом отделении АН СССР в 1940 г., ряд его статей и выступлений в разное время сыграли огромную роль в развитии теоретических представлений о генетических особенностях растений как решающих факторах, определяющих сортовую и видовую устойчивость. Н. И. Вавилов обосновал положение о том, что иммунитет растений неразрывно связан с их генетическими особенностями. Поэтому основной задачей селекции на устойчивость Н. И. Вавилов считал поиски видовых различий растений по при-



М. С. Дунин



Т. Д. Страхов



П. М. Жуковский

знаку иммунитета. Собранная им и сотрудниками ВИР мировая коллекция сортов культурных растений до сих пор служит источником получения иммунных форм. Большое значение в поиске иммунных форм растений имеет его концепция о параллельной биологической эволюции растений и их патогенов, получившая впоследствии развитие в теории сопряженной эволюции паразитов и их хозяев, разработанной П. М. Жуковским (1888—1975). Закономерности проявления иммунитета, определяющиеся результатом взаимодействия растения и возбудителя, Н. И. Вавилов относил к области физиологического иммунитета.

Начатая Н. И. Вавиловым разработка теоретических вопросов учения об иммунитете растений была продолжена в нашей стране и в последующие годы. Исследования велись в различных направлениях, что нашло свое отражение в разных объяснениях природы иммунитета растений. Так, гипотеза Б. А. Рубина, основанная на учении А. Н. Баха, связывает устойчивость растений к инфекционным заболеваниям с деятельностью окислительных систем растений, главным образом пероксидаз, а также ряда флавоновых ферментов. Активизация окислительных систем растений приводит, с одной стороны, к повышению энергетической эффективности дыхания, а с другой — к нарушению нормального его хода, что сопровождается образованием различных соединений, играющих роль химических барьеров. В разработке этой гипотезы участвовали также Е. А. Арциховская, В. А. Аксенова и др. Фитонцидная теория, разработанная в 1928 г. Б. П. Токиным на основе открытия у растений бактерицидных веществ — фитонцидов, развивалась Д. Д. Вердеревским (1904—1974), а также сотрудниками Молдав-

кой станции защиты растений и Кишиневского сельскохозяйственного института (1944—1976).

В 80-х годах прошлого столетия Л. В. Метлицким, О. Л. Озерцковской и др. разрабатывалась теория иммунитета, связанная с образованием у растений особых веществ — фитоалексинов, возникающих в ответ на заражение их несовместимыми видами или расами патогенов. Ими был открыт новый фитоалексин картофеля — любимин.

Ряд интересных положений теории иммунитета развивали К. Т. Сухоруков, работавший в Главном ботаническом саду АН СССР, а также группа сотрудников под руководством Л. Н. Андреева, занимающаяся разработкой различных сторон учения об иммунитете растений к ржавчинным болезням, пероноспорозу и вертициллезному увяданию.

В 1946 г. М. С. Дунин выдвинул теорию иммуногенеза, основанную на особенностях взаимодействия паразита и растения в разные фазы его развития. Все болезни растений, по М. С. Дунину, делятся на три группы. К первой группе относятся болезни, поражающие растения на ранних фазах развития (твердая головня пшеницы, ржи, виды головни овса, твердая и ложнопыльная головня ячменя, виды головни кукурузы, стеблевая головня зерновых культур, корнед свеклы, гоммоз хлопчатника и др.). Вторая группа включает болезни, которые свойственны старым растениям или их тканям (септориоз томатов, церкоспороз свеклы и др.). Третья группа объединяет болезни, в развитии которых отсутствует четко выраженная приуроченность к определенным фазам развития растений. Воздействуя на растение приемами, способными влиять на прохождение определенных фаз развития, можно добиться снижения вредоносности болезни.

В 1959 г. Т. Д. Страхов предложил теорию физиологического иммунитета, сущность которой заключается в том, что питание растений (внесение макро- и микроэлементов) существенным образом влияет на обмен веществ растения, определенным образом изменяя сложившиеся взаимоотношения между растением и паразитом. Изменившиеся условия могут быть или неблагоприятными для патогена и повышать устойчивость растений, или благоприятными для него. В этом случае пораженность растений будет возрастать.

В 1935 г. Т. И. Федотова (ВИЗР) впервые обнаружила сродство белков хозяина и патогена. Все перечисленные ранее гипотезы о природе иммунитета растений связывали его лишь с одним или группой близких защитных свойств растений. Однако еще Н. И. Вавилов подчеркивал, что природа иммунитета сложна и не может быть связана с какой-либо одной группой факторов, ибо слишком разнообразен характер взаимоотношений растений с разными категориями патогенов.

В первой половине XX в. в нашей стране проводили лишь оценку устойчивости сортов и видов растений к болезням и пара-

зитам (зерновых культур к ржавчине и головне, подсолнечника к заразице и др.). Позднее начали вести селекцию на иммунитет. Так появились выведенные Е. М. Плучек сорта подсолнечника (Саратовский 169 и др.), устойчивые к заразице (*Orobancha cumana*) расы А и подсолнечниковой моли. Проблема борьбы с заразицей расы Б «Злой» была на долгие годы снята благодаря работам В. С. Пустовойта, создавшего серию сортов, устойчивых к заразице и моли. В. С. Пустовойт разработал систему семеноводства, позволяющую длительное время поддерживать устойчивость подсолнечника на должном уровне.

В этот же период были созданы сорта овса, устойчивые к корончатой ржавчине (Верхнячский 339, Льговский и др.), сохранившие устойчивость к данному заболеванию до настоящего времени.

С середины 1930-х годов П. П. Лукьяненко и др. начали селекцию на устойчивость пшениц к бурой ржавчине, М. Ф. Терновский приступил к работе по созданию сортов табака, устойчивых к комплексу болезней. Используя межвидовую гибридизацию, он вывел сорта табака, устойчивые к табачной мозаике, мучнистой росе и пероноспорозу.

Успешно велась селекция на иммунитет сахарной свеклы к ряду болезней. Получены сорта, устойчивые к мучнистой росе (Гибрид 18, Киргизская односемянка и др.), церкоспорозу (Первомайский полигибрид, Кубанский полигибрид 9), пероноспорозу (МО 80, МО 70), корнеде и кагатной гнили (Верхнеячская 031, Белоцерковская ЦГ 19).

По селекции льна на иммунитет успешно работали А. Р. Рогаш и др. Были созданы сорта П 39, Оршанский 2, Тверца с повышенной устойчивостью к фузариозу, ржавчине.

В середине 30-х годов К. Н. Яцыниной были получены сорта томата, устойчивые к бактериальному раку. Ряд интересных и важных работ по созданию сортов овощных культур, устойчивых к киле и сосудистому бактериозу, проводились под руководством Б. В. Квасникова и Н. И. Каргановой.

С переменными успехами велась селекция хлопчатника на иммунитет к вертициллезному увяданию. Выведенный в середине 30-х годов прошлого века сорт 108 ф сохранял устойчивость около 30 лет, но затем утратил ее. Заменявшие его сорта серии Ташкент также стали терять устойчивость к вилту в связи с возникновением новых рас *Verticillium dahliae* (0, 1, 2 и др.).

Стимулом для расширения работ по иммунитету растений послужили всесоюзные совещания по этой проблеме (в 1952 г. — в Ленинграде, в 1958 г. — в Москве, в 1959, 1965 гг. — в Кишиневе, в 1969 г. — в Киеве, в 1975 г. — в Одессе). Они привлекли внимание к вопросам иммунитета, стали хорошей школой для молодежи, имели большое методологическое значение. Так, на совещаниях по иммунитету в Кишиневе и в Одессе были предложены методы селекции важнейших культур на иммунитет. Д. Д. Вердеревский,

Т. Д. Страхов, Б. А. Рубин, Л. В. Метлицкий, Ю. Т. Дьяков и др. выступили на этих совещаниях с изложением теорий, объясняющих природу иммунитета растений (фитонцидная, физиологического иммунитета, биохимических основ иммунитета, образования фитоалексинов, двойной индукции и др.)- Еще на первом совещании было обращено внимание на возможность изучения эволюции паразитизма у грибов, бактерий и вирусов, на проблеме изменчивости этих организмов, структуры их популяций. П. М. Жуковский сформулировал теорию сопряженной эволюции хозяина и паразита.

В 1973 г. было принято решение о создании в селекционных центрах и институтах защиты растений лабораторий и отделов по иммунитету растений к болезням и вредителям. Важную роль в поисках источников устойчивости сыграл Институт растениеводства им. Н. И. Вавилова. Мировые коллекции образцов культурных растений, собранные в этом институте, до сих пор служат фондом доноров устойчивости различных культур, необходимых для селекции на иммунитет.

После открытия Е. Стекманом физиологических рас возбудителя стеблевой ржавчины злаков аналогичные работы были развернуты и в нашей стране. С 1930 г. в ВИЗР (В. Ф. Рашевская и др.), Московской сельскохозяйственной опытной станции (А. Н. Бухгейм и др.), Всесоюзном селекционно-генетическом институте (Э. Э. Гешеле) начали изучение физиологических рас бурой и стеблевой ржавчин, головни. В послевоенные годы этой проблемой стал заниматься ВНИИ фитопатологии. Еще в 1930-е годы А. С. Бурменковым с помощью стандартного набора сортодифференциаторов была показана неоднородность рас ржавчинных грибов. В последующие, особенно в 60-е годы, эти работы стали интенсивно развиваться (А. А. Воронкова, М. П. Лесовой и др.), что позволило вскрыть причины потери некоторыми сортами устойчивости при казалось бы неизменном расовом составе гриба. Так, было выявлено, что раса 77 возбудителя бурой ржавчины пшеницы, преобладающая в 70-е годы XX в. на Северном Кавказе и на юге Украины, состоит из серии различающихся по вирулентности биотипов, формирующихся не на пшенице, а на восприимчивых злаках. Исследования рас головневых грибов, начатые в ВИЗР С. П. Зыбиной и Л. С. Гутнер, а также К. Е. Мурашкинским в Омске, были продолжены в ВИР В. И. Кривченко, а по пыльной головне пшеницы — Л. Ф. Тымченко в Институте сельского хозяйства Нечерноземной зоны.

Изучением рас *Phytophthora infestans* весьма продуктивно занимались Н. А. Дорожкин, З. И. Ремнева, Ю. В. Воробьева, К. В. Попкова. В 1973 г. Ю. Т. Дьяков совместно с Т. А. Кузовниковой и др. обнаружили явление гетерокариозиса и парасексуального процесса у *Ph. infestans*, позволяющее в какой-то мере объяснить механизм изменчивости этого гриба.

В 1962 г. П. А. Хижняк и В. И. Яковлева обнаружили агрессивные расы возбудителя рака картофеля *Synchytrium endobioticum*. Было установлено, что на территории нашей страны распространены не менее трех рас *S. endobioticum*, поражающих сорта картофеля, устойчивые к обыкновенной расе.

В конце 70-х — начале 80-х годов прошлого столетия изучением физиологических рас гриба *Verticillium dahliae* занимался А. Г. Касьяненко, *Cladosporium fulvum* — Л. М. Левкина, возбудителя мучнистой росы пшеницы — М. Н. Родигин и др., пероноспороза табака — А. А. Бабаян.

Таким образом, изучение иммунитета растений к инфекционным болезням велось в нашей стране по трем основным направлениям:

- теоретические исследования, связанные с познанием механизмов устойчивости, и выдвижение гипотез, объясняющих эти явления. Были предприняты попытки объяснить природу иммунитета растений к инфекционным болезням, однако поскольку взаимоотношения паразита и хозяина на разных этапах эволюции определяются разными механизмами устойчивости, то ни одна из выдвинутых гипотез не смогла объяснить все случаи явления иммунитета;
- изучение расообразования патогенов и анализ структуры популяций. Это привело к необходимости исследования популяционного состава внутри видов, подвижности популяции, закономерностей появления, исчезновения или перегруппировки отдельных членов популяции. Возникло учение о расах: учет рас, прогноз и закономерности появления одних рас и (или) исчезновения других;
- оценка устойчивости к болезням имеющихся сортов, поиск доноров устойчивости и, наконец, создание устойчивых сортов.

2. КАТЕГОРИИ ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ

В процессе эволюции между растениями и вредными организмами сложились определенные взаимоотношения, в результате которых растения или погибают, или приобретают способность противостоять паразиту (иммунитет). У растений различают два основных типа иммунитета: врожденный, или естественный, и приобретенный, или искусственный.

Врожденный, или естественный, иммунитет — это свойство растений не поражаться (не повреждаться) той или иной болезнью (вредителем). Врожденный иммунитет передается по наследству из поколения в поколение.

В пределах врожденного различают пассивный и активный иммунитет. Однако результаты многочисленных исследований приводят к выводу, что деление иммунитета растений на активный и пассивный очень условно. В свое время это подчеркивал Н.И. Вавилов (1935).

Пассивный иммунитет представляет собой свойство растений препятствовать внедрению патогена и развитию его в тканях растения-хозяина. Он существует независимо от наличия паразита.

Активным иммунитетом называют свойство растений активно реагировать на внедрение в него паразита.

Повышение устойчивости растений под влиянием внешних факторов, протекающее без изменения генома, получило название приобретенной или индуцированной устойчивости. Факторы, воздействие которых на семена или растения приводит к повышению устойчивости растений, называются индукторами.

Приобретенный иммунитет — это свойство растений не поражаться тем или иным возбудителем болезни, возникшее у растений после перенесения заболевания или под влиянием внешних воздействий, особенно условий возделывания растений.

Устойчивость растений можно повысить различными приемами: внесением микроудобрений, изменением сроков посадки (посева), глубины заделки семян и т. д. Методы обретения устойчивости зависят от вида индукторов, которые могут быть биотической или абиотической природы. Приемы, способствующие проявлению приобретенной устойчивости, широко используют в практике сельского хозяйства. Так, устойчивость зерновых культур к корневым гнилям можно повысить, высевая яровые зерновые в оптимальные ранние, а озимые зерновые культуры в оптимально поздние сроки; устойчивость пшеницы к твердой головне, поражающей растения при прорастании семян, можно повысить, соблюдая оптимальные сроки посева.

Иммунитет растений может быть обусловлен неспособностью возбудителя вызывать заражение растений данного вида. Так, зерновые культуры не поражаются фитофторозом и паршой картофеля, капуста — головневыми болезнями, картофель — ржавчинными болезнями зерновых культур и т. д. В данном случае иммунитет проявляется видом растений в целом. Иммунитет, основанный на неспособности возбудителей вызывать заражение растений определенного вида, называется *н е с п е ц и ф и ч е с к и м*. Естественный неспецифический иммунитет защищает растение от большого числа окружающих его сапротрофных видов, которые в процессе эволюции не приобрели свойств, обеспечивающих способность паразитировать на растениях этого вида.

В некоторых случаях иммунитет может проявляться не видом растений в целом, а лишь отдельным сортом в пределах этого вида. В таком случае одни сорта иммунны и не поражаются болезнью, другие — восприимчивы и поражаются ей в сильной степени. Так, возбудитель рака картофеля *Synchytrium endobioticum* поражает вид *Solarium*, однако внутри него есть сорта (Камераз, Столовый 19 и др.), которые не поражаются этой болезнью. Такой иммунитет называют *с о р т о в ы м с п е ц и ф и ч е с к и м*. Он имеет большое значение при выведении устойчивых сортов сельскохозяйственных растений.

В ряде случаев растения могут обладать иммунитетом к возбудителям разных болезней. Например, сорт озимой пшеницы может быть иммунным к возбудителю и мучнистой росы, и бурой стеблевой ржавчины. Устойчивость сорта или вида растений к нескольким возбудителям называется *к о м п л е к с н ы м* или *г р у п п о в ы м* иммунитетом. Создание сортов с комплексным иммунитетом — наиболее перспективный путь снижения потерь сельскохозяйственных культур от болезней. Например, пшеница *Triticum timopheevi* обладает иммунитетом к головне, ржавчине, мучнистой росе. Известны сорта табака, устойчивые к вирусу табачной мозаики и возбудителю ложной мучнистой росы. Районированием таких сортов в производстве удается решить проблему защиты той или иной культуры от основных болезней.

2.1. ФАКТОРЫ ПАССИВНОГО ИММУНИТЕТА

Устойчивость растений обусловлена комплексным действием разных факторов. Механизмы или факторы устойчивости можно подразделить на две группы:

- факторы, действующие до заражения (прединфекционные);
- факторы, действующие после заражения (постинфекционные).

Факторы (механизмы) устойчивости первой группы присутствуют в растении независимо от поражения, второй — индуциру-

ются возбудителями (к этой группе относятся и изменение активности генов). Среди факторов, действующих до заражения, можно выделить анатомо-морфологические, физические и химические.

Габитус растений. Начальный этап заболевания (прорастание спор) в большинстве случаев требует наличия капельно-жидкой влаги на поверхности растений. Прорастанию спор благоприятствует также высокая влажность воздуха. В связи с этим габитус растения может создавать благоприятные условия для заражения, если он способствует сохранению высокой влажности окружающего воздуха и позволяет каплям воды задерживаться на поверхности надземных органов растения. Так, сорта картофеля с рыхлым кустом менее подвержены заражению фитофторозом, чем сорта с плотным кустом, хотя при искусственном заражении листьев связи между габитусом куста и поражаемостью нет. Отсутствие различий объясняется тем, что период увлажнения, необходимый для заражения надземных частей растений, у сортов с раскидистым кустом короче, чем у сортов с плотным.

Опушенность листьев. Сорта картофеля с сильноопушенными листьями менее подвержены вирусным болезням, чем сорта со слабым опушением. Это обусловлено более слабым посещением опушенных растений тлями — переносчиками вирусов из-за менее благоприятных условий для питания.

Толстый кутикулярный слой. Фактором, препятствующим поражению растения различными заболеваниями, может служить толщина кутикулярного слоя (рис. 1). Так, у сортов крыжовника, устойчивых к мучнистой росе, толщина кутикулы молодых листьев 1,05...1,26 мкм, а у восприимчивых сортов — 0,51...0,64 мкм. У сортов барбариса, неустойчивых к ржавчине, толщина кутикулярного слоя у листьев составляет вместе с эпидермисом 0,82 мкм, тогда как у устойчивых сортов — 1,75 мкм. Субстанции, способствующие отвердению эпидермальных слоев растений, например лигнин, кремниевая кислота, кальций и др., повышают сопротивляемость ткани и препятствуют проникновению грибов. По сравнению с

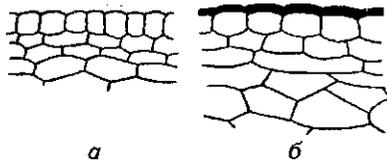
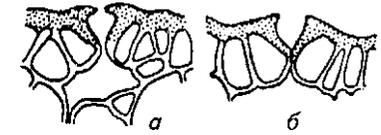


Рис. 1. Разрез через наружные слои восприимчивого (а) и устойчивого (б) и к грибу *Botrytis cinerea* растений томата. Кутикулу окрашена в чер-

надземными эпидермальными тканями ризодермис, как правило, является более легким барьером для проникновения многих видов грибов в корень.

Строение и расположение устьиц и чечевичек. Возможность заражения растений некоторыми патогенами зависит от числа и строения устьиц и чечевичек. Закрытые устьица и чечевички задерживают заражение растений патогенами, и растений с более

Рис. 2. Строение устьиц мандарина (а) и грейпфрута (б) как фактор устойчивости к *Xanthomonas citri*



редким расположением устьиц на листьях менее поражаются грибной и бактериальной инфекцией. Мандарин более устойчив к возбудителю бактериального рака *Xanthomonas citri*, чем грейпфрут, потому что наружные стенки устьиц мандарина снабжены выступами, препятствующими проникновению в подустичную щель капель жидкости с находящимися в них клетками бактерий. У восприимчивых сортов грейпфрута таких выступов нет (рис. 2).

Восковой налет. Наличие его придает поверхности органов растения гидрофобные свойства, что затрудняет ее смачивание и препятствует прорастанию спор. Восковой налет задерживает поступление питательных веществ, которые могут способствовать росту возбудителей на поверхности растения. Каплеудерживающую способность листьев пшеницы часто используют как один из показателей ее устойчивости к бурой листовой ржавчине.

Особенности строения цветка. Длина пыльника, характер цветения (открытое или закрытое), его продолжительность и т. д. играют роль в устойчивости к патогенам, заражающим растения во время цветения (например, возбудителям пыльной головни пшеницы, ржи, ячменя и др.).

Анатомические особенности внутренних тканей оказывают существенное влияние на устойчивость растений. Например, восприимчивые к стеблевой ржавчине сорта пшеницы имеют развитую хлоренхиму, которая залегает под эпидермисом широкими тяжами, в то время как у устойчивых сортов эта ткань имеет вид островков, недоступных для колонизации патогеном (рис. 3). Одревесневшая эндодерма корней, особенно у однодольных, представляет для многих видов грибов, например рода *Fusarium*, физический барьер, препятствующий их проникновению в растение.

Пробковый слой. Играет важную роль в устойчивости растений на этапе внедрения патогенов. Например, грибы родов *Fusarium*, *Phytophthora infestans* и некоторые бактерии слабее поражают клубни картофеля с хорошо развитым пробковым слоем.

Химический состав растений. Относится к важным факторам пассивного иммунитета. Устойчивость иногда обуславливается отсутствием или низкой концентрацией в тканях растений необходимых для патогена питательных веществ. Часто некоторые химические соединения, содержащиеся в растении, подавляют развитие патогена.

Устойчивость к патогенам может быть обусловлена как отсутствием в растении веществ, необходимых для их развития, так и

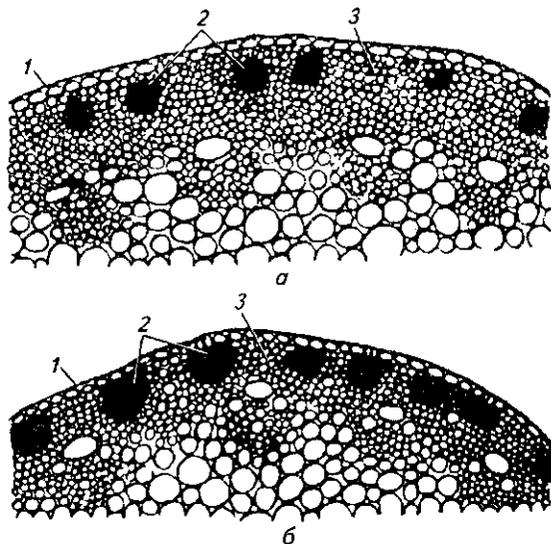


Рис. 3. Анатомическое строение стебля устойчивой пшеницы сорта Дружба (а) и умеренно восприимчивой сорта Одесская 16 (б):

1 — эпидермис; 2 — хлоренхима; 3 — склеренхима

содержанием токсичных для него веществ. Вакуолизация снижает содержание протоплазмы в клетках, а следовательно, ухудшает условия для питания облигатно-биотрофных грибов.

Действие всевозможных специфических патотоксинов коррелирует с присутствием природных рецепторов на клетках растения-хозяина. Устойчивость к таким патотоксинам часто объясняется отсутствием этих рецепторов у растения-хозяина. Содержание в растениях антибиотических веществ, таких, как фенолы, флавоны, сапонины, лактоны, танины и др., связывают с устойчивостью к возбудителям грибных заболеваний. Так, сапонины оказывают токсичное действие на фитопатогенные грибы, содержащие в своих мембранах стерин. В случае заражения растения овса возбудителем оphiоболеза пшеницы (*Ophiobolus graminis* var. *tritici*) содержащийся в его корнях сапонин авенацин активируется и гриб погибает. Если же возбудитель оphiоболеза овса (*Op. graminis* var. *avena*), содержащий ферменты, которые могут инактивировать сапонины, поражает растения овса, то инфекция сохраняется, заражение и развитие болезни становится возможным.

Часто патогенность возбудителей болезней снижается вследствие того, что вырабатываемые патогенами и используемые ими

для проникновения и заселения растений-хозяев ферменты инактивируются содержащимися в растениях веществами. В качестве примера таких веществ можно назвать проантоцианидины, которые инактивируют протеолитические ферменты возбудителя серой гнили (*Botrytis cinerea*) в незрелых плодах земляники, и ингибиторы протеаз, которые широко распространены в растительных тканях.

Углеводы. Одни патогены, такие, как возбудители ржавчины и мучнистой росы, лучше развиваются при высоких концентрациях Сахаров, а другие, например возбудитель бурой альтернариозной пятнистости томата, — при низких. Очевидно, что растение становится устойчивым к патогенам, требующим высоких концентраций Сахаров, в том случае, когда их содержание в нем падает до определенного уровня.

Факультативные паразиты легче поражают ткани, обедненные углеводами (что может служить одним из признаков ослабления растений). Облигатные паразиты развиваются только на живых тканях, сохраняющих фотосинтетическую активность. Вероятно, поэтому восприимчивые к ржавчине растения пшеницы не заражаются паразитом после выдерживания их в темноте.

Белки и продукты их распада. Устойчивость растительных тканей к факультативным паразитам положительно коррелирует с высоким содержанием белка и относительно низким содержанием более подвижных соединений азота. Например, в тканях устойчивого сорта капусты Амагер содержится значительно больше белка, в то время как восприимчивому сорту Номер первый свойственно высокое содержание аминокислот (Арциховская, 1956). Однако недостаток растворимых азотистых соединений вряд ли может оказывать существенное влияние на поражаемость, поскольку факультативные паразиты способны синтезировать активные ферменты, расщепляющие белковые соединения растительных тканей до усвояемых паразитами продуктов.

Обмен веществ облигатных паразитов оптимально приспособлен к обмену веществ растения-хозяина. Основной фактор химического состава устойчивости растений к облигатным паразитам — несоответствие растения-хозяина пищевым потребностям паразита. Восприимчивость растений к возбудителям мучнистой росы и ржавчины обусловлена наличием в них специфических веществ, необходимых для питания паразита.

Органические кислоты. Большинство патогенов, главным образом грибов, выдерживают высокие концентрации кислот и способны развиваться в широких пределах рН. Более существенную роль играет кислотность тканей в случае взаимоотношения растений с возбудителями бактериальных заболеваний, поскольку бактерии, в том числе и фитопатогенные, весьма чувствительны к понижению рН среды. Так, возбудитель бактериальной пятнистости

(*Xanthomonas vesicatoria*) легко заражает зеленые плоды томата, рН клеточного сока у которых выше 5, в то время как спелые плоды с рН 4...5 полностью устойчивы к заболеванию.

Органические кислоты могут воздействовать на паразита не непосредственно, а путем усиления действия токсинов, содержащихся в тканях растений. Так, экстракты из крестоцветных содержат фенольные вещества (они обладают слабыми кислотными свойствами), токсичные для *Colletotrichum circinans*. Действие этих веществ зависит от концентрации водородных ионов. Максимальная токсичность гидрохинона достигается при рН 4, а катехола — при рН 5.

Многие фитопатогены могут развиваться лишь при наличии в питательной среде физиологически активных веществ типа витаминов, так, бедные тиамином сорта зерновых культур иммунны к возбудителю твердой головни *Tilletia tritici*.

Некоторые красящие вещества, например антоцианы, по своей химической структуре относятся к гликозидам. Установлено, что многие окрашенные сорта некоторых культур поражаются слабее, чем бесцветные.

Фитонциды (фитоантисципины). По определению Б. П. Токина, фитонциды — летучие вещества растений, ингибирующие рост и развитие микроорганизмов. Фитонцидной активностью обладают различные химические соединения, главным образом низкомолекулярные (органические кислоты, альдегиды, монотерпены, простые фенолы).

По объекту действия Токин разделил фитонциды на три группы:

- бактерицидные, фунгицидные и протистоцидные;
- стимулирующие или тормозящие прорастание пыльцы, рост и развитие растений;
- токсичные для насекомых, клещей, червей и других организмов.

Показано, что фитонцидное действие растений на специализированных к ним паразитов, как правило, выражено слабо. В большинстве случаев оно распространяется на микроорганизмы, не поражающие данное растение. Наиболее мощным фитонцидным действием на возбудителей ряда бактериальных болезней, например томата, обладают чеснок, лук и мята. Фитонциды присущи всем видам растений, однако их активность неодинакова. Она меняется в зависимости от вида, сорта и возраста растений, а также от времени дня, фазы развития растений, погодных условий и т. п. При механическом повреждении тканей количество выделяемых фитонцидов резко возрастает. Фитонциды более эффективно действуют на сапротрофных фитопатогенов, чем на облигатных паразитов. Фитонциды могут служить одним из факторов врожденного неспецифического иммунитета растений.

Антибиотическое действие фитонцидов, по-видимому, обусловлено тем, что они относятся к ферментным ядам и их роль, по мнению Вердеревского, отнюдь не пассивна. Это один из факторов активной сопротивляемости растений, связанный как с активированием окислительной системы, так и с качественными ее изменениями.

2.2. ФАКТОРЫ АКТИВНОГО ИММУНИТЕТА

Активный иммунитет растений проявляется в виде комплекса ответных реакций на воздействие патогенных организмов или продуктов их жизнедеятельности. Сущность активного иммунитета сводится к определенным биохимическим процессам. Как отмечал И. И. Мечников, существует два типа защитных реакций организма на инфицирование. В одних случаях они направлены на обезвреживание токсических выделений патогена, в других, и главным образом, — непосредственно на подавление самого возбудителя. Учение Мечникова о двух типах защитных реакций в полной мере подтверждают данные, полученные при изучении иммунитета растений. Характер защитных реакций растений определяется в основном типом паразитизма и способом питания патогена.

К факторам активного иммунитета относят реакцию сверхчувствительности, активацию и перестройку деятельности ферментных систем, образование фитоалексинов, фагоцитоз.

Результаты активных защитных реакций могут проявляться либо в локализации патогена, либо в замедлении его распространения в растительных тканях, либо в его гибели и предотвращении болезни растения.

Обычно вопрос о совместимости или несовместимости возбудителя и растения-хозяина решается только после проникновения возбудителя в растение. Как правило, возбудитель грибной или вирусной природы проникает в растение независимо от того, является оно хозяином или нет. Лишь после этого на уровне плазмалеммы клетки происходит генетически регулируемые процессы узнавания. При этом экзогенные сигналы, или элиситоры, связываются пока мало исследованными рецепторами. Элиситоры даже в очень малых концентрациях способны вызывать каскад защитных реакций растения-хозяина еще на стадии заражения растения возбудителем. Действие их неспецифично, они индуцируют общую активацию устойчивости. Установлена структура лишь некоторых из них, например олигомеров хитина, хитоназы и глюка - нов. Это арахидоновая и эйкозопентаэновая кислоты, некоторые гликопротеиды из грибов, олигогалактуронида, системин, салициловая, изоникотиновая, линоленовая и жасмоновая кислоты у растений.

Экзогенные элиситоры преобразуются на плазмалемме в эндогенные сигналы. Первой реакцией при этом, вероятно, является фосфорилирование протеинов, в котором участвуют разные ферменты (фосфолипаза, протеинкиназа, плазмалемма—АТФаза). Эти эндогенные сигнальные молекулы вызывают у растений все дальнейшие защитные реакции. Через цитоплазму эти молекулы попадают в ядро клетки и активируют гены устойчивости. Сначала происходит индукция или стимуляция транскрипции и трансляции РНК, что приводит к образованию ферментов. Они катализируют синтез генных продуктов, связанных с защитными реакциями. Сигналы могут действовать только в отдельных или соседних клетках либо путем транслокации попадать в более далекие свободные от поражения части растения и индуцировать там защитные реакции. Последовательность этих реакций называют сигнальными цепями, под которыми понимают совокупность всех реакций от рецепции сигнала до фенотипического проявления реакции. Последовательность таких реакций пока не установлена, поэтому сигнальные цепи носят частично гипотетический характер.

Результатом активизации устойчивости может быть образование структур (раневой перидермы, лигнина), с помощью которых растение пытается предотвратить заселение и инкапсулировать возбудителя в местах его проникновения. При развитии реакции несовместимости у двудольных растений наблюдается усиленное накопление в клеточных оболочках гликопротеидов. У однодольных (ячменя) при поражении мучнистой росой в клеточной оболочке накапливается белок тионин.

Сверхчувствительность. Один из наиболее эффективных и распространенных механизмов устойчивости растений — реакция сверхчувствительности. Она индуцируется многими возбудителями и протекает очень быстро: происходит гибель клеток хозяина в местах проникновения патогена. Мертвые клетки становятся для патогена барьером, изолирующим его от живой ткани (рис. 4).

Реакция сверхчувствительности возникает в ответ на заражение устойчивых сортов биотрофами, поскольку эта группа паразитов способна использовать для питания только живые клетки. Отмирание окружающих тканей ведет к голоданию биотрофов, а затем и к их гибели. Факультативные паразиты (некротрофы) способны продолжать развитие в мертвых тканях как сапротрофы. Однако в ряде случаев реакция сверхчувствительности является важным фактором иммунитета и к факультативным паразитам, гибель которых наступает в результате отравления образующимися токсинами. В данном случае защитная реакция растения направлена непосредственно против патогена.

Внешне реакция сверхчувствительности проявляется в виде некрозов, которые наиболее четко выражены при внедрении в расте-

ние облигатных паразитов и факультативных сапротрофов, оптимально приспособленных к обмену веществ растения-хозяина.

Установлено, что первые этапы патологического процесса (проникновение возбудителя в ткани растения-хозяина) у устойчивых и восприимчивых сортов протекают одинаково. На последующих этапах патологического процесса реакция сортов резко меняется. У восприимчивых сортов гриб внедряется в клетки и питается за счет растения. Клетки, в которые проник гриб, продолжают функционировать. При этом наблюдается как бы симбиоз патогенного организма с высшим растением. У устойчивых сортов после проникновения гифы в клетку ее ядро и все содержимое начинают темнеть и погибают вместе с гифой.

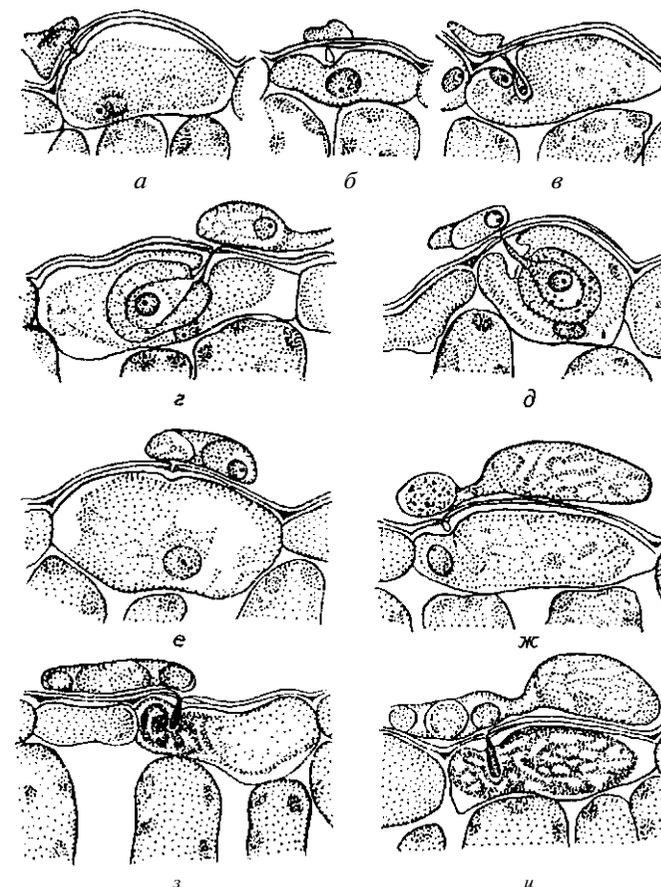


Рис. 4. Реакция клеток эпидермиса листа клевера на внедрение гиф: а, б, в, г, д — у восприимчивого сорта; е, ж, з, и — у устойчивого сорта

В некоторых случаях реакция сверхчувствительности не ограничивается гибелью только инфицированных клеток: отмирают и граничащие с ними клетки. Гибель клетки вместе с паразитом прерывает инфекционный процесс и предотвращает дальнейшее развитие болезни. Скорость и интенсивность реакции сверхчувствительности при разных сочетаниях хозяина и патогена неодинакова: чем устойчивее сорт, тем быстрее развивается реакция сверхчувствительности. Так, красный клевер, устойчивый к *Erysiphe hiligoni*, мгновенно реагирует на вторжение паразита. При этом происходит быстрая дезорганизация и гибель пораженных и некоторых примыкающих к ним клеток, а также гиф гриба. В случае восприимчивых разновидностей такой реакции не наблюдалось. Аналогичные явления были обнаружены при взаимодействии сортов пшеницы с возбудителями ржавчины. При проникновении ржавчинных грибов в растения на листьях пшеницы появляются хлоротичные пятна, переходящие впоследствии в некротические. У устойчивых сортов некрозы выражены более четко, чем у восприимчивых. У неустойчивых сортов пустулы крупные, бархатистые, обесцвечивание тканей вокруг них не происходит. У высокоустойчивых сортов некрозы имеют вид мелких точек, пустулы не развиваются. Это проявление высшего типа устойчивости — иммунитета.

Следует отметить, что механизм реакции сверхчувствительности у растений пока полностью не выяснен. Остается открытым вопрос, обусловлена ли гибель возбудителя отмиранием клетки или оба они отмирают по другой причине, например, в результате образования фитоалексинов. Процессы эти в разных системах «растение—возбудитель» могут протекать неодинаково.

Окислительные процессы. После проникновения патогена в клетку растения-хозяина изменяется метаболизм растения, который у устойчивых форм направлен на подавление инфекционного начала. Проявление заболевания растения заключается, в первую очередь, в повышении интенсивности дыхания и активизации ряда окислительных ферментов. По А. Н. Баху (1949), токсины ряда микроорганизмов могут разрушаться оксидазами животного и растительного происхождения. Этой функции оксидаз, связанной с активизацией дыхательного газообмена, А. Н. Бах отводил решающую роль в явлениях иммунитета живых организмов. Кроме того, А. Н. Бах отмечал специфическую роль оксидаз в защитных реакциях, эта группа ферментов принимает активное участие в процессах восстановления поврежденных тканей растения. Результаты многих исследований свидетельствуют о наличии положительной корреляции между устойчивостью растения к заражению и активностью протекающих в нем окислительных процессов.

Степень активации окислительных ферментов под действием патогена определяется устойчивостью к нему растительной ткани.

У устойчивых сортов активная реакция на заражение сопровождается усилением энергетического обмена (рис. 5). У восприимчивых растений под влиянием паразита наблюдаются распад окислительных систем и нарушение отдельных звеньев обмена веществ (рис. 6). Под влиянием окислительной системы растения происходит снижение активности гидролитических ферментов патогена, нейтрализация его токсинов. Защитные реакции, направленные на подавление ферментов паразита, называются *антиферментными*, а направленные на разрушение токсинов паразита — *антитоксическими*.

На инактивацию ферментов паразита или на ингибирование их синтеза могут оказывать влияние фенольные соединения, аминокислоты или катионы металлов, от которых зависит активность ряда ферментов. Фенолы и продукты их окисления подавляют активность многих ферментов. Устойчивость может быть также связана с отсутствием в клетках растения субстрата для ферментов, без которых невозможно заселение хозяина возбудителем. Катионы кальция, бария и магния могут влиять на активность пектолитических, а возможно, и других ферментов и благодаря этому играть определенную роль в устойчивости растений. Устойчивость к инфекции определяется устойчивостью клеток к токсическим выделениям патогена. При внедрении гиф *Botrytis cinerea* в ткани неустойчивых сортов капусты наблюдается быстро распространяющееся потемнение тканей. Мицелий гриба на пораженной ткани можно обнаружить уже в первые дни заражения. У устойчивых сортов потемнение тка-

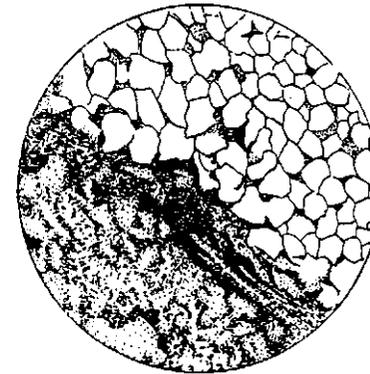


Рис. 5. Срез через пораженную ткань листа устойчивого сорта капусты Амагер на 15-й день после заражения грибом *Botrytis cinerea*. Зона действия токсина ограничена двумя-тремя слоями клеток

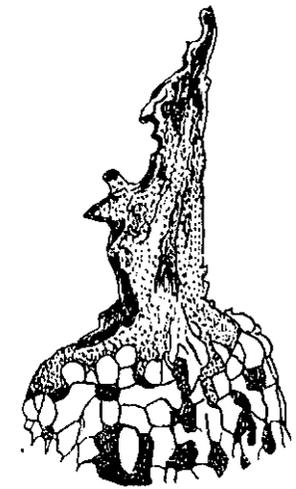


Рис. 6. Срез через ткань листа капусты неустойчивого сорта Номер первый на 2-й день после заражения грибом *Botrytis cinerea*. Зона распространения токсина широкая

ней и налет конидиеносцев возбудителей заболевания появляются лишь на восьмые сутки. Различия в площади, занятой мицелием, и площади, потемневшей от действия токсина, у восприимчивого сорта и почти полное совпадение этих показателей у устойчивого сорта свидетельствуют о том, что именно инактивация токсинов определяет защиту от патогена.

Деятельность окислительных ферментов как факторов активного иммунитета растений может проявляться и в процессах, ведущих к образованию между паразитом и растительной тканью защитного слоя клеток, который изолирует патоген. При заражении клубней картофеля возбудителем обыкновенной парши (*Streptomyces scabies*) у устойчивого сорта вокруг внедрившегося паразита быстро возникает слой пробки, тогда как у восприимчивого сорта развитие пробки происходит медленнее и оказывается неэффективным. Успешное образование барьера из пробки приводит к локализации очагов болезни. Барьер из пробки может препятствовать распространению токсинов из пораженных тканей. Таким образом, окислительные ферменты являются активными участниками биохимических процессов, происходящих в результате взаимодействия растений и паразита. Интенсивность и характер этих процессов, их влияние на конечный исход заражения зависят от присущих хозяину и патогену особенностей обмена веществ, а также от тех изменений, которые возникают в обмене веществ в результате их взаимодействия. Эти сдвиги в обмене обусловлены изменениями в деятельности ферментов.

Белковый обмен. Все активные защитные реакции растения связаны с существенными изменениями в обмене веществ как растения, так и паразита. Регуляторами этих изменений являются нуклеиновые кислоты, белки и ферменты.

Белки играют ведущую роль в защитных реакциях растения, а следовательно, и в фитоиммунитете. Еще в 1940 г. Н. И. Вавилов подчеркивал возможность того, что по мере изучения химической природы белков, различной у видов и сортов, природа иммунитета станет более понятной. Он констатировал также, что наряду с усилением дыхания процесс заражения нередко сопровождается возращением ферментативной активности и появлением новых ферментов, белков и других веществ, ранее отсутствующих у хозяина и паразита.

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что белковый обмен играет важную роль в защитных реакциях растений. Одним из основных показателей приспособленности патогенов к обмену веществ растения-хозяина служит сходство в строении белков восприимчивого растения и соответствующего паразита. Т. И. Федотова в 1935 г. обнаружила сходство иммунологических свойств белков возбудителей болезней и их растений-хозяев, а в 1966 г. ей удалось выделить иммунологически сходные компоненты белков, связанные с проявлением паразитизма у воз-

будителей. Предположения о существовании общих антигенов у паразита и восприимчивого растения послужили основой для работ по изучению роли белков в иммунитете растений. М. С. Дунин с сотрудниками изучали устойчивость растений к заболеваниям с помощью серологического метода, основанного на учете антигенной специфичности белков устойчивых и восприимчивых к заболеванию форм.

Большой интерес к проблеме совместимости растения-хозяина и патогена проявлял Стаман (1968). Он предположил, что в случае поражаемое™ растения патогеном в них синтезируются ферменты со сходными свойствами. При взаимодействии восприимчивого растения и патогена происходит обмен между ферментными системами и образование своего рода гибридных ферментов, отличающихся по свойствам от ферментов растения и паразита. От характера изменений в обмене веществ растения-хозяина зависит исход взаимодействия, т. е. гибель паразита или поражение растения. Стаман считал, что успешное развитие болезни возможно только в случае сродства ферментных систем растения-хозяина и патогена.

О наличии связи между особенностями белкового обмена растения-хозяина и его восприимчивостью или устойчивостью к тому или иному заболеванию свидетельствуют результаты многочисленных работ отечественных и зарубежных исследователей. Так, Д. В. Липсиц (1964) установил, что белки устойчивых и восприимчивых к раку сортов картофеля различаются по некоторым физико-химическим показателям, например аминокислотному составу, иммунохимическим свойствам и т. д. Молекулярная структура белков неустойчивого сорта менее прочна, чем у устойчивого, поэтому при внедрении патогена они подвергаются изменениям, что приводит к повышению ферментативной активности и вызывает активную ростовую реакцию. В результате усиленного деления клеток происходит образование наростов. В тканях устойчивых сортов подобной реакции не наблюдается. К тому же белки устойчивых сортов более устойчивы к действию протеолитических ферментов, чем белки восприимчивых. Реакция растений на заражение может проявляться также в новообразовании белков с самыми разнообразными функциями, поскольку они не только участвуют во всех звеньях метаболизма, но и определяют фототипические свойства каждого организма, особенности его взаимодействия с паразитом. Изменения свойств белков, происходящие в растениях при заражении, влияют на ход всех обменных процессов клеток, а следовательно, и на результат заражения.

Были также высказаны предположения о том, что хозяин может изменить белковый обмен паразита, и о возможном влиянии аминокислот на устойчивость растений к патогенам. Очевидно, аминокислоты, изменяя метаболизм растения-хозяина, способствуют появлению фунгицидных или фунгистатических веществ

либо вызывают какие-то изменения, в результате которых ткани растения становятся менее пригодными для питания патогена (Андель, 1966). Следовательно, ни одна из рассмотренных защитных реакций (активация дыхания и других окислительных процессов) не может осуществляться без участия белков и их мономеров, без предварительного воздействия на них.

Фитоалексины. Это низкомолекулярные антибиотические вещества, синтезирующиеся в растении в результате взаимодействия продуктов метаболизма растения-хозяина и возбудителя. Фитоалексины ингибируют развитие микроорганизмов, попадающих на растение. Впервые образование растениями фитоалексинов в ответ на инфекцию обнаружил К. О. Мюллер (1939), который изучал образование некрозов при заражении клубней картофеля грибом *Phytophthora infestans*. В нашей стране теория фитоалексинов получила дальнейшее развитие в многочисленных исследованиях Л. В. Метлицкого, О. Л. Озерецковской и др.

Установлено, что синтез фитоалексинов живыми клетками — реакция не только на их поражение возбудителями болезней, но и на повреждение, воздействие других раздражителей, стресс и т. д. (рис. 7). Это временный процесс, который зависит от внешних условий (температуры, освещения, питания и т. д.).

К настоящему времени из растений разных ботанических семейств выделено и идентифицировано более 200 фитоалексинов, из бобовых, пасленовых и др. — более 20, меньше всего их обнаружено у злаковых. При взаимодействии патогена с растением может синтезироваться несколько фитоалексинов. Так, при заражении *Ph. infestans* в клубнях картофеля образуются три фитоалексина (ришитин, любимин и фитуберин), а после инфицирования бобов вирусом некроза табака — четыре. Способность растения продуцировать не один, а несколько фито-

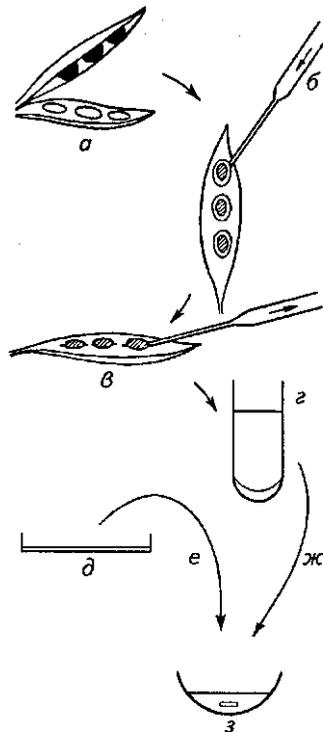


Рис. 7. Выявление фитоалексинов:

a — бобы гороха разделяют продольно и семена вынимают; *b* — капли суспензии, содержащие 4×10^7 в 1 мл спор *Sclerotinia fructicola*, помещаемой в семенные полости; *в* — через 24–28 ч инкубации капли собирают; *г* — удаление спор и кусочков мицелия центрифугированием; *д* — засеянный агар толщиной 1 мм; *е* — агаровые блоки с культурой *S. fructicola* помещают в исследуемый раствор; *ж* — надосадочную жидкость помещают на часовые стекла; *з* — процент прорастания определяют через 6 ч инкубации при 20 °С в темноте (объем исследуемой жидкости 0,45 мл)

алексинов позволяет ему успешно противостоять разным патогенам.

По химической природе фитоалексины относятся к разным классам соединений вторичного обмена, таким, как полиацетилены (вайероновая кислота), полифенолы (госсипол), изофлавоноиды (пизатин, фазеоллин, глицеоллин), терпеноиды (ришитин, капсидиол) и стилбены (ресвератрол). Фитоалексины характерны для вида, рода высшего растения. Фитоалексины растений близких таксонов сходны по своей химической структуре. Наиболее известные фитоалексины фазеоллин ($C_{20}H_{18}O_4$) из фасоли (его индукторы *Botrytis cinerea*, *Monilia fructigena*, *Uromyces phaseoli*, *Colletotrichum* spp.), пизатин ($C_{17}H_{10}O_6$) из гороха (его индукторы *Fusarium solani* f. sp. *pisi*, *F. ssp. phaseoli*), ришитин ($O_{14}H_{22}O_2$) из томата, клубней картофеля (их индукторы *Fulvia fulva*, *Ph. infestans*) и др.

Фитоалексины, по-видимому, неспецифичны по отношению к патогену, так как синтез одного и того же фитоалексина, характерного для данного растения, может быть вызван разными патогенами. Установлено, что грибы, паразитирующие на растении, более устойчивы к фитоалексинам, вырабатываемым данным растением, чем непатогенные виды. Так, гриб *Ascochyta pisi*, паразитирующий на горохе, менее чувствителен к пизатину и более чувствителен к фазеоллину из фасоли, на которой он не паразитирует.

Доказано, что большинство фитоалексинов обладает фунгистатическим действием, хотя количественных данных по этому показателю пока недостаточно. Так, зерновые культуры (пшеница, кукуруза, рожь) содержат глюкозиды дегидрооксибензоксазолиноны и фермент глюкозидазу, взаимодействие которых в пораженных тканях приводит к образованию аглюконов — веществ с фунгицидными свойствами.

В некоторых случаях фитоалексины, несомненно, играют существенную роль в защитных реакциях. Однако не всегда и не во всех растениях, в которых образуются, они служат препятствием для фитопатогенных грибов. Например, доказано участие фитоалексина глицеоллина в устойчивости сои к грибу *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, однако в старых растениях, когда снижается его синтез, устойчивость растений повышается. При повышенной температуре восприимчивые сорта сои синтезируют большое количество глицеоллина, однако не приобретают при этом устойчивости. Вероятно, фитоалексины, как и другие токсичные вещества, — лишь один из компонентов в чрезвычайно сложной системе реакций, обуславливающих устойчивость растений. Более подробно материалы, касающиеся раздела «Факторы активного иммунитета», будут рассмотрены в главе «Генетика, биохимия и молекулярная биология иммунитета растений».

Фагоцитоз. Этот процесс был впервые обнаружен у животных И. И. Мечниковым. Он же создал фагоцитарную теорию защиты

животного организма от инфекции. Согласно этой теории, у животных есть специальные клетки (фагоциты), обладающие способностью захватывать паразита и переваривать его с помощью ферментов. У растений в отличие от животных нет фагоцитов. Однако еще в начале XX в. появились сообщения о том, что у растений обнаружен сходный процесс внутриклеточного переваривания, получивший название фагоцитоза. Поскольку такая способность у растений проявляется лишь в отношении патогенных организмов, она была отнесена к факторам активного иммунитета. Фагоцитоз четко проявляется в случае эндотрофной микоризы, когда гриб развивается внутри корней растения и лишь небольшая его часть проникает из корней в почву. Эндотрофная микориза развивается следующим образом: гифы гриба проникают через корневые волоски в эпидермальные клетки, а затем в клетки первичной коры, в которых происходят защитные реакции, вызывающие замедление распространения в них мицелия: гифы либо становятся клубочкообразными, либо у них разветвляются верхушки с образованием так называемых арбускул. Внутриклеточные клубочки гиф постепенно перевариваются клетками и исчезают. Арбускулы теряют способность к росту, и дальнейшее распространение мицелия по клеткам первичной коры прекращается. Такие взаимоотношения обнаружены на микоризах деревьев, злаков и других растений. У злаков, например, *Fusarium oxysporum* образует эндотрофную микоризу. При этом иногда наблюдается частичное или полное переваривание гиф в клетках корня. Очевидно, благодаря фагоцитарным свойствам клетки сдерживают распространение гриба, не дают ему перейти к паразитическому образу жизни, однако не уничтожают его полностью. Подобное равновесие между корнями злаков и грибом непостоянно и зависит от факторов внешней среды.

2.3. ПРИОБРЕТЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

Существование у растений приобретенного иммунитета, как у теплокровных животных и человека, до недавнего времени ставилось под сомнение на том основании, что у них отсутствуют нервная система и кровообращение. В настоящее время факт существования приобретенного иммунитета уже не вызывает никаких сомнений. Сведения о наличии цитоплазматической связи между клетками при помощи плазмодесм, проходящих через поры клеточных стенок, оказались весьма полезными в изучении этого явления. Через плазмодесмы раздражение определенного участка растительной ткани распространяется практически по всем клеткам растения. Воздействие инфекции проявляется не только в клетках, непосредственно контактирующих с патогеном, но и в удаленных от места инфекции. Так, при заражении плодов цитру-

совых возбудителем голубой плесени (*Penicillium italicum*) интенсивность дыхания кожуры возрастает не только в очаге инфекции, но и в неинфицированных тканях, включая расположенные на противоположной стороне плода.

В зависимости от причин, вызвавших приобретенный иммунитет, его разделяют на инфекционный и неинфекционный. Инфекционный приобретенный иммунитет возникает в результате перенесенного растением заболевания, неинфекционный приобретенный или индуцированный, иммунитет — под влиянием внешних факторов, не приводящих к изменению генома растения. Факторы, воздействие которых на семена или растения приводит к повышению устойчивости растений, называются индукторами. Неинфекционный приобретенный иммунитет играет важную роль в практике сельского хозяйства и рассматривается как один из способов защиты от болезней.

Приобретенный иммунитет может иметь локальный или системный характер. Локальный иммунитет проявляется вблизи места воздействия индуктора, системный — в участках, удаленных от этого места, например в других или новых листьях. Приобретенный иммунитет, как правило, неспецифичен.

Индукторы приобретенного иммунитета делят на биотические и абиотические. К первым относят грибы, бактерии, вирусы или продуцируемые ими метаболиты, ко вторым — химические вещества (биорегуляторы) или их смеси и физические воздействия (например, облучения, температуры, магнитного поля, ультразвуковых колебаний и т. д.).

Индукция биотическими средствами проводят путем инокуляции авирулентными (непатогенными) расами, инактивированными патогенами и продуктами их метаболизма.

Индукция приобретенного иммунитета биотическими средствами, называемое иммунизацией, сходно с вакцинацией, широко используемой в медицине и ветеринарии.

Изучение явления иммунизации имеет длительную историю, однако в отличие от вакцинации она не нашла пока широкого практического применения в защите растений.

Вакцинация растений как способ биологической иммунизации находит применение в практике сельского хозяйства, особенно в создании приобретенного иммунитета к вирусным болезням у овощных культур — представителей семейств пасленовых (томата) и тыквенных. Заражение рассады этих культур слабыми штаммами некоторых вирусов приводит к появлению у растений иммунитета, благодаря которому они становятся устойчивыми к сильнопатогенным штаммам тех же вирусов. Этот прием получил название перекрестной защиты или интерференции.

Повышение устойчивости растений к патогену можно вызвать путем предварительного инфицирования их непатогенным изоля-

том. Так, клубни картофеля, предварительно инфицированные авирулентным штаммом *Ph. infestans*, приобретают устойчивость к вирулентному изоляту этого гриба. В качестве вакцины могут быть использованы убитые патогены. Так, введение в ткани листьев табака убитой культуры *Pseudomonas tabacum* индуцирует устойчивость к этому патогену. Установлено, что в результате вакцинации в клетках растения появляются защитные вещества, например фитоалексины, изменяется активность ряда ферментов и появляются новые. При приобретенном иммунитете в отличие от врожденного защитные механизмы возникают в ответ на вакцинацию и не передаются по наследству.

Рострегулирующие бактерии, обитающие в ризосфере, могут защищать растения от грибных, бактериальных и вирусных болезней, индуцируя их системную устойчивость. Ризосферные микроорганизмы удобны для применения в целях индуцирования устойчивости растений к болезням. Их можно нанести на семена перед посевом или на корневую систему рассады перед посадкой путем обработки суспензией бактерий и грибов. При этом ризообитающие непатогенные микроорганизмы могут выступать конкурентами для патогенов, колонизируя ткани растений, либо выделять метаболиты, включая те, которые обуславливают защитные реакции растений против патогенов. Индукционную активность на ряде культур проявляет препарат триходермин, созданный на основе гриба *Trichoderma lignorum*.

К настоящему времени выявлено большое число синтетических и природных соединений, индуцирующих устойчивость растений к болезням.

Аминокислоты и их аналоги. В культуральной жидкости биологических индукторов устойчивости растений к болезням обнаружены свободные природные аминокислоты. Наибольшей индукционной активностью обладает фракция, содержащая в основном глутаминовую кислоту, пролин, лейцин и аланин. Эта фракция снижает на 54 % развитие грибов рода *Fusarium* на проростках пшеницы (Сокирко, Вовчук, Гаврилов, 1989).

Производные карбоновых кислот. Среди производных карбоновых кислот выявлены вещества, оказывающие влияние на устойчивость растений к болезням. Среди них следует отметить салициловую кислоту, которая специфически связывается в растениях с каталазой и ингибирует активность этого фермента, что сопровождается накоплением пероксида водорода — одного из основных защитных веществ растений от патогенов. Она также оказывает влияние на уровень фитогормонов (индолилуксусной и абсцизовой кислот, а также этилена) в растениях. Индуцирующей активностью обладают и ненасыщенные высшие карбоновые кислоты, такие, как арахидоновая, линоленовая, линолевая, жасмоновая, абсцизовая и полиакриловая. Арахидоновая кислота входит в состав диглицеридов, принимающих участие в установлении

межклеточных контактов и передающих информацию с поверхности клетки. Арахидоновая кислота стимулирует в растениях защитные реакции и индуцирует накопление фитоалексинов. В малых концентрациях она повышает устойчивость растений картофеля к фитофторозу. В клубнях, обработанных арахидоновой кислотой, устойчивость к этому заболеванию развивается на вторые сутки и сохраняется от нескольких недель до 2...3 мес. Она носит системный характер.

Смесевые препараты. Один из таких препаратов — хитозан, состоящий из глюкозаминов, индуцирует устойчивость растений риса к пирикулярнозу и ризоктониозу. К препаратам комбинированного действия следует отнести четвертичные соли аммония, содержащие в своем составе анион аминокислоты и катион четвертичного аммония с гидроксильной группой. Предпосевная обработка семян зерновых, овощных и некоторых других культур четвертичными солями аммония повышает устойчивость растений к корневым гнилям, уменьшает агрессивность фитопатогенов и улучшает показатели структурных элементов урожайности на 20...25 % (Шкаликов, Хохлов, 1998).

Повышение устойчивости растений к болезням наблюдалось также после предпосевной обработки семян смесями микроэлементов (Кулешова, 1990). О роли микроэлементов в жизнедеятельности растений свидетельствует тот факт, что существует целая группа болезней неинфекционного характера, которые возникают только в случае отсутствия или недостатка в почве каких-либо микроэлементов. Так, при недостатке в почве бора возникает гниль сердечка сахарной свеклы, развивается бактериоз льна, вызываемый *Bacillus macerans*. Неинфекционный хлороз плодовых деревьев проявляется при недостатке в почве железа. Возможность использования удобрений для повышения устойчивости растений к болезням была обоснована Т.Д. Страховым (1922). Он впервые установил, что, регулируя режим питания растений, можно изменить их устойчивость к тому или иному заболеванию. Он показал также, что удобрения могут повышать устойчивость злаковых культур к головневым болезням. Сходные данные были получены в многочисленных исследованиях различных сочетаний растения — паразит. Механизм действия удобрений на устойчивость растений многообразен. Они оказывают существенное влияние на ход биохимических и физиологических процессов, а следовательно, и на обмен веществ растения, изменения в котором могут сказываться на взаимоотношениях между растением и паразитом, в основе которых лежит приуроченность патогена к определенному типу обмена веществ растения. Чем выше паразитическая специализация патогена, тем теснее взаимосвязь между обменом веществ паразита и растения-хозяина. Так, при высоком содержании азота в почве растения обычно более восприимчивы к болезням. Многие облигатные паразиты (например, возбудители мучнистых рос,

ржавчинных болезней и т. д.) лучше развиваются на растениях с мощной вегетативной массой. Калийные и фосфорные удобрения способствуют повышению устойчивости растений. Однако сделать общие выводы о влиянии удобрений на поражаемость растений достаточно сложно, поскольку они могут ускорять или замедлять рост и развитие растений, что, в свою очередь, влияет на устойчивость к тому или иному патогену. Например, азотные удобрения в большинстве случаев снижают устойчивость растений к болезням, однако в отношении головневых грибов наблюдается обратная связь. Возможно, более быстрый рост растений, наблюдаемый при внесении азотных удобрений, помогает им быстрее пройти восприимчивую фазу развития. Таким образом, научно обоснованное применение как макро-, так и микроудобрений повышает способность растений противостоять болезни.

Защитные реакции растений изменяются при воздействии на сложившиеся между ним и паразитом взаимоотношения. Так, с помощью приемов, ускоряющих прохождение отдельных фаз развития хозяина, можно сократить возможный период его заражения. Например, обрезка деревьев, кустарников, подкашивание трав (клевера, люцерны) повышает устойчивость к таким приуроченным к периоду старения болезням, как антракноз, серая гниль и др.

Исходя из разнокачественное™ семян используют специальные методы их отбора, позволяющие выращивать растения с повышенной устойчивостью. Известно, что из здоровых полновесных семян развиваются растения, менее восприимчивые к болезням. Поэтому посев семян, отсортированных по удельной массе, рекомендован как один из методов снижения поражаемое™ пшеницы фузариозом или кукурузы пузырчатой головней.

В практике сельского хозяйства известно немало подобных приемов, способствующих повышению устойчивости. В большинстве своем они основаны на знании закономерностей проявления иммунитета, что дает возможность направленного создания условий, благоприятствующих проявлению у растений защитных свойств.

3. ТИПЫ ПАРАЗИТИЗМА У МИКРООРГАНИЗМОВ

Паразиты заселяют растительную ткань только в том случае, если она содержит необходимые им питательные вещества. Таким образом, паразитизм основан на пищевых взаимосвязях между патогеном и растением-хозяином. Что касается эволюции паразитизма, то некоторые исследователи полагают, что паразиты растений происходят от форм, ведущих сапротрофный образ жизни на стареющих растительных тканях, т. е. эволюция шла в направлении от облигатных сапротрофов к облигатным паразитам.

Для облигатных сапротрофов источником питательных веществ служат только мертвые органические субстраты. Факультативными паразитами называются организмы, которые обычно живут как сапротрофы, но при определенных условиях могут нападать на живые ткани, в частности на старые, ослабленные и поврежденные или на запасующие органы. К таким паразитам относятся, например, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans* и др. Такие пластичные патогены часто имеют широкий круг хозяев, отличаются слабой специализацией и хорошо растут на искусственных питательных средах. Факультативные сапротрофы — это организмы, которые обычно ведут паразитический образ жизни, но могут существовать и как сапротрофы. Примером таких организмов могут служить *Venturia inaequalis*, *Phytophthora infestans* и др. Они имеют более узкий круг растений-хозяев и более выраженную специализацию, в культуре растут медленно. Экологически облигатными паразитами принято считать такие патогены, которые существуют в природе как паразиты, но их можно выращивать и в культуре на искусственных питательных средах. К таким паразитам относят многие виды *Ustilaginales*. Облигатными паразитами называются организмы, например *Erysiphales*, *Uredinales*, *Peronosporaceae*, *Albuginaceae*, живущие только как паразиты.

Патогенность некоторых паразитов ослабевает при выращивании в аксеничной культуре. По-видимому, это объясняется тем, что в таких условиях определенные преимущества приобретают сапротрофные штаммы. Возможно также, что в основе этого явления лежит адаптация. Однако часто патогенность удается восстановить путем пассажей через восприимчивые растения.

Паразиты по-разному извлекают питательные вещества из растений-хозяев. В связи с этим их можно разделить на две группы — биотрофов и некротрофов. Биотрофы извлекают необходимые им питательные вещества из живых клеток растений-хозяев, некротрофы — из мертвых.

Как правило, облигатные паразиты не убивают восприимчивые клетки, в которые проникают: им это не выгодно, поскольку только живые клетки могут быть источником питательных веществ.

Способность патогенных микроорганизмов паразитировать на растениях обусловлена специфическими особенностями их обмена веществ, позволяющими им преодолевать защитные механизмы растений-хозяев и использовать содержимое их клеток в качестве питательного субстрата. Механизм использования разнообразных питательных веществ варьирует у различных фитопатогенов в весьма широких пределах. Он обусловлен приспособленностью этих паразитов к тому или иному виду растений, а также к химическому составу их клеток и анатомо-морфологическим особенностям тканей. Так, факультативным паразитам свойственна способность использовать широкий набор питательных веществ. Они образуют множество разнообразных ферментов, которые расщепляют полимерные пластические вещества растений, доводя их до усвояемой формы. У некоторых патогенов (например, *Poliporus*) синтез экзоферментов (внеклеточных ферментов) значительно превышает синтез внутриклеточных. Это означает, что большая часть ферментов, образующихся в гифах факультативных паразитов, выделяется в окружающую среду.

В литературе накоплено множество данных о вооруженности ферментами грибов — факультативных паразитов и сапротрофов. Среди экстрацеллюлярных ферментов названных грибов имеются разнообразные карбогидразы, осуществляющие гидролиз различных ди- и полисахаридов (инулина, крахмала и др.), гемицеллюлозы, клетчатки и т. п. Помимо выделения ферментов в окружающую среду микроорганизмы могут воздействовать на питающий их субстрат путем контакта. Установлено, что подобное действие зависит от ферментов, локализованных на поверхности клеток. Активность и качественный состав выделяемых ферментов в онтогенезе грибов меняется. С возрастом может меняться и активность одного и того же фермента. Показано, что низкая ферментативная активность приурочена к моменту прорастания спор. По мере развития гриба набор ферментов в его тканях расширяется и возрастает их активность. В стадии спорообразования она резко снижается.

Сравнительное изучение биохимических свойств факультативных и облигатных паразитов позволило установить, что прорастающие споры облигатного паразита менее богаты ферментами. Наиболее мощные протеолитические ферменты и амилазы у облигатных паразитов либо отсутствуют, либо обладают незначительной активностью. Поэтому внедрение в ткани растения-хозяина облигатных паразитов не вызывает резких нарушений в его обмене веществ.

Гибель клеток растения-хозяина обусловлена действием токсических для высшего растения веществ. Выявлены значительные

различия в количестве и составе биологически активных веществ, синтезируемых фитопатогенами, и они тем существеннее, чем четче выражены у патогена паразитические свойства. Установлено, что токсическое действие фитопатогенов, как правило, обусловлено не каким-либо одним веществом (органические кислоты, белки и продукты их распада, полисахариды, летучие вещества и др.), а одновременным действием нескольких токсических компонентов, ответственных за различные симптомы заболевания. Все это относится исключительно к факультативным паразитам. Вопрос о способности облигатных паразитов синтезировать токсические вещества и о составе этих веществ остается в некоторой степени дискуссионным. Одни исследователи считают, что облигатные паразиты не выделяют токсических веществ, другие придерживаются противоположной точки зрения. Так, Гречушников (1936), изучая токсины ржавчинных грибов, пришел к выводу, что их действующее вещество состоит из двух соединений — аммиака и мочевины. По его мнению, эти азотистые выделения гриба включаются в метаболизм растения-хозяина, что приводит в конечном счете к их детоксикации. Имеются сведения, что на начальных фазах развития облигатные паразиты могут оказывать стимулирующее воздействие на растение (Вавилов, 1913; Курсанов, Медведев, 1938 и др.), что полезно для паразита, поскольку оказывает положительное влияние на его развитие и размножение.

Факультативные паразиты обладают способностью к образованию высокотоксичных веществ, вызывающих гибель тканей хозяина и создающих возможность успешного развития и распространения микроорганизмов. В большинстве случаев способность образовывать токсические вещества является признаком, выработанным и закрепившимся в процессе эволюционного развития и определяющим собой характер взаимоотношений паразита и растения-хозяина.

4. ГЕНЕТИКА, БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ

4.1 ДОЛЕВАЯ И ИСТИННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ

Реакция растения на заражение инфекционными объектами находится под значительно более сложным генетическим контролем, чем другие хозяйственно ценные признаки, такие, как количество и качество продукции, срок созревания и т. п. Это обусловлено тем, что на степень пораженное™ растения оказывают влияние различные морфологические, анатомические, физиологические и биохимические факторы. Например, сорта пшеницы, имеющие высокую скорость прорастания и прохождения ранних фаз роста, слабо поражаются твердой головней, а такие же сорта свеклы и хлопчатника устойчивы к корневым гнилям, вызванным комплексом почвообитающих грибов, лишь потому, что указанные паразиты способны заразить только молодые проростки, не приобретшие еще плотных покровных тканей. Сорта картофеля с рыхлой, раскидистой ботвой слабее, чем сорта с плотной ботвой, поражаются фитофторозом в связи с тем, что влага после дождя или ночи с обильным образованием росы на листьях первых сортов лучше проветривается и быстрее высыхает, так что зооспоры не успевают освободиться из зооспорангиев, инцистироваться, прорасти и внедриться в ткань листа. Виды барбариса, имеющие толстую кутикулу и наружную стенку эпидермиса, более устойчивы к возбудителю стеблевой ржавчины злаков *Puccinia graminis*, чем виды с тонкими покровами, поскольку проростки монокариотических базидиоспор внедряются в лист непосредственно через эпидермис. В то же время устойчивость злаков к этой болезни никак не связана с толщиной кутикулы, так как проростки дикариотичных эцио- и урединоспор проникают через устьица. Сорта злаков с пониклыми листьями менее поражаются возбудителями листовых пятнистостей, чем сорта с листьями, расположенными под острым углом к стеблю, лишь по той причине, что инфекционные капли скатываются с листьев на грунт. Рожь сильно поражается спорыньей, а пшеница очень слабо в связи с разными стратегиями размножения: у ветроопыляемой ржи цветки долго остаются открытыми для заноса в них спор, а самоопыляемая пшеница имеет закрытое цветение.

Все эти и многие другие примеры устойчивости можно обнаружить при полевой оценке сортов, но они могут не проявляться

при искусственном заражении в лаборатории. Поэтому перечисленные примеры устойчивости объединяют общим понятием полевая устойчивость. Как видно, полевой устойчивостью управляют различные гены, и при отборе на ее повышение часто используют косвенные признаки (скорость прохождения отдельных фаз онтогенеза, толщина кутикулы, габитус куста и т. д.), а не прямое заражение.

Альтернативная полевой — истинная устойчивость, которая проявляется не только в поле, но и при заражении отделенных от растения листьев в условиях, способствующих развитию болезни.

4.1.1. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИСТИННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Если в основе полевой устойчивости лежат анатомо-морфологические и онтогенетические особенности растений, то истинная устойчивость обусловлена главным образом накоплением токсических для паразита продуктов. Растение продуцирует огромное число разнообразных веществ, несущих защитные функции. Эти вещества различаются по химическому составу (от простейшей органической кислоты — щавелевой до высокомолекулярных белков), мишеням (защищают от грибов, бактерий, вирусов, насекомых), механизмам действия (убивают патогенов, инактивируют орудия их агрессии — токсины, ферменты и др.), способам возникновения (присутствуют в интактных клетках, индуцируются заражением). Здесь будут рассмотрены особенности строения и механизма действия лишь некоторых представителей двух групп антибиотических веществ растений — низкомолекулярных соединений (вторичных метаболитов) и белков.

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ЗАЩИТНЫЕ ВЕЩЕСТВА. Их разделяют на два класса, названные фитонципины и фитотоксины. Первые представляют собой низкомолекулярные антимикробные соединения, присутствующие в растении до заражения или продуцируемые после механического повреждения клетки и заражения из предшественников. Вторые — низкомолекулярные антимикробные соединения, которые синтезируются и аккумулируются в растении после взаимодействия с паразитом.

Фитонципины. История изучения фитонципинов началась после того, как в 1928 г. зоолог-эмбриолог Б. П. Токин обнаружил, что летучие соединения, образующиеся в результате растирания лука и чеснока, убивают простейших животных (инфузорий и др.). Эти летучие продукты Токин назвал фитонцидами. Название было не очень удачным, ибо фитон по-гречески означает растение, а цидум по-латыни — убивать, то есть этот термин — гибрид из разных языков, что не положено; к тому же дословный его перевод — убивающие растения, хотя эти вещества

продуцируются растениями, а убивают микроорганизмы. Тем не менее в отечественной фитопатологии этот термин прижился и получил широкое распространение, причем фитонцидами стали называть не только летучие, но и все остальные антимикробные соединения. Известный фитопатолог Д. Д. Ведеревский и его ученики проделали огромную работу по изучению влияния экстрактов растений на различные фитопатогенные объекты. К сожалению, информационная ценность этих исследований оказалась довольно низкой. Дело в том, что живая клетка представляет собой систему покрытых мембранами пузырьков (компарментов). Пока клетка жива, вещества, находящиеся в разных пузырьках, не взаимодействуют друг с другом, но если ткань мацерировать, то клетка окажется поврежденной и вещества из разных компарментов (вакуолей, лизосом, пероксисом и др.) придут в контакт друг с другом и в результате химических реакций возникнут соединения, часто токсичные, которых в неповрежденных клетках не было. Например, корень хрена сам по себе не вызывает никаких неприятных ощущений, но если его натирать, то образуются летучие соединения, токсичные для слизистых оболочек.

Большинство токсических веществ находится в живой клетке в **форме гликозидов**, то есть в соединении с одним или несколькими остатками **Сахаров**. Гликозиды менее токсичны, чем отделенные от остатков **Сахаров** агликоны, и поэтому неопасны для самой клетки; они водорастворимы и поэтому являются транспортной формой токсических веществ. Обычно они находятся в вакуолях и отделены тонопластом от других компонентов клетки, что также защищает ее от повреждающего действия. При нарушении целостности клеточных мембран содержимое вакуолей выпивается в клетку и гликозиды входят в контакт с ферментами гликозидазами, находящимися в других мембранных пузырьках лизосомах или ковалентно связанными с полисахаридами клеточной стенки. Гликозидазы отщепляют сахара от гликозидов и освобождают высокотоксичные агликоны, убивающие клетку и находящиеся в ней паразитов.

Классификация гликозидов основана на химическом строении агликонов.

Фенолы и фенольные гликозиды. Фенолами называют циклические соединения, содержащие ароматическое кольцо с фенильным гидроксильным или его замещенными радикалами (кислотным, альдегидным и др.). Многие растительные фенолы помимо фенила (C⁶) содержат пропановый радикал (C⁴) и названы фенилпропаноидами. Фенолы, с одной стороны, нормальные метаболиты растений, так как входят в состав регуляторов роста, пигментов, структурных элементов клеточной стенки (лигнина), а с другой — это стрессовые метаболиты, синтез которых резко возрастает при повреждении или при заражении. Они образуются в результате дезаминирования аминокислоты фенилаланина с помощью фермента

фенилаланин-аммиаклиаза (ФАЛ), активность которой обычно возрастает при стрессорных воздействиях (заражении, механическом повреждении, облучении), почему ФАЛ называют стрессовым ферментом.

Основные механизмы антимикробного действия фенолов следующие.

- Продукты окисления фенолов полифенолоксидазами (ПФО) хиноны обладают высокой реакционной способностью. Они могут инактивировать белки вследствие формирования замещенных продуктов с SH-, NH²-группами белков. Как сильные окислители, хиноны акцептируют электроны от многих соединений.

- Фенолы влияют на трансмембранный транспорт веществ в клетке. Некоторые замещенные фенолы служат проводниками протонов в мембранах и вследствие этого действуют как разобщающие агенты.

- Промежуточные соединения биосинтеза фенолов могут влиять на метаболизм фитогормонов. Являясь ингибиторами фермента ИУК-оксидазы, многие фенолы способствуют накоплению фитогормона индолилуксусной кислоты (ИУК), а гормональный статус растения оказывает существенное влияние на взаимоотношения хозяина и паразита.

- Фенолы принимают активное участие в создании химических барьеров. Продукты окисления фенольных спиртов (кумарилового, кониферилового, синапилового), конденсированные в результате свободнорадикальных реакций, образуют аморфный трехмерный полимер лигнин, откладывающийся в клеточных стенках (обычно во вторичных стенках и стенках мертвых клеток). Лигнин ковалентно связывается с полисахаридами клеточной стенки и защищает их от атаки грибными ферментами дегполимеразы, препятствует диффузии в клетки грибных метаболитов, обладает прямой токсичностью для микроорганизмов, может лигнифицировать (ограничивать в росте) гифы грибов, проникшие в клетки растений.

Важную роль в образовании лигнина играет другой стрессовый фермент — пероксидаза, активность которого, как и активность ФАЛ, возрастает при механическом повреждении тканей и при заражении. Пероксидаза осуществляет полимеризацию коричных спиртов в лигнин, формирует прочные шивки между целлюлозой, пектином, гликопротеинами клеточных стенок и лигнином, участвует в заживлении ран — отложении водонепроницаемого барьера из полимеризованных алифатических и ароматических соединений (суберинизации ткани), участвует в катаболизме (разложении) ауксинов. В растительной клетке пероксидаза локализована в разных компарментах и существует в нескольких изоформах.

- Катионные (рН 8,1...11). Катализируют образование пероксида водорода из НАДН и воды. Локализованы в центральной вакуо-

ли. Обладают активностью ИУК-оксидазы и регулируют уровень ауксинов в клетке.

- Слабоанионные (рН 4,5...6,5). Локализованы в клеточных стенках. Умеренно активные лигнификаторы. Осуществляют су-беринизацию ран.

- Анионные (рН 3,5...4,0). Локализованы в клеточных стенках. Осуществляют лигнификацию и сшивки полисахаридов клеточных стенок. Их активность регулируется уровнем ауксинов.

Фенолы находятся в клетках растения в свободном виде или в форме фенольных гликозидов. Например, сорта лука с окрашенными (желтыми и красными) чешуями устойчивы к заражению многими грибами (из родов *Aspergillus*, *Alternaria* и др.). Их окраска обусловлена фенольным гликозидом флавоновым пигментом кверцетрином, находящимся в вакуолях. Как известно, кроющие чешуи лука состоят из мертвых клеток. При их отмирании происходит разрушение внутриклеточных мембран, вследствие чего от фермента гликозидазы отщепляется фенольный агликон кверцетин, который под действием другого фермента полифенолоксидазы (ПФО) расщепляется с образованием низкомолекулярных водорастворимых монофенолов — протокатеховой кислоты и ортокатехола (рис. 8). Эти фенолы обладают высокой фунгитоксичностью и, диффундируя в инфекционную каплю, убивают споры грибов.

В листьях яблони содержится фенольный гликозид флоридзин, который при механическом повреждении листьев или при заражении возбудителем парши *Venturia inaequalis* гидролизует ферментом β-гликозидазой, образуя фенол флоретин и глюкозу. Флоретин окисляется фенолоксидазой с образованием высокотоксичного, но нестабильного хинона. Обработка листьев перед заражением химическими соединениями — ингибиторами гликозидазы и ПФО — превращает устойчивые сорта в восприимчивые к болезни.

Терпеноиды и терпеноидные гликозиды. К терпеноидам относят соединения, синтезируемые из уксусной кислоты путем конденсации ее молекул. Первый продукт конденсации — изопрен — содержит пять атомов углерода. В построении терпеноидов участвуют две группы ферментов — полимеразы, соединяющие молекулы изопрена в цепочку, и циклазы, осуществляющие преобразование цепочек в замкнутые кольца. При конденсации двух молекул изопрена образуются соединения, названные монотерпенами (C₁₀). Это низкомолекулярные летучие вещества, которые часто придают

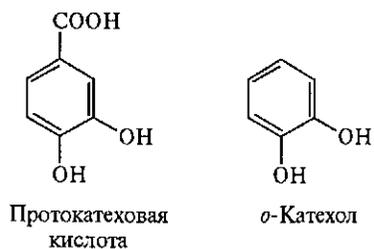


Рис. 8. Токсические фенолы лука

растениям специфические запахи. Конденсация трех молекул изопрена приводит к образованию сесквитерпенов (C₁₅). Многие бициклические сесквитерпены токсичны для фитопатогенных организмов и являются важными факторами устойчивости. Таков мазонон, накапливающийся в коре вяза и придающий ему устойчивость к голландской болезни. Из четырех молекул изопрена состоят дитерпены (C₂₀) — основные компоненты смол древесных растений. Многие дитерпены горькие на вкус (например, горький фактор огурца). При конденсации шести молекул изопрена образуются тритерпеноиды. Они высокотоксичны, так как, связываясь с мембранами, вызывают образование пор, через которые происходит утечка метаболитов. В растениях тритерпеноиды находятся главным образом в гликозилированной форме, благодаря которой образуют мылящиеся в воде растворы: именно поэтому их называют сапонинами (сапо по-латыни — мыло). Сапонины обладают выраженным антигрибным действием. Например, сапонин цикламена цикламин подавляет рост грибов в концентрации ниже 200 мкг/мл. Сапонины представляют собой токсические начала таких ядовитых растений, как наперстянка, ландыш, куколь и др. (встречаются у представителей более 70 семейств растений). Агликоном сапонинов у одних растений может быть пентациклический тритерпеноид (рис. 9), у других — тетрациклический стероид. У пасленовых и некоторых других растений к стероидному скелету присоединен азотсодержащий гетероцикл (рис. 10). Такие соединения называют гликоалкалоидами. К ним относится хорошо известный соланин, накапливающийся в ягодах и озелененных после выставления на свет клубнях картофеля. В зараженных растениях от растворимого сапонины с помощью ферментов гликозидаз отщепляются сахара и терпеноидный агликон проявляет свою высокую токсичность.

Цианогенные гликозиды. У ряда растений (проса, лядвенца, сорго и др.) содержатся своеобразные гликозиды (дурринин, линамарин и др.), у которых при повреждении мембран сначала β-гликозидаза отщепляет глюкозу, а затем под действием другого фермен-



Рис. 9. Пентациклический гликозид авенацин — фактор устойчивости овса к корневым гнилям

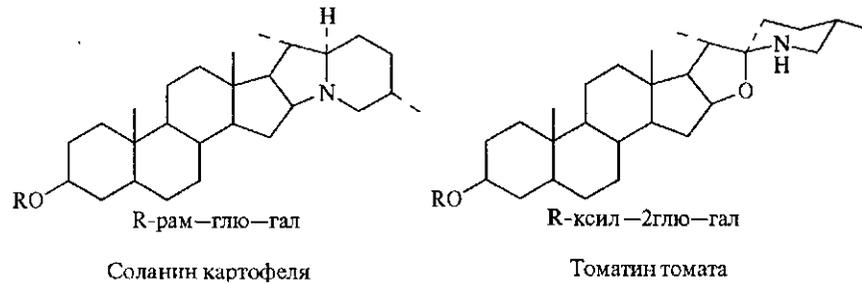
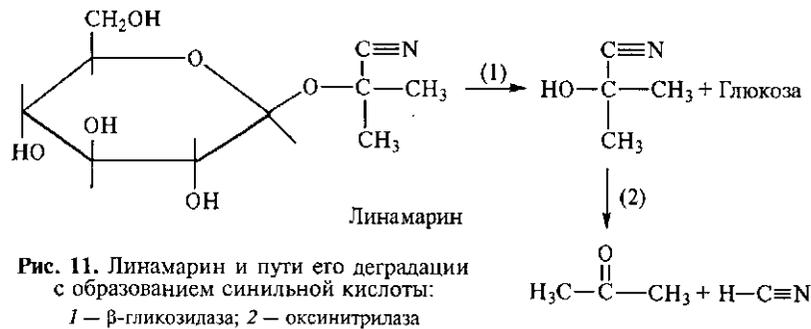


Рис. 10. Гликоалкалоиды пасленовых



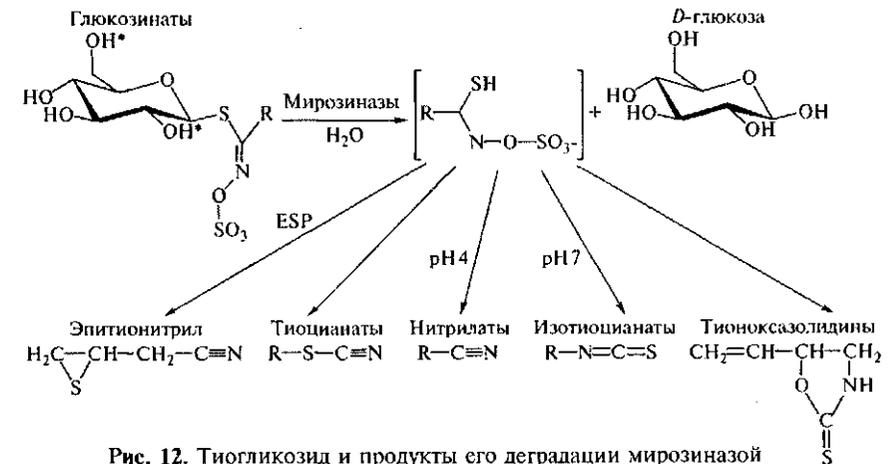
та — оксинитрилаза — образуется сильнейший дыхательный яд — синильная кислота (рис. 11).

Тиогликозиды. У этих соединений агликон соединен с сахаром не через кислород, а через серу. В результате воздействия специфических гликозидаз (миронозидазы и др.) образуется ряд летучих высокотоксичных соединений (рис. 12). Тиогликозиды, или глициноляты, присущи растениям из семейства крестоцветных, которым они придают специфический запах от слабого у капусты до очень резкого у редьки и хрена, они также обнаружены у растений некоторых других семейств.

Фитоалексины. В 1940 г. немецкие фитопатологи Мюллер и Бергер показали, что в клубнях устойчивых к фитофторозу сортов картофеля после заражения накапливаются токсические вещества, которые убивают мицелий патогена, развивающийся в тканях растения. Эти вещества были названы фитоалексинами (ФА). Согласно предложенной авторами концепции, ФА — низкомолекулярные растительные антибиотики, которые отсутствуют

и в интактных, и в механически поврежденных тканях, но синтезируются в ответ на заражение неvirulentными видами и штаммами патогенных грибов. Они локализованы в зоне заражения и не мигрируют в незараженные ткани.

Методы изучения ФА. Заражение срезов клубней картофеля, как это было сделано в первых опытах Мюллера, оказалось не вполне корректным методом изучения ФА, так как при разрезании клубня происходит повреждение клеток и образование описанных ранее стрессовых метаболитов — антиципинов. (Поэтому в лаборатории Л. В. Метлицкого на поверхности среза клубня специальной ложечкой вырезают отверстия, промывают их водопроводной водой для удаления стрессовых метаболитов, подсушивают и затем заполняют каплями со спорами.) Нанесение капель со спорами на поверхность листьев также неинформативно, поскольку кутикула препятствует обмену метаболитов в системе паразит-хозяин и накоплению ФА. Поэтому в качестве моделей для изучения ФА Мюллер выбрал плоды гороха и фасоли. Он извлекал из створок бобов семена и в углубления во внутренней части плодов (семенные камеры) наносил водную суспензию спор гриба *Monilia fruticola* (возбудитель плодовой гнили яблоки), непатогенного для бобовых. Таким образом, использовалась неповрежденная ткань, лишенная кутикулярного слоя. В опытах было два контроля: в семенные камеры вносили капли воды без спор (контроль на наличие неспецифических антиципинов); суспензию спор наносили на предметные стекла во влажной камере (контроль на наличие автоингибиторов, выделяемых прорастающими спорами гриба). После определенной экспозиции капли собирали, отделяли от спор центрифугированием и в полученной жидкости проращивали свежую порцию спор *M. fruticola*. Ингибирование прорастания



спор в опыте по сравнению с контролями свидетельствовало о диффузии ФА в инфекционную каплю. Кроме створок плодов бобовых растений использовали плоды и других растений, например перца, которые разрезали вдоль, извлекали семена и заливали суспензиями спор разных грибов. Для изучения ФА, образующихся в ответ на системную инфекцию грибами, локализованными в ксилеме, зараженные растения обрезали на пенек и собирали пасоку (жидкость, поднимаемую вследствие корневого давления). Так были изучены ФА хлопчатника, зараженного вертициллезным вилтом.

. *Химическая природа ФА.* В настоящее время описана структура нескольких сотен ФА из различных однодольных и двудольных растений. По химической природе их разделяют на несколько групп.

Фенольные ФА. Большинство бобовых растений образует сложные фенольные ФА — изофлаваны (киевитон фасоли), изофлаваноны (веститол лядвенца, сативан люцерны), птерокарпаны (пизатин гороха, фазеоллин фасоли, глицеоллин сои, медикарпин люцерны). Общая структура этих групп соединений показана на рисунке 13. Как видно, они содержат два фенольных кольца, синтезируемых разными метаболическими путями (через шикимовую и через уксусную кислоты). Активность фермента, соединяющего эти кольца — халконсинтетаза, увеличивается вслед за заражением. Биосинтез ФА бобовых показан на рисунке 14.

У арахиса и винограда два фенольных кольца ФА ресвератрола (рис. 15) соединяет другой фермент — стильбенсинтетаза (СТС).

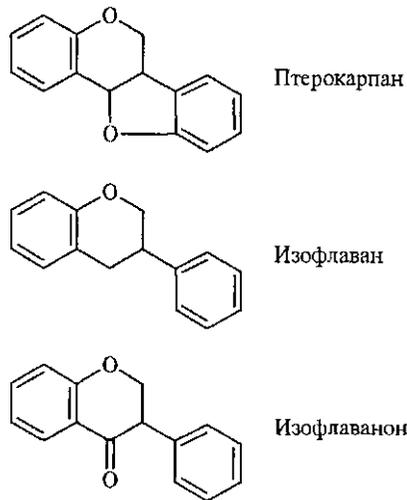


Рис. 13. Основные структуры флавоновых фитоалексинов

Гены, контролирующие синтез СТС, были методами геной инженерии перенесены из винограда в табак, томаты и картофель, которые стали продуцировать ресвератрол и проявили устойчивость к *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* и *Fusarium sulfureum*.

Терпеноидные ФА. У растений из семейства пасленовых идентифицировано большое число ФА, имеющих сходную природу и различающихся лишь конечными этапами биосинтеза; все они являются бициклическими сесквитерпенами (рис. 16).

Как видно, с одной стороны, один и тот же ФА может синтезироваться растениями из разных семейств (ресвератрол — в арахисе и винограде), а с другой — растения одного семей-

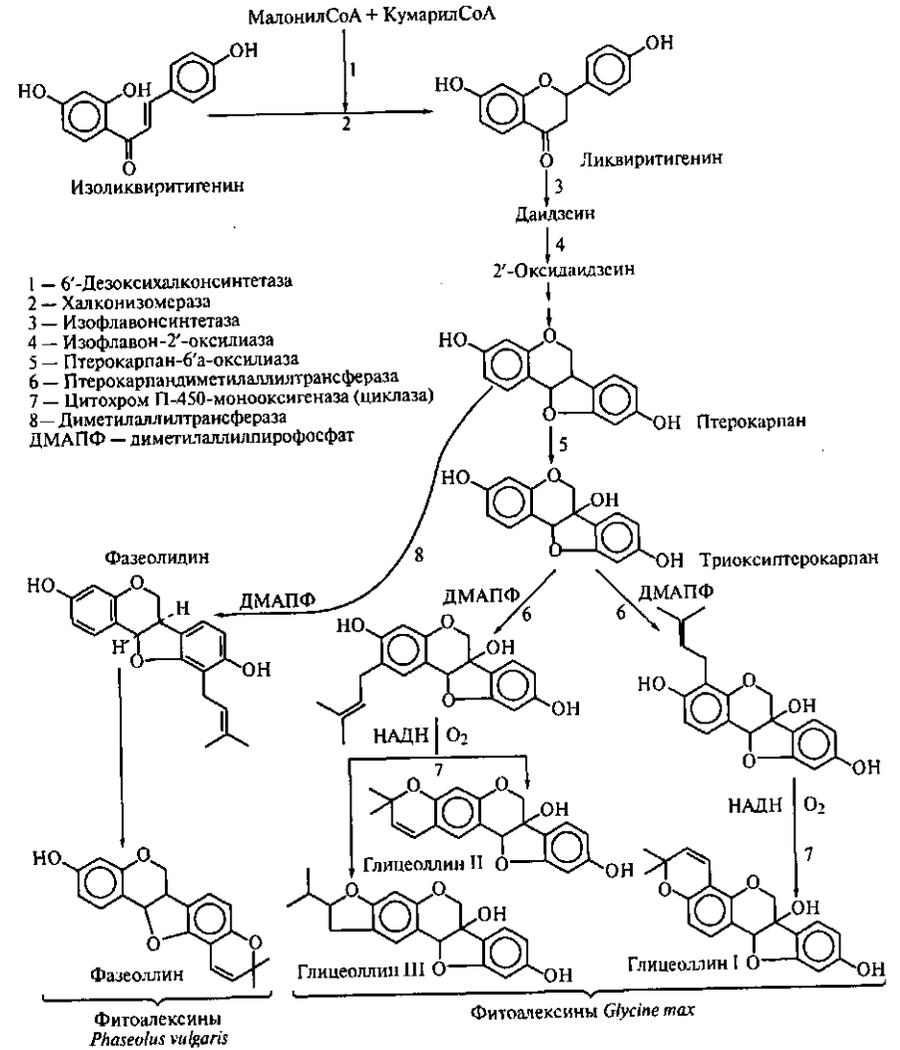


Рис. 14. Биосинтез ФА бобовых растений

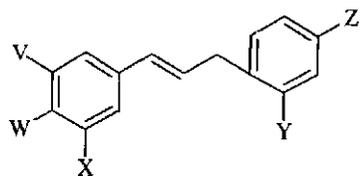


Рис. 15. Ресвератрол и его производные

	V	W	X	Y	Z
Ресвератрол	ОН	Н	ОН	Н	ОН
4-Пренилресвератрол	ОН	Пренил	ОН	Н	ОН
Окисресвератрол	ОН	Н	ОН	ОН	ОН
4-Пренилоксиресвератрол	ОН	Пренил	ОН	ОН	ОН
Птеростильбен	ОСН ₃	Н	ОСН ₃	Н	ОН

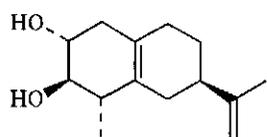
ства продуцируют группу родственных по химической природе ФА. Некоторые исследователи использовали структуру ФА в хемосистематике растений.

Токсичность ФА для фитопатогенов. ФА высокотоксичны для многих грибов, слаботоксичны для фитопатогенных бактерий и не тормозят развитие вирусов. В качестве показателя относительной токсичности ФА обычно используют ЭД⁵⁰ (концентрация, снижающая скорость роста мицелия в питательной среде в 2 раза). Первыми исследованиями не удалось установить связи между устойчивостью растения к болезни и ЭД⁵⁰ ФА. Например, при испытании токсичности ФА гороха пизатина по отношению к 50 видам

грибов было показано, что один из паразитов гороха — *Ascochyta pisi* — оказался среди самых устойчивых видов (ЭД⁵⁰ 116 мкг/мл), а другой — *Septoriapisi* — среди самых чувствительных (ЭД⁵⁰ 10 мкг/мл). Между ними расположились многие виды, не поражающие горох. Однако когда стали изучать индукционную способность разных видов грибов, оказалось, что споры *A. pisi* вызывают образование пизатина в очень высокой концентрации, а споры *S. pisi* — в очень низкой. Поэтому было сформулировано правило: вид или штамм гриба может паразитировать на данном виде или сорте растения, если он индуцирует образование ФА в незначительной для него концентрации. Это наглядно показано в таблице 1, составленной японскими фитопатологами по данным, полученным ими при заражении гороха двумя мучнисторосяными грибами — паразитом злаков *Erysiphe (Blumeria) graminis* и паразитом гороха *E. pisi*. Как видно из представленных в таблице 1 данных, синтез пизатина в ответ на заражение паразитом злаков *E. graminis* начинается значительно раньше, чем в ответ на заражение *E. pisi*, он достигает в 25 раз более высокой концентрации и в 13 раз более токсичен. Следовательно, концентрация пизатина в горохе, зараженном *E. graminis*, в 50 раз выше летальной для патогена дозы, а в горохе, зараженном *E. pisi*, в 7 раз ниже.

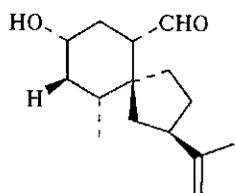
Т. Образование ФА пизатина в листьях гороха, зараженных двумя видами мучнисторосяных грибов (Oku et al., 1975)

Вид гриба	Начало образования ФА, часы после заражения	Максимальная концентрация ФА, мкг/мл	ЭД ₅₀
<i>Erysiphe graminis</i>	15	>2000	40
<i>E. pisi</i>	48	78	530



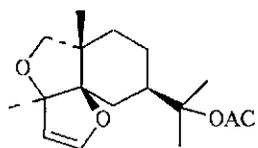
Ришитин

Solanum tuberosum
Lycopersicon esculentum



Любимин

Solanum tuberosum
Solanum melongena



Фитуберин

Solanum tuberosum

Рис. 16. ФА пасленовых растений

Стратегия фитоалексинной защиты растения может быть разной. В устойчивых к антракнозу (возбудитель *Colletotrichum lindemutianum*) сортах фасоли ФА фазеоллин накапливается в высокой концентрации уже через 2...3 ч после заражения, в то время как в восприимчивых сортах такая же концентрация фазеоллина достигается значительно позднее — через 7...8 ч и не препятствует развитию инфекции и образованию потомства возбудителя. Причина таких различий в чувствительности в разные периоды инфекционного процесса — неодинаковая чувствительность к ФА спор и мицелия гриба. Прорастание спор подавляется при концентрации 10 мкг/г, а удлинение ростковой трубки — еще при более низкой — 3 мкг/г. Поэтому быстрое накопление фазеоллина на ранних этапах инфекционного процесса останавливает развитие паразита. В то же время на рост гиф фазеоллин влияет значительно слабее — при концентрации 68 мкг/г рост лишь несколько тормозится, поэтому позднее на-

копление ФА было неэффективным. Иная стратегия защиты наблюдается у сои, зараженной *Phytophthora sojae*. Концентрация ФА глицеоллина начинает расти с одинаковой скоростью после заражения восприимчивых и устойчивых сортов, но у первых она, достигнув максимума через 5...6 ч, падает, а у вторых продолжает расти, достигая значительно более высокого максимума через 24 ч после заражения.

ЗАЩИТНЫЕ БЕЛКИ РАСТЕНИЙ. PR-белки. Белки, связанные с патогенезом (PR-белки), образуются в растениях в ответ на заражение грибными, бактериальными, вирусными болезнями, а также в ответ на обработку некоторыми химикатами. Все эти белки обладают широким антигрибным спектром действия. Среди них большой интерес представляют следующие.

- Ферменты β -1,3-глюканазы и хитиназы (группы PR-2 и PR-3 соответственно), разлагающие полисахариды β -1,3-глюкан и хитин. Поскольку глюканы содержатся в клеточных стенках растений, наличие у них глюканаз как регуляторов процессов синтеза и деградациии элементов клеточной стенки неудивительно. Но хитина у растений нет, а это означает, что хитиназа несет главным образом защитные функции. Синтез этих ферментов в ответ на заражение также свидетельствует об их связях с защитными реакциями. Хитин и β -глюкан — основные компоненты клеточных оболочек грибов, из хитина построены стiletы сосущих насекомых и нематод. В настоящее время гены, ответственные за синтез хитиназы и β -глюканазы, широко используются в генно-инженерных конструкциях с целью создания трансгенных растений, устойчивых к болезням и вредителям.

- Белки, связывающие хитин (группа PR-4). Они относятся к большой группе связывающих хитин белков — лектинов.

- Тауматиноподобные белки (группа PR-5), которые имеют структурное сходство со сладким белком тауматином из южноафриканского кустарника *Taumatococcus*. Они вызывают лизис грибного мицелия вследствие связывания β -1,3-глюкана в клеточных стенках грибов (обладают β -1,3-глюканазной активностью), ингибируют ос-амилазу насекомых и человеческий трипсин (обладают свойствами ингибиторов ферментов).

Ингибиторы протеиназ. Ингибиторы протеиназ (ИП) — это белки, образующие комплексы с протеиназами и ингибирующие их каталитическую активность. Известно несколько классов ИП, отличающихся ингибированием разных типов протеиназ. Некоторые ИП накапливаются в незараженных растениях, синтез других индуцируется в ответ на заражение или повреждение насекомыми. ИП подавляют активность протеиназ, выделяемых в растение фитопатогенными грибами и насекомыми, и нарушают способность патогенов поглощать растительные белки, то есть снижают их пищевую активность. ИП не только выполняют

защитные функции, они могут служить запасными белками (накапливаются в покоящихся органах растений — семенах, клубнях) и регуляторами протеиназной активности самих растений.

Антивирусные белки. У многих растений (фитоляки, дурмана, табака и др.) обнаружены белки, ингибирующие вирусную инфекцию. Эти белки разделяют на две большие группы: эндогенные, присутствующие в клетках независимо от заражения, и индуцированные, возникающие при заражении вирусами. Первые ингибируют главным образом ранние фазы вирусной инфекции путем агрегации ингибиторного белка с вирионом и ингибирования репликации вирусных белков вследствие инактивации рибосом. Индуцированные антивирусные белки ингибируют репликацию вирусов. Некоторые из них имеют много общего с интерферонами человека (интерфероны ингибируют репликацию некоторых вирусов растений). Большинство антивирусных белков синтезируется в растении в очень низких концентрациях, что затрудняет их исследование.

Дефензины. Это низкомолекулярные (45...54 аминокислоты) белки, богатые цистеином. Дефензины продуцируются как защитные белки млекопитающими, насекомыми, грибами и растениями. Растительные дефензины могут вызывать морфологические изменения у восприимчивых видов грибов (морфогенные дефензины), ингибировать рост мицелия без морфологических изменений (неморфогенные дефензины), ингибировать ос-амилазу грибов. Они связываются с рецепторами на мембранах грибов и вызывают усиление потери K^+ и поступления Ca^{2+} в клетки.

Другие защитные белки растений. Помимо дефензинов факторами устойчивости к патогенам могут быть и другие низкомолекулярные антимикробные белки, богатые цистеином. Это белки, осуществляющие трансмембранный транспорт липидов, белки, подавляющие синтез белка на чужеродных рибосомах на стадии элонгации (RIP-белки), и богатые серой тиронины, накапливающиеся в семенах и проростках растений. Последние взаимодействуют с мембранными фосфолипидами и вызывают образование пор в мембранах. Эти белки обнаружены в семенах, листьях, цветках и клубнях разных растений, часто накапливаются в клеточных стенках, осуществляя защитную функцию.

ПИЩЕВАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ РАСТЕНИЙ. Некоторые фитопатогенные грибы не способны синтезировать отдельные органические соединения (ауксотрофны по ним) и для своего роста должны получать эти соединения из растений-хозяев. Растения или их органы, в которых эти соединения отсутствуют или содержатся в низкой концентрации, устойчивы к данному паразиту или слабо поражаются им. Например, рост на питательной

среде возбудителя фузариоза колоса (*Fusarium graminearum*) резко стимулируется азотсодержащими соединениями холином и бетаином. У пшеницы больше всего холина в пыльниках и других элементах цветков и очень мало в листьях и корнях, что и обуславливает органотропную специализацию гриба. Для роста паразита сливы *Rhodostricta quercina* требуется липоинозит, содержание которого у разных видов сливы коррелирует с их поврежденностью.

Отмечены случаи активной реакции растения — снижение в нем синтеза необходимых паразиту продуктов в ответ на заражение. В лаборатории известного патофизиолога К. Т. Сухорукова было показано, что возбудитель вилта хлопчатника (*Verticillium dahliae*) нуждается в витамине биотине, причем его содержание в восприимчивых сортах хлопчатника после заражения возрастает, а в устойчивых — падает. Устранение необходимых паразиту ве-

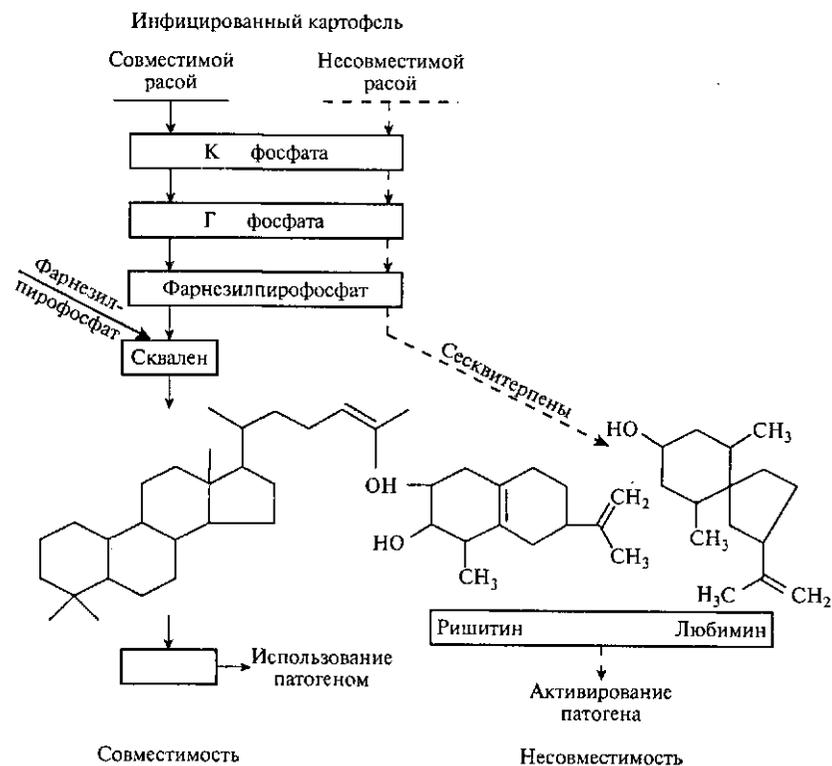


Рис. 17. Переключения путей превращения терпенов в устойчивых и восприимчивых сортах картофеля (Метлицкий, Озерецковская, 1985). Объяснения в тексте

ществ из очага поражения — одна из форм защитных реакций растений.

Паразиты из семейства Pythiaceae (роды *Pythium* и *Phytophthora*) не синтезируют фермент скваленсинтетазу и поэтому не образуют стериннов, которые необходимы им для формирования бесполого и полового спороношения, а также для патогенности. Но они используют фитостерины растений-хозяев, трансформируя их в нужные для себя вещества. Заражение картофеля возбудителем фитофтороза активизирует синтез терпеноидного метаболизма и накопление в зоне заражения нужных паразиту стериннов. Как установили биохимики Л. В. Метлицкий и О. Л. Озерецковская, синтез терпеноидов в устойчивых и восприимчивых сортах картофеля идет одинаково до стадии образования C^{15} фарнезилпирофосфата, однако далее в восприимчивых сортах под действием фермента скваленсинтетазы две молекулы фарнезилпирофосфата конденсируются с образованием C^{30} сквалена, из которого образуются фитостерины, а в устойчивых — под действием другого фермента (циклазы) молекулы фарнезилпирофосфата замыкаются в два кольца и образуются бициклические сесквитерпены, являющиеся высокотоксичными фитоалексинами (см. рис. 16). Таким образом, вместо необходимого питательного вещества растение подсовывает паразиту токсин (рис. 17).

4.2. ВЕРТИКАЛЬНАЯ И ГОРИЗОНТАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ

Кроме перечисленных в начале главы еще одно важное отличие генетического контроля устойчивости к болезням от контроля других хозяйственно ценных признаков — необходимость защиты от разных видов и внутривидовых вариаций патогенных организмов. Устойчивость к каждому патогену может находиться под собственным генетическим контролем, что приводит к наличию огромного числа генов, непосредственно связанных с устойчивостью к болезням. У растения *Arabidopsis thaliana* семейства крестоцветных, геном которого полностью секвенирован, обнаружено более 100 генов устойчивости. При этом история фитопатологии свидетельствует о том, что устойчивость многих сортов может со временем быть потеряна вследствие накопления вирулентных для них рас паразитов. Другие сорта, наоборот, сохраняют свою устойчивость неопределенно долго (их устойчивость стабильна). Известный фитопатолог Вандерпланк назвал устойчивость, которая не теряется вследствие наличия вирулентных рас, горизонтальной или латеральной, а устойчивость, которая может преодолеваться вирулентными расами патогенов, — вертикальной или перпендикулярной. Как видно из изложенного ранее, полевая устойчивость почти всегда горизонтальна (ведь

если инфекционная капля быстро высыхает или скатывается с листа, то пораженность растения будет низкой независимо от свойств того или иного штамма паразита). Истинная устойчивость может быть вертикальной или горизонтальной.

4.2.1. ВЕРТИКАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ

ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ВЕРТИКАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ. Наиболее частое внешнее проявление вертикальной устойчивости (ВУ) — быстрая гибель зараженных тканей, органов или клеток, называемая реакцией сверхчувствительности (СВЧ). Известно несколько форм СВЧ.

- Верхушечный некроз. При этой форме СВЧ гиперчувствительностью обладает только меристема. Некоторые сорта картофеля (например, Кинг Эдуард) системно заражаются вирусом Х (ХВК), но как только вирусные частицы достигают меристемы, она погибает, а с ней и все зараженное растение. Поэтому такие сорта не нуждаются в противовирусных прочистках; их клубни всегда свободны от ХВК.

- Самоотторжение. Листья некоторых сортов перца, зараженные штаммами ВТМ, и фасоли, зараженные штаммами *Pseudomonas syringae*, обеспечивают распространение инфекции по листу до того места, где он сочленяется с черешком (листовая пятночка). Эти клетки обладают гиперчувствительностью, вследствие чего зараженный лист опадает, как при осеннем листопаде.

- Дырчатая пятнистость. В листьях некоторых косточковых пород (вишни, сливы, абрикоса) грибная и бактериальная инфекция индуцирует образование слоя раневой перидермы, кольцом окружающей зараженное место. Зараженная ткань выпадает, и образуется дырка. У некоторых растений, например у конского щавеля, такие дырки окружены красным кольцом вследствие отложения фенольных пигментов антоцианинов (активизация фенольного метаболизма в ответ на заражение).

- Локальный некроз. Это самая распространенная форма СВЧ. Он выражается в почернении (некрозе) или, реже, посветлении (хлорозе) зараженного участка. Некроз может быть крупным, достигающим в диаметре нескольких миллиметров, если сигнал от патогена поступает не сразу, а после оккупации им нескольких слоев клеток, или очень мелким, иногда охватывающим лишь первую зараженную клетку (тогда его можно обнаружить только при микроскопировании поперечного среза листа), если реакция на заражение протекает быстро и остро.

СВЧ — одна из форм программированной смерти клеток — апоптоза. Это явление широко распространено в мире животных,

растений и микроорганизмов. С помощью СВЧ растения спасают целое ценой гибели части.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВУ. СВЧ, как и ВУ, контролируется олигогенами. Таким термином называют гены, носители которых при расщеплении гибридного потомства отчетливо проявляют фенотипическое отличие от носителей их аллелей. Классические опыты Г. Менделя с окраской цветков и семян гороха основаны на анализе олигогенов. При скрещивании растений устойчивого и восприимчивого к какой-либо болезни сортов гетерозиготное потомство в первом гибридном поколении (F_1) будет иметь фенотип одного из родителей — чаще СВЧ, так как ВУ обычно доминирует над восприимчивостью (закон единообразия гибридов Менделя). В F_2 произойдет расщепление на два класса — устойчивые (СВЧ) и восприимчивые (спорносыящее пятно), по соотношению которых можно определить число генов, контролирующих устойчивость (при наличии одного гена — 3 : 1, двух — 15 : 1 и т.д.). Генетический анализ ВУ может быть осложнен рядом факторов.

- Многие культурные растения являются полиплоидами, содержащими не два, а большее число наборов хромосом. Например, культурный картофель (*Solanum tuberosum*) — тетраплоид, поэтому ген ВУ к какой-либо болезни может находиться в одном из его четырех геномов (симплексная форма), двух (дуплексная), трех (триплексная) или четырех (квадриплексная). В зависимости от этого цифры расщепления в F_2 будут различными и для определения числа генов по соотношению фенотипов у гибридов надо пользоваться справочниками по генетике растений.

- Не всегда просто отнести членов расщепляющейся популяции к устойчивым и восприимчивым классам. Например, разные гены ВУ злаков к ржавчинным грибам имеют неодинаковую экспрессивность (фенотипическое выражение реакции на заражение). Поэтому предложены довольно сложные шкалы учетов таких реакций (рис. 18), которые основаны на соотношении двух показателей — размера пустулы и интенсивности защитной реакции (хлороза или некроза). В показанной на рисунке 18 шкале пять основных типов реакций 0...4 (от хлороза без пустулы до крупной пустулы без хлороза), один смешанный тип (X), при котором реакции разных частей листа не одинаковы, и много дополнительных подтипов. Все типы и подтипы, при которых вокруг места заражения или небольшой пустулы возникает СВЧ (хлороз или некроз), часто объединяют в один фенотипический класс — устойчивость — R (от англ. resistance), а реакции, при которых вокруг крупной или средней величины пустулы нет защитного некроза, — в класс восприимчивость — S(OT англ. susceptibility).

- При общих заболеваниях (например, головневых болезнях злаков) учитывают не качественные показатели (СВЧ или споро-

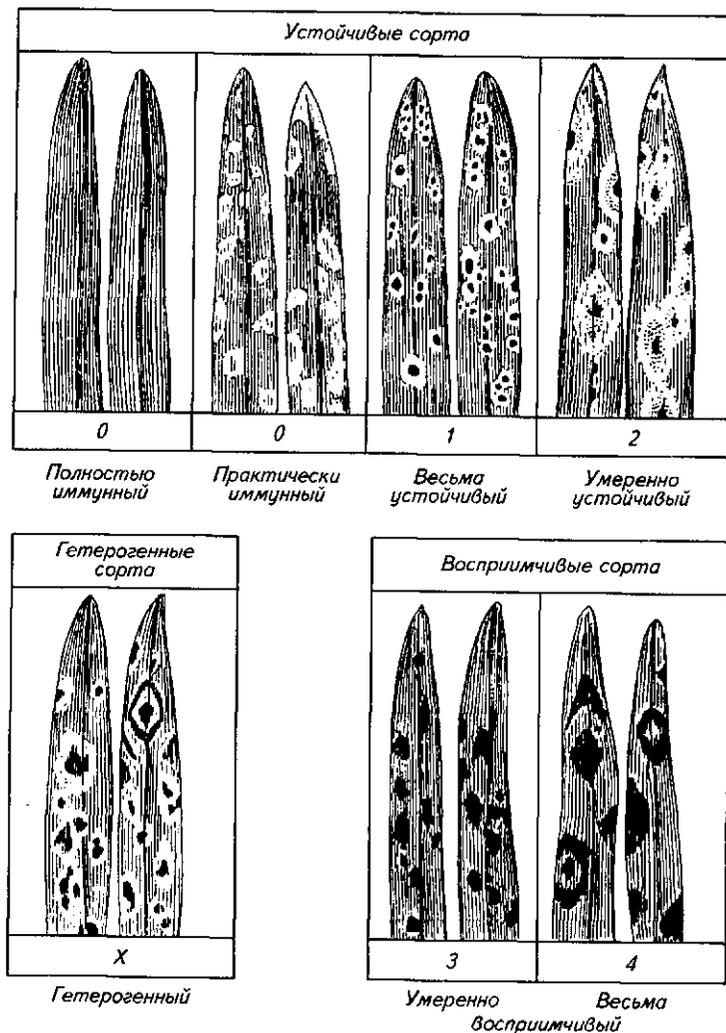


Рис. 18. Шкала учета типов реакции пшеницы на заражение *Puccinia graminis*

носящее пятно), а число пораженных растений. Поскольку восприимчивые сорта практически никогда не бывают поражены на 100 %, а устойчивые не остаются абсолютно непораженными, при расщеплении в гибридных семьях те из них, поражение которых не превышает 10 %, относят к устойчивым, а семьи с более высоким процентом поражения — к восприимчивым.

Картирование генов ВУ (определение их расположения на хромосомах относительно других, маркерных генов) привело к пародоксальным результатам. Оказалось, что они распределены по хромосомам не случайно, а как бы сгруппированно. Причем обнаружены три типа расположения генов ВУ:

- одиночное диаллельное (один локус, контролирующий устойчивость и восприимчивость, с преобладанием доминантного состояния локуса устойчивости);
- одиночное мультиаллельное (один локус со множеством кодоминантных аллелей, контролирующих устойчивость к разным расам патогена);
- сцепленное, при котором большое число ди- или мультиаллельных локусов сцеплены и образуют блок фенотипически сходных генов, определяющих устойчивость к одной или нескольким болезням. Такое распределение генов встречается чаще двух первых.

Примеры:

На коротком плече пятой хромосомы ячменя находится изофенотический блок из пяти локусов, определяющих устойчивость к мучнистой росе; в одном из этих локусов — *Mia* — картировано около 20 кодоминантных аллелей, определяющих устойчивость к разным расам.

Устойчивость к расам 1, 3, 8 и 10 возбудителя мучнистой росы клевера контролируется аллельными или тесно сцепленными генами.

У льна около 30 генов устойчивости к расам возбудителя ржавчины *Melampsora lini* расположены в пяти локусах: в локусе *L* картировано 13 аллельных генов, *M*—7 тесно сцепленных генов, в локусе *P*—5, *N*—3, *K*—1.

Устойчивость кукурузы к расам возбудителя ржавчины *Puccinia sorghi* контролируют пять локусов. Два из них — *Rpl* и *Rp5* тесно сцеплены, причем в первом картировано 14 аллельных и тесно сцепленных генов.

Ген устойчивости риса к бактерии *Xanthomonas oryzae* *Xa21* входит в мультигенное семейство, состоящее, по крайней мере, из восьми членов, которые картированы в одном локусе на хромосоме 11.

Сцепленные гены устойчивости томата к возбудителю оливковой пятнистости *Cladosporium fulvum* *Cf1*, *Cf4*, *Cf9* расположены на коротком плече хромосомы 1, а *Cf2* и *Cf5*— на коротком плече хромосомы 6.

На очень коротком сегменте первой хромосомы ржи расположены гены устойчивости к трем ржавчинам (стеблевой, желтой и бурой). Возможно, это один полифункциональный ген.

Возникновение кластеров сцепленных генов, функционально и структурно сходных, обусловлено внутри- и межгенными обменами участков ДНК, имеющих прямые ($a b c d - a' b' d' d'$) или инверти-

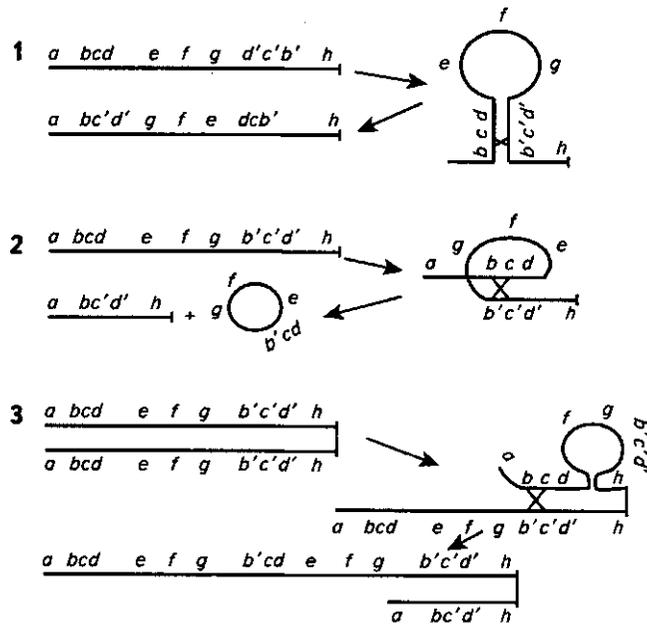


Рис. 19. Схема эктопической рекомбинации:

1 — внутримолекулярная рекомбинация между обращенными повторами *bed* и *d'e'b'* в участке между * и с (апострофы указывают на одинаковые участки двух повторов) сопровождается поворотом на 180° (инверсией) участка *efg*, заключенного между повторами; 2 — внутримолекулярная рекомбинация по прямым повторам *bed* и *b'e'd'* с вырезанием сегмента хромосомы между участками кроссинговера и состыковкой сегментов, расположенных снаружи от участков кроссинговера; 3 — рекомбинация по прямым повторам *bed* и *b'e'd'* между сестринскими хроматидами (неравный кроссинговер) с утратой (делецией) сегмента *efg* и одной копии повтора *bed* в одной хроматиде и их добавление (дупликация) к другой.

повторяющиеся последовательно (abed— d' c' b' a') повторы, часто приводящими к неравному кроссинговеру (рис. 19).

Наконец обнаружена очень высокая частота мутирования локусов, ответственных за устойчивость, превышающая частоту мутаций других локусов. Например, после облучения у-лучами выявлено 2,8 % мутантов ячменя, устойчивых к мучнистой росе (в контроле — 0,7 %), 2,7 % мутантов льна, устойчивых к ржавчине, 0,1 % мутантов риса, устойчивых к пирикулярриозу.

ГЕНЕТИКА ВЗАИМООТНОШЕНИЙ с ПАРАЗИТАМИ. Из определения ВУ следует, что гены устойчивости могут обеспечивать непоражаемость растения одними расами и поражаемость другими. Параллельное изучение генетики устойчивости льна и генетики вирулентности его паразита *Melampsora lini* привели американского фитопатолога Флора к постулированию концепции, названной им «ген на ген». Результаты классических опытов Флора приведены в таблице 2.

2. Схема наследования устойчивости и вирулентности в системе лен—ржавчина (Флор, 1962)

Раса паразита	Сорт хозяина		F ₁ R1r1 R2r2	F ₂				Отношение R : S
	Оттава R1-r2r2	Бомбей r1r1-R2-		110 (9)	32 (3)	43 (3)	9 (1)	
22(a1a1A2-)	R(A)	S(a)	R	R	R	S	S	3 : 1
24 (A1-a2a2)	S(a)	R(a)	R	R	S	R	S	
F ₁								
(A1a1A2a2)	A	A	A	A	A	A	a	15 : 1
F ₂								
(A1-A2-)	A	A 78(9)	A	A	A	A	a	15 : 1
(a1a1A2-)	a	A 23(3)	A	A	a	A	a	3 : 1
(A1-a2a2)	A	a27(3)	A	A	A	a	a	3 : 1
(a1a1a2a2)	a	a5(1)	a	a	a	a	a	

Примечание. R — устойчивость; S — восприимчивость; A — авирулентность; a — вирулентность.

Как видно из данных, представленных в таблице, гетерозиготы хозяина и паразита (F₁) соответственно устойчивы к обоим расам и авирулентны к обоим сортам; устойчивость и авирулентность управляются доминантными генами хозяина и паразита. Восприимчивость или вирулентность проявляются при наличии гомозиготных рецессивных аллелей доминантных генов устойчивости и авирулентности. Таким образом, у хозяина и паразита имеются «комплементарные» гены, взаимодействие продуктов которых определяет установление состояния устойчивости или восприимчивости растения к данной расе паразита. Устойчивое состояние возникает лишь в том случае, если взаимодействующие аллели растения и патогена доминантны; если же один взаимодействующий аллель или они оба находятся в гомозиготном рецессивном состоянии, растение восприимчиво. Отсюда следует, что гены вирулентности рецессивны, а гены устойчивости доминантны. Отношения растения и паразита, имеющих по одной паре взаимодействующих генов, можно записать в виде квадратной сетки (табл. 3).

3. Диаллельные взаимоотношения хозяина и паразита в системе «ген на ген»

Паразит	Растение-хозяин	
	rr	RR (Rr)
AA (Aa)	S (C)	R (I)
Aa	S (C)	S (C)

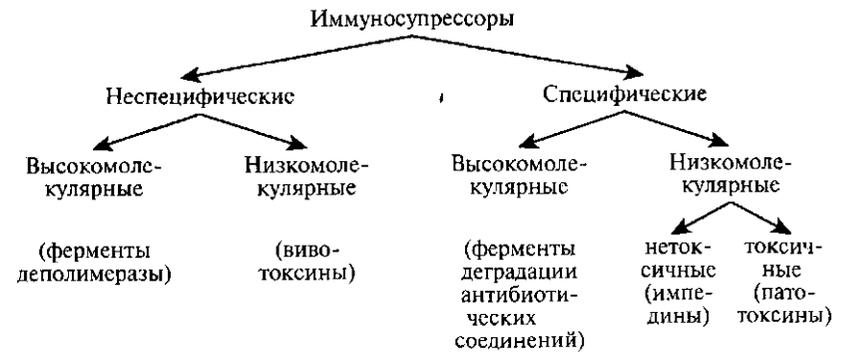
Примечание. S или C — восприимчивость (susceptibility) или совместимость (compatibility); R или I — устойчивость (resistance) или несовместимость (incompatibility).

Теория «ген-на-ген» позволяет исследовать продукты генов устойчивости и вирулентности, определяющие, будет ли растением устойчивым (а паразит — авирулентным) или восприимчивым (а паразит — вирулентным). Сравнивая молекулярные различия двух растений по отношению к расе AA, можно изучать механизмы устойчивости растения, а сравнением молекулярных различий двух паразитов по отношению к сорту RR — механизмы вирулентности. Важнейшее условие для такого рода исследований — соответствующая подготовка растений и их паразитов. Нельзя изучать механизмы устойчивости к бурой ржавчине сравнением восприимчивого сорта мягкой пшеницы и устойчивого образца пшеницы Тимофеева, ибо эти разногеномные виды различаются огромным числом генов. Необходимо иметь две линии растений, которые различаются лишь аллельным состоянием одного гена устойчивости (изогенные линии). Раньше единственным способом создания таких линий было многократное беккроссирование (многократные повторные скрещивания восприимчивого сорта с носителем определенного R-гена), при которых гены устойчивого сорта постепенно замещаются генами восприимчивого. После каждого скрещивания необходимо заражение гибридов авирулентной для носителя данного гена расой паразита, чтобы сохранить ген, ради которого производятся скрещивания («не выплеснуть младенца вместе с грязной водой»). Работа эта длительная, многолетняя, причем благодаря сцеплению невозможно перенести только один ген в рекуррентный сорт (поэтому такие линии называют почти изогенными). Сейчас благодаря методам работы с рекомбинантной ДНК гены устойчивости многих растений можно клонировать и с помощью генно-инженерных приемов перенести в восприимчивое растение, создав истинно изогенные линии. Для получения изогенных линий паразита (вирулентной и авирулентной) часто авирулентный штамм подвергают мутагенной обработке. Поскольку авирулентность доминантна, часто возникающие рецессивные мутации в локусе авирулентности делают паразита вирулентным.

На основании данных, представленных в таблице 3, можно заключить, что продукты генов устойчивости (R-белки) настроены на узнавание выделяемых паразитами химических веществ, которые будут рассмотрены далее.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ И АВИРУЛЕНТНОСТИ ПАЗАРИТОВ. Химические продукты, которые паразит выделяет в зараженное растение для установления взаимоотношений с ним, называют иммуномодуляторами. Они могут быть двух типов: *супрессоры*, или *импедины*, которые подавляют защитный эффект хозяина, и *элиситоры*, или *индукторы*, которые, наоборот, вызывают протекание защитных реакций.

Иммуносупрессоры. Классификация иммуносупрессоров представлена на следующей схеме.



Неспецифические супрессоры не участвуют в системе взаимоотношений типа «ген-на-ген». Они являются общими факторами патогенности, без которых паразит не смог бы преодолеть факторы полевой и истинной устойчивости живых растений.

Высокомолекулярные неспецифические супрессоры. Это ферменты, разрушающие клеточные покровы растений. За исключением вирусов, большинство которых «везжает» в растительную клетку с помощью штилета насекомых, паразиты (грибы и бактерии) должны преодолеть полисахаридный барьер клеточной стенки. Наиболее активны ферменты, вызывающие деградацию пектина, связывающего структурные полисахариды (целлюлозу и гемицеллюлозу) в единый комплекс и составляющего основу срединной пластинки — межклеточного цемента, объединяющего клетки в ткань. По своей химической природе пектин представляет собой линейную цепь соединенных глюкозидными α -1,4-связями молекул полигалактуроновой кислоты, метилированных по шестому углероду и имеющих редкие веточки, составленные из молекул рамнозы (метилрамнополигалактуронан) (рис. 20). У грибов и бактерий обнаружен набор разнообразных ферментов, разрушающих пектин, — пектиназы. Одни из них (пектинметилэстеразы — ПМЭ) деметилируют молекулу. Свободные карбоксильные группы полигалактуроновой кислоты соединяются с ионами двухвалентных металлов (Ca^{2+} , Mg^{2+}) с образованием набухающих в воде пектатов, которые препятствуют ксилемному току и являются одной из причин инфекционного увядания растений. Другие ферменты (полигалактуроназа — ПГ, пектатлиаза — ПЛ) разрезают молекулу полигалактуроновой кислоты на отдельные фрагменты — олигогалактурониды, не способные к связыванию других полисахаридов клеточной стенки. Действие разных пектиназ показано на рисунке 20.

Если биотрофные паразиты, питающиеся содержимым живых клеток, образуют эти ферменты в низких концентрациях, позво-

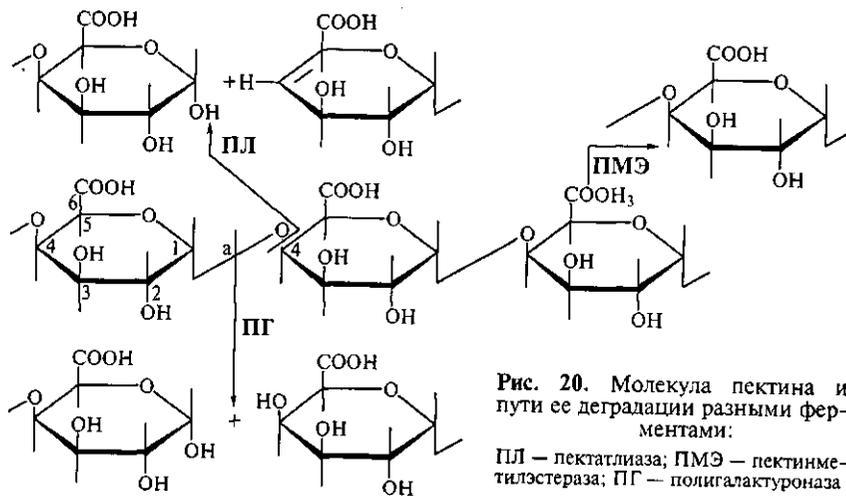


Рис. 20. Молекула пектина и пути ее деградации разными ферментами:
ПЛ — пектагилаза; ПМЭ — пектинметилэстераза; ПГ — полигалактуроназа

ляющих сделать в клеточной стенке лишь небольшое отверстие для прохождения инфекционной гифы, то некротрофы снимают оболочку со значительной части клетки. Поскольку клеточная стенка выполняет роль каркаса, поддерживающего протопласт, ее удаление приводит к разрыву содержимого вследствие тургорного давления. Мертвая же клетка не обладает иммунными свойствами и заселяется любыми микроорганизмами, которых она может удовлетворить как источник питания. Мацерация клеток приводит к возникновению сухих (грибных) и мокрых (бактериальных) гнилей.

Низкомолекулярные неспецифические супрессоры. К ним относят вивотоксины — низкомолекулярные метаболиты грибов и бактерий, выделяемые в зараженное растение (*in vivo*), а не только в искусственную питательную среду, в которой выращивают данный микроорганизм, и вызывающие типичные симптомы болезни (некрозы, увядание).

Токсическое действие вивотоксинов обусловлено их влиянием на разные стороны метаболизма растений. По механизмам токсичности их можно разделить на несколько групп.

Ингибиторы ферментов растений. Таковы табтоксин фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, фазеолотоксин *P. syringae* pv. *phaseolicola*, тентоксин гриба *Alternaria alternata*. Например, табтоксин — дипептид, соединенный с β -лактамовым кольцом (рис. 21). В зараженном растении растительные протеазы отщепляют активную часть токсина **табтоксинин- β -лактам** — ингибитор фермента глутаматсинтетазы. Вследствие снижения активности этого фермента накапливается его предше-

ственник аммоний, вызывающий разобщение фосфорилирования, ингибирование фотосинтеза и дыхания. Эти нарушения обмена проявляются как системный хлороз и задержка роста.

Мембраноактивные вещества. Многие вивотоксины фитопатогенных грибов из родов *Fusarium* [фузариевая кислота (рис. 22)], *Rhizosporium*, *Phoma*, *Cephalosporium*, *Fusicoccus* и бактерий из родов *Clavibacter*, *Pseudomonas* (коронатин, синрингомицины) обладают сильным мембранотропным действием. Они индуцируют потерю метаболитов и некрозы клеток, влияют на трансмембранный перенос ионов и ритм работы устьиц, вызывая увядание растений.

Генераторы активных форм кислорода. Некоторые фитопатогенные грибы из родов *Cercospora*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Elsinoe*, *Hypocrella* образуют циклические соединения — пренилированные хиноны (рис. 23), для проявления токсичности которых в отношении растений-хозяев требуется свет, то есть они относятся к группе фотосенсибилизаторов. В результате абсорбции энергии света фотосенсибилизаторы конвертируются в энергетически активное состояние и приобретают способность при взаимодействии с молекулярным кислородом генерировать его активные формы — супероксид-радикал (O_2^-), пероксид водорода (H_2O_2), гидроксил-радикал (OH^-) и синглетный кислород (O^2). Все они обладают высокой токсичностью и вызывают повреждения в клетках растений.

Ингибиторы синтеза белка. Трихотеновые токсины фузариевых грибов (рис. 24) ингибируют синтез белка у эукариот. Эти токсины представляют интерес, потому что, во-первых, их продуценты вызывают экономически очень важные болезни пшеницы, ячменя, кукурузы и, во-вторых, содержащие токсины растительные продукты токсичны для людей и сельскохозяйственных животных (вызывают потерю аппетита, дерматиты, анемию, геморрагический сепсис, иммуносупрессию).

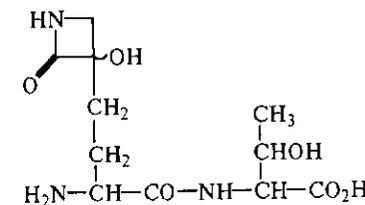


Рис. 21. Табтоксин

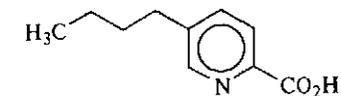


Рис. 22. Фузариевая кислота

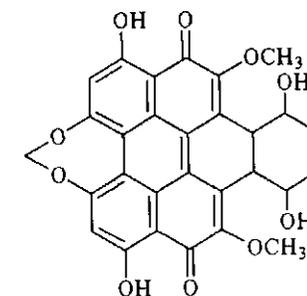


Рис. 23. Порфириносодержащий токсин *Cercospora* sp.

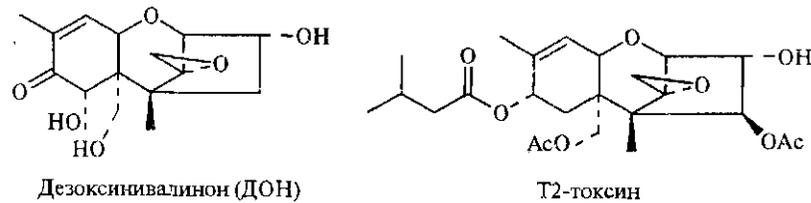


Рис. 24. Трихотсеновые токсины *Fusarium graminearum*

Специфические супрессоры определяют круг растений-хозяев, ибо они подавляют защитные реакции или инактивируют их продукты только у определенных видов растений, что позволяет продуцентам специфических супрессоров заселять такие растения.

Ферменты, деградирующие фитоантиципины и фитоалексины. У многих паразитов обнаружены ферменты, изменяющие структуру фитоалексинов и фитоантиципинов и снижающие их токсичность. Известно несколько групп таких ферментов.

Гликозидазы. Эти ферменты отщепляют глюкозу и другие сахара от гликозида, переводя его в нерастворимую форму агликона. Например, штаммы возбудителя корневой гнили злаков *Geotrammomyces graminis*, способные заражать корни овса, отличаются от авирулентных штаммов наличием фермента авенациназы, отщепляющей остатки Сахаров от сапонина авенацина и переводящей его в нерастворимую менее активную форму.

Томатиназа (Р-гликозидаза) паразита томата *Septoria lycopersici*, отщепляя глюкозу от стероидного гликоалкалоида а-томатина, переводит его в более токсичный Р2-томатин. Последний, в свою очередь, подавляет индукцию защитной ответной реакции, поскольку интерферирует с фундаментальными путями передачи сигнала, ведущими к возникновению устойчивости.

Гидролиазы. Изменяют молекулу присоединением к ней воды. Например, патогены сорго *Gloeosporium sorghi* и лядвенца *Stemphylium loti* с помощью фермента цианидгидролиазы осуществляют конверсию цианида (синильной кислоты) в менее токсичный формамид.

Деметилазы. Отщепление от некоторых соединений металлических групп сильно снижает их патогенность. Например, штаммы гриба *Nectria haematococca* (анаморфа *Fusarium solani*), способные заражать горох, имеют фермент пизатиндеметилазу, отщепляющую металлическую группу от молекулы пизатина (рис. 25).

Импедины. В отличие от вивотоксинов, которые разрушают растительную ткань, молекулы супрессоров импединов лишь предотвращают появление устойчивости, позволяя патогенным орга-

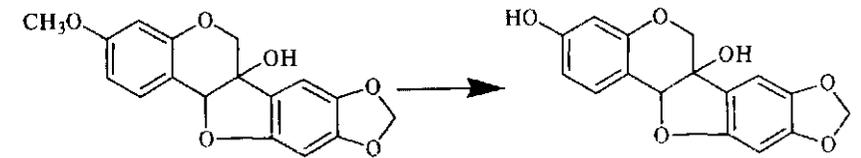


Рис. 25. Разложение пизатина

низмам колонизировать растение. Супрессоры вирулентных к данному растению видов и штаммов патогенов так воздействуют на растительные клетки, что они теряют способность противостоять последующему заражению невирулентными штаммами и видами. В частности, пептидный супрессор паразита гороха *Mycosphaerella pinodes* ингибирует индукцию в листьях гороха стрессовых ферментов ФАЛ и халконсинтазы и накопление фитоалексина пизатина. Супрессор *Phytophthora infestans* — р-глюкан, выделяемый вирулентными расами, ингибирует образование раневой перидермы в клубнях восприимчивых сортов картофеля и накопление фитоалексинов. Именно по этой причине партии клубней картофеля с высоким процентом зараженности фитофторозом обычно гнивают не от этой болезни, а от болезней, вызываемых некротрофными гнилостными грибами и бактериями, защита от которых снимают супрессоры фитофторы.

Патотоксины. В отличие от вивотоксинов некоторые токсины фитопатогенных грибов оказывают повреждающее действие только на определенные виды и даже сорта растений. Они получили название патотоксинов. Например, линейный поликетид (рис. 26) — токсин гриба *Cochliobolus heterostrophus* (анаморфа *Bipolaris maidis*) вызывает очень сильное поражение только таких сортов кукурузы, в которые для получения высокоурожайных гибридов введен ген цитоплазматической мужской стерильности (цмс), локализованный в митохондриях. Этот ген контролирует синтез белка с молекулярной массой 13 кД (URF13), локализованного на внутренней мембране митохондрий и являющегося мишенью действия токсина. В соединении с токсином белок URF13 полимеризуется и образует трансмембранные каналы, через которые происходит утечка метаболитов (потери Ca^{2+} , НАД⁺, разоб-

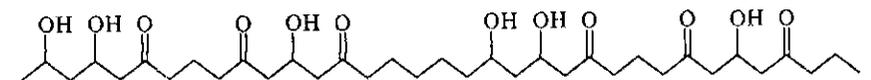


Рис. 26. Т-токсин

шение окислительного фосфорилирования). Белки цитоплазматической, митохондриальной и хлоропластной мембран являются специфическими сайтами связывания и других патотоксинов. Поэтому устойчивость к патотоксинам обусловлена главным образом отсутствием рецепции (потерей рецепторного мембранного белка) или разрушением токсина. Например, сорта кукурузы, устойчивые к грибу *Cochliobolus carbonum*, продуцируют фермент, разрушающий его токсин.

Элиситоры. Как вытекает из ранее изложенного, для установления взаимоотношений с растением-хозяином паразит выделяет многочисленные метаболиты. В процессе коэволюции у растений возникли механизмы рецепции некоторых метаболитов паразитов и передачи сигнала о появлении чужого организма для инициации защитных реакций. Вещества паразита, индуцирующие протекание защитных реакций у растений, получили название элиситоров. Как и иммуносупрессоры, элиситоры бывают *неспецифическими*, вызывающими протекание защитных реакций как в устойчивых, так и в восприимчивых видах и сортах растений, и *специфическими*, которые вызывают защитные реакции только в устойчивых сортах растений.

Неспецифические элиситоры. Первые этапы взаимодействия паразитов с растениями обусловлены контактами клеточной стенки гриба или бактерии с цитоплазматической мембраной растительной клетки. Поэтому многие компоненты клеточной стенки грибов обладают элиситорными свойствами, вызывающими защитную ответную реакцию растения. Основные составные части грибной клеточной стенки (β -1,3-глюкан и линейный полимер ацетилглюкозамина хитин. Обрывки этих молекул — олигосахариды являются хорошо исследованными элиситорами. Например, обработка семян сои гептаглюкозидом (олигомер, состоящий из семи глюкозных остатков) *Phytophthora sojae* (рис. 27) в концентрации 10 нМ индуцирует образование в них фитоалексина глицеоллина. Из плазмалеммы сои выделен белок-рецептор, связывание которого с глюкозидом приводит к изменению ионных каналов мембраны, потере K^+ и Cl^- и, наоборот, повышенному поступлению Ca^{2+} и H^+ , генерации активных форм кислорода, активизации иммунной реакции клетки. Активными элиситорами являются *хитин*, его деацетилированная форма хитозан и их фрагменты (олигомеры), а также *гликопротеиды*, входящие в состав клеточных стенок грибов. Полисахариды клеточных стенок грибов — высокомолекулярные соединения, ковалентно связанные друг с другом и другими соединениями, поэтому они могут выполнять элиситорные функции только будучи предварительно деградированными и переведенными в растворимую форму соответствующими ферментами. Ранее было сказано, что среди PR-белков растения обнаружены ферменты (β -глюканаза и хитиназа, которые расщепляют молекулы глюкана и хитина на отдельные

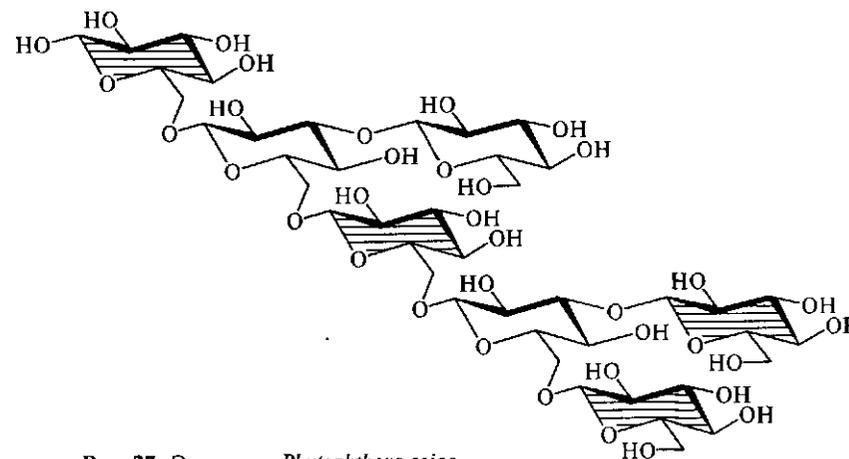


Рис. 27. Элиситор *Phytophthora sojae*

низкомолекулярные фрагменты, проникающие в растение и играющие роль элиситоров.

Элиситорной активностью обладают и некоторые внутриклеточные соединения фитопатогенов. Например, в клетках *Phytophthora infestans* содержится полиненасыщенная жирная арахидоновая кислота, содержащая четыре двойные связи (рис. 28). Она освобождается из проростков спор и вызывает протекание активных защитных реакций в зоне заражения, в частности накопление фитоалексина.

Расоеспецифические элиситоры. Вернемся к квадратной сетке, описывающей диаллельные взаимоотношения растения-хозяина и паразита в системе «ген-на-ген» (см. табл. 3). Устойчивое состояние (несовместимость) развивается только в том случае, если комплементарные гены хозяина и паразита находятся в доминантном состоянии. Если же один из них или оба гена рецессивны, то растение восприимчиво, а паразит вирулентен (состояние совместности). Эти данные были интерпретированы следующим образом: ген устойчивости R-ген контролирует синтез специфического белка-рецептора, а ген авирулентности (Avr-ген) — специфического элиситора. Их взаимодействие приводит к индукции защитных реакций. Если у растения отсутствует рецептор или у паразита элиситор, то защитная реакция не развивается. Отсутствие рецепции может быть вызвано делецией генов хозяина и паразита (рецептора или элиситора нет вообще) или мутация-

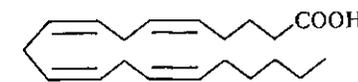


Рис. 28. Арахидоновая кислота

ми этих генов (взаимодействие элиситор-рецептор ослаблено или потеряно).

У **вирусов** роль элиситоров выполняют вирусные белки, которые синтезируются внутри зараженных клеток растений. В частности, структурный белок ВТМ узнается продуктом гена *N'* устойчивого табака *Nicotiana glauca*, фермент РНК-полимераза — продуктом гена *Y* табака *N. glauca*, а транспортный белок — продуктом гена *Tm2* устойчивых сортов томата.

У **бактерий** обнаружены семейства гомологичных Avr-белков. Белок AvrBs2 *Xanthomonas vesicatoria* и его гомолог у *X. campestris* pv. *alfalfae* обладают свойствами фермента, участвующего в синтезе и гидролизе фосфодиэфирных связей между углеводами или фосфолипидами. Кодируемые геном *AvrBs3* *X. vesicatoria* и гомологичными генами *X. campestris* pv. *mahacearum*, *X. citri* и *X. oryzae* pv. *oryzae* белки индуцируют реакции устойчивости, однако их инактивация в результате мутаций приводит к общему снижению патогенности. Семейство AvrBs3-белков необходимо для размножения фитопатогенных бактерий в растении и развития симптомов болезней.

Установлена структура Avr-белков и у некоторых **грибов**. Белок Avr9 *Cladosporium fulvum*, вызывающий защитные реакции у сортов томата, имеющий ген *C/9*, представляет собой пептид из 28 аминокислот, накапливающийся в межклеточной жидкости пораженных листьев. Функции Avr9-белка неизвестны, но, по-видимому, он участвует в поступлении азота, так как синтезируется в зараженных растениях, а *in vitro* только в условиях азотного голодания. Регулятором его активности является белок Nrf1 — центральное звено в поступлении и метаболизме нитратного азота у гриба.

У гриба *Pyricularia oryzae* (телеоморфа *Magnaporthe grisea*) установлена структура нескольких *avr-генов* и кодируемых ими белков. Ген *AVR-Pita* локализован в теломерной области хромосомы, что обуславливает его нестабильность вследствие частых перестроек. (Нестабильность вирулентных рас этого гриба давно вызывала удивление фитопатологов; есть данные, что из одного пятна можно изолировать много моноспоровых штаммов, различающихся вирулентностью на сортах риса.) Элиситор Avr-Pita состоит из 176 аминокислот. Функционально он представляет собой цинкзависимую протеазу. Ген *AVR-Pita* экспрессируется на поздних этапах патогенеза, что связано, по-видимому, с необходимостью использовать находящиеся в зараженной клетке белки для питания. Другой *avr-белок* — *Acel* оказался ферментом поликетидсинтетазой, участвующей в синтезе вторичных метаболитов поликетидной структуры (в частности, меланина).

Возбудитель пятнистости ячменя гриб *Rhynchosporium secalis* выделяет в растение несколько белков, вызывающих некрозы, и названных NIP-белками. Они неспецифически токсичны для разных растений, то есть являются вивотоксинами. Один из них — NIP1 оказался расоспецифическим элиситором для сортов ячме-

ня, имеющих ген устойчивости *Rrs1*. Детерминанты токсичности и индукции защитных реакций находятся на разных концах молекулы этого белка и, по-видимому, взаимодействуют с разными рецепторами.

Элиситоры и паразитическая приспособленность. Благодаря своей структуре белки-элиситоры проходят через мембраны и отщепляются протеазами в процессе созревания элиситора (у грибов) или транспортируются из клетки с помощью специального секреторного механизма (у бактерий). Находясь вне протопласта клетки хозяина, они играют роль во взаимоотношениях с внешней средой (например, продукт *avr9* *Cladosporium fulvum* участвует в метаболизме азота в условиях азотного голодания). Попадая в клетку из внутриклеточных паразитических структур (гаусторий) или с помощью секреторных систем (Нгр-пили бактерий), они участвуют в патогенезе, разлагая полимеры клетки хозяина (AvrPi-ta *Magnaporthe grisea*), подавляя защитные свойства (NIP1 *Rhynchosporium secalis*), обеспечивая размножение паразита и развитие симптомов болезни (семейство AvrB3-белков у ксантомонад). У вирусов в роли специфических элиситоров выступают внутриклеточные белки, как структурные, так и ферментные.

Приспособленность или фитнесом (по-английски fitness, *W*) называют вклад индивидуума в генный пул следующей генерации (Roughgarden, 1979). Фитнес популяции за какой-либо отрезок времени равен отношению (ρ) численностей за это время ($\ln W = \rho$). Если популяция представлена одним клоном, то фитнес всех ее членов будет одинаковым. Однако реальные популяции состоят из генотипов, имеющих различный фитнес. Разница между фитнесом лучшего генотипа и средним фитнесом популяции называют генетическим грузом (*L*). Груз может быть сегрегационным и мутационным. Первый обусловлен преимуществом гетерозигот, при размножении которых выщепляются гомозиготы с более низким фитнесом. Поскольку большинство фитопатогенов гаплоидны, причем многие из них агамны, вклад сегрегационного груза в общую приспособленность невелик.

Мутационный груз обусловлен непрерывным спонтанным мутационным процессом, вследствие которого возникают мутанты с пониженным фитнесом. Допустим, что в популяции встречается два аллеля одного локуса — нормальный *A* и мутантный *a*. Приспособленность первого $W^A = 1$, а второго $W^a = 1 - S$, где *S* — коэффициент отбора (показатель мутационного груза). Если частота дикого фенотипа равна *p*, а мутантного — *q* ($p + q = 1$), то средняя приспособленность популяции будет равной $1 - Sq$. При значении *S* выше, чем *q*, мутантные фенотипы не будут накапливаться в популяции. Общее число мутантов (*a*) будет складываться из частоты мутаций $A \rightarrow a$ и коэффициента отбора против мутантного фенотипа (*S*). Следовательно $q = m/S(1 + m)$, где *m* — частота мутант-

ного генотипа. Поскольку m — очень малая величина, $1 + m \approx 1$, $q = m/S$, а $S = m/q$. Следовательно, зная частоту мутантного генотипа и частоту мутаций, можно вычислить S .

Поскольку расширение вирулентности сопровождается потерей или изменением структуры элиситора, оно сопровождается снижением приспособленности в паразитической или сапрофитной фазе жизненного цикла паразитов. В эпидемиологии есть даже понятие «цена вирулентности» (Leopard, 1977). В таблице 3 (с. 61) изображены диаллельные взаимоотношения паразита и растения-хозяина в системе «ген-на-ген». Если эти же взаимоотношения выразить не в качественных, а в количественных (популяционных) показателях, то они примут следующий вид (табл. 4).

4. Фитнес паразитов на разных хозяйских генотипах в системе «ген-на-ген»

Фитнес паразита	Генотип растения-хозяина	
	RR (Rr)	Rr
W_A	1	$1-t^*$
W_a	$1-S$	$1-S$

* Показатель устойчивости сорта.

Показатель устойчивости сорта / можно вычислить, сравнивая интенсивность размножения паразита на устойчивом и восприимчивом сортах. По многим данным t приближается к 1, а $1 - t$ приближается к 0. S — цена вирулентности, то есть налог, который выплачивает паразит за способность размножаться на устойчивом генотипе хозяина. Методы его расчета различны (Дьяков, 1998). Некоторые показатели S (Ennos, McConnell, 1995) приведены ниже:

Puccinia graminis avenae — 0,126 (против лишних генов вирулентности);

P. striiformis — 0,435 (против вирулентной расы);

Cochliobolus heterostrophus — 0,302 (против расы θ на Т-цитоплазме), 0,120 (против расы Г на нормальной цитоплазме);

S. carbonum — 0,58 (против расы O), 0,17 (против расы 5);

Phytophthora infestans — 0,622 (против гена вирулентности расы /).

Как видно, цена вирулентности разных генов одного и того же паразита может отличаться.

Если продукт паразита, который растение узнает как элиситор, очень важен для жизнеобеспечения (fitness), то его потеря или изменение структуры может трагически сказаться на жизнеспособности (интенсивности споруляции, патогенности, способности сохраняться вне растения) и численность вирулентной

расы будет невысокой. В таких случаях ВУ, несмотря на теоретическую возможность ее преодоления вирулентными расами, будет долгое время оставаться стабильной. Например, найдено много штаммов ВТМ, поражающих вид табака *Nicotiana sylvestris*, потому что изменения в структуре белка оболочки вируса, при которых он перестает узнаваться как элиситор, не сказываются на жизнеспособности вируса. Однако *N. glutinosa* и гибриды с ним культурного табака много лет сохраняют устойчивость к вирусу, хотя их посевы занимают значительные площади. Это связано с тем, что элиситор для них — фермент РНК-полимеразы вируса, изменения структуры которого ухудшают его работу и сильно снижают fitness.

СТРУКТУРА R-БЕЛКОВ РАСТЕНИЙ. Химическая структура продуктов генов ВУ — R-белков была расшифрована лишь в конце прошлого века. Эти белки содержат несколько участков (доменов). Поскольку белки являются полимерами аминокислот, они заканчиваются с одной стороны карбоксильной группой (С-концевой участок), а с другой — аминогруппой (N-концевой).

Самый крупный домен находится на С-конце белка. Он содержит большое число (несколько десятков) повторяющихся последовательностей аминокислот, среди которых чаще других встречается аминокислота лейцин (повторы, богатые лейцином — ПБЛ). Каждый ПБЛ состоит из 23...24 аминокислот; во-первых, такая структура обеспечивает взаимодействие с другими белками, то есть может служить рецептором для лигандов (элиситоров) паразита, и, во-вторых, наличие частых повторов в структуре кодирующей ДНК (R-гене) является условием генетических перестроек вследствие неаллельной (эктопической) рекомбинации. Частые внутри- и межгенные перестройки, включающие неравный кроссинговер, приводят к возникновению серии аллельных и тесно сцепленных генов. Их продукты отличаются деталями структуры рецепторных участков и могут связываться с разными по химической структуре элиситорами. Таким образом устанавливаются расоспецифические взаимоотношения, описываемые как система «ген-на-ген». Молекулярные исследования показали, что домен ПБЛ в большинстве случаев соединяется не непосредственно с элиситором. Сначала элиситор, будучи фактором неспецифической патогенности, соединяется с определенными молекулами в зараженной клетке, блокируя иммунные реакции. ПБЛ домен R-белка узнает такое соединение, то есть он стоит на страже клетки, предотвращая нападение на нее патогенов.

На N-конце R-белка располагаются участки, обеспечивающие передачу сигнала, возникшего вследствие взаимодействия домена ПБЛ с элиситором. Распространение (транедукция) сигнала протекает несколькими путями, часть из которых являются общими для всех зараженных клеток, а часть — специфическими (по отно-

шению к биотрофным паразитам преобладает один путь, к некотрофным и насекомым-вредителям — другой, к ризосферным бактериям — третий). Кратко рассмотрим некоторые пути трансдукции сигнала в клетках и вещества, участвующие в этом процессе.

- Протеинкиназный путь. Функция ферментов протеинкиназ заключается в фосфорилировании определенных белков. Поскольку остатки фосфорной кислоты — высокоэнергетические соединения, фосфорилированный белок приобретает определенную активность, которой он не имел прежде. Кроме того, этот белок может дефосфорилироваться, передавая фосфат другому белку. Возникает цепочка, по которой фосфат передается внутрь клетки, при этом сигнал может многократно усиливаться. Конечная киназа имеет участок (сайт), связывающийся с ДНК, вследствие чего может включать транскрипцию ранее молчащих генов или, наоборот, выключать другие гены (белок — регулятор транскрипции). В результате происходит включение генов иммунного ответа, обеспечивающих синтез PR-белков, фенолов, фитоалексинов и других факторов индуцированной устойчивости. Если такие белки представить себе в виде игроков футбольной команды, то нефосфорилированный белок, как и игрок без мяча, неактивен, а фосфорилированный — активен. Передача фосфата от одного белка другому — это перепасовка мяча, приближающая его к воротам соперника. Наконец, фосфорилирование белка — регулятора транскрипции — это передача мяча нападающему, который забивает гол. В клетках всех эукариот имеется семейство протеинкиназ, активность которых увеличивается во время митозов (митоген-активных протеинкиназ или МАП-киназ). Их цепочка — один из важных путей трансдукции сигнала в зараженной клетке.

- Роль салициловой кислоты в трансдукции сигнала. Простое фенольное соединение салициловая кислота (рис. 29) является важным пунктом передачи

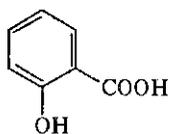


Рис. 29. Салициловая кислота

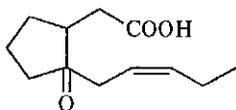


Рис. 30. Жасмоновая кислота

сигнала, ибо участвует в регулировании СВЧ-реакции, синтезе фенольных соединений, PR-белков и, что очень важно, в возникновении системной приобретенной устойчивости (СПУ). Интересно, что ацетилированное производное салициловой кислоты — аспирин самое распространенное лекарство, которое активно влияет на протекание иммунных реакций у человека.

- Роль жасмоновой кислоты и этилена в трансдукции устойчивости. Одно из важных изменений, протекающих после активизации R-бел-

ка элиситором паразита — усиление липидного обмена, в частности, активизация фермента липооксигеназы (ЛОГ). Продукты окисления липидов — оксипиены, один из которых жасмоновая кислота (ЖАК) (рис.30) является важным промежуточным элементом трансдукции сигнала, особенно при заражении некотрофными паразитами или питании насекомыми. ЖАК и ее метиловый эфир (Me-ЖАК) индуцируют образование группы так называемых жасмонатиндуцируемых белков — ингибиторов протеиназ тионинов, фенилаланинаммиаклиазы, халконсинтетазы, липооксигеназы. Эти белки, как было сказано, являются факторами защиты от патогенных микроорганизмов и насекомых-фитофагов. Сходным действием обладает и газообразный растительный гормон этилен.

Таким образом, зараженная клетка имеет много различных путей доставки сигнала о появлении чужеродного организма к ядру и активизации ответной иммунной реакции.

4.2.2. ГОРИЗОНТАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ

Как было сказано, горизонтальная устойчивость (ГУ) отличается от вертикальной тем, что она раснеспецифична и отношения паразита и хозяина типа «ген-на-ген» при ней отсутствуют или не отчетливы. Различия между этими формами проявляются также в генетическом контроле. При скрещивании сортов, обладающих ВУ, с восприимчивым потомством F^1 дает единообразную реакцию на заражение (чаще оно устойчиво, так как гены ВУ доминантны), в F^2 наблюдается обычно расщепление на два класса, четко различающихся по фенотипу, — устойчивых и восприимчивых. Соотношение численности этих классов дает возможность определить число генов устойчивости у устойчивого родителя.

Если же скрестить сорт, обладающий ГУ, с восприимчивым, то в первом поколении не будет фенотипического разнообразия. Так, при скрещивании двух контрастных по устойчивости к фитофторозу сортов картофеля Вольтман и Приекульский ранний [первый — устойчив и поражается на 1 балл по пятибалльной шкале (0 — нет поражения, 4 — гибель растения, 1...3 — промежуточные показатели), второй сорт восприимчив и поражается на 3...4 балла] гибридное потомство этих сортов будет иметь различное поражение, как сильное, так и слабое, поэтому составить представление о доминантности и рецессивности генов устойчивости сорта Вольтман трудно. В таких случаях проводят статистический анализ расщепляющегося потомства. При построении графика зависимости степени пораженности отдельных растений от их числа в расщепляющейся гибридной популяции получается следующая картина (рис. 31). Как видно, в гибридном потомстве присутствуют как устойчивые, так и восприимчивые экземпляры, но у боль-

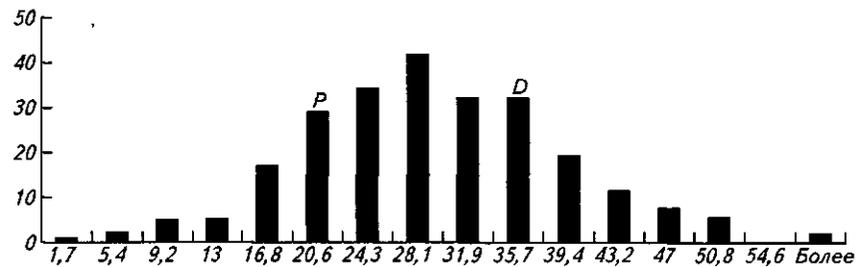


Рис. 31. Расщепление в F_1 при скрещивании сортов с разным уровнем ГУ. По оси абсцисс — доля листьев, покрытых пятнами болезни, %. По оси ординат — число гибридных растений. P и D — показатели родителей (Trognitz et al., 1997)

шинства растений пораженность соответствует среднему баллу. Гены, у которых отсутствует аллельное взаимодействие (частичная или полная доминантность), а гибриды показывают промежуточный фенотип по сравнению с их родителями, называют аддитивными. Во втором поколении колоколообразная кривая расщепления будет еще более растянутой, так что и о числе генов по результатам расщепления судить не приходится. Различия между сортами Вольтман и Приекульский ранний заключаются лишь в числе аддитивных генов. Эти гены обладают слабой экспрессивностью, то есть носитель каждого гена придает малозаметное фенотипическое отличие от носителя его аллеля, но в сумме они имеют кумулятивный эффект: чем больше генов, тем выше устойчивость. Допустим для простоты, что каждый ген снижает поражаемость фитофторозом на 0,5 балла. Тогда при отсутствии генов устойчивости растения будут поражены на 4 балла, при наличии одного гена — на 3,5, двух — на 3, трех — на 2,5, четырех — на 2, пяти — на 1,5, шести — на 1, семи — на 0,5 и восьми — на 0 баллов. В таком случае сорт Вольтман будет иметь 6 генов устойчивости (1 балл поражения), а сорт Приекульский ранний — 2 гена (3 балла). Если шесть генов сорта Вольтман и два гена сорта Приекульский ранний разные, то в гибридном потомстве возможно появление растений, имеющих от 0 до 8 генов, то есть более устойчивых, чем устойчивый родитель, и более восприимчивых, чем восприимчивый (такое явление называют трансгрессией, которая является основой получения устойчивых гибридов при скрещивании среднестойчивых сортов в селекционном процессе). Но таких растений в потомстве будет мало и для их выделения потребуются оценить очень большую гибридную популяцию. Так, гомозиготное растение, сочетающее шесть генов родителей, может возникнуть, в среднем, одно в более чем 6 тыс. гибридов, 5 генов — в тысяче гибридов, 4 гена — одно в 256 растениях. Большинство же

потомков будет поражено на средний балл $(6 \text{ генов сорта Вольтман} + 2 \text{ гена сорта Приекульский ранний})/2 = 4$ гена, или пораженность на 2 балла.

Из приведенного примера также следует, что в отличие от ВУ, придающей растению четкую качественную реакцию на заражение (СВЧ), ГУ может быть количественна и неодинакова у разных сортов (не тип пятна, а его размеры и число на растении).

Поскольку ГУ не подвергается эрозии со стороны вирулентных рас, она представляет большой интерес для селекции.

Гены ГУ, как и гены ВУ, у многих растений не рассеяны по хромосомам, а собраны в тесно сцепленные группы (кластеры), которые называют локусами, влияющими на количественные признаки — quantitative trait loci (QTL). По результатам гибридизации можно определить примерное число таких локусов.

Число QTL $(k) = \frac{1}{4} (\bar{P}_1 - \bar{P}_2) / \sigma_G^2$ или, более точно, $k = \frac{1}{4} (\text{градация } \bar{F}_1)^2$, где \bar{P}_1 и \bar{P}_2 — средние показатели родителей, σ_G^2 — генотипическая вариация, градация \bar{F}_1 — разница между крайними показателями гибридного потомства.

С развитием методов анализа ДНК появилась возможность картировать локусы, влияющие на количественные признаки, с помощью комбинации молекулярных и фенотипически проявляющихся показателей. Для этого скрещивают сорта или виды растений, имеющие отчетливое фенотипическое проявление количественного признака (например, ГУ), с сортами или даже близкородственными видами, для которых составлены достаточно подробные генетические карты, и изучают расщепление в потомстве по этому признаку параллельно с расщеплением по большому числу молекулярных маркеров (RAPD, RFLP, SCAR), с помощью которых строят генетические рестрикционные карты. Анализ сцепления устойчивости в расщепляющемся гибридном потомстве ($F_2 - F_4$, BC) с определенным молекулярным маркером на хромосомном участке позволяет, используя статистические методы оценки коэффициента ассоциации, локализовать QTL на рестрикционной карте. Например, на рисунке 32 представлена рестрикционная карта 5-й хромосо-

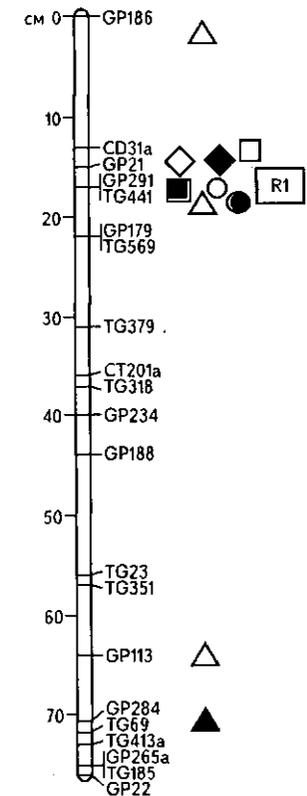


Рис. 32. Рестрикционная карта 5-й хромосомы картофеля и расположение QTL (Simko, 2002)

мы картофеля с нанесенными на нее QTL устойчивости к фитофторозу, полученными разными исследователями (обозначены различными значками) у разных видов *Solanum*. Как видно, на этой хромосоме выявлено четыре QTL: два — ближе к дистальной части хромосомы (сцеплены с молекулярными маркерами GP186 и GP21) и два — ближе к проксимальной области (сцеплены с GP113 и TG69). Интересно, что область, в которой QTL локализован различными исследователями при анализе разных образцов устойчивых пасленовых, тесно сцеплена с геном VY R1. Выявлены QTL, которые контролируют устойчивость клубней и листьев, только листьев, связанные с позднеспелостью и т. п.

Хотя для анализа QTL необходимо сложное молекулярное лабораторное оснащение, его результаты перекрывают затраты на его проведение, ибо такой анализ дает много полезной информации для генетиков и селекционеров:

- позволяет установить локализацию полигенов на генетической карте;
- дает возможность оценить эффекты отдельных QTL и их совместное действие (эпистаз), зависимость генетических эффектов от внешних условий (взаимодействие генотипа и среды);
- дает интегрированные знания о генетической сложности признака и снабжает селекционера полезной информацией о путях не прямой селекции (отбора желаемых генотипов в расщепляющемся потомстве по молекулярным маркерам);
- облегчает перенесение (интрогрессию) нужных генов из диких видов, примерно в 2 раза сокращая число беккроссов для создания изогенных линий.

5. СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ ПАТОГЕНОВ



Специализация патогена — это способность паразитировать на одном, нескольких или многих видах растений-хозяев. Специализация патогенов определяется прежде всего их приуроченностью к определенному питающему субстрату и способностью эффективно усваивать его.

В целом, картина взаимоотношений патогенов и растений-хозяев сложна и многообразна. Одни патогены способны поражать лишь определенную ткань одного вида растения-хозяина. Другие, напротив, вызывают системное поражение у видов растений, относящихся к разным классам. Между этими крайними возможностями располагается очень большое число патогенов, в разной степени поражающих разное количество видов растений-хозяев.

Различны способности патогенов к паразитизму определяются их генетическими и физиологическими свойствами. Большое значение имеют наличие генов вирулентности и эффективность их продуктов. Очень важную роль играет активность ферментативного аппарата патогенов, позволяющая использовать субстрат в доступной форме.

Специализацию патогенов определяют также защитные реакции растений-хозяев. Барьерные факторы и химические процессы блокируют внедрение многих паразитов в растение. В то же время другие паразиты способны преодолевать такие барьеры.

Нередко на специализацию паразитов оказывают влияние и внешние условия, экологические факторы. Так, в одних условиях паразит способен активно внедряться в растение и проходить в нем весь свой инфекционный цикл, в других — внедрение и развитие паразита ограничено, отдельные стадии цикла развития паразита могут выпадать. Наконец, при определенных условиях внедрение паразита в растение-хозяина не происходит. На изменение специализации патогенов может влиять хозяйственная деятельность человека.

Таким образом, специализация патогенов определяется их генетической предрасположенностью и физиологическими свойствами, эффективностью защитных реакций растений-хозяев и внешними условиями.

Понятие специализации наиболее уместно по отношению к видам патогенов.

Различают несколько форм специализации патогенов к растениям-хозяевам (рис. 33).

- Гистотропная (тканевая) специализация (гистот — ткань) — способность патогена заселять лишь определен-



Рис. 33. Типы специализации патогенов

ную ткань или комплекс тканей растения. Другие ткани не поражаются. Например, возбудитель слизистого бактериоза капусты бактерия *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* поражает в основном паренхиму (цв. вклейка, рис. 1). Возбудитель вертициллезного увядания хлопчатника *Verticillium dahliae* поражает сосудистую систему растения (цв. вклейка, рис. 2). Риккетсии в организме растений-хозяев концентрируются преимущественно во флоэме.

- **Органотропная специализация** — способность патогена заселять лишь определенные органы растения. Например, *Plasmiodiophora brassicae* поражает корни растений из семейства крестоцветных (цв. вклейка, рис. 3). Возбудитель спорыньи злаков *Claviceps purpurea* поражает завязи и позднее развивающиеся зерновки злаков (цв. вклейка, рис. 4).

- **Онтогенетическая, или возрастно-физиологическая (стадийно-возрастная) специализация** — способность патогена поражать растение-хозяина в определенный период его развития. Так, возбудители корневой гнили сахарной свеклы *Aphanomyces cochlioides* и *Pythium debarianum* поражают проростки от момента прорастания до образования четырех настоящих листьев (цв. вклейка, рис. 5). Возбудитель твердой головни пшеницы *Tilletia tritici* поражает хозяина только с момента прорастания зерновки до появления всходов (цв. вклейка, рис. 6).

Многие возбудители пятнистостей заражают растения в фазе вегетации, особенно во второй ее половине. Это, например, возбудитель церкоспороза свеклы (*Cercospora beticola*) (цв. вклейка, рис. 7).

Возбудители пыльной головни пшеницы (*Ustilago tritici*) и спорыньи ржи (*Claviceps purpurea*) поражают растения-хозяева в фазе цветения (цв. вклейка, рис. 8).

Наконец, некоторые возбудители способны поражать растение-хозяина на разных стадиях развития. Классический пример — возбудитель пузырчатой головни кукурузы (*Ustilago zeae*), способный поражать кукурузу практически в любой фазе развития растения. Дейтеромицет *Botrytis cinerea* поражает свои многочисленные растения-хозяева в фазах вегетации, цветения и плодоношения (последние две фазы — предпочтительнее).

- **Филогенетическая специализация** — способность вида патогена поражать один, несколько или много видов растений-хозяев. Филогенетической ее называют потому, что способность поражать растения-хозяева — основное направление микроэволюционного процесса паразитов. На повышение эффективности паразитизма в популяциях патогенов работает отбор, в результате действия которого появляются более приспособленные, более вирулентные формы паразитов. Результатом служит либо повышение эффективности паразитизма на одном растении-хозяине, либо расширение круга видов растений-хозяев.

Филогенетическая специализация может быть узкой и широкой.

- **Узкая специализация.** Патогены с узкой специализацией (их называют монофаги) паразитируют на растениях, относящихся к одному виду или роду. Узкоспециализированные патогены — это большинство облигатных паразитов и факультативных сапротрофов, а также некоторые факультативные паразиты. Они хорошо и избирательно приспособлены для поражения конкретных (нередко близкородственных) видов растений-хозяев. При коэволюции у них вырабатываются механизмы атаки, учитывающие защитные реакции, присущие видам именно их растений-хозяев.

Виды паразитов с узкой специализацией имеют выраженную иерархическую структуру (табл. 5). Обычно вид способен поражать несколько родов или видов растений-хозяев, нередко близкородственных. Вид паразита подразделяется на несколько или много разновидностей или специализированных форм (*formae speciales*). Они приурочены к определенному роду или виду растения-хозяина. В пределах разновидности патогена выделены физиологические расы. Они отличаются друг от друга способностью по-разному поражать сорта вида растения-хозяина. При взаимодействии определенных рас и сортов в одних комбинациях наблюдают реакцию сверхчувствительности (гибель патогена, образование мелких некрозов в месте внедрения), в других — реакцию совместимости (развитие патогена, интенсивное образование пустул).

5. Внутривидовые группы узкоспециализированных паразитов, поражающих определенный круг растений-хозяев на примере *Puccinia graminis*

Группировка паразита	Название	Поражаемые растения-хозяева
Вид	<i>Puccinia graminis</i>	Многие роды злаков
Разновидность (var.)*	Эту группировку для <i>Puccinia graminis</i> обычно не выделяют	
Специализированная форма (f. sp. или f.)	<i>Puccinia graminis</i> f. <i>tritici</i>	Пшеница
Физиологическая раса	15	Несколько определенных сортов пшеницы
Биотип или патотип	15A, 15B	Несколько тех же сортов пшеницы, при поражении которых были выявлены некоторые особенности (более мелкие размеры пустул)

* Разновидности выделяют, например, у *Phytophthora megasperma* и цветкового паразита *Viscum album* (омелы белой).

Ржавчинный гриб *Puccinia graminis* поражает злаки — хлебные, кормовые и дикорастущие. Этот вид имеет комплексную структуру. Установлено, что *Puccinia graminis* состоит из ряда специализированных форм, поражающих определенный род растений-хозяев. *P. graminis* f. sp. *tritici* поражает пшеницу, *P. graminis* f. sp. *avenae* — овес, *P. graminis* f. sp. *secalis* — рожь, *P. graminis* f. sp. *poae* — мятлики, *P. graminis* f. sp. *agrostis* — полевицу. Расы *P. graminis* отличаются друг от друга по растениям-хозяевам, молекулярным маркерам и иногда — по строению урединоспор.

Строго говоря, специализация *Puccinia graminis* и других ржавчинных грибов с полным циклом распространяется даже на отдельные спороношения гриба. Так, именно урединоспоры и эциоспоры *P. graminis* заражают роды злаков, а базидиоспоры — представителей семейства Барбарисовых барбарис и магонии.

Гриб *Erysiphe graminis* вызывает мучнистую росу у растений из семейства Злаковых. Как и у возбудителя стеблевой ржавчины, у *Erysiphe graminis* имеется ряд специализированных форм, приуроченных к определенным родам злаков. Сходным образом *Erysiphe labiatarum*, включающий в себя много специализированных форм, паразитирует на представителях семейства Губоцветных.

Цветковое растение-паразит *Viscum album* (омела белая) в Европе представлено тремя разновидностями — *V. album* var. *mali* (в основном на яблоне, реже на других лиственных породах), *V. album* var. *abietis* (на пихте), *V. album* var. *pini* (на сосне). У цветкового растения-паразита *Orobanche cumana* (заразиха подсолнечниковая)

обнаружили три расы: А, Б и В. К расе А были созданы устойчивые сорта, ответом паразита стало появление расы Б, которая в массовом количестве поразила многие сорта подсолнечника, успешно внедряясь в его корневую систему. Позднее была выявлена и раса В, также характеризующаяся высокой вредоносностью.

Многие виды патогенов поражают только один род растения-хозяина. Возбудитель твердой головни *Tilletia tritici* поражает только пшеницу, а возбудитель пузырчатой головни *Ustilago zaeae* — кукурузу. Ржавчинный гриб *Puccinia menthae* поражает только мяту. Цветковое растение-паразит заразиха *Orobanche owerinii* паразитирует только на шалфее лесном (*Salvia silvestris*).

• *Широкая специализация.* Патогены с широкой специализацией (их называют полифаги) паразитируют на растениях одного и нескольких семейств или даже различных классов. Большинство широкоспециализированных патогенов — факультативные паразиты, однако среди них встречаются и облигатные (например, некоторые ржавчинные грибы). Значительная часть факультативных паразитов соответствует формальным родам несовершенных грибов.

Plasmiodiophora brassicae вызывает килу у растений из семейства Крестоцветных. Наиболее часто поражается капуста, однако могут поражаться редька, репа и другие виды этого семейства. Ржавчинный гриб *Puccinia malvacearum* поражает роды растений из семейства Мальвовых, оомицет *Peronospora parasitica* — роды растений из семейства Крестоцветных. Аскомицет *Claviceps purpurea* вызывает спорынью ржи и многих луговых и газонных трав из семейства Злаковых.

Botrytis cinerea поражает растения из семейств Розовых, Виноградовых, Лилейных, Амарилисовых, Пасленовых, Бобовых и др., вызывая у них серую гниль (цв.вклейка, рис. 9). *Sclerotinia sclerotiorum* поражает растения из семейств Зонтичных, Лилейных, Злаковых, Сложноцветных, вызывая у них белую гниль. Следует отметить, что у различных растений-хозяев при поражении этими гнилями проявляются довольно сходные симптомы поражения — мощный некроз и налет, иногда сопровождающиеся образованием склероциев разных размеров.

Phytophthora cactorum поражает растения из семейств Кактусовых, Розовых, Бобовых, Лилейных, Сосновых и др. (всего не более 40 семейств). Особой приуроченности к органу или возрастной фазе растения гриб не имеет. Так, он вызывает корневые гнили всходов сосен и бобовых, гнили основания стебля лилий, гнили коры и плодов у розовых, гнили сердцевины и почек у рододендронов и пионов.

Ph. cinnamomi поражает в основном тропические растения — авокадо, корицу, орхидеи. Однако хозяйственная деятельность человека привела к расширению специализации этого паразита. В США и Новой Зеландии *Ph. cinnamomi* вызвала корневую гниль

сеянцев сосны, в Европе — чернильную болезнь (поражение камбия) каштана, в Австралии — гибель эвкалиптовых лесов на больших площадях. Этот гриб поражает растения из 50 семейств Папоротникообразных, Голосеменных и Цветковых растений.

Бактерия *Pseudomonas solanacearum* вызывает сосудистый бактериоз растений из семейств Пасленовых, Тыквенных, Бобовых и Сложноцветных.

Цветковое растение *Orobanche aegyptiaca* (заразиха египетская) паразитирует на растениях из семейств Пасленовых, Тыквенных, Сложноцветных. Эта патосистема сложилась давно и остается устойчивой.

• *Промежуточные случаи.* Довольно многие паразиты занимают по своей специализации к растениям-хозяевам промежуточное положение. У них проявляется заметная тенденция к узкой специализации и в тоже время сохраняется способность поражать довольно много видов и родов растений-хозяев.

У видов паразитов, для которых узкая специализация не доказана, разновидности или специализированные формы обычно не выделяют, но определение рас для них возможно (например, у *Phytophthora megasperma* и *P. infestans*).

Ph. megasperma способна поражать растения из семейств Бобовых (люцерна, соя, клевер), Розовых (яблоня, груша), Крестоцветных (цветная капуста) и Ивовых (тополь). Однако исследования, сделанные с привлечением морфологических (строение оогония) и молекулярных (митохондриальная ДНК и фрагменты рестрикционного полиморфизма ДНК) маркеров, позволили выделить разновидности *Ph. megasperma* var. *megasperma* (поражает различные растения-хозяева) и *Ph. megasperma* var. *sojae* (поражает растения-хозяева преимущественно из семейства Бобовых). У *Ph. megasperma* var. *sojae* выделили f. sp. *glycinea* (поражает сою) и f. sp. *medicaginis* (поражает люцерну, а также нут и эспарцет). Наконец, последние исследования выявили настолько существенные различия между этими разновидностями и специализированными формами, что они получили статус отдельных видов *Ph. megasperma*, *Ph. sojae* и *Ph. medicaginis*. Этот случай, с одной стороны, показывает тенденцию к узкой специализации у исходно широкоспециализированного вида, с другой стороны, здесь можно видеть сохранение в значительной степени комплексной структуры у внутривидовых группировок.

Phytophthora infestans поражает только картофель и томат, реже баклажаны и дикие виды из семейства Пасленовых. Предполагали специализацию *Ph. infestans* по отношению к основным родам растений-хозяев — картофелю и томату. Раса T0 заражала преимущественно картофель, расы T1 и T2 — в основном томат. Однако исследования 1990-х годов в ряде случаев выявили комплексное распределение этих рас, не всегда приуроченное к картофелю или томату. Отмечено, что штаммы *Ph. infestans* с томата активно пора-

жают и томат, и картофель, большинство штаммов с картофеля (но не все) значительно лучше поражают картофель, чем томат. Таким образом, имеется лишь ограниченная приуроченность штаммов паразита к определенному роду растения-хозяина. Сходная ситуация сложилась у *Ph. palmivora*, часть штаммов которой лучше поражала гевею, чем какао, другая часть — какао, чем гевею.

Erysiphe communis вызывает мучнистую росу у растений очень многих семейств (например, Бобовых и Пасленовых). В целом, этот вид может характеризоваться очень широкой специализацией, однако по мере его изучения обнаруживают много специализированных форм, приуроченных к определенным семействам, родам и видам растений-хозяев. *Er. cichoracearum* также вызывает мучнистую росу у растений из многих семейств. Ядро этого вида связано с родами из семейства Сложноцветных, однако *Er. cichoracearum* f. sp. *cucurbitacearum* поражает растения из семейства Тыквенных (особенно огурец, дыню и тыкву).

Цветковое растение-паразит *Orobanche foetida* (заразиха вонючая) паразитирует на только трех родах из семейства Бобовых — чине, лядвенце и эспарцете. Другие виды заразих могут паразитировать как на одном виде растения-хозяина, так и на растениях-хозяевах из разных семейств.

Таким образом, многие виды паразитов имеют промежуточную специализацию. Это связано с микроэволюционными процессами в их популяциях, которые, вероятно, еще не завершились. Во всех случаях имела место дивергенция исходных комплексных групп паразитов, направленная на совершенствование паразитизма по отношению к определенным видам растений-хозяев. Однако надо признать, что для некоторых случаев (как, например, с комплексом *Phytophthora megasperma*) ситуация изучена не полностью и до сих пор вызывает у специалистов много споров.

Физиологические расы и методы их определения. Расы паразитов поражают определенные сорта растений-хозяев. Расы ржавчинного гриба *Puccinia graminis* были открыты американским ученым Стэкменом, расы *Phytophthora infestans* — шотландским селекционером Блэком в 1950—1960-е годы.

Понятие «физиологические» связано с тем, что способность рас преодолевать устойчивость одних сортов и неспособность преодолевать устойчивость других связана с различными физиологическими механизмами. Эти различия связаны с продуктами обмена веществ паразита и в клетках растения-хозяина.

Физиологические расы известны для патогенных бактерий, грибов и цветковых растений-паразитов. У вирусов различают штаммы, отличающиеся друг от друга по структуре ДНК и патогенности по отношению к растениям-хозяевам.

Для определения рас используют растения-дифференциаторы. Они относятся к сортам и гибридам, характеризую-

шимся определенной вертикальной устойчивостью по отношению к возбудителю болезни. В расах присутствуют факторы вирулентности, в дифференциаторах — факторы вертикальной устойчивости. Между расой паразита и сортом растения-хозяина происходит дифференциальное (избирательное) взаимодействие. Оно заключается в следующем.

Если та или иная раса паразита преодолевает устойчивость сорта, то наблюдается реакция совместимости (цв. вклейка, рис. 10). На пораженных органах проявляются основные симптомы (например, спорооношение *Phytophthora infestans* или пустулы *Puccinia graminis*). Если раса паразита сталкивается с устойчивостью сорта, то на органах растения наблюдается реакция сверхчувствительности (цв. вклейка, рис. 11) — основной механизм активного иммунитета растений. Она проявляется в виде мелких некрозов в местах внедрения спор возбудителя в растение-хозяина.

Авирулентная раса паразита (без факторов вирулентности) способна поражать только восприимчивые сорта (без факторов вертикальной устойчивости). Устойчивые сорта авирулентная раса, как правило, не поражает.

Вирулентная раса паразита (с фактором или факторами вирулентности) способна поразить восприимчивые сорта. Преодолеть устойчивость сорта с фактором или факторами вертикальной устойчивости вирулентная раса сможет в том случае, если они будут полностью соответствовать фактору или факторам вертикальной устойчивости. Если этого соответствия не будет хотя бы по одному из факторов, то раса паразита не сможет преодолеть устойчивость сорта.

Генетически факторы вирулентности определяются *vir*-генами (*virulence* — вирулентность), а факторы вертикальной устойчивости — *R*-генами (*resistance* — устойчивость). В ряде исследований на основе генетического анализа было показано, что один фактор (вирулентности или вертикальной устойчивости) определяется одним геном (*vir*- или *R*-геном соответственно) с полным доминированием. Вирулентность — признак рецессивный, а вертикальная устойчивость — доминантный. В последние годы посредством ПЦР-анализа ведется уточнение локусов (последовательностей ДНК), соответствующих тому или иному *vir*-гену паразита или *R*-гену растения-хозяина.

Для выявления рас *Phytophthora infestans* существует набор растений-дифференциаторов Блэка. Он состоит из сортов и гибридов с определенными *R*-генами: R1...R11. Набор Блэка признан селекционерами всего мира. Он хранится и поддерживается в Международном центре по картофелю (IPC) в Перу. При определении рас растения-дифференциаторы (или листья с них, разложенные во влажные камеры) заражают суспензией конидий изолятов *Ph. infestans*. Заражение проводят в помещении с низкой освещеннос-

тью и высокой относительной влажностью, то есть в контролируемых условиях.

Дифференциатор R1 способен выявить две расы *Ph. infestans*, R1 и R2 — четыре, R1, R2 и R3 — восемь рас и т. д. (табл. 6).

6. Выявление рас *Ph. infestans* с помощью сортов-дифференциаторов картофеля с одним фактором устойчивости

Сорт-дифференциатор	Раса	
	avir*	1
R1	—**	+***

Сорт-дифференциатор	Раса			
	avir*	1	2	1.2
R1	—	+	—	+
R2	—	—	+	+

Сорт-дифференциатор	Раса							
	avir*	1	2	3	1.2	1.3	2.3	1.2.3
R1	—	+	—	—	+	+	—	+
R2	—	—	+	—	+	—	+	+
R3	—	—	—	+	—	+	+	+

* Авирулентная раса.

** Реакция сверхчувствительности.

*** Реакция совместимости.

Чем больше растений-дифференциаторов растения-хозяина используют, тем больше рас можно выявить. Общее число возможных рас (N) определяется формулой

$$N = 2^n,$$

где n — число растений-дифференциаторов.

основание степени равно двум, потому что имеются только две возможные реакции: совместимости и сверхчувствительности.

В тест-наборы удобно вводить дифференциаторы, содержащие сразу несколько факторов устойчивости. Они входят и в набор Блэка (табл. 7). Расы с одним фактором вирулентности не способны заразить такие сорта. Расы с несколькими факторами вирулентности заражают их только в том случае, если факторы вирулентности комплементарны факторам устойчивости (например, раса 1.2 поражает дифференциатор R1R2, но не поражает дифференциатор R1R3). Раса со всеми факторами вирулентности паразит

любые растения-дифференциаторы, входящие в набор. Применение сортов с несколькими факторами устойчивости позволяет уменьшить общее число растений-дифференциаторов в наборе.

7. Выявление рас *Ph. infestans* с помощью сортов-дифференциаторов картофеля с несколькими факторами устойчивости*

Сорт-дифференциатор	Раса							
	avir	1	2	3	1.2	1.3	2.3	1.2.3
R1R2	-	-	-	-	+	-	-	+
R1R3	-	-	-	-	-	+	-	+
R2R3	-	-	-	-	-	-	+	+
R1R2R3	-	-	-	-	-	-	-	+

* Обозначения те же, что в таблице 6.

Помимо вирулентности к картофелю у *Ph. infestans* есть вирулентность и к томату. У патогена различают расы T0, T1 и T2, а у томата — факторы устойчивости Ph1 и Ph2 (табл. 8). Раса T0 поражает картофель и восприимчивые сорта томата (их большинство), но не поражает сорта томата с факторами устойчивости. Раса T1 поражает восприимчивые сорта томата а также вишневидные сорта (с небольшими ягодами) с фактором устойчивости Ph1. Раса T1T2 поражает все сорта томатов. Хотя расы T1 и T2 были специализированы по отношению к томату, в последние годы обнаружили случаи поражения ими сортов картофеля.

8. Заражение расами *Phytophthora infestans* сортов томата

Сорт	Фактор устойчивости	Раса			
		T0	T1	T2	T1T2
Восприимчивые	Нет	+	+	+	+
Вишневидные	Ph1	-	-	+	+
Caline	Ph2	-	-	+	+

При взаимодействии рас *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* и пшеницы возможно больше реакций (табл. 9). В качестве дифференциаторов используют сорта пшеницы (Маркиз, Кубанка, Акме и др.), а также дикорастущие злаки.

Классификация рас возбудителя ржавчины пшеницы основана на группах реакций. Их три — устойчивая (У), восприимчивая (В), мезотетическая (М). Таким образом, число возможных рас (N) определяется формулой

$$N = 3^n,$$

где n — число растений-дифференциаторов.

9. Типы реакций при взаимодействии возбудителя ржавчины и пшеницы (на основе шкалы Стэжмена и Левина)

Группа реакций	Тип реакции	Сорт	Проявление реакции
У (устойчивая реакция)	0	Иммунный	Некрозов, хлорозов и пустул нет
	0 ₁	Иммунный	Точечные некрозы в месте проникновения гриба, возможен хлороз, пустул нет
	1	Очень устойчивый	Мелкие пустулы, окруженные некрозами или хлорозами
	2	Умеренно устойчивый	Пустулы среднего размера, окруженные некрозами или хлорозами
В (восприимчивая реакция)	3	Умеренно восприимчивый	Пустулы среднего размера, возможно, окружены хлорозами. Некрозов нет
	4	Очень восприимчивый	Крупные пустулы, которые могут сливаться. Некрозов нет. Хлороз возможен
М (мезотетическая реакция)	X-	Гетерогенный	Разные реакции, проявляющиеся на одном растении, преобладает реакция 1
	X+	Гетерогенный	Разные реакции, проявляющиеся на одном растении, преобладает реакция 4

Основание степени равно трем, потому что имеется три типа реакции в ответ на заражение.

Определение рас возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы обычно проводят в лабораторных условиях (температура 21 °С, освещенность около 10 000 лк). Для поддержания влажности растения в вазонах покрывают специальными стеклянными колпаками. Изменение этих условий может несколько изменить тип реакции, например, привести к появлению мезотетических реакций. Для определения рас используют и полевой метод: высаживают дифференциаторы в полевых условиях и оценивают их пораженность.

На взаимоотношение рас и сортов могут влиять агрессивность паразитов и горизонтальная (полевая) устойчивость сортов. Так, падение агрессивности может помешать вирулентному паразиту поразить даже восприимчивый сорт растения-хозяина. Напротив, у авирулентного и высокоагрессивного паразита появляется некоторый шанс поразить устойчивый сорт. Высокая полевая устойчивость сорта несколько снижает вероятность его поражения комплексной вирулентной расой. Даже авирулентная раса получит возможность поразить сорт с низкой полевой устойчивостью. Агрессивность и полевая устойчивость отражают жизнеспособность

паразита и растения-хозяина соответственно и могут зависеть от внешних условий.

В течение вегетационного сезона вирулентность паразитов может меняться. В случае использования сортов с вертикальной устойчивостью в популяции патогена происходит накопление рас, способных поражать этот сорт. Разнообразие расового состава при этом несколько снижается. Это происходит за счет избирательного вегетативного и бесполого размножения рас, способных к эффективному паразитизму. В случае использования сортов с горизонтальной устойчивостью в популяциях патогена происходит накопление агрессивности.

Результаты многочисленных исследований показали, что до 1980-х годов в популяциях многих паразитов преобладали расы с одним или несколькими факторами вирулентности. Однако в последующие годы появились и распространились комплексные расы с большим числом факторов вирулентности. Возросла и агрессивность паразитов. Усиление патогенности связывают с применением сортов с факторами вертикальной устойчивости, а также с более интенсивным использованием химического метода защиты растений.

Биотипы. Эти формы паразитов близки к расам. Они отличаются от них лишь незначительными отклонениями при поражении растений-хозяев. Обычно это выявляют на сортах-дифференциаторах. Различия могут быть связаны с размером и временем проявления поражения, интенсивностью спороношения.

Наличие биотипов свидетельствует о том, что расы патогенов неоднородны по своему составу. Они могут быть представлены различными штаммами, отличающимися друг от друга своими физиологическими свойствами. Некоторые биотипы впоследствии могут стать новыми физиологическими расами.

5.1. ОСОБЕННОСТИ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ И СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ПАТОГЕНОВ ПРИ ШИРОКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ. РАСТЕНИЯ-РЕЦИПИЕНТЫ

Как указывалось ранее, паразиты с широкой специализацией способны поражать большое количество разнообразных видов растений-хозяев. Однако детальное изучение таких патогенов выявило генетическую неоднородность их популяций, различия в патогенности и вирулентности, а также физиологические особенности штаммов.

Один из наиболее изученных патогенов *Botrytis cinerea* — возбудитель серой гнили растений из семейств Розовых, Бобовых, Лилейных, Сложноцветных и др. При серой гнили органы растения поражаются в разной степени. В большей степени обычно пора-

жаются плоды и цветоносы, в меньшей степени листья, очень редко — стебли. На некоторых видах растений-хозяев обособились специализированные виды: *Botrytis convallariae* — на ландыше, *Botrytis paeoniae* — на пионе, *Botrytis tulipae* — на тюльпане. Эти виды реально представляют собой интерстерильные группы (см. далее), обособленные друг от друга и от *Botrytis cinerea*. В пределах интерстерильных групп мицелии вегетативно совместимы между собой и образуют анастомозы и гетерокариоз. Такая обособленность позволяет им эффективнее поражать свои растения-хозяева. Эволюционно эти три вида, скорее всего, произошли от специализировавшихся штаммов *Botrytis cinerea*.

На интенсивность прорастания и эффективность заражения растений-хозяев может влиять инфекционная нагрузка (табл. 10).

10. Влияние инфекционной нагрузки на поражение растений-хозяев видами рода *Botrytis*

Вид паразита	Основной вид растения-хозяина	Концентрация конидий, необходимая для эффективного заражения основного вида растения-хозяина	Концентрация конидий, необходимая для эффективного заражения дополнительных видов растений-хозяев
<i>Botrytis cinerea</i> <i>Botrytis paeoniae</i>	Разные виды Пион	Максимальная Максимальная	— Максимальная или не поражает
<i>Botrytis tulipae</i>	Тюльпан	Средняя и максимальная	Максимальная или не поражает
<i>Botrytis convallariae</i>	Ландыш	Минимальная и средняя	Максимальная или не поражает

Наименее специализированный вид *Botrytis cinerea* поражает широкий спектр растений-хозяев, но для эффективного заражения необходимо большое количество конидий. Остальные виды поражают преимущественно свой основной вид растения-хозяина, другие виды они поражают слабо. Однако при минимальной нагрузке спор только *Botrytis convallariae* способен поражать растения-хозяева. Это свидетельствует о наиболее узкой специализации *Botrytis convallariae* по сравнению с другими рассмотренными видами.

В целом, минимальные инфекционные нагрузки отличаются облигатных паразитов с узкой специализацией от факультативных паразитов с широкой специализацией. Так, для успешного заражения возбудителю ржавчины при благоприятных условиях достаточно одной или нескольких урединиоспор, возбудителю фитофтороза картофеля — одной или нескольких зооспор или конидий (зооспорангиев). Для возбудителей серой гнили фузариозов споровые нагрузки значительно выше. Это связано с более отлаженным, более сбалансированным механизмом внедрения в растение-

хозяина у облигатных паразитов по сравнению с факультативными. У последних заселение растений-хозяев определяется неоднородностью их химического состава, синтезом фитонцидов и фитоалексинов и способностью систем патогена снижать ингибирующее действие этих соединений.

Для вида *Botrytis cinerea* характерна клональная мозаичность популяций по вирулентности. Доминирующее положение в популяциях даже на одном виде растения-хозяина занимают клоны с широкой специализацией, поражающие довольно обширный спектр видов растений-хозяев. Другие клоны занимают промежуточное положение. Наконец третья группа клонов потенциально опасна только для определенных видов растений-хозяев. Различия в патогенности, временной фактор и фаза развития растения-хозяина обуславливают проявление и доминирование определенных клонов возбудителя серой гнили.

Заражение нескольких видов растений-хозяев штаммами *Botrytis cinerea* выявило интересные закономерности (табл. 11).

11. Результаты заражения пяти растений-хозяев штаммами *Botrytis cinerea*, выделенными с плодов земляники (Лихачев, 2000)

Вариант	Растение-хозяин				
	Земляника	Подсолнечник	Салат	Фасоль	Бобы
1	+	+	+	+	+
2	0	+	+	+	+
3	+	0	+	+	+
4	+	+	0	+	+
5	0	0	+	+	+
6	+	0	0	+	+
7	+	0	+	0	+
8	+	+	0	0	+
9	+	0	+	0	0
10	0	+	+	0	0
11	0	0	+	0	0
12	0	0	0	0	0

Примечание. + — некроз на листьях растений-хозяев, 0 — отсутствие реакции.

Одни штаммы заражали все возможные растения-хозяева, другие — только некоторые. Часть штаммов были не способны заразить ни одно возможное растение-хозяин. Любопытно, что несмотря на то что все штаммы были выделены с земляники, некоторые из них не смогли перезаразить ее. Штаммы из второго варианта не заразили только землянику. Штаммы из большинства вариантов заражали растения-хозяева из различных семейств. Лишь штаммы из 10-го и 11-го вариантов заражали преимущественно растения из семейства Сложноцветных.

У разных растений-хозяев некрозы появлялись через разное время после заражения: на ландыше — только на 9-й день, у остальных — через 3...6 дней. Разница возникновения некрозов во времени не может не сказаться на продолжительности латентного периода (от заражения до новой генерации конидий). Это в итоге определяет численность клонов в популяции с определенными паразитическими свойствами.

Все эти факты свидетельствуют о слабой тенденции к сужению специализации отдельных штаммов. Однако она перекрывается сохраняющейся широкой специализацией у большинства штаммов паразита. Это сохраняет комплексную мозаичную структуру вида *Botrytis cinerea* в целом.

На эффективность заражения могут влиять климатические условия. Так, во влажных условиях некрозы образуются чаще, быстрее и они больших размеров. В засушливых условиях некрозы образуются реже и медленнее, они обычно небольшие.

Для *Botrytis cinerea* известна сезонная смена растений-хозяев. Ранней весной иногда поражаются мать-и-мачеха, одуванчик, хохлатка. Летом гриб часто инфицирует овощные и ягодные культуры. Осенью периодически поражаются цветочные культуры (астры; развитие патогена происходит преимущественно на цветоносах, соцветиях и цветках). Описаны случаи сапротрофного развития *Botrytis cinerea* на опаде.

Распределение растений-хозяев может оказывать определяющее влияние на распространение штаммов патогенов с широкой специализацией. Так, анализ развития серой гнили в условиях Московской области показывает, что отдельные растения-хозяева поражаются в значительной степени ежегодно. Растения-хозяева, на которых концентрируется основное количество возбудителя, А. Н. Лихачев назвал растениями-реципиентами. Для *Botrytis cinerea* растения-реципиенты — это земляника и малина (рис. 34). Благодаря преимущественному вегетативному размножению они формируют однородные популяции с выравненным по устойчивости фоном для патогена. На растениях-реципиентах происходит массовое накопление и сохранение инфекции в виде генетически различных клонов патогена, образующих центральные популяции — ядро вида *Botrytis cinerea*.

Первичное заражение растений-реципиентов осуществляется конидиями из их растительных остатков. Остальные растения-хозяева могут в значительной степени заражаться от растений-реципиентов. Это, например, пион, тюльпан, капуста, салат. Наконец растения, редко поражаемые серой гнилью (чеснок, лук-шалот, астра), могут получать инфекцию как от растений-реципиентов, так и от вторично поражаемых растений-хозяев. На всех этих растениях-хозяевах формируются краевые популяции *Botrytis cinerea*. В отдельных случаях возможны и обратные переходы штаммов из краевых популяций на растения-реципиенты.



Рис. 34. Принципиальная блок-схема распространения возбудителя серой гнили по растениям-хозяевам в условиях Московской области:

- — распространенный переход возбудителя с одного растения-хозяина на другого;
- -> — редкий переход возбудителя с одного растения-хозяина на другого

Случаи перезаражения вторично поражаемыми растениями друг друга серой гнилью очень редки. Это связано с некоторым сужением специализации штаммов *Botrytis cinerea*, которые на них паразитируют, а также с тем, что основная инфекция формируется на растениях-реципиентах.

Наличие выравненного по устойчивости фона хозяев-реципиентов создает предпосылки для возникновения популяций *Botrytis cinerea* со своей эволюционной судьбой и частично или полностью изолированных друг от друга за счет вегетативной несовместимости. Здесь уместно сравнить растения-реципиенты с промежуточными хозяевами возбудителя ржавчины. На растениях-реципиентах также происходит становление и распространение штаммов патогена, иногда даже более значительное, чем на промежуточных

хозяевах ржавчинных грибов. Однако на растениях-реципиентах не происходит половой гибридизации — самого главного механизма создания новых специализированных форм и рас, а также накопления мутаций в рецессивном состоянии. Это не позволяет широко специализированным паразитам более эффективно эволюционировать в сторону повышения специализации.

Таким образом, массивы растений-реципиентов представляют собой опасность атаки широкоспециализированных паразитов как в агроценозах, так и в естественных сообществах. Возникающие на растениях-реципиентах и атакующие другие растения-хозяева группировки паразитов выполняют роль краевых популяций, осваивающих новых растений-хозяев. Даже неполная изоляция (на основе вегетативной несовместимости) снижает вероятность образования гетерокарионов между штаммами из центральных и краевых популяций паразита. Если гетерокарионы между ними все же возникают, то специализация по отношению к другим растениям-хозяевам снижается.

Многие виды растений-хозяев (такие, как земляника и малина) могут быть представлены как в биоценозах, так и в агроценозах. Поэтому природная инфекция широко специализированных паразитов на диких видах может оказать существенное влияние на структуру их популяций при выращивании растений-реципиентов и близкородственных растений в производственных условиях.

5.2. ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАСОБРАЗОВАНИЯ В ПОПУЛЯЦИЯХ ПАТОГЕНОВ

Большинству патогенов присуща как наследственная, так и модификационная изменчивость. Для ее создания у патогенов имеется несколько мощных механизмов. Их способность приобретать новые признаки и утрачивать прежние определяется растением-хозяином и внешней средой. Патогены способны очень оперативно изменяться при каких-либо внешних воздействиях на патосистему. Изменение агроэкологических факторов нередко приводило к смещениям нормы реакции патогенов, внедрение и размещение новых устойчивых сортов — к появлению новых рас.

Приведем основные механизмы и способы изменчивости и расообразования у грибных патогенов.

Половая гибридизация. Она связана с такими событиями в жизненном цикле патогенов, как мейоз и половой процесс. При мейозе происходит случайное распределение хромосом в дочерних ядрах, кроме того, нередок кроссинговер — обмен участками гомологичных хромосом. При половом процессе происходит слияние ядер (часто генетически разных), поэтому у дочерней формы сочетаются свойства родительских. В результате половой гибридизации

ции происходит рекомбинация генетического материала паразитов и могут возникать их новые высокопатогенные формы.

У *Phytophthora infestans* в результате полового процесса (слияния антеридия и яйцеклетки) образуются ооспоры (рис. 35). Мейоз осуществляется в антеридии и оогонии. При перекрестном скрещивании происходит контакт мицелиев двух типов спаривания — А1 и А2. Долгое время полагали, что штаммы А2 встречаются только в Мексике в высокогорной долине Толука, которую считали центром происхождения *Phytophthora infestans*. Поэтому полагали, что половая гибридизация возможна только там. В 1980—2000-е годы А2 были найдены в большинстве регионов мира. Ооспоры обнаружили в некоторых странах Европы — России (Московская обл.), Польше, Германии, Голландии, странах Скандинавии. Как и в Мексике, в этих странах в природных популяциях *Phytophthora infestans* наблюдается очень высокое разнообразие расового состава.

Помимо контакта А1 и А2 ооспоры могут образовываться одним мицелием при самооплодотворении. Обычно это достигается его стимуляцией каким-либо химическим воздействием или внешним фактором. Однако возникшие таким образом ооспоры могут быть менее жизнеспособными и их вклад в генетическое разнообразие патогена ограничен.

На образование ооспор могут влиять экологические факторы, особенно относительная влажность воздуха. Образование ооспор затруднено при относительной влажности не < 80 %. При критическом понижении влажности оно прекращается. Это очень существенно, так как во многих полевых популяциях, где регулярно встречаются штаммы А1 и А2, образование ооспор может отсутствовать. В Мексике в высокогорной долине Толука относительная влажность воздуха и температурный режим оптимальны для развития возбудителя фитофтороза, что резко отличает ее от близлежащих регионов Мексики — пустынь на севере и тропических лесов на юге. Условия Толуки максимально способствуют образованию и прорастанию ооспор. Повышение генетического разно-

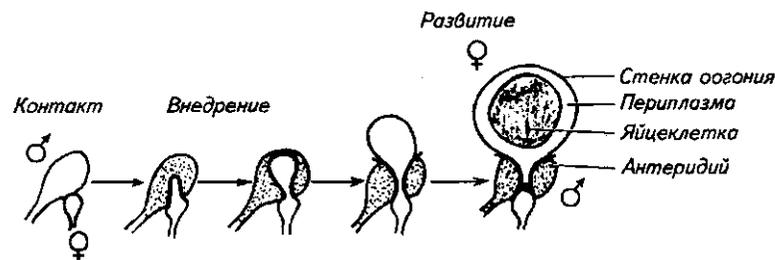


Рис. 35. Схема образования ооспоры *Phytophthora infestans*

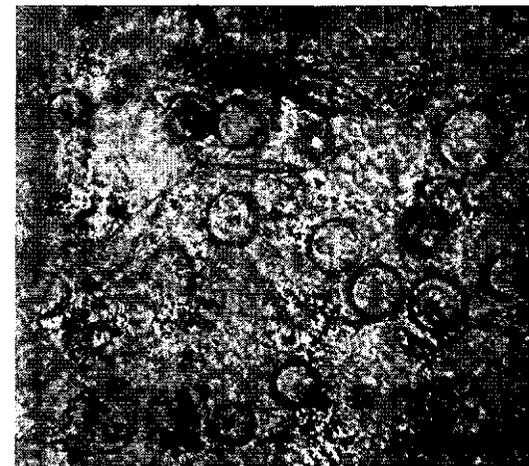


Рис. 36. Частые ооспоры в тканях плода томата

образия паразита позволяет ему поражать многочисленных растений-хозяев (например, высокоустойчивый паслен *Solanum demissum*).

В Московской области ооспоры в органах растений картофеля развиваются довольно редко. В клубнях их образование затруднено. Однако в плодах томата при контакте А1 и А2 этот процесс протекает интенсивно. Плоды томата представляют собой удобный субстрат для формирования многочисленных ооспор (рис. 36). Более того, ооспоры *Phytophthora infestans* были обнаружены в семенах — на покрывающих их волосках и в теле зародыша. Это привело к неожиданно ранним вспышкам фитофтороза на рассаде томата. Но главное, такие ооспоры представляют реальную опасность для посадок картофеля, которые нередко располагают в непосредственной близости от посадок томата. Из этих ооспор могут сформироваться новые штаммы, патогенные для картофеля.

У возбудителя ржавчины *Puccinia graminis* половая гибридизация осуществляется на листьях промежуточных хозяев барбариса и магонии, на которые попадают базидиоспоры (цв. вклейка, рис. 12). После их прорастания образуются половые структуры спермогонии. Они представляют собой небольшие пустулы с пучком улавливающих гиф. В спермогониях образуются сперматии. При перекрестном оплодотворении они покидают один спермогоний и захватываются улавливающими гифами другого. Происходит плазмогамия. Образующийся дикариотический мицелий форми-

рует на нижней стороне листа более крупные образования — эции. В них развиваются эндоспоры.

Генетически каждая из образовавшихся дикариотических эциоспор — новообразование. Попав на пшеницу, эциоспора может прорасти в урединиопустулу, соответствующую новой расе. Если раса окажется вирулентной для массива растений, то произойдет ее быстрое размножение и перезаражение большинства растений, что приведет к потере урожая.

В телиоспорах происходит слияние гаплоидных ядер и мейоз. Эти события предшествуют образованию гаплоидных базидиоспор.

Мейоз и половой процесс представляют собой мощный механизм, обеспечивающий высокий уровень изменчивости у *Puccinia graminis*. Генетическими методами было доказано, что по многим генам штаммы этого гриба гетерозиготны (в разных ядрах имеются разные аллели). При гибридизации специализированных форм возбудителя бурой ржавчины (*Puccinia triticina*) могут появляться его новые разновидности, отличающиеся по своей специализации.

Помимо перекрестного оплодотворения у ржавчинных грибов возможно и самооплодотворение, при котором спермации и улавливающие гифы принадлежат одному штамму. Самооплодотворение также способствует расообразованию. Так, при самооплодотворении из одной физиологической расы возбудителя карликовой ржавчины ячменя (*Puccinia anomala*) было получено шесть физиологических рас. Сходные результаты были получены и для возбудителя корончатой ржавчины овса (*Puccinia coronifer*).

В случае отсутствия промежуточных хозяев спермогониев и эциев в цикле развития *Puccinia graminis* не будет. Доказано, что в этом случае интенсивность образования рас существенно снижается. Кроме того, у некоторых популяций *Puccinia graminis* и других ржавчинных грибов может выпасть из цикла развития и телиопустула. В популяциях, представленных только урединиопустулами, разнообразие рас будет ограниченным.

Сходным образом образование новых рас происходит и у других паразитов — головневых и мучнисторосяных грибов, а также возбудителя парши яблони аскомицета *Venturia inaequalis*. Телиоспоры головневых и аскоспоры возбудителей мучнистых рос и парши яблони, образованию которых предшествовали мейоз и половой процесс, способствуют образованию новых рас.

Мутации. У паразитов мутации могут быть спонтанными (не вызванными внешними факторами) и индуцированными (вызванными внешними факторами). Мутации вызываются действием химических веществ (нитрозометилмочевина и этилметансульфонат), а также ультрафиолетового облучения.

У грибов различают геномные, хромосомные и генные мутации. Геномные мутации связаны с нарушением процесса

деления, например, нерасхождение обоих наборов хромосом в анафазе и объединение их в одном ядре, кариогамиа между гаплоидным и диплоидным ядрами. В результате возникают эуплоидные формы ($3n$, $4n$, $5n$ и выше). Хромосомные мутации связаны с выпадением хромосомы или добавкой лишней хромосомы. В последнем случае образуются трисомии. Такие события особенно характерны при нарушениях хода мейоза. В результате образуются нестабильные анеуплоидные формы, очень часто с измененными свойствами (в том числе по способности к скрещиванию и вирулентности). Генные мутации связаны с изменением последовательности нуклеотидов в ДНК.

Частота мутаций зависит от вида гриба и гена. У *Erysiphe graminis* она не превышает $2 \cdot 10^{-8} \%$, у *Helminthosporium sativum* — $5 \cdot 10^{-2} \dots 5 \cdot 10^{-3} \%$. У *Pyricularia oryzae* частота мутаций по гену вирулентности составляла $1,2 \cdot 10^{-1} \%$, а по другому гену, не связанному с вирулентностью, мутации обнаружены не были.

Мутации могут быть летальными, нейтральными и полезными. Летальные мутации могут нарушать целостность генома гриба или его частей и приводить к гибели. Нейтральные мутации лишь незначительно влияют на жизнеспособность гриба. Полезные мутации приводят к расширению вирулентности. Например, мутанты возбудителя бурой ржавчины пшеницы гриба *Puccinia recondita* расширили свою вирулентность в 50 раз по сравнению с мутантами, понизившими ее. Мутации могут сохраняться в популяции в рецессивном или гетерокариотическом состоянии.

Мутации приводят к формированию новых рас. Этот способ имеет особенно большое значение у паразитов, не имеющих в своем цикле половой стадии, а следовательно, и половой гибридизации.

Помимо вирулентности мутации могут изменять морфологические свойства мицелия, его отношение к температуре, а также приводить к повышению устойчивости к фунгицидам и антибиотикам.

В ряде случаев мутанты с расширенной вирулентностью и повышенной устойчивостью к фунгицидам могут понижать свою агрессивность и жизнеспособность. Однако они могут закрепляться в популяции в рецессивном или гетерокариотическом состоянии. Со временем жизнеспособность мутантов может повыситься и тогда благодаря бесполому размножению их численность в популяции патогена может резко возрасти. Далее последует потеря устойчивости сорта или эффективности химического препарата. Такие случаи широко распространены в сельскохозяйственной практике.

Вегетативная совместимость / несовместимость. Гетероплазмоз. Гетерокариоз. Еще один довольно распространенный механизм изменчивости и расообразования — образование контакта (пере-

мычка между гифами — так называемый анастомоз) между клетками различных мицелиев с последующим слиянием их цитоплазм. Такой контакт между клетками возможен только при условии вегетативной совместимости мицелиев. Контактующие поверхности гиф сначала слипаются, затем происходит ферментативное разрушение клеточной стенки в месте контакта. В результате образуется мицелий с единой смешанной цитоплазмой — гетероплазмон (от гр. heteros — другой и plasma — образование), в которой находятся и функционируют ядра из исходно различных мицелиев — гетерокарион (от гр. heteros — другой и karyon — ядро).

Гетерокарион может образовываться и в том случае, если в части ядер мицелия произошли мутации.

Вегетативная совместимость известна у многих грибов: *Aspergillus*, *Botrytis*, *Ceratocystis*, *Cochliobolus*, *Cryphonectria*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Hypochnus*, *Hypoxylon*, *Penicillium*, *Phytophthora*, *Podospora*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Trichoderma*, *Typhula* и *Verticillium*. Система вегетативной совместимости / несовместимости находится под жестким генетическим контролем и может ограничивать образование анастомозов, слияние цитоплазм, а также гибель гетерокариотичной клетки из-за несовместимости различных ядер. Вегетативно совместимые штаммы образуют группы вегетативной совместимости.

Если вегетативная несовместимость работает на стадии анастомозов, то группы вегетативной совместимости называют анастомозными группами (АГ) или интерстерильными группами. Анастомозные группы описаны у базидиомицета *Hypochnus solani* (анаморфа дейтеромицет *Rhizoctonia solani*). Их известно 10 — АП, АГ2, АГ3, ..., АГ9, АПО. Первые четыре АГ-группы встречаются повсеместно, остальные — в отдельных регионах мира. Анастомозные группы характеризуются различной степенью изолированности друг от друга. Кроме того, они имеют различную способность образовывать базидиальную стадию, так АП и АГ4 легко и регулярно формируют базидиальную стадию, а АГ2 и АГ3 — нет. Анастомозные группы отличаются друг от друга по особенностям паразитизма и специализации к растениям-хозяевам, что обеспечивает сложную мозаичную структуру комплексного вида *Rhizoctonia solani* (табл. 12).

12. Встречаемость анастомозных групп *Rhizoctonia solani* на различных растениях-хозяевах

Растение-хозяин	Анастомозные группы
Картофель	АГ3, АГ4, реже АГ5, АГ9
Сахарная свекла	АГ2, АГ4, реже АГ1, АГ3, АГ5 и др.
Морковь	АГ1, АГ2, АГ4, АГ5
Салат-латук	АГ1, АГ2, АГ5
Злаки	АГ8, реже АГ3, АГ4, АГ5, АГ9, АГ10

У возбудителя тифулеза озимых злаков *Typhula ishikariensis* описано три разновидности: var. *ishikariensis*, var. *idahoensis* и var. *canadensis*. В их пределах на основе морфологических и экологических отличий выделено несколько биотипов. Штаммы этих разновидностей и биотипов иногда образуют анастомозы между собой, иногда — нет. Поэтому они представляют собой интерстерильные группы, аналогичные анастомозным группам *Rhizoctonia solani*.

Интерстерильные группы были открыты у другого комплексного вида — *Armillariella mellea* (опенка осеннего), поражающего хвойные, лиственные и плодовые породы деревьев. Они отличались между собой специализацией по растениям-хозяевам, составу ферментов и последовательностям ДНК.

В случае успешного контакта гиф с образованием анастомоза может сказаться несовместимость между цитоплазмами. Произойдет их взаимное отторжение, сопровождающееся разрушением органелл, в результате мицелий погибнет.

В случае совместимости цитоплазм может сказаться последний фактор — несовместимость ядер. В несептированных мицелиях хитридиомицетов, оомицетов и зигомицетов возможно равномерное перемешивание ядер и стабильное существование сбалансированных гетерокарионов со случайным соотношением ядер. Миграция ядер осуществляется благодаря микротрубочкам цитоскелета. У аскомицетов, базидиомицетов и дейтеромицетов свободная миграция ядер ограничивается септами. Однако ограниченная миграция ядер все же возможна через центральную пору. У одних грибов (*Botrytis*, *Helminthosporium*) соотношение ядер стабильно и не зависит от адаптивных свойств находящихся в них генов, у других (*Verticillium*, *Pyricularia*, *Fusarium*) — гетерокарионы образуются только в районе контакта анастомозирующих мицелиев. Поскольку ядра не мигрируют к центру колоний, гифы там преимущественно гомокариотичны.

Установлено, что конидии многих дейтеромицетов гетерокариотичны.

В случае несовместимости ядер или отдельных генов и их продуктов происходит либо возврат к гомокариону, либо нарушение нормального физиологического состояния мицелия и его гибель. Это происходит вследствие конкуренции между ядрами (конкурентной экспрессии их генов и несовместимости посттрансляционных продуктов). Другая возможная причина этих явлений — нарушение обмена веществ и неспособность гетерокариотического мицелия эффективно использовать субстрат.

Случаи образования новых рас при вегетативной совместимости описаны исследовательницей Малколмсон для *Phytophthora infestans*. Она использовала суспензии конидий рас 1.2.3.7 и 4. Исходные конидии были смешаны и помещены на листья сорта R1R2R3R4. После заражения на листьях появилось слабое споро-

ношение. Из него приготовили новую суспензию и вновь заразили сорт R1R2R3R4. На листьях вновь появилось спороношение. Эту процедуру повторили несколько раз. При последнем цикле заразили не только R1R2R3R4, но и R7. В обоих случаях заражение прошло успешно. В других случаях после нескольких циклов наблюдали потерю одного из факторов вирулентности. Эти эксперименты доказали вегетативную гибридизацию у *Phytophthora infestans*, ведущую к образованию гетерокарионов по факторам (генам) вирулентности и образованию новых рас.

Парасексуальный цикл. Первый этап цикла может включать реакцию совместимости: контакт мицелиев, образование между ними анастомозов, а затем гетерокариона и гетероплазмона (рис. 37).

Далее происходит парасексуальный процесс — кариогамия, слияние ядер гетерокариона. Это редкое событие, его вероятность составляет порядка 10^{-6} . В результате возникают генетически смешанные ядра с увеличенной ploидностью. При слиянии гаплоидных ядер образуется диплоидное ядро (так называемый гетерозиготный диплоид). При слиянии гаплоидных и диплоидных ядер образуется триплоидное ядро, диплоидных ядер — тетраплоидное ядро. Нередко новообразованные ядра представляют собой несбалансированные хромосомные системы.

Парасексуальный процесс может происходить и с участием гомокариотических ядер.

Митотические деления новых смешанных ядер происходят нередко с нарушениями. Часто они сопровождаются гаплоидизацией — уменьшением ploидности ядер, очень часто возвратом к их исходной ploидности. Этот процесс сопровождается потерей лишних наборов хромосом или отдельных хромосом. В результате многие ядра полностью возвращаются к исходному статусу. Но в некоторых ядрах происходит митотическая рекомбинация. Возникают так называемые сегреганты (от англ. segregation — расщепление). Они в большей или меньшей степени сочетают в себе хромосомы и гены обоих исходных ядер. Стабильность таких новообразованных ядер различна. Некоторые генетически нестабильны и гибнут, другие, напротив, делаются интенсивнее других. У фитопатогенов таким образом могут возникать ядра-сегреганты, сочетающие рецессивные гены вирулентности исходных ядер. Это позволяет рецессивным генам оказывать определяющее влияние на



Рис. 37. Схема парасексуального цикла у фитопатогенных грибов

фенотип (из авирулентного он становится вирулентным), а также расширять вирулентность — увеличивать число генов вирулентности. Таким способом могут образовываться генетически стабильные комплексные расы фитопатогенных грибов.

Мобильные генетические элементы — транспозоны. У многих грибов обнаружены мобильные локусы, способные менять свое положение в геноме, перемещаясь по одной или даже по разным хромосомам. В них могут вовлекаться многие важные гены, в том числе и гены вирулентности. Когда эти гены попадают в новое место, может сработать так называемый эффект положения. Он проявляется в том, что функционирование генов в новом месте изменяется. Это приводит к появлению новых (нередко нестабильных) свойств патогена.

Транспозоны фитопатогенных грибов напоминают транспозоны одного из наиболее изученных генетических объектов — дрожжей. Доказано, что мутации некоторых генов *Fusarium oxysporum* связаны со вставкой в них транспозона типа Tc-mariner. Такие мутации изменяют физиологические свойства гриба.

Высказано предположение, что по своим свойствам транспозоны близки к вирусам на этапе их встраивания в геном хозяина.

Дрейф генов. Это случайные изменения частот генов, обычно происходящие в течение вегетационного сезона и могут быть вызваны перенесением неблагоприятных условий. Такие изменения могут происходить при изменении численности популяций патогенов. Так, ее уменьшение наблюдается поздней осенью в конце вегетационного сезона и после проведения защитных мероприятий (севооборотов и применения фунгицидов). Увеличение популяций патогенов может происходить, когда они попадают на массивы восприимчивых растений (к примеру, на растения-реципиенты). Однако массово размножиться могут только некоторые генотипы паразитов, которые случайно первыми попали на растения. Такую возможность называют эффектом бутылочного горлышка.

В результате дрейфа генов распределение рас паразитов в первичных очагах инфекции может иметь случайный (мозаичный) характер. Но далее происходит накопление патогенных и хорошо приспособленных форм паразита. Это происходит вследствие действия естественного отбора. Так, у *Phytophthora infestans* в полевых популяциях в первой половине вегетационного сезона обычно встречаются расы с разным количеством факторов вирулентности. Однако к концу сезона преобладают комплексные расы, включающие большинство или все факторы вирулентности.

Изменения генетического состава популяций могут быть обусловлены действием дрейфа генов и отбором. Дрейф генов может приводить к резким различиям между популяциями фитопатогенов во времени и в пространстве.

Миграции. В перемещении патогенных организмов между континентами, странами и внутри них может принимать участие хо-

зайтвенная деятельность людей, воздушные течения, переносчики (Горленко, 1975). Многие патогены и их формы пересекали значительные расстояния с посадочным материалом.

Межконтинентальные миграции происходят при содействии человека с грузоперевозками. Так, из Мексики через США в Европу мигрировала *Phytophthora infestans* при перевозке клубней картофеля. Первая миграция была осуществлена в 1840-е годы. Точно известно, что в результате нее в Бельгии, Ирландии, и Великобритании появились штаммы A1. Они вызвали опустошительные эпифитотии на картофеле, приведшие к тяжелым экономическим и политическим последствиям. Вторая миграция была осуществлена в 1970—1980-е годы. Из Мексики были поставки картофеля в Европу. В этот же период из соседней с Мексикой Кубы картофель регулярно поставляли в регионы бывшего СССР. При второй миграции в Европе появились и распространились штаммы не только A1, но и A2. Эти мигранты характеризовались новыми генетическими свойствами, большей патогенностью, а также повышенной устойчивостью к фунгицидам. Это позволило им значительно потеснить штаммы «старого типа». Наличие обоих типов спаривания (A1 и A2) во многих странах привело к возможности в них половой гибридизации — мощного источника расширения вирулентности и появления новых рас.

Межконтинентальные миграции до сих пор представляют опасность для тех патогенов, которые уже распространены в России и других странах Европы, но центры их происхождения находятся на других континентах. Для примера можно привести *Xanthomonas citri* (возбудитель бактериального рака цитрусовых), который был завезен из Китая в США.

В последние годы возможны и обратные примеры, когда из мест интенсивной интродукции и искусственного выведения сортов происходит распространение возбудителей болезней. Так, в Америку из стран Европы попали рак и кольцевая гниль картофеля.

Внутриконтинентальные миграции осуществляются с воздушными течениями, переносчиками, посевным и посадочным материалом. Возможен комбинированный путь расширения ареала патогенов — занос сначала с семенами, а затем распространение по воздуху. Таким способом распространился и продолжает свое шествие по Европе возбудитель белой ржавчины хризантем (*Puccinia horiana*). Перенос ветром урединиоспор на расстояния около 1 км осуществляется очень быстро.

Распространение возбудителя бактериального ожога плодовых (*Envinia amylovora*) шло несколько медленнее. Первичный очаг был выявлен в Англии в 1957 г. Только к 1970 г. в Англии и странах Скандинавии были зарегистрированы вторичные очаги болезни. Распространение источников осуществлялось перелетными птицами, в основном скворцами.

Миграции внутри страны осуществляются также, как и внутриконтинентальные миграции. Они тесно связаны с хозяйственной деятельностью человека той или иной страны и для каждой из них могут быть специфичны. К примеру, в Российской Федерации расширение площадей возделывания кукурузы на север в 1960—1970-е годы способствовало продвижению туда узкоспециализированного возбудителя головни кукурузы (*Ustilago zeae*), а также широкоспециализированных возбудителей фузариоза (*Fusarium* spp.). Большое значение в условиях России имеет распространение конидий возбудителя фитофтороза и урединиоспор возбудителя ржавчины посредством движения воздушных масс в атмосфере. В США выявлен специальный коридор (*Puccinia* path) потоков урединиоспор с севера на юг и с юга на север страны.

Распространение патогенов возможно путем интродукции растений в парковых зонах и ботанических садах.

Внутри- и межхозяйственные миграции осуществляются между отдельными хозяйствами или полями севооборотов одного и того же хозяйства. Внутрихозяйственные миграции могут происходить после заноса какого-либо патогена из других мест. Этот тип миграций очень характерен для возбудителей ложных и настоящих мучнистых рос.

Миграции из природных очагов представляют собой занос инфекционного начала с дикорастущих растений (где патогены могут перезимовывать) на культурные растения. Например, культурные крестоцветные ежегодно могут заражаться белой ржавчиной. Ее возбудитель — широкоспециализированный паразит оомицет *Albugo candida* перемещается на них с сорных крестоцветных (ярутка, пастушья сумка). Большую роль в таких миграциях могут играть растения-реципиенты, произрастающие в агроценозах.

Переходящие в агроценозы фитопатогены нередко эволюционируют в пределах агроценоза независимо от исходных форм из биоценозов. Они обособляются от этих исходных форм, образуя специализированные формы у облигатных паразитов, интерстирильные группы или группы вегетативной несовместимости. Образование таких групп особенно характерно для видов родов *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Armillariella*.

Наличие всех этих типов миграций обуславливает появление уже сформировавшихся новых видов патогенов, а также их специализированных форм, рас, штаммов. В случае успешной адаптации они могут представлять огромную опасность для местных видов растений-хозяев, у которых нет против них ни иммунитета, ни, возможно, механизмов его приобретения.

5.3. ЗНАЧЕНИЕ ЗНАНИЙ О СПЕЦИАЛИЗАЦИИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ ПАТОГЕНОВ РАСТЕНИЙ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ЗАЩИТНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

Разработка защитных мероприятий против болезней сельскохозяйственных культур должна опираться на сведения о специализации и изменчивости патогенов растений. Это повысит эффективность применяемых средств защиты растений и позволит избежать ошибок.

Прежде всего, следует учитывать стадийно-возрастную специализацию патогенов, которая определяет выбор приемов защиты растений в наиболее уязвимой для заражения возбудителем фазе. Напротив, применение пестицидов в фазе, когда патоген не атакует растение-хозяина, экономически неоправданно и может привести к нарушению экологических норм.

Практический интерес представляют миграции патогенов с участков, являющихся источниками первичной инфекции какого-либо заболевания на другие поля: ржавчины, пероноспороза, мозаичных болезней сахарной свеклы с семенных посадок на товарные посевы или бурой ржавчины пшеницы с посевов озимой пшеницы на яровую. В обоих последних случаях проводят пространственную изоляцию: в случае свеклы ее семенники как можно дальше отдалают от товарных посевов, а у пшеницы озимые посевы изолируют от яровых.

Принципиальное значение имеют и знания о филогенетической специализации, которая определяет возможности использования севооборота в борьбе с болезнями. Следует учитывать, что при узкой специализации паразитов можно подобрать культуры, не поражаемые одним и тем же возбудителем. Это приведет к резкому ослаблению его пула, а через несколько лет и к полному исчезновению. При широкой специализации паразита этот прием может быть затруднен. Круг растений-хозяев может оказаться огромным. Против таких паразитов наиболее эффективно применять интегрированные методы защиты растений.

Следует также обращать внимание на естественные источники изменчивости и распространения патогенов. Это промежуточные хозяева (для ржавчинных грибов), растения-мостики и растения-реципиенты.

К примеру, заросли барбариса в пойме реки Кумы на Северном Кавказе представляют собой мощнейший очаг стеблевой ржавчины для всего региона. Магония, распространенная в лесах Западной Европы, также представляет угрозу появления и распространения новых рас *Puccinia graminis*. Не следует допускать излишнего разрастания барбариса и магонии в лесных массивах, особенно близ полей, засеянных зерновыми, необходимо проводить фитосанитарные рубки.

Растения-мостики способствуют распространению инфекции и перезаражению растений-хозяев. Через растения-мостики инфекция с одного вида растения-хозяина переходит на другой. Так распространяются возбудители специализированных форм возбудителей стеблевой ржавчины (*Puccinia graminis*) и мучнистой росы зерновых (*Erysiphe communis*). В качестве растений-мостиков выступают злаковые сорняки костры и кострецы. Против них следует применять гербициды избирательного действия.

Растения-реципиенты, будучи частыми хозяевами патогенов с широкой специализацией, способствуют массовому накоплению инфекции и ее распространению на другие растения-хозяева. В сельскохозяйственных посадках следует избегать масштабных посадок растений-реципиентов, вести грамотную политику размещения сортов. К примеру, не следует масштабно высаживать сорта земляники и клубники, восприимчивые к серой гнили. Это может привести к вспышкам этого заболевания у близрасположенных тепличных овощных, ягодных и цветочных культур.

Пресечением миграций фитопатогенов, связанных с хозяйственной деятельностью человека, занимается служба карантина растений РФ. Многие упоминавшиеся выше патогены — объекты внешнего и внутреннего карантина Российской Федерации и ЕОКР (Европейская и Средиземноморская организация карантина растений). Это, например, возбудители рака картофеля, белой ржавчины хризантем, бактериального ожога плодовых пород. Их выявлением (на основе микроскопии и ПЦР-диагностики) занимаются специальные диагностические лаборатории, связанные с карантинными инспекциями, их истреблением — фумигационные отряды.

Успешное инфицирование нового растения-хозяина или переселение патогенов (или их форм и штаммов) на новое место не всегда приводит к их закреплению и стабильному развитию. Огромное значение здесь имеет анализ фитосанитарного риска (АФР). Учитываются климатические особенности, иммунитет растений-хозяев и биоадаптационные возможности фитопатогенов. Так, опасно распространение фитопатогенов с интродуцированными растениями-хозяевами. В зоне интродукции иммунитет этих растений-хозяев может ослабнуть и они станут мостиками к местным видам растений.

С известной долей вероятности можно предугадать темпы распространения вновь появившихся инфекционных болезней. Их можно разделить на три группы (Горленко, 1975).

Первая группа — болезни быстро распространяются по территории. Возбудители болезней этой группы характеризуются широкой специализацией и хорошей приспособленностью к внешним факторам (температура и влажность воздуха), способностью к распространению по воздуху. Необходимое условие распространения таких болезней — наличие восприимчивых растений-хозя-

ев. Примеры болезней этой группы — пероноспороз табака, коккомикоз вишни, белая ржавчина хризантем, мальсекко лимона.

Для устранения болезней первой группы следует проводить своевременную ликвидацию появившихся очагов.

Вторая группа — болезни распространяются медленно. Возбудители обладают довольно узкой специализацией и распространяются через почву и посадочный материал. Распространение этих болезней возможно при нарушении контрольных карантинных мероприятий. Примеры болезней этой группы — ложная мучнистая роса подсолнечника, рак картофеля, кила капусты.

Для устранения болезней второй группы следует применять мероприятия профилактического характера, ужесточать карантинный контроль.

Третья группа — болезни локализуются только в месте завоза, их распространение затруднено. Оно лимитировано экологическими факторами. Примеры болезней этой группы — парша цитрусовых и диплодиоз кукурузы.

Для устранения болезней третьей группы следует проводить их своевременную диагностику и ликвидацию с помощью фумигации.

5.4. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Она происходит путем:

- наследуемых изменений, приводящих к появлению новых признаков за счет изменения последовательности ДНК — мутации;
- обмена участками ДНК — рекомбинации внутри генома;
- обмена генетической информацией между бактериями — трансдукции, конъюгации и трансформации (рис. 38).

Мутации. Скачкообразные наследуемые изменения, приводящие к появлению новых признаков, называются мутациями. В большинстве своем они приводят к исчезновению признака и снижению жизнеспособности, реже — к появлению нового признака, придающего организму новые свойства. Наиболее важные мутации у фитопатогенных бактерий происходят в генах авирулентности (*avr*) и генах группы сверхчувствительности (*hrp*), приводя к изменению расовой принадлежности и снижению или усилению агрессивности патогена. Например, у возбудителя черной бактериальной пятнистости томата и перца (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) и возбудителя сосудистого бактериоза капусты (*X. campestris* pv. *campestris*) замена нуклеотидов или удлинение пятинуклеотидного повтора в гене *avrBs2* приводит к появлению но-

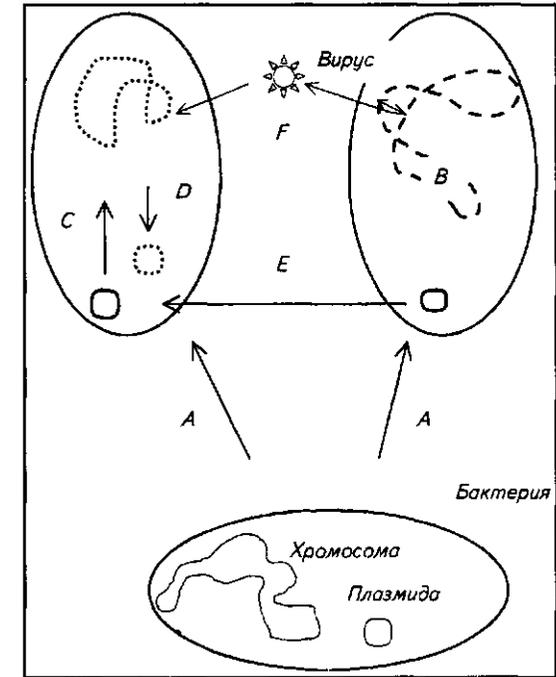


Рис. 38. Схема основных процессов изменчивости бактерий:

A — мутация ДНК; *B* — рекомбинация; *C* — интеграция плазмиды в хромосому; *D* — выделение части хромосомы в плазмиду; *E* — конъюгация или трансформация; *F* — трансдукция

вых рас, поражающих растения с генами устойчивости *Bs2* (перец) или *Rxc1* (абиссинская капуста). Изменение числа повторов нуклеотидов в середине гена *avrBs3/Pth* у *X.c. pv. vesicatoria* и возбудителя бактериального рака цитрусовых *X. citri* также приводит к смене расы патогена.

Выявлено, что высокая нестабильность геномов фитопатогенных бактерий зачастую связана с активностью мобильных генетических элементов (транспозонов), фланкирующих гены, которые участвуют в патогенезе. Так, у *Pseudomonas syringae* гены авирулентности инактивируются вставкой мобильного элемента при заражении устойчивого растения, что также приводит к восстановлению вирулентности бактерии.

Различия в агрессивности бактерий и симптомах вызываемых ими болезней иногда определяются мутациями отдельных генов или изменением их регуляции. Например, генетические различия между ксантомонадами, вызывающими листовую пятнистость и сосудистый бактериоз у крестоцветных, заключаются в активиза-

ции разных протеаз и различной подвижности бактерий, которая зависит от температуры, рН и других факторов внешней среды.

Рекомбинации. Результатом рекомбинации внутри генома бактерии могут быть инверсия фрагментов ДНК, делеция (удаление) или перенос их в новое место и включение в хромосому или выделение из нее плазмид (кольцевых молекул ДНК с независимой репликацией). Большая часть изменений бактериального генома на уровне одного вида или близких видов бактерий связана именно с рекомбинацией и делецией или вставкой больших фрагментов генома. Рекомбинации чаще всего происходят между участками, имеющими сходные последовательности ДНК — нуклеотидные повторы. Именно рекомбинации оказывают наибольшее влияние на приспособленность бактерии к растению-хозяину за счет возникновения стабильных групп (блоков) генов—оперонов, вовлеченных в одну и ту же биохимическую или физиологическую реакцию.

Известно, что многие гены бактерий связаны в опероны или кластеры, вовлеченные в экспрессию одного признака.

Обмен информативной ДНК/РНК между геномами происходит путем:

- конъюгации — переноса ДНК между бактериями через особый секреторный аппарат — пиль (цилиндр, состоящий из белковых мономеров и соединяющий цитоплазму двух бактериальных клеток) (рис. 39);
- трансформации — поглощения бактериальной клеткой молекул ДНК из окружающей среды;
- трансдукции — внедрения части бактериальной ДНК в геном бактериофага и перенос ее в другую бактерию.

Фитопатогенные бактерии существуют в окружении растений, заселенных другими бактериями, что может привести к приобре-

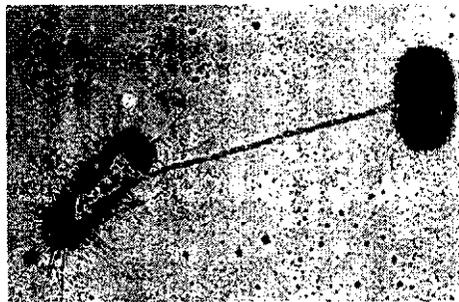


Рис. 39. Конъюгация между двумя бактериями. ДНК переносится между организмами по пиллю, сформированному белковыми мономерами

тению ими новых биохимических свойств и нового образа существования через горизонтальный перенос функциональных блоков генов. Такой перенос генов при обмене плазмидами между бактериями часто приводит к увеличению агрессивности и расширению спектра поражаемых растений (Gunsalus, 1978).

Конъюгация и трансдукция являются наиболее важными механизмами горизонтального переноса генов у фитопатогенных бактерий.

Известно, что у бактерий *Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora*, *X. c. pv. vesicatoria* и др. важные для патогенеза гены *hrp* и *avr* локализованы в плазмидах.

5.5. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСОВ

У вирусов обнаруживается значительная изменчивость по ряду признаков, таких, как вирулентность, симптомы на растениях-хозяевах, приуроченность к переносчикам и др.

Мутации — основной механизм изменчивости у вирусов. Мутационные изменения обнаружены у многих вирусов. Так, при заражении табака вирусом табачной мозаики наряду с системной инфекцией часто наблюдаются локальные некрозы. Каждый некроз образован некротическим мутантом исходного штамма ВТМ.

Различия между штаммами вирусов одного вида связаны с заменами нуклеотидов и аминокислот в генах, кодирующих белки оболочки вируса, инаktivацией некоторых генов и, реже, с гомологичной рекомбинацией между ДНК разных штаммов вируса. Хорошо изучено генетическое разнообразие штаммов вирусов мозаики томата, желтой карликовости ячменя, вирусов картофеля. Различные по вирулентности штаммы обнаружены также у многих других фитопатогенных вирусов.

6. ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Важное место в селекции растений отводится системе оценки устойчивости как исходного, так и полученного материала к инфекционным болезням. Этот этап играет исключительно важную роль в селекции, так как только при обоснованной и логичной схеме оценки можно получить достоверные данные об устойчивости селекционного материала. Сказанное можно осуществить лишь при наличии хорошо разработанных методов оценки этого признака у растений. Поскольку условия, способствующие развитию болезней, складываются далеко не каждый год, для определения устойчивости приходится создавать искусственные условия, благоприятные для патологического процесса, или использовать другие методы оценки этого признака. Чаще всего приходится прибегать к созданию инфекционного и провокационного фонов.

Создание инфекционного фона предусматривает наличие жизнеспособной инфекции и условий, обеспечивающих заражение растений. При планировании и создании инфекционного фона необходимо иметь в виду следующие факторы, игнорирование которых может повлечь существенные искажения результатов оценки устойчивости растений:

- предрасположенность растений к заражению и поражению;
- инфекционная нагрузка;
- влияние экологических факторов на результат заражения и последующие этапы патологического процесса;
- наличие элементов искусственности в приемах и условиях заражения растений.

6.1. ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ РАСТЕНИЙ

Термин предрасположенность трактуется по-разному, но чаще его определяют как «влияние негенетических факторов, действующих на восприимчивость растений к болезням до заражения» (Гешеле, 1978).

Отличие одного сорта от другого по степени устойчивости к тому или иному заболеванию вполне естественно и объяснимо: так как они представляют два разных генотипа. Но очень часто в одном сорте, то есть в пределах одного генотипа, одни растения поражаются, а другие нет или степень поражения отдельных растений очень сильно различается. Это наблюдается даже в тех случаях, когда все методические условия идентичности инфекции и условий окружающей среды строго соблюдены. Это можно объяс-



Рис. 1. Слизистый бактериоз капусты (по Дементьевой, 1988)



Рис. 2. Вертициллез хлопчатника (по Юдину, 1991)



Рис. 3. Кила капусты (по Bohmer und Wohanka, 1999)



Рис. 4. Спорынья пурпурная (по Юдину, 1991):
слева — колос со склероциями; справа — проросший склероций



Рис. 5. Корнед сахарной свеклы (черная ножка)
(по Делепланку, Мэзону, Лаффигту, 1993)



a



б



в

Рис. 6. Твердая головня пшеницы
(по Шкаликову и др., 2003):

a — пораженный колос; *б* — головневый мешочек;
в — телиоспоры

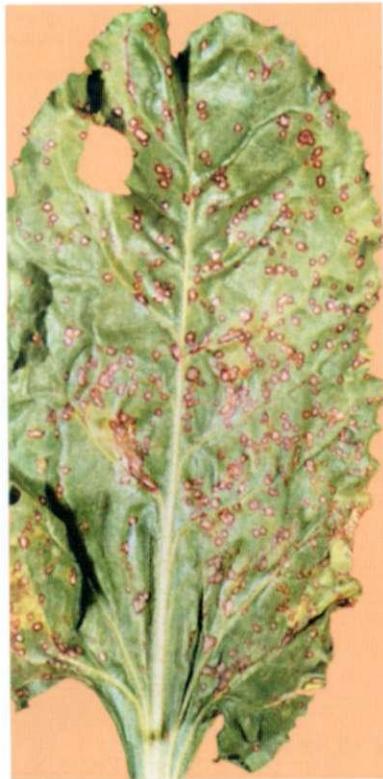


Рис. 7. Церкоспороз сахарной свеклы
(по Делепланку, Мэзону, Лаффитту, 1993)



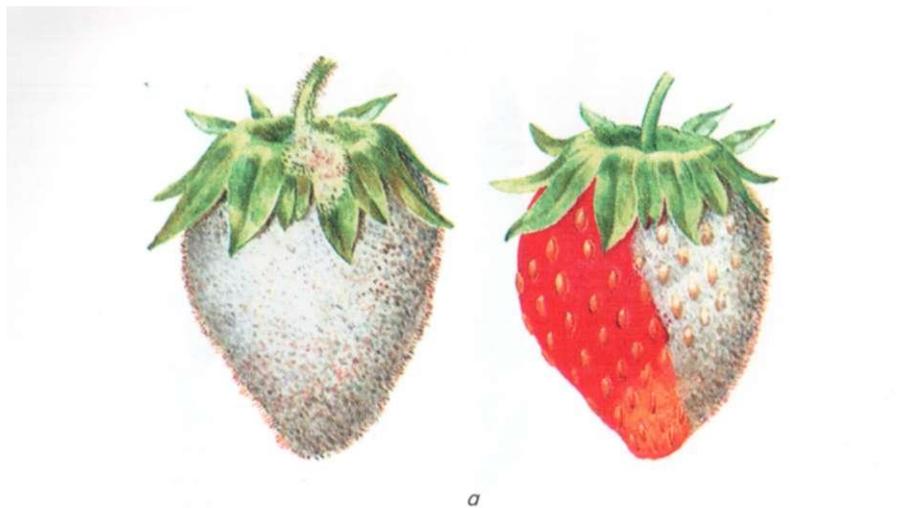
a



б

Рис. 8. Пыльная головня пшеницы
(по Шкаликову и др., 2003):

a, б — пораженные колосья



a



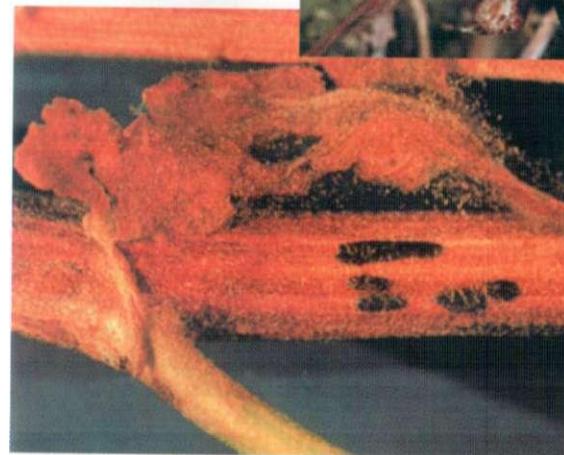
б



в



г



д

Рис. 9. Серая гниль на различных растениях:

a — на землянике (по Юдину, 1991); *б* — на цикламене (цветки иногда за одну ночь покрываются крапинками); *в* — на орхидее (то же, что у цикламена); *г* — на маргаритке; *д* — на хризантеме (по Bohmer und Wohanka, 1999)



Рис. 10. Реакция совместимости при поражении тканей клубня спорами *Phytophthora infestans* (фото А. Н. Смирнова)



Рис. 11. Реакция сверхчувствительности после заражения листьев томата спорами *Phytophthora infestans* (фото А. Н. Смирнова)



Рис. 12. Ржавчинные грибы (по Юдину, 1991):

а — урединии и телии *Puccinia graminis* на пшенице;
б — спермогонии и эции *P. graminis* на барбарисе

нить тем, что растения проявляют разную предрасположенность к заражению. Причем если отобрать в пределах сорта поражаемые растения, получить от них потомство и испытать его на устойчивость, то в нем снова будут как сильно поражаемые, так и менее поражаемые растения, что свидетельствует о наличии индивидуальной предрасположенности растений к заражению. Кроме индивидуальной предрасположенности может проявляться и групповая предрасположенность, с которой особенно часто сталкиваются при испытании пшеницы на устойчивость к головным болезням. Так, Э. Гешеле (1978) указывал, что растения, выращенные из семян, собранных с растений озимой пшеницы ранних сроков, более устойчивы к твердой головне, чем растения из семян того же сорта, собранных с растений, высеянных в более поздние сроки. При посеве семян в разные сроки генотип растений не меняется, но происходит групповая фенотипическая перестройка. Возбудитель головни легче проникает в проросток растений, выросших из недостаточно физиологически зрелых семян (поздний срок посева). Эта групповая предрасположенность к заражению будет утрачена, если семена двух сроков посева смешать и высеять в один срок.

Индивидуальная и групповая предрасположенность растений к заражению более четко проявляется по отношению к факультативным паразитам и факультативным сапротрофам, чем к облигатным паразитам. Это неудивительно, поскольку физиологически ослабленные растения заражаются более активно. Поэтому при создании инфекционного фона для испытания на устойчивость к факультативным паразитам и в тех случаях, когда сорта поступают на испытание из разных эколого-географических регионов, следует учитывать фенотипическую предрасположенность к заражению.

Важная особенность предрасположенности заключается в том, что она существует еще до процесса заражения и сказывается на устойчивости растения.

Кроме перечисленных ранее на предрасположенность растений к заражению могут влиять такие факторы, как их возраст, сезонные колебания устойчивости (особенно для многолетних растений), температура, влажность, освещенность и др., причем их действие на устойчивость растений не следует путать с весьма существенным влиянием этих же факторов в процессе самого заражения. Более подробно это рассмотрено далее.

Особого внимания заслуживают сведения, свидетельствующие об изменении устойчивости растений к отдельным патогенам под действием химических веществ. Это в первую очередь относится к ряду пестицидов, которые могут применять для защиты растений, на которых в последующем будут проводить оценку устойчивости к инфекционным болезням.

После обработки пестицидами (особенно системного действия) в метаболизме растений происходят изменения, которые могут

сказаться впоследствии на их устойчивости. Поэтому для защиты от вредных организмов растений, которые будут оцениваться на устойчивость к болезням, следует использовать другие методы.

6.2. ИНФЕКЦИОННАЯ НАГРУЗКА

Под инфекционной нагрузкой понимают количество инфекционного начала, приходящееся на единицу заражаемого материала (семя, площадь листовой поверхности, целое растение и т. п.). Это количество обычно измеряют числом бактериальных клеток, спор гриба и т.д. Следует различать количественную и качественную стороны инфекционной нагрузки. Чем выше патогенность возбудителя и ниже устойчивость растения, тем легче вызвать заражение растений небольшим количеством инфекционного начала. В принципе для возникновения грибной инфекции достаточно одной споры определенного вида гриба, например возбудителя ржавчины растений, но число заражений будет минимальным. Для успешного заражения пшеницы твердой головней на зерновке к моменту ее прорастания должно быть несколько сотен телоспор возбудителя, а для заражения фузариозными корневыми гнилями необходимы тысячи спор на один проросток. Как следует из приведенного примера, для заражения растений тремя различными возбудителями необходимо далеко не одинаковое количество инфекционного начала: одна спора в первом случае и тысячи в последнем. В чем причина такого различия? Оказывается, что оно обусловлено тем, что эти три возбудителя находятся на разных ступенях паразитизма: возбудители ржавчины и головни — облигатные паразиты, а корневых гнилей — факультативные. Из этого следует, что чем ниже степень паразитизма возбудителя болезни растения, тем большее количество инфекционного начала необходимо для заражения. Но во всех случаях чем выше инфекционная нагрузка, тем успешнее заражение. Это объясняется тем, что возбудитель в массе синтезирует больше метаболитов, предназначенных для преодоления защитных барьеров растений. Инфекционная нагрузка фитопатогенных грибов играет определенную роль уже на начальных этапах патологического процесса. Например, если в капле воды содержится 15 урединиоспор *Puccinia graminis*, длина ростковой трубки прорастающих спор составляет в среднем 45 мкм, а если 2100 спор, то 597 мкм (Гешеле, 1978).

На последующих этапах при большем количестве инфекционного начала вероятность внедрения инокулюма в растение и поражения его повышается. Об этом свидетельствуют данные, представленные в таблице 13. При инфекционной нагрузке 100 и 500 спор на одну зерновку оба испытываемых сорта пшеницы можно отнести к высокоустойчивым к твердой головне. При более высокой инфекционной нагрузке (20 тыс. спор на зерновку) становит-

13. Поражаемость пшеницы твердой головней в зависимости от величины инфекционной нагрузки

Приблизительное число головневых спор на одну зерновку	Количество пораженных растений, %, сортов	
	Ридит	Украинка
100	0,0	0,7
500	0,0	6,0
20 000	0,8	82,2
60 000	4,2	98,6

ся очевидным, что эти сорта резко отличаются по устойчивости к этому заболеванию.

Повышение заражения растений при увеличении инфекционной нагрузки продолжается до определенного предела, пока споры стимулируют выделяемыми ими веществами прорастание друг друга. Затем наступает момент, когда возрастание инфекционной нагрузки не только не стимулирует заражение, но и сдерживает его в результате аутоингибирования. Так, при искусственном заражении пшеницы возбудителем мучнистой росы с использованием в качестве инокулюма суспензии конидий концентрацией 75, 750, 7500 и 75000 шт/0,05 см³ раствора Кнопа число пораженных растений составляло соответственно 4, 46, 96 и 100 %. При увеличении концентрации еще в 10 раз, то есть при 750 000 конидий в 0,05 см³ раствора, было заражено только 2 % растений (Гойман, 1954).

Различают минимальную, оптимальную и максимальную инфекционные нагрузки.

Минимальная инфекционная нагрузка — наименьшее количество инфекционного начала на единицу заражаемой площади, способное вызвать заражение растений. При оценке устойчивости по минимальной инфекционной нагрузке следует учитывать не количество инфекционного начала, способного вызвать заражение, а тот предел, при котором проявляется заболевание. Дело в том, что не каждое заражение приводит к развитию болезни до появления видимых симптомов. Поэтому рекомендацию по минимальной инфекционной нагрузке для инфекционного фона следует понимать как количество возбудителя, способное при благоприятных условиях вызывать заболевание, поскольку в этом случае факт заражения уже очевиден.

Оптимальная инфекционная нагрузка — количество инфекционного начала (число спор гриба или клеток бактерий, концентрация сока, содержащего вирусные частицы), которое вызывает наибольшее число случаев заболевания и позволяет четко различать растения по степени устойчивости.

Максимальная инфекционная нагрузка — предельное количество инфекционного начала, дальнейшее повыше-

ние которого не ведет к увеличению заражения, а порой даже снижает его.

В практике чаще всего используют оптимальный уровень инфекционной нагрузки. При более низком уровне, чем оптимальный, не всегда удается выявить различия в устойчивости между исследуемыми или отбираемыми линиями и сортами. Нагрузка выше оптимальной нерациональна, так как для получения такого же результата, как при оптимальной нагрузке, потребуются большее количество инфекционного материала, который не всегда бывает у исследователя в избытке, и предполагает дополнительные трудовые и материальные затраты на его сбор, размножение, хранение и т.п.

Выбор инфекционной нагрузки зависит от целей исследования. Так, для выявления сверхчувствительного типа устойчивости необходима оптимальная или несколько более высокая инфекционная нагрузка. Если нужно выявить полевую устойчивость, то такое количество инфекции может привести к выбраковке растений со средним уровнем этого показателя. В этом случае используют инфекционные фоны с умеренной (ниже оптимальной) инфекционной нагрузкой.

При создании инфекционного фона кроме количественных показателей инокулюма важную роль играют его качественные показатели. При фитопатологической оценке возникает вопрос: соответствует ли инфекционный материал тому расовому составу, который существует в природе? В этом случае важно иметь инфекционный материал, собранный с пораженных растений, отражающих наиболее полное разнообразие сортов данного региона; при этом качественный состав искусственно применяемого инокулюма будет близок к местной популяции патогена. При работе с грибными патогенами не следует пользоваться инфекционным материалом, полученным от одной первоначально изолированной споры, за исключением тех случаев, когда для генетических исследований необходимы точно идентифицированные расы и биотипы.

Другая качественная характеристика патогена — уровень агрессивности, достаточный для возникновения патологического процесса. Очень часто при длительном культивировании на искусственных питательных средах уровень агрессивности патогена может существенно снижаться. Это приводит к тому, что таким инокулюмом не всегда удается заразить даже восприимчивые сорта. Об этом свидетельствуют результаты многих исследований, проводимых с грибами родов *Fusarium*, *Phytophthora* и др. Так, культивирование гриба *Ph. infestans* на овсяном агаре в течение зимнего периода приводит к такому снижению агрессивности, что в летний период он очень слабо поражает листья сильновосприимчивых сортов картофеля. Только при трех-четырёхкратном пассировании подобного инокулюма через клубни картофеля удается восстановить прежний уровень агрессивности.

6.3. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ЗАРАЖЕНИЕ И ПОСЛЕДУЮЩИЕ ЭТАПЫ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Любая инфекция, отвечающая требуемым качественным и количественным показателям, по-разному реализуется в зависимости от условий внешней среды. Они могут быть самыми разнообразными, но некоторые из них оказывают существенное влияние на патологический процесс конкретного патогена.

Например, сроки посева и глубина заделки семян часто играют решающую роль при испытании злаков на устойчивость к головневому заболеванию, возбудители которых развиваются по типу патогена твердой головни пшеницы. При ранних сроках ярового посева создаются более благоприятные условия для заражения возбудителем, чем при поздних. При заражении озимой пшеницы более благоприятны в этом отношении поздние сроки посева. Увеличение глубины заделки семян как при яровом, так и при озимом посеве усиливает заражение пшеницы возбудителем данного вида головни. Влияние сроков посева и глубины заделки семян на пораженность твердой головней объясняется особенностями биологии возбудителей, заражение которыми происходит в период прорастания семян. Э. Гешеле (1978) показал, что, высевая сорта пшеницы на искусственном инфекционном фоне в разные сроки, можно получить резко различающиеся результаты по пораженности™ твердой головней вплоть до полного отсутствия заболевания у восприимчивых сортов (табл. 14).

14. Пораженность сортов яровой пшеницы твердой головней в зависимости от срока посева, % пораженных растений

Сорт	Срок посева			
	1-я декада апреля	2-я декада апреля	1-я декада мая	2-я декада мая
Мильтурум 274	3,2	0,0	0,0	0,0
Альбидум 721	42,8	21,1	0,0	0,0
Эритроспермум 341	84,5	45,3	2,0	0,0

Всестороннее знание биологии возбудителя болезни и растения — обязательное условие для научно обоснованного создания инфекционных фондов.

Почвенные условия влияют не только на рост и развитие самого растения, но и на патологический процесс почвообитающих возбудителей, в котором они порой играют решающую роль. Анализируя почвенные условия, принимают во внимание тип почвы, ее гранулометрический состав, влагоемкость, химические свойства и особенно содержание элементов минерального питания. Последний фактор существенно сказывается на развитии у расте-

ний защитных механизмов различного свойства. Общеизвестно, что обеспеченность растений калием, фосфором и микроэлементами способствует повышению устойчивости растений ко многим болезням, а избыток азота при недостатке фосфора и калия — ее снижению. Интересные данные по влиянию элементов минерального питания на защитные механизмы растений были получены Беннигом (табл. 15).

15. Изменение устойчивости растений к болезням в зависимости от несбалансированности минерального питания

Особенность защиты от патогена	Азот		Фосфор		Калий	
	дефицит	избыток	дефицит	избыток	дефицит	избыток
Устойчивость, основанная на пассивной защите	Повышенная	Пониженная	Повышенная	Пониженная	Изменяющаяся	Изменяющаяся
Способность к активным защитным реакциям	»	»	Пониженная	Повышенная	»	»
Образование механической ткани (анатомический барьер)	Довольно сильное	Незначительное	Незначительное	Очень сильное	Незначительное	Очень сильное
(анатомический барьер)					ное	

Для ряда возбудителей важен уровень кислотности почвы. Так, возбудитель килы крестоцветных культур предпочитает pH 5,8, рака картофеля — 5,0...7,0, вертициллезного увядания хлопчатника — значения pH почвы, близкие к нейтральной или слабощелочной реакции.

Из метеорологических условий, влияющих на успешное заражение, в порядке значимости следует отметить температуру, влажность, свет. Температура значительно влияет как на способность патогена к заражению, так и на проявление защитных свойств растения-хозяина.

Споры многих грибов прорастают в широком диапазоне температур (от 1 до 35...40°C). Температура 15...25 °C оптимальна для подавляющего большинства грибов. Патогенов можно условно разделить на криофильные (оптимум ниже 15 °C), мезофильные (15...20) и термофильные (выше 25 °C).

Например, урединоспоры возбудителя желтой ржавчины пшеницы не прорастают при температуре выше 25 °C. Оптимальная температура для заражения и дальнейшего развития мицелия этого возбудителя составляет 11 °C. Поэтому нет никакой необходимости проводить испытание пшеницы на устойчивость к желтой ржавчине при высоких температурах. Для большинства других ржавчинных грибов (*Puccinia graminis*, *P. tritricina*, *P. dispersa*), поражающих зерновые культуры, необходимы температуры в пределах

15...18 °C. Оптимальная температура для заражения проростков пшеницы возбудителем твердой головни 6...10 °C.

Иногда возбудитель предпочитает неодинаковые температурные режимы на разных стадиях развития болезни. Так, споры возбудителя мучнистой росы злаков лучше прорастают при температуре 5...9 °C, а мицелий хорошо растет при 20 °C. Телиоспоры *Urocystis occulta* лучше прорастают при 15 °C, а ростовые трубки достигают максимальной скорости роста при 24 °C.

Иногда кратковременное воздействие высоких температур стимулирует прорастание спор. Например, кратковременное выдерживание зооспорангиев возбудителя фитофтороза картофеля при 40 °C значительно стимулирует их прорастание при 20 °C.

Влияние температуры на прорастание спор и рост грибницы иногда исследуют вне растения в лаборатории на искусственном питательном субстрате и учитывают полученные результаты при создании инфекционных фондов. Однако это далеко не всегда приемлемо. Так, оптимальная температура для роста гриба *Thielaviopsis basicola* на искусственной питательной среде составляет 30 °C, но табак при этой температуре очень редко поражается корневой гнилью; лучше всего болезнь развивается при температуре около 20 °C. Возбудитель красной гнили наиболее сильно поражает кукурузу при температуре 8...16°C, а на питательной среде оптимально развивается при 25 °C. Объясняется это тем, что при оптимальных для патологического процесса температурах в растениях происходят именно те биохимические реакции, продукты которых патоген использует для своего питания.

Развитие таких патогенов, как бактерии, фитоплазмы и вирусы, проникающих в растения через механические раны или естественные отверстия, в меньшей степени, чем грибных патогенов, зависит от температуры. Однако и в этих случаях можно сослаться на ряд примеров, свидетельствующих о влиянии температуры окружающей среды на заражение и пораженность растений. Это особенно касается вирусов, передающихся насекомыми. Так, Картер (1962), рассматривая влияние экологических факторов на передачу вирусов насекомыми-переносчиками, отмечал, что перемещение насекомых на посевах в значительной степени зависит от температуры, влажности воздуха и скорости ветра. Для активного лёта тлей температура должна быть несколько выше 21 °C, а разница между ее максимальным и минимальным значениями в течение дня не превышать 7 °C при относительной влажности воздуха ниже 80 % и скорости ветра менее 8 км/ч.

Влажность воздуха и увлажнение растительных тканей — очень важные условия проникновения в них многих грибных и бактериальных патогенов, а также распространения болезни от больных растений к здоровым. Считается, что наилучшие условия для прорастания спор грибов — наличие тонкой пленки влаги, которая способствует их прорастанию и не нарушает процессы аэрации.

Обычно такая пленка образуется после выпадения росы или небольшого дождя. Для прорастания спорангиев возбудителей милдью винограда, фитофтороза картофеля и томата, пероноспороза свеклы, урединиоспор и базидиоспор многих ржавчинных грибов, сумкоспор и конидий большинства представителей класса Несовершенных грибов обычно необходима капельно-жидкая влага на поверхности растительного субстрата. Многие споры могут прорасти и при 100%-й относительной влажности воздуха.

Немного грибов, споры которых прорастают при относительной влажности воздуха около 90...100%. Это споры некоторых видов рода *Ustilago*, возбудителя серой гнили, вертициллезного увядания, парши яблони. Нижним пределом для большинства грибов считается 75%-й уровень влажности; при таких условиях прорастают, например, некоторые виды рода *Cladosporium* и ряд плесневых грибов. Однако некоторые возбудители мучнистых рос прорастают при относительной влажности воздуха гораздо ниже 75 %.

Следует отметить, что представители многочисленной группы возбудителей, вызывающих мучнистые росы, сильно различаются по требовательности к увлажнению в период прорастания спор. У одних видов конидии прорастают при влажности, близкой к насыщающей (*Sphaerotheca pannosa*), у других — при 70...100%-й (*Erysiphe cichoracearum*), у третьих — прорастание идет при самой различной влажности — от почти нулевой до 100%-й в зависимости от температуры (конидии возбудителей оидиума винограда, мучнистых рос гороха, клевера и ряда других культур). Вот почему массовая вспышка мучнистой росы может иметь место и при сухой теплой погоде.

Капельно-жидкая влага обычно ингибирует прорастание конидий, особенно при их полном и длительном погружении в нее. Именно поэтому не рекомендуется искусственное нанесение инокулюма возбудителей мучнистых рос на растения в виде водной суспензии.

Продолжительность периода увлажнения, необходимого для успешного заражения растений грибными патогенами, зависит от окружающей температуры. Так, для заражения пшеницы возбудителем стеблевой ржавчины при температуре 10...15 °С увлажнение растений должно продолжаться более 6 ч, а при 15...20 °С — около 4 ч (Степанов, 1962).

Свет меньше влияет на развитие патогена и инфекционный процесс, чем температура и влажность, однако можно привести ряд примеров, когда интенсивность освещения и длина светового периода могут влиять на заражение определенными возбудителями болезней растений. В темноте подавляется прорастание зооспорангиев возбудителя фитофтороза картофеля, поэтому для успешного заражения этой культуры инокуляцию следует проводить на свету. И наоборот, воздействие темноты после заражения са-

харной свеклы возбудителем ложной мучнистой росы усиливает восприимчивость растений.

От продолжительности темнового и светового периодов суток зависит поведение насекомых при посещении ими растений. Это может оказаться важным фактором при заражении теми болезнями, возбудители которых переносятся насекомыми. При выдерживании растений в темноте заражение свеклы вирусом желтухи, переносимым тлей (*Mysus persicae*), происходит менее эффективно, чем при нормальном освещении.

Факторы внешней среды оказывают существенное влияние на скорость заражения растений, которая часто играет решающую роль в развитии патологического процесса. Быстрое заражение дает возбудителю максимальные преимущества. В этом случае он может использовать для инфицирования короткий период благоприятной погоды. Кроме того, он успевает обосноваться в растении до максимального проявления хозяином защитных реакций в ответ на его внедрение. Это особенно важно для патогенов, заражение которыми растений происходит в узком интервале температуры и (или) влажности.

Грибной возбудитель пребывает в критическом состоянии в период между прорастанием спор и заражением растения. После того как он прочно обосновался в зараженной ткани, его чувствительность к внешним факторам резко снижается. Конечно, влияние ряда факторов, например температуры, проявляется и на более поздних стадиях развития патогена.

Метеорологические условия оказывают большее влияние на патологический процесс, протекающий в надземных органах растения, чем на процесс развития болезни в корневой системе, где их влияние, как правило, оказывается опосредованным. В этом случае рассмотренные ранее факторы внешней среды будут играть значительную роль, когда воздействие их будет длительным: дожди или засуха, холод или жара в конечном итоге повлияют как на условия заражения, так и на течение патологического процесса в ризосфере растений.

Таким образом, факторы окружающей среды могут оказывать определяющее влияние на ход инфекционного процесса, от которого зависит и устойчивость растения, являющаяся одной из форм проявления взаимоотношений растения с патогенами. Поэтому при планировании и создании инфекционного фона следует точно знать, какие условия влияют на заражение, развитие патогена и проявление защитных реакций растения-хозяина. При рассмотрении влияния факторов окружающей среды на инфекционный процесс пока были затронуты наиболее существенные из них и только абиотического характера. Кроме этих факторов на успех заражения и последующие этапы патологического процесса влияют и некоторые биотические факторы, которые будут рассмотрены далее.

6.4. ЭЛЕМЕНТЫ ИСКУССТВЕННОСТИ В ПРИЕМАХ И УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ

При создании инфекционного фона нужно воспроизвести естественную ситуацию контакта инокулюма и растения-хозяина, что возможно лишь на основе знания биологии этих объектов. Однако нередко для более успешного заражения предпринимают дополнительные меры, обеспечивающие более благоприятные условия для возбудителя и менее пригодные для растения, то есть условия, при которых некоторые защитные механизмы растения не столь эффективны, как в природных. Иногда прибегают к нарушению некоторых естественных защитных барьеров на растительных тканях, препятствующих проникновению патогенов.

Например, при оценке пленчатых зерновых культур (овса и ячменя) на устойчивость к головневым заболеваниям, при заспорении семян нарушают целостность пленок или даже снимают их. Для лучшего заражения подсолнечника грибом *Sclerotinia sclerotiorum* на стебель наносят царапины, что облегчает проникновение гриба в ткани.

Применение элементов искусственности помогает выявить природу устойчивости растений и действие отдельных ее механизмов. Элементы искусственности могут быть самыми разнообразными и затрагивать как само состояние инфекционного начала и растения-хозяина, так и условия среды, в которых осуществляется инфекционный процесс. Примером комплексной искусственности может служить метод В. И. Кривченко (1973), разработанный для испытания устойчивости ячменя к ложной пыльной и каменной головне (возбудители *Ustilago nigra* и *U. hordei* соответственно). Суть его состоит в следующем. Семена ячменя, помещенные в жидкую питательную среду (6 % сула, 1 % декстрина, 0,2 % агар-агара) в течение 15 с обрабатывают в гомогенизаторе РТ-1 суспензией спор соответствующего возбудителя (2 г телиоспор на 1 д среды). Частота вращения ножа в гомогенизаторе 4000 мин⁻¹. Здесь создаются два элемента искусственности:

- в процессе обработки в гомогенизаторе пленки семян частично травмируются и споры получают более свободный доступ к зерновке;
- состав питательной среды стимулирует прорастание спор и ускоряет развитие мицелия патогена.

Понятно, что такие меры при оценке на устойчивость используют только на ранних этапах селекционного процесса. Наличие элементов искусственности нежелательно при оценке на полевую устойчивость и практически исключается при окончательной оценке устойчивости испытываемых сортов и гибридов.

7. МЕТОДЫ ИНОКУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ ПРИ ИХ ОЦЕНКЕ НА УСТОЙЧИВОСТЬ

Способы и время внесения инокулюма определяются биологией возбудителя болезни. Задачи селекционной работы самые разнообразные, поэтому исследователю необходимо знать все возможные методы заражения определенной культуры конкретными возбудителями болезней. На первых этапах селекционного процесса используют обычно те методы, которые более полно соответствуют задачам, поставленным программой. На этих этапах фитопатологу и селекционеру предоставляется широкая творческая инициатива в выборе и модификации известных методов искусственного заражения растений или создании своих оригинальных. Естественно, это должно базироваться на основополагающих правилах учения об инфекционном фоне, биологии паразита и испытываемого растения. При оценке сортов во время государственного сортоиспытания применяют общепринятые методы, обязательные для всех селекционных учреждений страны.

7.1. ИНФИЦИРОВАНИЕ ЧЕРЕЗ ПОЧВУ

Этот способ заражения растений применяют главным образом по отношению к обитающим в почве возбудителям болезней и патогенам, способным длительное время сохраняться в ней в жизнеспособном состоянии. Инфекционное начало вносят в почву или постепенно накапливают в ней при создании инфекционных фонов по оценке устойчивости к заразихе, корневым гнилям, снежной плесени зерновых культур, вертициллезным и фузариозным увяданиям многих культур, киле крестоцветных, раку картофеля, корнееду свеклы и ряду других болезней. Потенциальная инфекция может сохраняться в почве в виде семян растений-паразитов, чистых культур грибов родов *Verticillium*, *Fusarium*, *Thielaviopsis*, *Sclerotinia*, *Typhula* и др., измельченных растительных тканей, пораженных этими возбудителями, или почвы с участков, на которых отмечалось сильное развитие подобных болезней.

Обязательное условие при подобном способе внесения инокулюма — тщательное и равномерное распределение его в почве. Это простое на первый взгляд условие далеко не всегда удается в полной мере осуществить на практике. Что касается времени внесения инфекции в почву, то здесь необходимо исходить из способности возбудителей сохраняться в течение определенного пе-

риода в жизнеспособном состоянии в условиях конкуренции с другими почвенными микроорганизмами, свойств самой почвы и производственной ситуации при организации инфекционного фона.

Рассмотрим несколько конкретных примеров инфицирования почвы при испытании на устойчивость к названным ранее заболеваниям. Для оценки устойчивости хлебных злаков к корневым гнилям проводят выделение патогена из пораженных растений в чистую культуру, затем ее размножают на искусственной питательной среде (чаще всего это стерильная смесь пропаренных зерновок и соломы) и полученный инфекционный субстрат вносят в рядки в процессе высева семян испытываемых на устойчивость зерновых культур, соблюдая рекомендуемые нормы инокулюма для конкретного возбудителя. Часто питательный субстрат с размноженным на нем возбудителем подсушивают до сыпучести и хранят до 1 мес в холодильной камере при положительных температурах.

При создании инфекционного фона для оценки устойчивости зерновых культур к таким болезням, как снежная плесень, склеротиниоз, тифулез, предварительно размножают возбудителей этих болезней на пропаренных зерновках, помещенных в конические колбы вместимостью 1...2 л. Полученный в течение 15...20 дней инокулюм смешивают с почвой в соотношении 1:3, после чего вносят в рядки при посеве или рассыпают равномерно по поверхности почвы перед ее рыхлением (из расчета 5 кг смеси на 1 м²). Участки, где создается инфекционный фон по таким возбудителям, располагают вблизи опушек леса, а в зимний период принимают действия, способствующие более обильному снежному покрытию и длительному удержанию его в весенний период (элемент искусственности).

Для испытания льна на устойчивость к фузариозному увяданию чистую культуру гриба *Fusarium oxysporum* f. *lini*, размноженную на стерильных зерновках овса, равномерно распределяют по поверхности почвы (100 г на 1 м²) и присыпают 4...5-сантиметровым слоем почвы. Вместо чистой культуры можно использовать резку льняной соломы (1...3-сантиметровая резка корней и нижней части стеблей) с участков, где наблюдались четкие симптомы фузариозного увядания. Норма внесения инфекционного начала такая же, как и инокулюма, размноженного на зерне.

При инфицировании участка с₂ помощью «зараженной почвы» ее вносят из расчета 4...8 кг на 1 м², после чего участок перекапывают дважды. Для проверки равномерности распределения инфекционного начала проводят уравнивательный посев силновосприимчивого к фузариозу сорта льна.

Для создания инфекционного фона для проверки капусты на устойчивость к киле осенью заготавливают желваки с корнями капусты, пораженной килей. Их помещают в ящики, переслаивая с почвой, взятой с того же поля, и хранят в течение зимнего перио-

да в подвальных помещениях или хранилищах. Весной желваки измельчают, просеивают через грохот с ячейками диаметром 0,5 см и смешивают с перегноем в соотношении 1: 5; смесь (200...400 г) вносят в посадочные лунки при высадке рассады в грунт.

В отношении возбудителей, которые заражают растения через корневую систему или нижнюю часть стебля, то есть тех, инокулюм которых вносится в почву, можно с успехом использовать естественные инфекционные фоны. Это чаще всего участки, где длительное время выращивали одну и ту же культуру и на ней развивалась болезнь, устойчивость к которой планируют проверить у исследуемых растений. Для оценки степени инфекционности такого фона необходимо выращивать на нем восприимчивый сорт данной культуры в течение одного вегетационного сезона.

7.2. НАНЕСЕНИЕ ИНФЕКЦИИ НА СЕМЕНА И ПОСАДОЧНЫЙ МАТЕРИАЛ

Многие возбудители болезней осуществляют заражение растений через проростки или через отрастающие корни. В таких случаях часто носителями инфекции являются семена. Она может находиться как внутри семян, так и на их поверхности. В последнем случае возможно искусственное нанесение болезнетворных микроорганизмов на семена и посадочный материал и обеспечение в дальнейшем успешного заражения растений при оценке их на устойчивость. Таким способом наносят телиоспоры головневых грибов, заражение которыми идет по типу возбудителя твердой головни пшеницы. Так поступают и с инфекцией, вызывающей гельминтоспориозы, фузариозы и другие болезни, включая и ряд бактериальных. При нанесении инфекции на семена заботятся о том, чтобы возбудитель прочно удерживался на поверхности семян, присутствовал в количестве, достаточном для успешного заражения, хорошо и быстро прорастал (это касается грибных патогенов).

Посадочный материал (клубни, маточные корнеплоды, черенки и т. п.) чаще всего инфицируют помещением возбудителей во внутренние ткани. Для некоторых объектов с помощью специальных анализов отбирают семена, содержащие инфекцию, или собирают их с растений, которые были поражены соответствующим заболеванием в предыдущем сезоне.

При испытании на устойчивость к таким болезням, как твердая головня пшеницы, головня проса, пузырчатая головня кукурузы, семена заспоряют сухим способом. Для эффективного заражения растений обычно достаточно от 0,1 до 1,0 % спор от массы инфицируемых семян. Смесь семян со спорами, приготовленную в таком соотношении, помещают в стеклянную банку и встряхивают в течение нескольких минут.

Для нанесения инокулюма каменной головни ячменя, пыльной и твердой головни овса, черной корневой гнили табака, базального и черного бактериозов пшеницы, полосатого бактериоза ячменя, угловой пятнистости огурца, бактериального рака томата, бактериоза льна и многих других болезней готовят водную суспензию спор или бактериальных клеток соответствующей концентрации и замачивают в ней семена. Продолжительность замачивания зависит от вида культуры и возбудителя болезни. При этих способах инокуляции часто прибегают к таким элементам искусственности, как приготовление суспензии с различными питательными добавками для лучшего прорастания спор и размножения бактерий, нанесение на семена механических повреждений, предварительное проращивание семян и др.

При испытании на устойчивость картофеля к кольцевой гнили, черной ножке, фитофторозу клубней, а также семенников моркови и свеклы к фомозу инфекционное начало в клубни или корнеплоды вносят в виде суспензии с помощью медицинского шприца с последующей дезинфекцией места укола.

7.3. ЗАРАЖЕНИЕ ЛИСТЬЕВ И СТЕБЛЕЙ

Заражение этих органов осуществляют нанесением инфекционного материала в виде сухих спор фитопатогенных грибов, водных суспензий спор и бактерий, а также суспензий в легком минеральном масле, гомогенатов и экстрактов. Чаще всего к подобным методам заражения прибегают при оценке устойчивости растений к ржавчинам и мучнистым росам, септориозам, антракнозам стеблей и листьев, пирикулярнозу риса, фитофторозу картофеля и томата, ложным мучнистым росам, парше яблони и груши, коккомикозу и клостероспориозу косточковых плодовых культур, а также к другим заболеваниям, возбудители которых заражают растения через надземные органы. Заражение через листья и стебли широко применяют и при оценке устойчивости ко многим бактериальным и вирусным болезням.

В зависимости от биологии возбудителя и его состояния инокулюм наносят путем напыления сухих спор на предварительно смоченную поверхность листьев и стеблей растений. Подобным способом наносят споры возбудителей мучнистых рос, ржавчин. Инокулюм многих возбудителей грибных и бактериальных болезней наносят путем распыливания водных суспензий спор или клеток. Так наносят инфекцию ржавчинных болезней, пероноспорозов, фитофторозов, бактериозов. При таком способе нанесения инокулюма четко выдерживают нужную концентрацию суспензии, а в зависимости от вида возбудителя учитывают время, в течение которого инфекционные единицы не теряют своей способности вызывать заражение, находясь в воде.

Так как фитопатогенные бактерии проникают в листовые ткани через естественные отверстия (устыица, гидатоды, нектарники) или поранения, инфицирование бактериальной суспензией рекомендуют проводить с помощью аппаратуры, создающей небольшое давление. В таких случаях бактерии гораздо лучше внедряются в естественные отверстия и поранения. Кроме того, бактериальную суспензию иногда вводят в межклеточное пространство растительных тканей с помощью медицинского шприца.

После опыливания или опрыскивания в месте пребывания инокулированных растений создают повышенную влажность для лучшего заражения. Небольшие площади, часто это мелкие делянки, накрывают шатром из полиэтиленовой пленки (рис. 40). Площади большего размера инокулируют в вечерние часы, чтобы в ночное и утреннее время инфекция попала в период выпадения росы и какое-то время находилась в условиях капельной или пленчатой влаги.

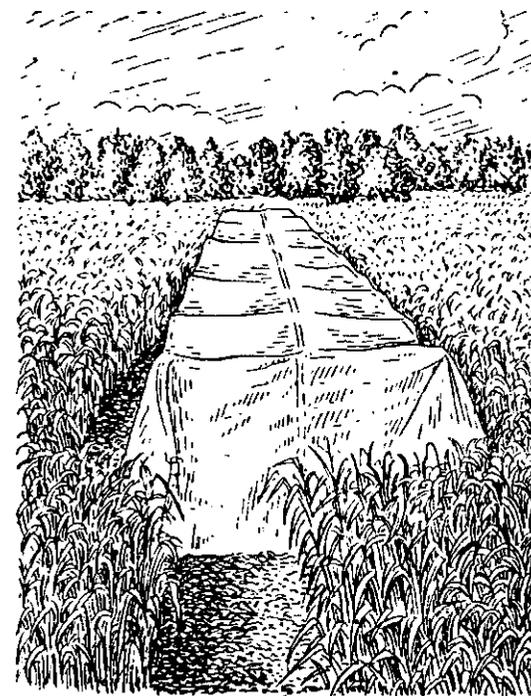


Рис. 40. Делянка с посевами пшеницы, накрытая после инокуляции полиэтиленовой пленкой для улучшения условий заражения

Заражение вирусами, которые передаются контактным способом, проводят натиранием листьев тампоном, смоченным соком или экстрактом больного растения; листья предварительно посыпают порошком карборунда. При инфицировании растений неконтагиозными вирусами используют подсадку виофорных переносчиков (насекомых, клещей, нематод), а также прививки на испытуемые растения побегов, почек или кусочков ткани зараженных растений.

7.4. ЗАРАЖЕНИЕ СТВОЛОВ И ВЕТВЕЙ ДЕРЕВЬЕВ

Этот метод инокуляции применяют при оценке устойчивости цитрусовых культур к мальсекко, плодовых древесных пород к цитоспорозу, черному и бактериальному раку, а также некоторым другим болезням. Обычно при таком способе заражения инфекцию в виде мицелия или суспензии наносят в места механических поранений коры. На ветвях срезают или надрезают кусочки коры, наносят под нее инфекцию, накладывают кору на место среза и обвязывают место инокуляции пергаментом или полиэтиленовой пленкой.

Например, яблоню инокулируют возбудителем черного рака таким образом. С различных сортов яблони собирают кусочки коры, пораженные грибом *Sphaeropsis malorum*. Небольшие кусочки коры с пикнидами переносят на картофельно-глюкозную или суло-агаровую питательную среду, на которой гриб развивается до конидиальной стадии. Обычно это занимает около 20 дней. В мае—начале июня, когда среднесуточная температура воздуха достигает примерно 18 °С, на выбранных для заражения ветвях делают Т-образный надрез коры. Под кору вносят кусочки мицелия со спорами. Рану обматывают смоченной в воде ватой и пергаментной бумагой и перевязывают для удержания. Результаты заражения анализируют через 3...4 мес.

Часто для инфекции возбудителями усыхания плодовых культур инфекционную суспензию вносят под кору с помощью шприца. При этом удобнее всего использовать шприц непрерывного действия, вводя с его помощью по 0,5... 1 мл суспензии в одно место инокуляции. Инфекцию грибов рода *Cytospora* наносят помещением капли споровой суспензии в пазуху листа годовичного побега с последующим нанесением в это место двух-трех уколов энтомологической иглой.

7.5. НАНЕСЕНИЕ ИНФЕКЦИИ НА ЦВЕТКИ РАСТЕНИЙ

Этот метод применяют при оценке устойчивости пшеницы и ячменя к пыльной головне, плодовых культур к монилиальному ожогу, ржи к спорынье и некоторых культур к бактериозам. Зара-

жение через цветки проводят путем заспорения или обработкой водной суспензией патогена, прибегая к простейшим приспособлениям в виде кисточки, пинцета, пульверизатора (рис. 41). Наряду с ними применяют и более сложную аппаратуру специальных конструкций с использованием вакуума (рис. 42). При нанесении инфекции возбудителей пыльной головни пшеницы и пыльной

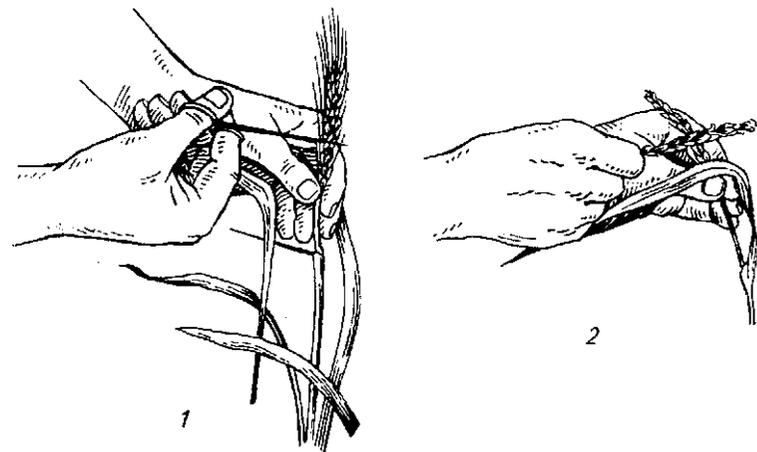


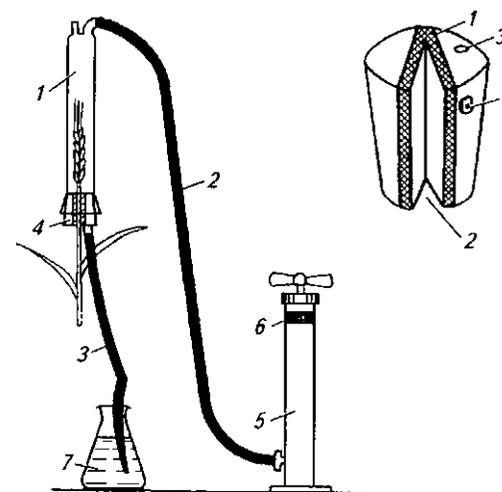
Рис. 41. Заражение колоса пшеницы пыльной головней по методу Э. Э. Гешеле: 1 — подготовка колоса к заражению (подрезание колосковых чешуи); 2 — заспорение здорового колоса головневым колосом

Рис. 42. Вакуум-прибор для инокуляции пшеницы и ячменя возбудителем пыльной головни (конструкция В. И. Кривченко): слева — общая схема устройства прибора:

1 — цилиндр; 2 — шланг для откачивания воздуха; 3 — шланг для подачи суспензии спор; 4 — вакуумная зажимная пробка; 5 — откачивающий насос; 6 — резиновое кольцо; 7 — сосуд для суспензии спор;

справа — вакуумная зажимная пробка:

1 — мелкопористый слой резины; 2 — разрез в мелкопористом слое; 3 — сквозное отверстие в пробке; 4 — упор



головни ячменя используют методы заспорения как отдельного цветка, так и всех цветков колоса сразу. В первом случае удается добиться более высокого процента удачных заражений, но производительность при этом довольно низкая.

При инокулировании возбудителем монилиального ожога увлажненным концом иглы наносят на цветки сухие жизнеспособные споры гриба, стараясь поместить их на рыльце пестика. После этого инокулированные цветки опрыскивают водой из пульверизатора, затем на ветвь надевают смоченный в воде марлевый изолятор, который покрывают полиэтиленовой пленкой.

8. СБОР И ХРАНЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Для инфицирования растений любым способом к моменту искусственного заражения необходимо иметь жизнеспособный инокулюм в достаточном количестве. Возбудителей грибных болезней обычно собирают с пораженных растений восприимчивых сортов или выращивают и размножают на питательных субстратах. Обычно облигатные паразиты, такие, как мучнисторосяные и ржавчинные грибы, возбудители многих пероноспорозов очень трудно поддаются выращиванию на искусственных питательных средах. Поэтому их собирают с пораженных растений; споры мучнисторосяных грибов стряхивают мягкой кисточкой, урединиоспоры возбудителей ржавчин всасывают с помощью металлических или стеклянных циклонных насадок, смонтированных с водоструйным насосом, пылесосом или воздушным фильтром автомобиля. Иногда урединиоспоры смывают с пораженных растений водой. Споры возбудителей ложных мучнистых рос чаще всего смывают водой, поскольку они некоторое время очень хорошо переносят пребывание в водной среде.

Споры большинства грибных возбудителей нельзя хранить длительное время, поэтому сразу после сбора их нужно использовать для инокуляции. Есть ряд исключений по отношению к некоторым возбудителям. В частности, урединиоспоры ржавчинных грибов, собранные сухими, после соответствующей обработки сохраняют жизнеспособность в течение нескольких месяцев. С этой целью их после сбора способом всасывания очищают от механических примесей, подсушивают и помещают в стеклянные ампулы, которые затем запаивают. Хранят ампулы со спорами при температуре 3...5 °С. В таком режиме хранения по истечении 2...2,5 мес жизнеспособными остаются примерно 70 % урединиоспор, а после 6-месячного хранения — 40 %.

Урединиоспоры можно также высушить сублимационным способом и хранить в запаянных стеклянных ампулах при температуре 0...5 °С гораздо более длительное время. Перед инокуляцией такие споры извлекают из холодильника и подвергают гидратации в водяной бане при 20 °С в течение 2 мин. У некоторых фитопатогенных грибов споры или другие формы, служащие для размножения, еще более выносливые, чем урединиоспоры. Так, устооспоры возбудителя твердой головни пшеницы, находящиеся в головневых мешочках, можно сохранить в сухом прохладном помещении в течение нескольких лет.

Ряд грибных возбудителей образуют в цикле развития склероции. Эта покоящаяся форма мицелия крайне устойчива к неблагоприятным внешним условиям без потери жизнеспособности. Поэтому склероции этих грибов собирают и могут хранить несколько лет. При надобности создают условия для прорастания склероциев и получения тех форм, которые могут вызвать заражение растений. В виде склероциев хранят возбудителей рака клевера, склеротиниоза и тифулеза зерновых культур, белой гнили овощных культур, подсолнечника и ряда других растений.

Возбудителей мучнистых рос злаковых культивируют на молодых растениях ячменя. Гриб можно поддерживать в живом состоянии даже на проростках восприимчивых сортов, растущих в пробирках размером 25 x 300 мм. В таком состоянии возбудитель сохраняется в течение 1... 1,5 мес в холодильных камерах (при 12 °С), оборудованных освещением. Для более длительного хранения гриб периодически с интервалом 1... 1,5 мес переносят на новые проростки.

Патогенов, вызывающих ложные мучнистые росы, размножают на вегетирующих растениях восприимчивых сортов с таким расчетом, чтобы непосредственно перед инокуляцией у них было хорошо развито конидиальное спороношение, которое смывают водой.

Очень многие грибные патогены способны расти и размножаться на питательных субстратах в лабораторных условиях. Выбор конкретной питательной среды для размножения таких грибов зависит от их видовой принадлежности, способности хорошо и быстро развиваться и давать большое количество инфекционных единиц (чаще спор). Перед использованием их в качестве инокулята проверяют агрессивность возбудителя, заражая им восприимчивые сорта.

Фитопатогенные бактерии можно успешно культивировать в лабораторных условиях на питательных средах. Бактерии характеризуются небольшой избирательностью по отношению к виду питательного субстрата. Для искусственного заражения растений обычно пользуются водной суспензией бактериальных клеток нужной концентрации.

Жизнеспособность возбудителей вирусных болезней поддерживают на живых растениях, которые легко ими поражаются и в тканях которых вирусные частицы накапливаются в высоких концентрациях. Такие растения называют растениями-накопителями. Инфекцию с них переносят на испытываемые растения с помощью ранее перечисленных методов, выбор которых зависит от способа передачи конкретного фитопатогенного вируса.

8.1. КОМБИНИРОВАННЫЕ ИНФЕКЦИИ

Практика выдвигает перед селекционерами задачу получения сортов, обладающих комбинированной устойчивостью к наиболее опасным болезням и вредителям. Естественно, для этого необходима всесторонняя оценка селекционного материала по данному признаку. В свое время существовали рекомендации вести испытания на устойчивость одним видом патогена за вегетационный сезон. Такой подход существенно затягивает время оценки, что очень нежелательно.

Результаты многочисленных исследований, проведенных фитопатологами совместно с селекционерами, показали, что для определенных возбудителей можно использовать комбинированную инфекцию, при которой растения за одну вегетацию заражают сначала одним видом возбудителя, а затем последовательно другим, а в ряде случаев осуществляют одновременное заражение разными патогенами. В таких случаях многое зависит от того, как взаимодействуют между собой два возбудителя, паразитируя на одном растении-хозяине, и как реагирует растение на заражение определенным патогеном. В частности, рядом исследователей отмечалось, что растения картофеля, зараженные мозаичными вирусами, становятся более устойчивыми к поражению фитофторозом. Растения сахарной свеклы, зараженные некоторыми штаммами вируса желтухи, оказываются более устойчивыми к пероноспорозу, чем здоровые растения. Но растения, зараженные другими штаммами того же вируса, становятся более восприимчивыми к пероноспорозу. Вегетирующая свекла, в сильной степени пораженная мучнистой росой, обычно более устойчива к рамуляриозной пятнистости и ржавчине, чем здоровые растения. Внесение в почву культуры гриба *Helminthosporium sativum* снижает поражение пшеницы твердой головней. Таких примеров становится все больше и больше, поэтому при планировании комбинированной инфекции надо иметь точные сведения о том, как поведет себя растение при наличии заражения одним или несколькими возбудителями.

При заражении смесью разных видов возбудителей они могут одновременно инфицировать одни и те же ткани растения. Эти случаи отличаются от вторичного или последовательного заражения при сопряженных болезнях растений. Смешанный инокулюм может быть двух типов:

- состоящий из разных штаммов или рас одного и того же возбудителя;
- смешанные инфекции, состоящие из различных возбудителей.

Что касается инокулята первого типа, то в этом случае применение одного штамма или расы может зачастую сильно исказить результаты при оценке устойчивости. Только инфекция, состоя-

щая из нескольких штаммов, дает более достоверные данные по истинной устойчивости, Патогенность смеси штаммов или биотипов одного патогена всегда не меньше, чем патогенность самого слабого штамма.

Применение смешанной инфекции, состоящей из возбудителей разных болезней, должно базироваться на точных сведениях о взаимоотношениях между ними в случае одновременного заражения ими растения-хозяина. В такой ситуации возможны три случая:

- различные возбудители действуют независимо друг от друга;
- поражение растений при смешанной инфекции ослабляется;
- поражение растений при смешанной инфекции усиливается.

При планировании возможной комбинации патогенов на совместное испытание устойчивости к ним растений можно исходить только из первого случая, когда степень поражения ни к одному из испытываемых возбудителей не изменится. Два других случая сильно повлияют на заражение одним из возбудителей и искажат истинную картину устойчивости.

В селекционно-генетическом институте (г. Одесса) проводили следующую комплексную оценку устойчивости пшеницы к трем очень важным грибным заболеваниям. В период цветения пшеницы проводили инокуляцию посевов возбудителем пыльной головни. Собранные с зараженных растений семена заспорили возбудителем твердой головни и высевали, а затем выросшие растения в фазе колошения инокулировали возбудителем мучнистой росы или ржавчины. В том же институте отбор селекционных номеров по устойчивости проводили после испытания на инфекционных фонах трех видов ржавчины и мучнистой росы. Сначала растения заражали возбудителями желтой ржавчины и мучнистой росы, а в фазе выхода в трубку — возбудителями бурой и стеблевой ржавчины.

При оценке подсолнечника на устойчивость к болезням используют следующий комбинированный инфекционный фон. Под осеннюю вспашку вносят в почву семена заразики и на глубину не более 7... 10 см помещают в почву склероции возбудителя белой гнили. Весной под культивацию зяби закладывают промороженные растительные остатки подсолнечника, пораженного ложной мучнистой росой.

Конечно комбинированные инфекции не всегда дают тождественные результаты, но различия по сравнению с результатами, полученными при заражении одиночными патогенами, не такие уж существенные. На начальных этапах селекционной работы и оценке материала этими различиями можно пренебречь.

8.2. ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ

Как было уже отмечено, оценку устойчивости нужно проводить в условиях, приближенных к естественным, то есть в поле, саду и т.д., но в селекционной работе довольно часто испытание устойчивости проводят в искусственных условиях лаборатории, теплицы, вегетационного помещения. Ряд причин побуждает прибегать к этим методам оценки.

В первую очередь это касается оценки устойчивости к карантинным объектам, когда заражение в полевых условиях может повлечь распространение болезни за пределы инфицированного участка. Например, хорошо известная болезнь рак картофеля в настоящее время — объект внутреннего карантина на территории Российской Федерации. Испытание на устойчивость к раку ведут путем посадки клубней испытуемых сортов в вегетационные сосуды, заполненные инфицированной почвой. Кроме того, существует метод заражения возбудителем рака отдельных глазков клубней картофеля в условиях лаборатории или теплицы. Применение такого метода показало, что в таких условиях вполне возможно выявить высокую степень иммунности, гарантирующую непоражаемость картофеля раком в полевых условиях.

Второй причиной, побуждающей использовать лабораторные методы оценки устойчивости, является стремление провести ее в более ранние фазы развития растений, не дожидаясь, когда болезнь появится в природе. В этих случаях поражаемость молодых растений должна быть сопоставимой с реакцией на заражение взрослых растений. Так, фитофтороз картофеля обычно развивается в природной обстановке во второй половине вегетационного периода. Использование в селекции картофеля диких видов, особенно такого, как *Solarium demissum*, позволило получать гибриды, у которых устойчивость можно выявить во все фазы развития. Восприимчивые растения в благоприятных для развития фитофтороза условиях парников и теплиц поражаются болезнью и в ювенильном состоянии. Поэтому семена гибридов картофеля высевают в парниках и теплицах. В фазе 1...2 настоящих листьев сеянцы в течение нескольких дней заражают возбудителем фитофтороза. Многократное заражение вызывает гибель всех неустойчивых сеянцев, а сохраняющиеся здоровыми гибриды высаживают в поле для дальнейшей селекции. Используя меньшую инфекционную нагрузку, можно добиться сохранения и менее устойчивых сеянцев, но представляющих интерес для селекционера по другим хозяйственным и биологическим признакам.

Очень часто растения в молодом возрасте подвергают заражению патогенами, поражающими корневую систему и сосуды, то есть испытывают на устойчивость к болезням типа увядания. Эту операцию можно с успехом проводить, выращивая растения в растильнях в условиях лаборатории или теплицы.

Третьей причиной целесообразности применения лабораторных методов оценки устойчивости является то, что при использовании этих методов создается возможность проводить оценку устойчивости круглый год, ускоряя таким образом процесс селекции.

Немаловажный фактор, отражающий положительную сторону лабораторных методов оценки устойчивости, — высокая производительность труда, снижение материальных затрат и уменьшение времени, которые потребовались бы при оценке в полевых условиях. Ряд примеров может служить иллюстрацией пользы применения лабораторных методов. В последнее время широкое распространение при оценке на устойчивость получил так называемый метод отделенных листьев, или бензимидазольный метод. Суть его заключается в том, что водный раствор бензимидазола слабой концентрации позволяет длительное время сохранять жизнеспособность отделенных от растения листьев (или даже их отрезков), помещенных в раствор. Для приготовления маточного раствора 1 г бензимидазола растворяют в 1 л дистиллированной воды и хранят в стеклянной посуде темного цвета в прохладном месте. Рабочий раствор готовят из расчета 0,06 л маточного на 1 л воды. Рабочим раствором пропитывают до насыщения какой-либо хорошо удерживающий влагу материал (фильтровальная бумага, марля, вата, перлит и т. п.), разложенный в кюветы, кристаллизаторы или чашки Петри, что зависит от количества и размера оцениваемого материала. Отделенные листья, доли листа, отрезки листьев или высежки из них, а иногда пасынки растений размещают на пропитанном материале так, чтобы через черешки, стебли или просто через поверхность листовой пластинки происходила подпитка водным раствором тканей растительного материала. Отделенные листья инокулируют способом, соответствующим виду культуры и возбудителю, а затем кюветы размещают под световые установки в лаборатории с регулируемым температурным режимом. В случае необходимости создания повышенной влажности на период заражения в кюветах, кристаллизаторах или чашках Петри создают условия влажной камеры (рис. 43).

Этот метод широко применяют при оценке устойчивости злаковых культур к мучнистой росе, ржавчине; томата к фитофторозу, альтернариозу, кладоспориозу, серой гнили; картофеля к фитофторозу и альтернариозу; огурца к пероноспорозу, мучнистой росе, антракнозу, аскохитозу, оливковой пятнистости и многих других культур к болезням, подобным названным. Положительная сторона этого метода состоит в том, что за короткий срок на небольшой площади представляется возможность сравнительной оценки большого количества селекционного материала. Обычно этот метод применяют в процессе предварительной оценки устойчивости.

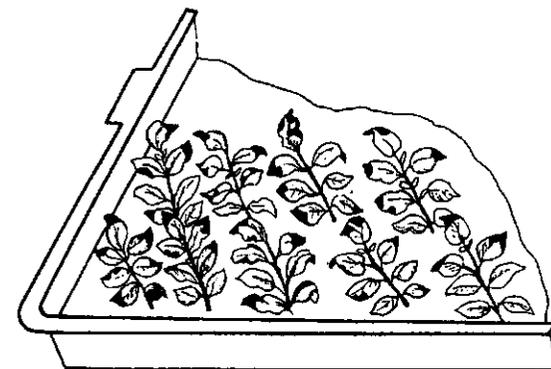


Рис. 43. Заражение отделенных от растений листьев

Недостаток метода в том, что отделенные от растения листья не обладают тем уровнем устойчивости, который характерен для интактного растения; целый ряд механизмов устойчивости на отделенных листьях проявляется явно слабее. Раствор бензимидазола позволяет поддерживать жизнеспособность отделенных листьев в регулируемом температурном и световом режиме в течение 1...15 сут. Продолжительность этого периода зависит от вида оцениваемой культуры: обычно растения, относящиеся к классу однодольных, сохраняют жизнеспособность в течение более длительного времени. Период сохранения жизнеспособности отделенных листьев сокращается независимо от оцениваемой культуры, если инкубация после заражения осуществляется при более высоких температурах (выше 15...18 °С) или недостаточном освещении. Это следует учитывать при организации работ по оценке устойчивости методом отделенных листьев. При соблюдении оптимальных для этого метода режимов можно четко выявить реакцию оцениваемого материала на устойчивость.

В лабораторных условиях часто ведут оценку устойчивости клубней и корнеплодов к ряду заболеваний, причем в процессе ее осуществления заражают как интактные органы, так и вырезки или высежки из них. Вот как оценивают устойчивость клубней картофеля к фитофторозу. Убранные клубни отмывают от почвы, дезинфицируют их поверхность, после чего погружают их на 15 мин в водную суспензию зооспорангиев или зооспор *Ph. infestans*. Затем инокулированные клубни укладывают в деревянные ящики, пересыпая влажными опилками, и покрывают сверху мокрой мешковиной. В таком состоянии клубни инкубируют в течение 2 нед при температуре 15...18 °С.

Можно также нарезать из промытых и обеззараженных клубней ломтики толщиной 1...1,5 см и нанести на срезанную поверх-

ность капли суспензии спор возбудителя фитофтороза нужной концентрации. Ломтики укладывают в чашки Петри и инкубируют в течение 3...4сут. О степени устойчивости судят по размерам некротических пятен и интенсивности спороношения, образуемого на поверхности ломтиков.

Об устойчивости корнеплодов моркови к белой и серой гнилям судят по интенсивности роста мицелия грибов *Sclerotinia sclerotiorum* и *Botrytis cinerea* на ломтиках корнеплодов. Но этому предшествует довольно тщательная подготовка корнеплодов для заражения и размножение возбудителей болезней. Грибы размножают и выращивают на отжатом из корнеплодов и простерилизованном соке. Корнеплоды после уборки хранят в песке в прохладном месте. Перед оценкой на устойчивость их промывают в воде и подсушивают в условиях лаборатории. От нижней части каждого корнеплода отрезают кусок длиной 4 см. В чашки Петри кладут 3 диска фильтровальной бумаги, а на них помещают 3...4 тонкие деревянные палочки. Подготовленные таким образом чашки стерилизуют при температуре 130 °С в течение 2 ч. После стерилизации в чашки наливают по 3 мл стерильной воды, куски корнеплодов разрезают вдоль и укладывают в чашки на деревянные палочки. Инокуляцию проводят выращенным мицелием возбудителя с помощью стерильной препаровальной иглы. На каждый кусок корнеплода инокулюм наносят в четырех местах. После этого чашки Петри инкубируют в термостате при температуре 24 °С. Оценку на пораженность проводят трижды с интервалом 3 сут.

К лабораторным методам оценки прибегают в процессе селекции плодовых культур. Здесь наибольшее значение придают оценке молодых растений, так как заражение взрослых — трудоемкая процедура, результаты которой приходится ожидать довольно долго. Обычно оценке подвергают сеянцы или саженцы в возрасте 1...2 лет в расположенных в теплицах специальных камерах, в которых можно поддерживать заданные параметры окружающей среды.

Итак, лабораторные методы оценки устойчивости менее трудоемки по сравнению с полевой оценкой на искусственном инфекционном фоне и позволяют проанализировать большой по объему селекционный материал. Их можно применять в течение всего года и довольно часто еще до посева или посадки культуры в полевых условиях. Они позволяют значительно сократить число растений, подлежащих оценке на устойчивость. Поэтому при планировании селекционной программы на устойчивость растений к болезням эти методы должны занять свое место и постоянно совершенствоваться, чтобы приблизиться по достоверности результатов к получаемым в полевых условиях.

8.3. КОСВЕННЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ

В рассмотренных ранее как полевых, так и лабораторных методах оценки устойчивости о ней судили после взаимодействия растения или отдельных его органов и частей с патогеном. Другими словами, все методы предусматривают прямой контакт двух партнеров патологического процесса, причем для одного из них — патогена — непременно должны быть созданы оптимальные условия, то есть необходим инфекционный фон.

При использовании косвенных методов оценки устойчивости нет необходимости проводить сравнительное испытание на инфекционном фоне. Исследователь отбирает нужные ему растения не путем непосредственной оценки поражаемости болезнью, а на основе выявления отдельных особенностей и показателей анатомо-морфологического, физиологического или биохимического характера, которые коррелируют с устойчивостью к болезни, поэтому контакт растения с патогеном не предусмотрен. Косвенные методы, безусловно, предназначены для предварительной оценки исходного материала и материала, получаемого на начальных этапах селекционного процесса. Кроме того, они позволяют дать предварительную оценку устойчивости, когда исследователь испытывает затруднения с сохранением, накоплением или наработкой инфекционного материала, а иногда и в случаях его отсутствия.

Существует много методов косвенной оценки, которые непрерывно совершенствуются по мере поступления новых сведений о биологии растений и их патогенов. Набор таких методов также непрерывно расширяется. Далее будут схематично рассмотрены некоторые наиболее доступные косвенные методы оценки растений на устойчивость к инфекционным болезням. Такое изложение предусматривает модификации, обусловленные спецификой поставленных исследователем задач.

Использование токсинов и экстрактов фитопатогенных грибов и бактерий. Об устойчивости в этом случае судят по реакции растений на введение культуральной жидкости или токсинов в их ткани путем нанесения на поверхность либо помещения срезанных растений или их частей в растворы, содержащие продукты метаболизма фитопатогенного гриба или бактерии.

В ВИР разработан метод оценки бобовых трав к фузариозному увяданию, основанный на использовании токсинов гриба, выделяемых им при культивировании на жидкой среде Чапека. Возбудителя фузариозного увядания культивируют на этой среде в течение 20 дней при температуре 20...23 °С. Используют культуральную жидкость, разведенную стерильной водой в 2, 3 и 5 раз. Растения клевера, люцерны и других бобовых трав выращивают в теплицах в течение 1,5...2 мес, затем корни их отмывают и помещают в стеклянные стаканы с культуральной жидкостью. Для кон-

троля используют стерильную воду. Через 4...7 сут судят о степени устойчивости, учитывая время и степень проявления симптомов увядания и концентрацию культуральной жидкости. Восприимчивые формы поникают на 3...4-е сутки, у более устойчивых завядают только верхушечная часть.

Использование выжато́го из растений сока или экстракта из тканей растения. Питательную среду для получения культурального фильтрата многих патогенных грибов готовят следующим образом: 100 г натертых клубней картофеля отваривают в 1 л воды, затем в отвар добавляют 0,6 % нитрата натрия, 0,15 % фосфорнокислого калия и 0,05 % сернокислого магния. Среду автоклавируют 30...45 мин при давлении 0,5 атм. Для опытов по оценке устойчивости гриб выращивают на этой среде в течение 2 мес. Процеженную культуральную жидкость стерилизуют в течение 1 ч текучим паром и после остывания помещают в нее растения или их части.

Об устойчивости растений можно судить и по реакции самого патогена на соки или водный экстракт из их тканей. Например, при изучении устойчивости плодовых культур к факультативным паразитам патогенов выращивают на агаризованных средах, приготовленных из водных вытяжек тканей растения-хозяина. Заливают 1 л воды 200 г мелко нарезанных тканей и настаивают в воде температурой 80 °С в течение суток. К полученному и профильтрованному настою добавляют 2,5 % агар-агара и стерилизуют смесь 2,5 ч текучим паром. В чашки Петри с таким агаром вносят чистую культуру гриба и ведут наблюдение за ростом и развитием патогена, учитывая такие показатели, как энергия роста колоний, пигментация среды, характер воздушного мицелия гриба, время начала проявления спороношения и другие показатели, характеризующие уровень агрессивности. По состоянию колоний и скорости их роста судят об устойчивости или восприимчивости растений, из которых готовили настои.

Использование показателей физиологической реактивности растений. Такие показатели растений могут служить дополнительными критериями для оценки устойчивости к факультативным паразитам при отборе и селекции сортов. Так, устойчивость пшеницы к возбудителям корневой гнили неспецифична: она связана с общей устойчивостью растений к неблагоприятным условиям внешней среды. У мягкой пшеницы холодостойкость обычно сопровождается засухоустойчивостью и меньшей поражаемостью гельминтоспориозом, а у твердой пшеницы засухоустойчивость, наоборот, сопровождается сильным поражением этой болезнью. В то же время холодостойкость обусловлена более высокой концентрацией **Сахаров** в клеточном соке. При меньшей их концентрации метаболиты возбудителя обладают большей токсичностью для растений. Таким образом, по холодостойкости и концентрации **Сахаров** можно отбирать формы мягкой пшеницы на устойчивость к корневой гнили.

Об общей жизнеспособности растений можно судить по результатам выдерживания семян в воде температурой 45 °С в течение 4 ч или при 48 °С в течение 3 ч. Как показывают результаты сравнительных испытаний, семена, сохраняющие жизнеспособность после такой обработки, обычно происходят от растений, устойчивых к ряду факультативных паразитов.

Косвенным показателем устойчивости свеклы к корнееду могут служить высокая энергия прорастания семян и их способность прорасти в солевых растворах повышенной концентрации.

Устойчивость корнеплодов свеклы к кагатной гнили оценивают по потере ими массы при проявлении. У сортов с сильно поражаемыми корнеплодами такие потери более значительны. В лабораторных условиях корнеплоды высокоустойчивых сортов теряли за 6 дней проявления 30 % массы, среднепоражаемых — 40, а сильнопоражаемых — 53 %.

9. МЕТОДЫ УЧЕТА РЕЗУЛЬТАТОВ ЗАРАЖЕНИЯ

Оценку устойчивости завершают учетом результатов заражения растений, о котором судят по следующим трем показателям: а) внешним признакам проявления реакции растения на заражение патогеном; б) интенсивности проявления; в) потерям урожая от болезни.

Типы реакции на заражение. Это качественный показатель, характеризующий реакцию растительной ткани на внедрение в нее патогена и дальнейшее его развитие. Обычно отмечают два типа реакции: наличие симптомов нормального патологического процесса, присущих конкретному заболеванию культуры; отсутствие таких симптомов. Но существуют болезни, симптомы которых проявляются не двумя альтернативными признаками, а более разнообразно. Это наглядно демонстрируют разработанные исследователями шкалы иммунности по отношению к ряду заболеваний. Так, Стэкмен и Левин для установления типов устойчивости пшеницы к стеблевой ржавчине предложили следующую шкалу (табл. 16). Наглядно каждый тип иммунности этой шкалы представлен рисунком (см. рис. 18).

16. Шкала Стэкмена и Левина для оценки типа иммунности

Тип реакции на заражение	Характеристика типа поражения
0	Нет пустул
0	Нет пустул, но есть мелкие пятна отмершей ткани
1	Очень мелкие пустулы, окаймленные мертвой тканью
2	Пустулы средних и мелких размеров, расположенные в хлорозных или отмерших островках ткани
3	Пустулы средней величины в хлорозных пятнах, отмерших участков нет
4	Крупные пустулы, хлорозных пятен и отмершей ткани около пустул нет
X	Пустулы разных размеров и другие показатели типов 1...4

Аналогичная шкала для оценки иммунности пшеницы к бурой листовой ржавчине была предложена Т. Д. Страховым, только число градаций в его шкале не 7, а 5. Аналогичные группировки на типы реакции имеются в отношении многих заболеваний, вызываемых чаще облигатными паразитами (мучнистая роса, милдью винограда, рак картофеля, кила капусты и др.).

9.1. ИНТЕНСИВНОСТЬ ПОРАЖЕНИЯ

Это количественные показатели, которые характеризуют степень восприимчивости сортов и гибридов, о которой судят по числу пораженных растений или их органов, а также по интенсивности проявления заболевания у каждого учтенного растения.

Болезни, поражающие все растение или значительную его часть (черная ножка картофеля, головневые болезни злаковых, кила капусты, трахеомикозы и др.), оценивают по числу пораженных растений без определения интенсивности развития заболевания. При этих болезнях поражение растений носит системный характер.

Для учета устойчивости к локальным заболеваниям, при которых каждое пятно, язва, пустула, загнивающая область и т. п. возникают в результате индивидуального заражения, применяют шкалы или эталоны. Поражаемость обычно оценивают по 5-балльной шкале, причем каждому баллу соответствует определенная степень развития данных болезней. Эталоны, характеризующие интенсивность поражения, составляют в виде гербарных образцов или рисунков, отражающих различную степень поражения. Учет поражаемости при помощи эталонов часто проводят на основе установления интенсивности поражения не всего растения, а отдельных его органов или их части. У растений много листьев, и анализ всех требует больших затрат времени и труда. Поэтому ограничиваются анализом среднего образца, а в методике учета обязательно указывают, какие листья подлежат учету. Например, при оценке устойчивости пшеницы к бурой листовой ржавчине учет интенсивности поражения проводят в фазе молочной спелости, а для среднего образца отбирают 1-й и 2-й лист каждого учтенного стебля.

Рассмотрим несколько примеров оценки интенсивности поражения зерновых культур рядом болезней, при которых используют балльную или эталонную шкалу поражения.

Зерновые на устойчивость к корневым гнилям оценивают по 5-балльной шкале. В таблице 17 приведены признаки поражения зерновых четырьмя видами корневых гнилей, соответствующие каждому баллу шкалы.

17. Шкала интенсивности поражения зерновых корневыми гнилями (Савини и др., 2002)

Балл	Вид гнили			
	фузариоз	гельминтоспориоз	церкоспореллез	офиоблез
0	Признаки поражения отсутствуют			
1	На первичных и вторичных корнях видны отдельные участки бурого цвета	На основании стебля или его подземной части видны бурые штрихи или узкие полосы	На основании стебля или первом междоузлии видны отдельные белеватые или светло-коричневые пятна	На основании стебля и корнях видны темные единичные штрихи

Балл	Вид гнили			
	фузариоз	гельминтоспориоз	церкоспореллез	офиоблез
2	Основание стебля белесое или слегка бурое, отдельные корни или значительные участки их бурые	На основании стебля и его подземной части видны коричневые полосы, охватывающие более половины поверхности пораженного органа	Темные желтовато-коричневые пятна с ярко выраженной темной каймой охватывают до половины стебля	Основание стебля буроватое с многочисленными черными полосами или пятнами, корни частично отмерли
3	Основание стебля темное с перехватом, большая часть корней отмерла	Сплошное побурение первого стеблевого и подземного междоузлий	Пятна кольцевывают стебель, в середине пятна ткань частично разрушена, стебель переламывается	Основание стебля бурое, покрыто улитым налетом, корни наполовину отмерли
4	Отсутствие продуктивных стеблей при наличии симптомов, соответствующих баллу 3			

На рисунке 44 дана шкала оценки степени поражения растений разными видами грибов, вызывающих корневые гнили, а на рисунках 45...47 — шкалы для оценки степени поражения злаковых зерновых мучнистой росой, ржавчиной и септориозом.

Учет поражения растений болезнями осуществляют визуально и обрабатывают статистически. При визуальном учете исследователь осматривает оцениваемые растения и сразу проставляет про-

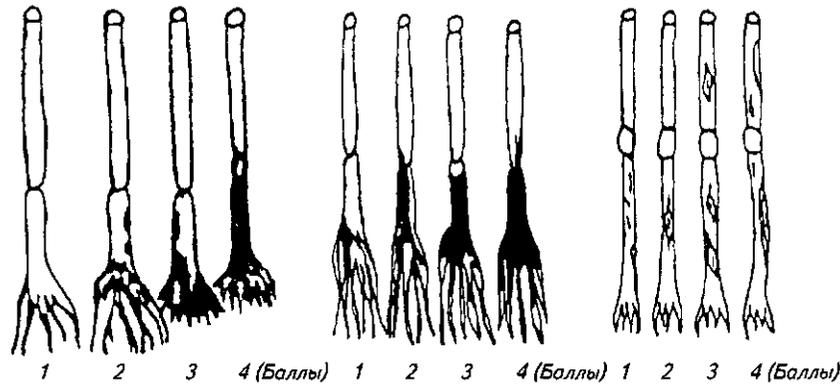


Рис. 44. Типы проявления и шкалы оценки степени поражения растений разными видами грибов, вызывающих корневые гнили

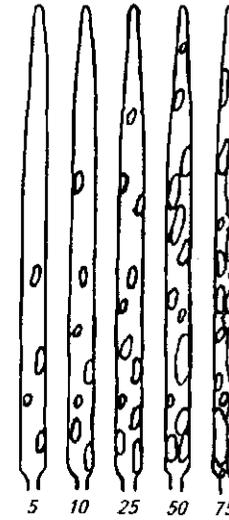


Рис. 45. Шкала оценки степени поражения листьев и листовых влагалищ злаков мучнистой росой, %

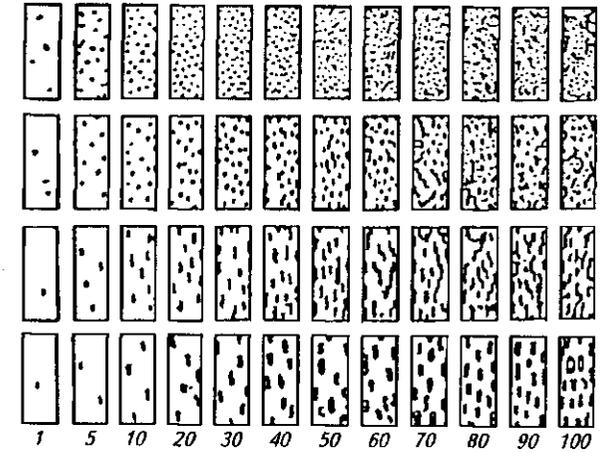


Рис. 46. Шкала для оценки степени поражения посевов зерновых бурой, стеблевой, корончатой и карликовой ржавчиной (Петерсон и др.), %

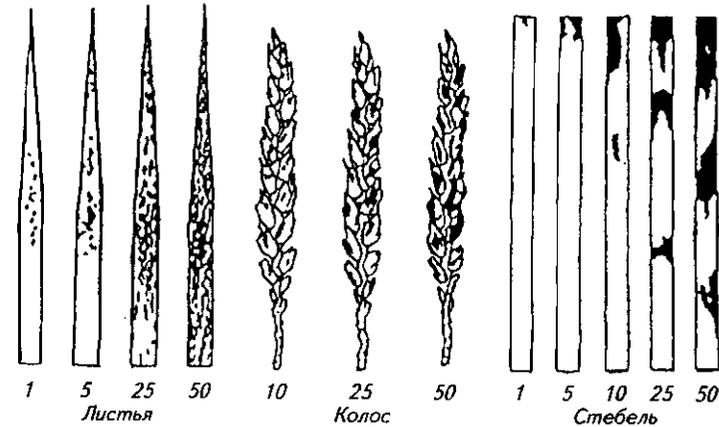


Рис. 47. Шкалы для оценки поражения зерновых культур септориозом, %

цент поражения или балл (R). При статистическом учете оценивают по баллам каждое учтенное растение или его орган, а затем по формуле

$$R = 100 (ab)/Nk,$$

где a — число больных растений (органов); A — соответствующий балл их поражения; N — общее число учтенных растений (больных и здоровых); k — высший балл в шкале учета.

9.2. ВЬНОСЛИВОСТЬ

Существенным показателем устойчивости сортов может быть и урожайность оцениваемых растений в условиях развития на них болезни. Поэтому выносливость считают важным показателем устойчивости растений. Для выявления его необходимо подсчитать урожайность изучаемого сорта на искусственном инфекционном фоне и без него при прочих одинаковых условиях окружающей среды. Часто выносливость приходится учитывать в отсутствие на растениях четких симптомов заболевания, которое впоследствии сказывается на его урожайности, например шуплость зерновок и отсутствие их в некоторых колосках при головневых заболеваниях, корневых гнилях, частичное увядание или усыхание ветвей и т. п.

9.3. МЕТОДЫ УЧЕТА УСТОЙЧИВОСТИ К ВИРУСНЫМ И БАКТЕРИАЛЬНЫМ БОЛЕЗНЯМ

При оценке устойчивости растений к вирусным и бактериальным болезням часто приходится прибегать не только к визуальному, но и к более тонким и сложным методам оценки поражаемости. Это связано с особенностями патологического процесса при вирозах и бактериозах: визуально наблюдаемые симптомы появляются далеко не на начальных этапах процесса заражения.

Однако визуальную оценку необходимо проводить только при наличии четко проявляющихся симптомов, присущих определенному заболеванию. Кроме того, исследователь должен предвидеть их возможные изменения под влиянием меняющихся условий внешней среды. Следует также отметить, что визуально наблюдаемые симптомы некоторых вирусных заболеваний очень сходны с признаками неинфекционных болезней, связанных с нарушениями минерального питания растений. Все это вынуждает прибегать к другим методам диагностики заболевания, которые детально описаны в курсах «Общая фитопатология», «Вирусология» и «Микробиология», а здесь мы ограничимся лишь перечислением их.

Метод вирусных включений основан на способности ряда вирусов образовывать в растительных тканях кристаллы, которые можно наблюдать с помощью светового микроскопа.

Метод электронной микроскопии позволяет увидеть в зараженном растении вирусные частицы и по их форме и размерам диагностировать наличие конкретного вирусного заболевания.

Метод индикаторных растений основан на свойстве некоторых растений реагировать на заражение определенными вирусами комплексом патологических процессов, приводящих к появлению строго специфичных некротических пятен.

Метод питательных сред используют для идентификации именно тех видов бактерий, которые вызвали заражение. На стерильные агаризованные среды высевают бактерии, выделенные из пораженных растительных тканей и после появления колоний фиксируют многочисленные признаки, присущие конкретному бактериальному патогену (характер роста колоний, их цвет, консистенцию, биохимические особенности и др.).

Серологический метод — наиболее точный и быстрый способ определения вирусных и бактериальных болезней, протекающих в скрытой форме. Он основан на антигенных свойствах возбудителей болезней: при введении в кровь животного белков вирусов или чистых культур бактерий в ней появляются (как ответная реакция) специфичные антитела.

Серологический метод имеет несколько модификаций:

- капельный метод;
- метод двойной диффузии в агаровом геле;
- иммуноферментный анализ (ИФА).

10. СЕЛЕКЦИОННАЯ ЗАЩИТА ОТ БОЛЕЗНЕЙ И ВРЕДИТЕЛЕЙ

В растениеводстве (в широком смысле, включая возделывание полевых, овощных, плодово-ягодных, декоративных, лесных культур) используют сортимент сортов и гибридов, которые обладают различной устойчивостью к болезням и вредителям, а также к растениям-паразитам, поэтому приходится прибегать к различным способам защиты недостаточно устойчивых сортов (и гибридов; каждый раз будем иметь в виду это добавление, если только не потребуются рассматривать упомянутые категории отдельно). Но наиболее радикальный способ защиты — изменение самого сортимента: выведение устойчивых сортов и гибридов. Последнее связано с генетикой иммунитета (устойчивости).

Не следует думать, что выведение новых устойчивых сортов всегда наилучший путь решения проблемы. Выбор пути зависит от возможности достижения устойчивости селекционным путем, соображений экономики и экологической безопасности. Случай, когда селекция неэффективна, достаточно многочисленны: трудно представить себе сорт, устойчивый к саранче или повреждению птицами. Но это явные случаи. Есть немало и неявных, когда попытки выведения устойчивых сортов не приносят успеха вследствие высокой вирулентности патогена или других причин, хотя в будущем, возможно, такой успех будет достигнут. Примером может служить выведение сортов томата, устойчивых к фитофторозу, огурца, достаточно устойчивых к ложной мучнистой росе и т. д. Агротехническая защита может оказаться экономически более оправданной, чем селекционная. Так, в Западной Европе селекционеры длительное время не вели селекцию на устойчивость злаков к головневым заболеваниям, поскольку протравливание семян, очевидно, обходилось дешевле, чем селекция на устойчивость, при которой пришлось бы ко многим хозяйственно полезным свойствам добавить еще и устойчивость к головне, что осложнило бы селекционный процесс. Однако селекция на устойчивость к головневым заболеваниям ведется в настоящее время и в странах Западной Европы. По-видимому, это связано с соображениями экологической безопасности. Можно утверждать, что главным фактором, определяющим выбор способа защиты от вредных организмов, является степень сложности селекции на устойчивость или вообще бесперспективность селекционного пути. Наконец, в ряде случаев выгодным оказывается сочетание разных спо-

собов защиты: определенная степень наследственной устойчивости может усиливаться мерами агротехнического характера. Например, относительную устойчивость ранних сортов подсолнечника к гнилям корзинки дополняют севооборотом, в котором культура возвращается на прежнее поле не ранее чем через 8... 10 лет.

Следует отметить, что использование устойчивых сортов позволяет не только сохранить урожай, но и избежать ухудшения качества продукции, связанного с поражением болезнями и повреждением вредителями. Известно, например, что поражение пшеницы пыльной головней, подсолнечника гнилями корзинки сильно снижает качественные показатели продукции, а в некоторых случаях она становится и вовсе не пригодной для пищевых целей. Повреждение пшеничного зерна клопом-черепашкой, как это отмечалось ранее, резко снижает его хлебопекарные качества. Разные сорта неодинаково реагируют на поражение болезнями и повреждение вредителями в смысле ухудшения качества продукции. Так в НИИСХ Юго-Востока наблюдали сильное снижение качества клейковины у сортов твердой пшеницы Саратовская 57 и Светлана и заметно меньшее у сортов Харьковская 46 и Безенчукская 139 по мере увеличения нагрузки клопом-черепашкой.

Селекционная защита от болезней и вредителей — введение в сельскохозяйственное производство устойчивых сортов. Но это очевидное положение нуждается в расшифровке. В противном случае не было бы необходимости посвящать этому отдельную главу. Дело в том, что устойчивые сорта могут принципиально различаться по генетическим механизмам устойчивости, по биотипическому составу, а также по возможности создавать на их основе определенные системы, обеспечивающие эффективную защиту посевов и посадок в целом регионе.

Способ селекционной защиты зависит от природы возбудителя болезни или вредителя, генетики устойчивости, особенностей селекционной технологии. Причем все эти факторы взаимосвязаны. Поэтому невозможно говорить о видах селекционной защиты, не касаясь в известной мере технологий селекции.

10.1. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕРТИКАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Как отмечалось ранее, вертикальная устойчивость отличается расоспецифичностью, контролируется олигогенно (часто моногенно), характеризуется высоким уровнем, но недолговечна. Появление новых комбинированных рас патогена ликвидирует ее. Она действует против облигатных паразитов и факультативных сапротрофов и часто проявляется в виде сверхчувствительности. Подобная же устойчивость существует против некоторых насеко-

мых, отличающихся внекишечным пищеварением (тля, гессенская муха) и гельминтов. Существует тонкое соответствие ферментной системы паразита и хозяина, что и обуславливает расспецифичность. Перечисленные особенности вертикальной устойчивости определяют способы селекционной защиты с ее помощью. Самые важные из этих особенностей — простота генетического контроля и недолговечность такой защиты, обусловленная эволюцией паразита.

Большие (или главные) гены вертикальной устойчивости (с ними связано моно- или олигогенное наследование) защищают многие сорта пшеницы, ячменя, овса, проса, риса, картофеля, томата, яблони и других культур от ржавчинных, мучнисторосяных, головневых грибов и других патогенов, а также от некоторых вредителей (в последнем случае сам термин «вертикальная устойчивость» не применяют). Селекция таких сортов относительно проста. Это могут быть обычные парные скрещивания, в которых один из родителей или оба они являются донорами генов устойчивости, с последующим отбором. Разумеется, должны быть представлены и другие хозяйственно ценные свойства. Другой очень эффективный способ заключается во введении гена устойчивости от донора в геном существующего ценного сорта, не обладающего, однако, устойчивостью к тому или иному заболеванию, путем насыщающих скрещиваний. Эти скрещивания представляют собой ряд возвратных (повторных) скрещиваний с улучшаемым сортом, которые имеют целью вытеснить хромосомный материал донора, обычно обуславливающий менее ценные, чем у улучшаемого сорта, а то и вовсе отрицательные хозяйственные признаки (это особенно относится к случаю, когда в качестве донора используют дикий вид, что практикуется довольно часто), за исключением гена устойчивости. Присутствие его в гибриде контролируют путем посева последнего на инфекционном фоне: ген содержит устойчивые растения.

Понятно, что осуществить насыщающие скрещивания у двулетних, а тем более многолетних культур очень сложно: это потребует слишком много времени. Поэтому в селекции таких культур к этому методу не прибегают. Однако известен пример, когда насыщающие скрещивания были применены в селекции яблони. Американские селекционеры ввели таким образом ген устойчивости к парше от дикого вида (*Malus floribunda*) в культурную яблоню (*Malus domestica*). Правда, сделано было всего четыре беккросса.

Как отмечалось ранее, сорта с генами вертикальной устойчивости постепенно утрачивают ее в силу появления новых комбинаторных данному гену устойчивости рас. Но срок, в течение которого происходит утрата устойчивости, различен. Он зависит от генотипа растения-хозяина, вида болезни или вредителя, климата региона. Ген может длительно защищать сорт в комбинации с определенными другими генами устойчивости как большими, так и

полигенами. Подробно об этом будет сказано далее. Гены устойчивости к таким болезням, как ржавчинные и мучнисторосяные, преодолеваются быстрее, чем к головневым. Причина заключается в том, что бурая ржавчина, например, в средней полосе России дает в течение сезона несколько поколений, а пыльная или твердая головня только одно. Поскольку у головневых коэффициент размножения в течение сезона меньше, чем у ржавчинных, то и возможности возникновения новых вирулентных вариантов также меньше. Если в Центральном регионе России сорт, защищенный геном устойчивости к бурой ржавчине, сохраняет устойчивость в течение 5...7 лет, то ген устойчивости к пыльной головне защищает сорт 15...20 лет. Эффективность генов устойчивости к насекомым-вредителям сохраняется дольше, чем генов устойчивости к болезням, опять-таки по причине меньшего коэффициента размножения у первых. Сказанному противоречит долголетие устойчивости, обусловленной генами устойчивости к вирусам, характеризующимися гигантским коэффициентом размножения. Причина заключается, очевидно, в примитивности наследственного аппарата вируса, сужающей возможности появления новых вариантов. В условиях жаркого тропического климата, интенсифицирующего процесс патогенеза и не имеющего зимней паузы, прерывающей активность патогена, устойчивость сортов, защищенных большими генами устойчивости, сохраняется очень короткое время. Например, в Кении сорта пшеницы сохраняют вертикальную устойчивость к стеблевой ржавчине только в течение 3...4 лет.

Стремление продлить действие вертикальной устойчивости вызвало к жизни некоторые специальные виды сортов: конвергентные, многолинейные, сочетающие вертикальную и горизонтальную устойчивость.

Конвергентные сорта. Так называют сорта, защищенные более чем одним большим геном устойчивости. Термин берет начало от системы скрещивания, позволяющей включить в геном сорта два и более генов устойчивости, — конвергентного скрещивания. Впрочем, объединить в генотипе сорта два и более гена устойчивости можно и в обычных парных скрещиваниях. Так что другое название подобных сортов — полигенные сорта, возможно, лучше отражает суть дела. Описываемые сорта созданы у пшеницы для придания ей устойчивости к стеблевой ржавчине. Например, канадские сорта мягкой яровой пшеницы имеют несколько генов устойчивости к этому заболеванию. У сорта Маркиз их пять: *Sr7b*, *Sr18*, *Sr19*, *Sr20*, *SrX*, у сорта Селкирк — шесть: *Sr2*, *Sr6*, *Sr7b*, *Sr9d*, *Sr17*, *Sr23*. Этот способ защиты был также использован при создании устойчивых к ржавчине сортов льна и других культур.

Конвергентные (сходящиеся) скрещивания начинаются с двух или более насыщающих скрещиваний, которые ведут одновременно. В них участвует один и тот же сорт, в который планируют

ввести два или более генов устойчивости. В каждом таком скрещивании используют свой донор и свойственный ему ген устойчивости. Число таких генов, вводимых в конвергентный сорт, и определяет число отдельных насыщающих скрещиваний. После их осуществления получают формы, практически идентичные улучшаемому сорту, но содержащие разные гены устойчивости. Теперь остается объединить их в одном сорте, что осуществляется скрещиванием полученных форм с последующим отбором. При этом возникает специфическая трудность: как отличить растения, содержащие тот или иной ген устойчивости, от растений, имеющих комбинацию таких генов. Этого удается достичь различными методами.

При создании конвергентных сортов важную роль играет конкретная комбинация генов. При этом отдельные гены могут иметь доминирующее значение в создании долговременной устойчивости. Так, в CIMMIT (Международный центр по улучшению пшеницы и кукурузы в Мексике) свыше 25 лет широко используют комбинацию различных генов устойчивости к стеблевой ржавчине пшеницы с геном *Sr2* и различных генов устойчивости к бурой ржавчине с геном *Lr13*. Оказалось, что эти комбинации обеспечивают длительную устойчивость. Примером может служить сорт Торим 73, у которого ген *Lr13* в комбинации с другими генами устойчивости к бурой ржавчине длительное время обеспечивает устойчивость к этой болезни.

Возможно, длительная защита с помощью сочетания определенных генов вертикальной устойчивости связана с постоянством комбинации определенных рас таких патогенов, как возбудители стеблевой и бурой ржавчины пшеницы, мучнистой росы, и их генов вирулентности. Это явление обнаружено М. Вольфом (Wolf, 1973). Если какие-то гены вирулентности ассоциированы в группы, то принадлежащие к разным группам не встречаются или редко обнаруживаются в одной и той же популяции. Очевидно, что объединение в одном сорте генов устойчивости комплементарных расам, принадлежащим разным группам, должно обеспечивать длительную устойчивость.

В конвергентные сорта стремятся включить гены устойчивости, отсутствующие в широко распространенных сортах. Это осложняет эволюцию патогена, в результате которой могут возникнуть расы, преодолевающие устойчивость сорта. Но даже если в генотипе сорта присутствует ген, не обеспечивающий сам по себе устойчивость (в популяции имеются комплементарные ему расы), сорт не будет поражаться. Чтобы уничтожить его устойчивость, нужна сложная раса, обладающая генами вирулентности, комплементарными всем генам устойчивости конвергентного сорта. Такие расы, как свидетельствует опыт возделывания конвергентных сортов, в конечном счете возникают. Но для этого требуется длительное время. Таким образом, конвергентные сорта обеспечива-

ют более надежную защиту посевов, чем сорта с одним геном устойчивости.

Но у конвергентных сортов есть существенный недостаток. Селекция таких сортов очень длительна (это если речь идет об однолетних культурах, а для дву- и многолетних культур она вообще находится за пределами разумного срока). Создание конвергентного сорта длится около 14 лет, в то время как выведение обычного сорта осуществляется в течение 8...10 лет. Нужно оговориться, что речь идет о конвергентных скрещиваниях. При простых скрещиваниях получение конвергентного (полигенного) сорта может быть осуществлено в те же сроки, что и создание обычных сортов, и, вообще, селекционная технология тех и других ничем не отличается, за одним очень важным исключением: отбор элитных растений, объединяющих два гена устойчивости и более, в популяции невозможен. Приходится полагаться на случайность. В конвергентном же скрещивании это достигается целенаправленно. Из-за длительности процесса селекция конвергентного сорта становится «консервативной». Она отстает по времени от обычной селекции, и вновь созданный конвергентный сорт может сильно уступать по хозяйственно ценным свойствам сортам, появившимся одновременно с ним, в силу того, что селекция их была начата позже и использовала более совершенный исходный материал. Такого материала, например вновь выведенных сортов, в начале селекции конвергентного сорта еще не было.

Из-за сложности селекции конвергентные сорта целесообразно использовать только в регионах, где эпифитотии наблюдаются часто и сельское хозяйство несет от них большие убытки.

Многолинейные, или мультилинейные, сорта. Идея создания таких сортов принадлежит П. Йенсену (Jensen, 1952). Ее модифицировал известный селекционер, инициатор «зеленой революции», лауреат Нобелевской премии Н. Борлауг (Borlaug, 1958). Он предложил формировать такие сорта из смеси одинаковых (изогенных) линий, отличающихся разными генами вертикальной устойчивости. Выведение многолинейного сорта на первом этапе ничем не отличается от создания конвергентного сорта, то есть проводят серию насыщающих скрещиваний с использованием разных доноров устойчивости. Отличие заключается в том, что этих доноров и генов устойчивости много (по мнению Н. Борлауга их должно быть 12...20) и их не объединяют потом в одном сорте путем скрещивания, что было бы невозможно вследствие многочисленности этих генов, а составляют сорт путем смешивания полученных линий.

Таким образом, в отличие от конвергентных сортов, у которых гены устойчивости собраны в одном генотипе, многолинейный сорт представляет собой собрание линий, отличающихся генами устойчивости. Это обуславливает некоторые его качественные отличия и преимущества. Даже если в популяции рас присутствуют

способные поразить часть линий, составляющих многолинейный сорт, эпифитотия не возникает. Во-первых, будет поражена только часть растений. Снижение их продуктивности будет в известной мере компенсировано увеличением продуктивности здоровых растений вследствие всегда существующей в посевах культур сплошного посева (злаки, крупяные и др.) конкуренции за свет и почвенное питание. Во-вторых, значительная часть инокулюма этих рас не сможет вызвать заражения, так как споры попадут на невосприимчивые растения. Считается, что многолинейный сорт защищен от болезни, если в нем устойчивы хотя бы 40 % растений.

Известный фитопатолог Вандерпланк (Yan Der Plank, 1972) считает, что на многолинейном сорте не может возникнуть в опасном количестве сложная раса, способная преодолеть все гены устойчивости, защищающие сорт, или значительную их часть. Он исходит при этом из развитой им концепции избыточной вирулентности. Суть ее заключается в следующем. В популяции рас происходит конкуренция. При этом из популяции вытесняются расы, обладающие «безработными» генами вирулентности, то есть генами, для которых в возделываемых сортах отсутствуют комплементарные им гены устойчивости. «Сильным» геном устойчивости, по Вандерпланку, считается такой, в отсутствие которого комплементарная ему раса вытесняется из популяции очень быстро. Вытеснение из популяции рас, обладающих избыточной вирулентностью, можно себе представить как ослабление их конкурентоспособности по причине затраты каких-то необходимых для жизнедеятельности патогена ресурсов на поддержание ненужной вирулентности.

Тот факт, что на многолинейном сорте не может накопиться сложная раса, преодолевающая его устойчивость, можно продемонстрировать на модельном примере. Допустим, сорт состоит из пяти линий, каждая из которых имеет свой ген устойчивости: *A*, *B*, *C*, *D*, *E*. Комплементарные им гены вирулентности и соответствующие им расы обозначим *a*, *b*, *c*, *d*, *e*. Если в популяции содержатся расы *a*, *b*, *f*, *g*, *h*, то поражаются только растения с генотипом по генам устойчивости *A* (расой *a*) и *B* (расой *b*). Расы *f*, *g*, *h* не могут поразить ни одну из линий. Споры расы *a* также не вызывают заражения растений, обладающих генами *B*, *C*, *D* и *E*, а споры расы *b* — генами *A*, *C*, *D* и *E*. В результате 4/5 спор этих рас, попавших на растения, пропадает.

Возникновение сложной расы *ab* меняет ситуацию. Ее споры могут одновременно вызвать заболевание на растениях линий *A* и *B*. Эта раса не поражает теперь только три линии — с генами *C*, *D* и *E*: из спор расы *ab*, попавших на растения, пропадет только 3/5. Таким образом, сложные расы, способные поражать более чем одну линию многолинейного сорта, представляют для него большую опасность. Однако такие расы не могут накопиться на много-

линейном сорте. Этому препятствует их избыточная вирулентность по отношению к любой линии, составляющей многолинейный сорт. Если какая-либо линия в многолинейном сорте начинает сильно поражаться, ее можно заменить («отремонтировать» сорт).

Селекционеры создали ряд многолинейных сортов пшеницы, овса, ячменя. В Индии это сделано на основе известных сортов пшеницы Кальян Сона и PV18. В Англии получен первый многолинейный сорт ячменя Марис Трикорн. Многолинейные сорта созданы в Мексике, США, Колумбии, Нидерландах. При этом не всегда соблюдали описанные выше условия создания многолинейного сорта. Так, румынский многолинейный сорт озимой пшеницы Фламура 85 составлен только из пяти линий, полученных неполным беккроссированием на основе различных источников устойчивости к мучнистой росе.

Селекция многолинейных сортов более продолжительна, чем обычных, но менее, чем конвергентных, поскольку не требуются заключительные скрещивания и отборы, имеющие целью объединить гены устойчивости в одном генотипе. Если селекция хорошо организована и есть возможность получать до трех поколений селективируемой культуры в год (использование защищенного грунта), то многолинейный сорт можно создать за такое же время, что и обычный. В Университете штата Айова (США) примерно за 25 лет дважды заменяли многолинейные сорта овса, то есть каждый сорт существовал около 8 лет, что сравнимо с длительностью жизни обычных сортов. При этом на создание линий нового сорта было затрачено всего 3 года. При таком темпе любой выдающийся сорт можно быстро превратить в многолинейный.

Многолинейные сорта имеют тот существенный недостаток, что они неоднородны (популятивны). Это происходит потому, что путем насыщающих скрещиваний, по существу, вводится не только ген устойчивости, но и сцепленные с ним на хромосоме другие гены, в том числе и контролирующие хозяйственно ценные свойства. В частности, созданный в Колумбии первый многолинейный сорт пшеницы Мирамар 63, устойчивый к желтой ржавчине, не получил распространения из-за сильного варьирования размеров зерна. Н. Борлаугом установлена та же причина снижения хлебопекарных качеств зерна у многолинейного сорта. Эффективными могут быть многолинейные сорта культур, у которых степень однородности не так существенна, как у пшеницы. Не случайно в США получили распространение многолинейные сорта овса, устойчивые к корончатой ржавчине. Семеноводство многолинейных сортов сложнее, чем обычных. При сортообновлении (возобновлении сорта) приходится выращивать каждую линию отдельно, контролировать ее однородность и только потом объединять линии. По сравнению с чистолинейными сортами, у которых сортовые качества ухудшаются вследствие механического засорения,

возникновения мутаций и неконтролируемого переопыления, у многолинейных сортов к этому добавляется изменение соотношения линий в ходе эксплуатации такого сорта. В силу указанных ранее причин линии, составляющие сорт, могут отличаться различной адаптивностью к условиям, в которых он возделывается, а также различной конкурентоспособностью.

Сравнивая конвергентные и многолинейные сорта как основанные на одном принципе: собрать в одном сорте более одного или много генов вертикальной устойчивости, можно сказать следующее. В конвергентном сорте невозможно собрать большое число генов устойчивости из-за технологических трудностей селекции. В многолинейном сорте это можно сделать, но платой за это будет неоднородность сорта. Большое число генов устойчивости, распределенных по линиям, обеспечивают сорту устойчивость в течение всего периода его возделывания.

Вместо многолинейных можно выращивать смесь сортов, каждый из которых характеризуется своим геном устойчивости. Такие смеси сортов возделывают в некоторых странах: Англии, Дании, Нидерландах. Этот способ защиты более прост, но проблема хозяйственной однородности приобретает здесь еще большую остроту.

Один из способов защиты от болезней и вредителей — периодическое чередование сортов с разными генами устойчивости. Идея заключается в смене сорта, который стал сильно поражаться вследствие накопления комплементарных к его гену устойчивости рас патогена, новым сортом с другим геном устойчивости. После того как и этот сорт начнет сильно поражаться, можно вернуться к первому сорту: за это время популяция патогена успевает очиститься (в результате конкуренции) от комплементарной к нему расы. Идея, сформулированная таким образом, не получила реализации по ряду причин (необходимость хранить большие партии семян и др.). Но в сущности, она реализуется в ходе обычной сортомены, когда новый сорт обладает и новым геном устойчивости. Возвращаться к старому, «временно положенному на хранение» сорту нет необходимости. Другой способ предотвратить губительное действие эпифитотий — мозаика сортов, то есть посев в районе или даже в одном хозяйстве сортов с разными генами устойчивости. На пути своего распространения патоген встречает препятствие в виде невосприимчивого сорта, и поражение не приобретает характер эпифитотий. Различные сорта одной и той же культуры целесообразно иметь в хозяйстве и по другим соображениям, например, различные по вегетационному периоду сорта — с целью растянуть время уборки. Конечно, нужно иметь сорта с разными генами устойчивости, что не всегда удается, так как селекционные учреждения часто работают с узким кругом генов из-за однообразия наиболее часто используемого исходного материала. Так, в России много сортов пшеницы с геном устойчивости к бу-

рой ржавчине *Lr23*, что представляет потенциальную опасность возникновения широкомасштабной эпифитотий. Чтобы исключить такую опасность, Всероссийский НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова предложил «районировать» гены устойчивости, чтобы каждое селекционное учреждение работало со «своими» генами. Мозаика сортов реализована в США, правда, по отношению к крупным регионам. В трех крупных регионах — южном, северном и центральном — выращивают сорта овса, защищенные 10 генами устойчивости к корончатой ржавчине. При этом учтены места зимовки и широкого распространения патогена.

К защите с помощью генов вертикальной устойчивости относится и устойчивость, основанная на смене расового состава под влиянием специфических сортов растения-хозяина. В основу положена оригинальная концепция долговременного действия вертикальной устойчивости, предложенная Я. Вандерпланком, опирающаяся на его представления об «избыточной» вирулентности. Им теоретически обоснована защита с помощью генов вертикальной устойчивости в системе хозяин — патоген — хозяин на примере стеблевой ржавчины в Северной Америке. Защита построена на основе сезонной миграции патогена, связанной с тем, что возбудитель стеблевой ржавчины не зимует в Канаде и на севере США и заражение посевов яровой пшеницы происходит за счет спор, перенесенных с воздушными потоками с юга США и из Мексики. Важно также, что на Севере этого континента возделываются сорта (Селкирк и др.), защищенные геном вертикальной устойчивости *Sr6*, а на Юге — сорта озимой пшеницы, не имеющие генов вертикальной устойчивости. В популяции спор, перенесенных с Юга на Север, доля рас, способных преодолеть устойчивость, связанную с геном *Sr*, мала, поскольку их вирулентность на Юге избыточна и они интенсивно вытеснялись из популяции. На Севере доля этих рас начинает расти, так как теперь у растения-хозяина есть ген устойчивости, комплементарный их гену вирулентности. Но прежде чем она достигнет порога, за которым начинается эпифитотия, пшеница созреет или достигнет фазы, в которой патоген не способен нанести заметного ущерба урожаю. Популяция, обогащенная генами вирулентности, опять попадает с воздушными потоками на Юг и, развиваясь здесь на озимых сортах, не имеющих вертикальной устойчивости, очищается от вирулентных рас, поражающих яровую пшеницу на Севере. Поток инокулюма, который обрушится на пшеничные поля Канады и севера США на следующий год, будет опять в значительной степени свободным от рас, способных преодолеть устойчивость, связанную с геном *Sr6*. Эпифитотия не возникнет или сильно задержится. Весь цикл повторится снова.

Таким образом, пшеница на Юге в какой-то мере приносится в жертву пшенице на Севере. Однако эта жертва невелика, поскольку озимая пшеница рано созревает и уходит от сильного пораже-

ния ржавчиной, а возможно, обладает определенной горизонтальной устойчивостью. Если бы пшеницу на Севере и на Юге защитили одним и тем же геном, то устойчивость первой, как считает Я. Вандерпланк, была бы уничтожена. Во время зимовки на Юге из популяции перестали бы вытесняться вирулентные расы.

10.2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГОРИЗОНТАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

В сельскохозяйственном производстве обращается много сортов, защищенных от болезней горизонтальной устойчивостью. Многие сорта народной селекции обладают такой устойчивостью, например старый итальянский сорт пшеницы Риети, вошедший в родословную многих сортов, в том числе и знаменитого сорта отечественной селекции Безостая 1, обладает горизонтальной устойчивостью к бурой ржавчине.

Селекционеры также прибегают к этому способу защиты, поскольку устойчивость таких сортов не может быть преодолена патогеном (во всяком случае в течение длительного времени) по причине ее полигенного характера. Слишком сложная система генов вирулентности должна для этого отселектироваться в патогене в ходе его эволюции. Так, известный сорт картофеля Лорх свыше 70 лет сохраняет определенный уровень устойчивости к фитофторозу, в то время как многие сорта этой культуры, защищенные генами вертикальной устойчивости, давно сошли со сцены. Свыше десятка больших генов устойчивости, взятых от дикого вида картофеля *Solarium demissum*, были преодолены патогеном. Работать с горизонтальной устойчивостью побуждает селекционеров и ограниченный запас генов вертикальной устойчивости. Всегда есть угроза истратить его полностью. Эти соображения заставляют прибегать к горизонтальной устойчивости как к способу защиты, хотя ее уровень ниже, чем вертикальной, она подвержена значительной изменчивости под влиянием внешних условий (в том числе и инфекционной нагрузки). Так, в Англии для защиты пшеницы от желтой ржавчины используют исключительно горизонтальную устойчивость.

Работать с горизонтальной устойчивостью сложно из-за ее полигенного характера. Нелегко собрать воедино в одном генотипе много генов со слабым действием. Это приходится делать, скрещивая более или менее устойчивые образцы и отбирая в сложной популяции наиболее устойчивые элитные растения. Приходится также освободиться от генов вертикальной устойчивости с помощью специальных методов. В противном случае действие их маскирует эффект горизонтальной устойчивости (на фоне вертикальной она не прослеживается). Если впоследствии вертикальная устойчивость будет уничтожена вновь появившейся расой патогена, сорт может оказаться беззащитным, если он не приобрел никакой горизон-

тальной устойчивости в ходе его создания. Так случилось, например, с сортом картофеля Вертифолия, который стал сильно поражаться фитофторой после того, как в популяции патогена появилась раса, уничтожившая его вертикальную устойчивость. Этот случай дал название описываемому эффекту (эффект Вертифолия).

Хорошую защиту представляет комбинация вертикальной и горизонтальной устойчивости, особенно если ген, обеспечивающий первую, защищает от наиболее агрессивной расы. Примером такого сочетания служит югославский сорт озимой пшеницы Партизанка, проявляющий высокую устойчивость к бурой ржавчине. По мнению Вандерпланка, комбинация вертикальной и горизонтальной устойчивости против облигатных паразитов или близких к ним факультативных сапротрофов, дающих несколько поколений в течение сезона и распространяющихся с воздушными потоками, таких, как возбудители ржавчины и фитофтороза, особенно выгодна, поскольку вторая усиливает действие первой.

Механизм такого взаимодействия заключается в том, что задержка возникновения эпифитотии, связанная с присутствием гена вертикальной устойчивости, для преодоления которого необходимо, чтобы присутствующая в популяции патогена комплементарная раса размножилась, на фоне горизонтальной устойчивости увеличивается. Если в исходном инокулюме только незначительная часть принадлежит вирулентной для данного сорта расе, то эпифитотия возникнет на столько дней позже, сколько требуется для размножения этой расы до уровня совокупности других рас, поражающих не защищенные геном вертикальной устойчивости сорта. Если на 1000 спор, принадлежащих этим расам, приходится одна спора комплементарной расы, то речь идет о числе дней, которое требуется, чтобы инокулюм этой расы увеличился в 1000 раз. Присутствие горизонтальной устойчивости замедляет темп размножения (безотносительно к расовому составу) путем снижения числа проникающих в ткани растения-хозяина проростков спор, замедления роста грибницы в тканях растений, увеличения инкубационного периода, уменьшения спороношения. Распространение болезни замедляется. Теперь для размножения комплементарной расы до уровня некомплементарных (доли их присутствия в инокулюме) требуется значительно больше времени. За это время растения могут достичь фазы, когда болезнь либо может вообще не проявиться, либо не может нанести заметный вред. При снижении заражения растений и уменьшении количества инокулюма горизонтальная устойчивость задерживает начало эпифитотии и в следующем году.

Задержка размножения паразита уменьшает возможность возникновения расы, преодолевающей эффективный ген вертикальной устойчивости. В Австралии сорта пшеницы Моора и Селекшн характеризовались расоспецифической устойчивостью к стеблевой ржавчине. Сорт Моора обладал, кроме того, и горизонтальной

устойчивостью. В результате эволюции патогена сорт Селекшн утратил устойчивость, а сорт Моора сохранил ее.

Сочетания горизонтальной и вертикальной устойчивости удобно добиваться при создании гетерозисных гибридов. Если одна из родительских форм защищена вертикальной устойчивостью, а другая — горизонтальной, то в гибриде они объединяются. При этом не имеет значения маскирующее действие вертикальной устойчивости: селекционер уверен, что в гибриде присутствует и та и другая.

Горизонтальная устойчивость — единственная форма устойчивости против факультативных паразитов. Селекционная защита от многих полупаразитических болезней чрезвычайно сложна из-за отсутствия хорошо выраженной расспецифичности и приспособленности патогена к широкому кругу хозяев. Так, вертикальный вилт хлопчатника поражает сотни других видов растений. Нет форм, устойчивых к фузариозному увяданию люпина. То же можно сказать о снежной плесени на зерновых озимых, склеротиниозе и других гнилях подсолнечника. Здесь необходима длительная работа по постепенному накоплению горизонтальной устойчивости. Для этого в современной селекции используют методы, общим для которых являются неоднократные отборы на инфекционном фоне, прерываемые новыми скрещиваниями, искусственными, если речь идет о самоопылителях, или спонтанными в случае перекрестников.

10.3. ВЫВЕДЕНИЕ СОРТОВ, УСТОЙЧИВЫХ К ВРЕДИТЕЛЯМ

Для многих вредителей с колюще-сосущим ротовым аппаратом, принадлежащих к клещам и насекомым, характерно внекишечное переваривание, как это описано в главе 9. Они вводят в растительные ткани ферменты, взаимодействующие с ферментными системами растений. Таким образом достигается предварительное внекишечное переваривание растительных веществ. Оно возможно только при соответствии ферментных систем вредителя и растения. Ситуация очень напоминает поражение растений облигатными паразитами (ржавчинные, мучнисторосяные и другие грибы). Точно так же здесь существуют генетические варианты вредителей (биотипы, хотя в ходу и термин «расы»), различающиеся по способности повреждать те или другие сорта. Поэтому селекция здесь основывается на использовании больших генов устойчивости, как и в случае с облигатными грибами-паразитами. Созданы такие сорта пшеницы для защиты от злаковой тли и гессенской мухи (так в агрономической практике называют гессенского комарика). При этом нет необходимости прибегать к созданию конвергентных или многолинейных сортов, поскольку устойчивость сохраняется длительно, хотя известны случаи, когда вновь

возникший биотип сводил на нет работу селекционеров. Так, с появлением новой расы гессенской мухи — *L* — прежде устойчивые к этому вредителю сорта пшеницы стали повреждаться.

Сходная ситуация сложилась и в селекции сортов, устойчивых к растительным гельминтам. При выведении устойчивых к нематодам сортов картофеля были использованы большие гены диких видов рода *Solarium*.

Сказанное ранее относится к активной устойчивости, но в селекции на устойчивость к вредителям очень широко используют и пассивную устойчивость. Факторы ее были отмечены в главе 4: специфический химический состав, морфологические, анатомические и физиологические особенности растений. Там же приведены и примеры такой устойчивости. Отметим те из них, которые широко представлены в селекционной практике и районированных сортах. Успешная селекция на устойчивость пшеницы к красногрудой пьявице ведется в Краснодарском НИИСХ. В качестве признака устойчивости используют количество волосков (трихом), приходящихся на 1 см² поверхности листовой пластинки. Сорта мягкой пшеницы с выполненной соломиной как фактором устойчивости к пилльщику выведены в Канаде (Чинук, Виниту), Индии (Кальян Сона), ФРГ (Гольден-Зет). Селекцию на устойчивость к пилльщику с использованием выполненности соломины издавна ведут в России на Прикумской опытно-селекционной станции. Здесь выведен ряд устойчивых сортов под общим названием Прикумская с различными номерами. Сорта и гибриды подсолнечника, устойчивые к подсолнечниковой моли (огневке) благодаря наличию панцирного слоя в оболочке семян, широко возделываются в производстве.

Перспективной, как отмечено ранее, считается устойчивость, основанная на специфической структуре веществ первичного обмена: белков, жиров, углеводов. Насекомые очень чувствительны к особенностям этой структуры, а млекопитающие безразличны к ней. При выведении сортов, устойчивых к насекомым-вредителям, используют как антиксеноз (непредпочтение), так и антибиотики. Приведенные ранее и другие примеры можно отнести к тому или другому виду устойчивости.

Факторы пассивной устойчивости используют и в селекции на устойчивость к болезням (считается, например, что хорошо выраженный восковой налет препятствует проникновению патогена в ткани растения), но широкое использование этот вид устойчивости получил в селекционной защите от насекомых-вредителей.

В случае если признаки, обуславливающие пассивную устойчивость, наследуются просто, олигогенно, это облегчает селекционную работу с ними. Не нужны большие объемы популяции, признак проявляется четко, возможно его введение в сорт, которому нужно придать устойчивость, посредством насыщающих скрещиваний.

До сих пор речь шла о сортах, устойчивых к какой-то одной болезни или к одному вредителю. Но каждая культура поражается многими болезнями и повреждается многими вредителями. Поэтому наибольшую ценность представляют сорта, обладающие комплексной устойчивостью к ряду наиболее опасных в данном регионе болезней и вредителей. Создание таких сортов представляет большие трудности. Но тем не менее селекция с ними справляется. Так, недавно выведенный в США сорт мягкой пшеницы Ga Dozier устойчив к четырем биотипам гессенской мухи, имеет два гена устойчивости к бурой ржавчине (*Lr24* и *Lr26*) и ген устойчивости к мучнистой росе (*Pm8*). Устойчив к ржавчине, фузариозному увяданию, полиспорозу и антракнозу сорт льна-долгунца Торжокский 4 (Россия).

10.4. СЕЛЕКЦИОННАЯ ЗАЩИТА, СВЯЗАННАЯ С БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

В сельскохозяйственном производстве появились сорта, созданные с участием биотехнологических методов, то есть манипуляций *in vitro*. Все биотехнологические методы можно разделить на две большие группы: культуру клеток и тканей, включая культуру протопластов и их гибридизацию, и генетическую (генную) инженерию, то есть манипуляции на уровне гена. И в том и в другом случае создают доноры — носители генов устойчивости, которые затем включают в обычный селекционный процесс через гибридизацию и последующие отборы. Не исключено и прямое создание сорта. Культуру клеток и тканей при селекции на устойчивость к патогену ведут на (или в) селективной среде с токсином, свойственным данному патогену или с фильтратом из культуры патогена, содержащим токсин. Если при удачно подобранной концентрации токсина, вызывающей гибель клеток, какая-то часть их сохранится в жизнеспособном состоянии, это может означать, что они обнаруживают наследственную устойчивость к патогену. Если удастся добиться регенерации растений из этих клеток, есть надежда получить устойчивые формы. Это не всегда удается, потому что выжившие клетки необязательно обладают устойчивостью, они могли сохраниться по каким-то другим причинам, а также потому, что устойчивость целого растения не эквивалентна устойчивости клетки. Тем не менее селекции удалось добиться определенных результатов на этом пути. Получены формы клевера, устойчивые к раку; картофеля, томата, ячменя, люцерны, пшеницы, устойчивые к грибам из рода *Fusarium*; риса, пшеницы и ячменя — к грибам из рода *Helminthosporium*; картофеля — к фитофторозу и черной ножке; риса — к пирикулярриозу. В этом перечне нет болезней, вызываемых облигатными паразитами: считается, что они не образуют токсины, кроме того, реакция

сверхчувствительности исключает саму возможность селекции на клеточном уровне. Таким образом, речь может идти только о горизонтальной устойчивости.

Гораздо более радикальных результатов можно добиться с помощью генной инженерии, особенно при переносе гена, обуславливающего устойчивость селективируемой культуры, из другого вида, часто очень далекого в систематическом отношении, например из бактерии в высшее растение. Сама технология такого переноса может быть здесь описана только в самых общих чертах. Это может быть перенос с помощью вектора, прямой перенос, инкубированием чужеродной ДНК совместно с протопластами селективируемой культуры или другими способами. Что касается векторов, то наиболее часто используют плазмиды (кольцевые ДНК) бактерий из рода *Agrobacterium*, особенно *A. tumefaciens*. После преобразований плазмиды, завершающихся тем, что в нее встраивают ген, подлежащий переносу, и маркерный ген устойчивости к антибиотикам (обычно, канамицину), заражают растения бактериями — носителями вектора со встроенными генами. Из инфицированной ткани получают культуру каллусов на селективной среде с антибиотиком, убивающей клетки, не содержащие встраиваемый ген. Из сохранившихся клеток регенерируют растения и испытывают их на инфекционном фоне, чтобы отобрать устойчивые. Методами генной инженерии получены трансгенные растения с геном хитиназы, которая разрушает хитин оболочек грибов, бактериальной рибонуклеазы, вызывающей реакцию сверхчувствительности, дефензина (цистеинсодержащий белок), замедляющего рост гиф.

Наибольшие успехи связаны с переносом в культурные растения генов эндотоксинов почвенной бактерии *Bacillus thuringiensis*. На основе генов этой бактерии получены генные конструкции, придающие культурам устойчивость к некоторым вредным насекомым: кукурузе — к кукурузному мотыльку, хлопчатнику — к коробчатому червю, картофелю — к колорадскому жуку (США), рису — к ряду опасных насекомых-вредителей (Китай).

Специфические генно-инженерные методы применяют для создания растений, устойчивых к вирусам. Например, используют гены, ответственные за синтез белка оболочки вируса (капсиды), подавляющие репродукцию РНК другого вируса. Подобной защитной функцией обладает так называемая сателлитная РНК (РНК сателлитных вирусов, меньших по размеру, чем обычные вирусы, и реплицирующихся только в их присутствии) и антисмысловая РНК (РНК вирусов с обратной последовательностью нуклеотидов). Ген, на котором могла бы транскрибироваться сателлитная или антисмысловая РНК, встроенный в ядро клеток растений, также обеспечивает устойчивость.

Появились генно-инженерные конструкции, обеспечивающие комплексную устойчивость. Фирма Монсанто (США) объявила о

создании формы картофеля New Leaf Plus, устойчивой к колорадскому жуку и вирусу скручивания листьев.

Трансгенные растения с генами устойчивости от других далеких в систематическом отношении видов интересны тем, что они позволяют использовать неспецифический иммунитет, который может защищать растения неопределенно долго.

Хотя площади, занятые трансгенными растениями (не только устойчивыми к болезням и вредителям, но обладающими другими хозяйственно полезными свойствами), быстро растут (сейчас в мире они занимают около 40 млн га), высказываются опасения относительно безопасности продуктов, полученных из них. Для продуктов питания вред может быть связан с изменением химического состава. Это может понизить питательную ценность, вызвать побочные эффекты, провоцирующие заболевания, а ген устойчивости к антибиотикам, который в качестве селективного агента также попадает в трансгенные растения, может направить эволюцию бактериальной флоры кишечника человека в сторону нечувствительности к антибиотикам. Это свойство может быть передано опасным патогенам, вызывающим болезни человека. Насколько эти опасения основательны, покажет будущее.

11. ИММУНИТЕТ РАСТЕНИЙ К ВРЕДИТЕЛЯМ

11.1. ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА К ВРЕДИТЕЛЯМ

Явление иммунитета обнаружено и изучено у многих сельскохозяйственных культур по отношению к разнообразным вредоносным животным — нематодам, клещам, насекомым. Изначальные, естественные защитные механизмы растений сформировались в ходе их длительной коэволюции с животными-фитофагами. В ответ на существенные повреждения у растений развиваются разнообразные морфологические, физиологические, биохимические средства защиты; фитофаги, в свою очередь, стремятся преодолеть иммунные барьеры, приспособиться к ним. В дальнейшем процессе окультуривания и селекции растений, где первоочередное внимание человек уделяет показателям количества и качества продукции, природные факторы иммунитета могут ослабевать или утрачиваться. Согласно учению Н. И. Вавилова, наиболее сконцентрировано первичных центров их происхождения — очагах древнего земледелия. В применении к факторам иммунитета первичный их источник следует искать в зоне формирования и начального распространения вредителя, его контакта с культурой, ее предками и родителями, среди местных и старых сортов.

В целом, иммунитет растений к вредителям разработан и применяется в производстве менее, чем иммунитет к болезням. Вероятно, это объясняется более тесной глубинной и постоянной связью растений с патогенами, вследствие чего выработка защитных механизмов у растений идет интенсивнее, нежели при более поверхностном и лабильном взаимодействии с фитофагами. Тем не менее иммунитет — весьма важный и перспективный элемент интегрированной защиты растений от вредителей. В ряде случаев, когда применение других методов защиты затруднено или недостаточно эффективно, иммунитет оказывается буквально спасительным для культуры средством. Наиболее знаменитые примеры такого рода — применение прививок европейского винограда на подвой устойчивых к виноградной филлоксере (*Viteus vitifolii*) американских видов, или выведение панцирных сортов подсолнечника, устойчивых к подсолнечниковой огневке (*Homoeosoma nebulellum*).

Специфика иммунитета растений к вредителям определяется прежде всего целенаправленной подвижностью животных, их способностью активного выбора среды обитания, активным поиском и выбором пищи, мест размножения и развития. Поэтому разра-

ботка иммунитета к вредителям тесно связана с изучением их пищевой избирательности и заселения растений. Многие защитные механизмы растений непосредственно связаны с особенностями питания, развития и вредоносности фитофагов. По отношению к вредителям у растений существуют некоторые особые формы и механизмы иммунитета.

Наряду со значительной общностью основных понятий иммунитета существует определенная специфика по отношению к вредителям. Абсолютного иммунитета как полной неповреждаемости растений-хозяев приспособленными к ним фитофагами практически не встречается. Поэтому на уровне общих понятий иммунитет и устойчивость далее употребляются как синонимы, а для конкретных защитных механизмов по отношению к формам и сортам растений используется понятие устойчивости. Термину «вирулентная раса», применяемому к патогенам, соответствует выражение «агрессивная раса вредителей». Вместо инфекционного фона, применяемого в оценке устойчивости к болезням, в данном случае используется фон заселения (высокой численности) вредителями.

В разработке иммунитета большое значение имеет анализ этого явления, изучение его типов, форм и конкретных механизмов. Знание признаков и свойств растений, обеспечивающих их устойчивость к вредителям, позволяет сделать селекционный процесс более целенаправленным и эффективным.

11.2. ТИПЫ ИММУНИТЕТА

Среди разнообразных классификаций устойчивости растений к вредителям наиболее логичной и общепринятой является классификация по характеру взаимодействия фитофаг — растение, предложенная Р. Пайнтером (1951) и включающая четыре основных типа устойчивости.

Антиксеноз (непредпочтение). Выражается в отвержении устойчивых форм насекомыми при выборе ими растений для заселения, питания, откладки яиц и развития. Насекомые менее заселяют растения, обладающие антиксенозом, и нередко быстро их покидают; самки реже и в меньшем количестве откладывают на них яйца. Этот тип устойчивости специфичен по отношению к вредителям, животным-фитофагам, способным к выбору среды обитания и проявляющим пищевую избирательность. Достоинством антиксеноза является воздействие на вредителей предупреждающее повреждения.

Антибиоз (истинная устойчивость). Проявляется в прямом отрицательном воздействии растений на жизнедеятельность насекомых при питании и развитии. Антибиоз выражается в повышении смертности насекомых, расстройствах пищеварения, снижении

активности питания и вредоносности, удлинении сроков развития, формировании мелких и недоразвитых особей, понижении плодовитости самок. Антибиоз — наиболее резко и качественно выраженный тип иммунитета. Его основное достоинство — высокая и быстрая эффективность действия.

Толерантность (выносливость). Выражается в способности растений компенсировать нанесенные вредителями повреждения. Выносливые сорта могут так же, как чувствительные, заселяться и повреждаться насекомыми, однако менее угнетаются ими, а повреждения менее сказываются в снижении продуктивности и потерях урожая. Преимущество этого типа устойчивости заключается в том, что развитие преодолевающих его биотипов вредителя маловероятно, так как выносливость не вызывает отбора в популяции вредителя.

Уход от вредителя (псевдоустойчивость). Этим образным выражением обозначено создание временного разрыва между периодом наибольшей вредоносности вредителя и периодом развития наиболее уязвимых стадий растения при использовании сортов со сдвигом сроков развития, относительно стандартных для культуры. Псевдоустойчивым этот тип называется потому, что легко модифицируется внешними, погодно-климатическими условиями и при определенных изменениях сроков развития культуры или вредителя может исчезнуть. Достоинство этого типа устойчивости — распространенность и легкость использования его механизмов.

Конечно, данная классификация, как и всякая другая, не является абсолютной. Многообразные проявления иммунитета не всегда укладываются в указанные рамки, могут быть связаны между собой переходами и нередко сочетаются друг с другом. Тем не менее подобная система необходима и очень продуктивна в анализе иммунитета и его факторов.

11.3. МЕХАНИЗМЫ ИММУНИТЕТА

Различные типы устойчивости создают систему самозащиты растений на разных уровнях их взаимодействия с вредителями. Уход от вредителя предупреждает процессы заселения и развития вредоносности; антиксеноз создает барьер для вредителей при выборе ими кормовых растений; антибиоз вступает в действие уже после заселения, при питании и развитии вредителей; толерантность компенсирует ущерб от нанесенных повреждений. Очевидно, что чем больше число и разнообразие иммунных барьеров растений, тем эффективнее и стабильнее их иммунитет. Анализ механизмов иммунитета указывает, на какие признаки и свойства растений следует обращать первоочередное внимание при селекции на устойчивость к вредителям.

Факторы антиксеноза. У большинства насекомых функция активного выбора среды обитания, в том числе кормовых растений, принадлежит имаго, при откладке яиц на растениях — самкам; реже активную роль играют личинки. В поисках оптимальных кормовых растений насекомые руководствуются определенным поведенческим стереотипом, ориентируясь по комплексу сигнальных стимулов, поступающих от растений. Любое изменение или ослабление этих стимулов может служить фактором антиксеноза. Поэтому анализ антиксеноза растений всегда тесно связан с изучением пищевой избирательности насекомых.

Пищевую ориентацию насекомых можно подразделить на дистантную — оценку растений на расстоянии и контактную — оценку на поверхности растений. Дистантная ориентация осуществляется с помощью зрения и обоняния.

Зрительная ориентация наиболее выражена у дневных насекомых (дневные бабочки, многие двукрылые, равнокрылые, клопы, ряд жуков и др.). Фасеточные, обладающие цветным зрением глаза насекомых обеспечивают очень детальное, но сравнительно ближнее (на уровне нескольких метров) видение объектов. На большем расстоянии (до десятков и сотен метров) насекомые могут воспринимать общий цветовой фон удаленных объектов, например посевов кормовых растений. У некоторых насекомых-фитофагов известны определенные цветовые предпочтения, которые могут быть прямо или косвенно связаны с выбором кормовых растений или местом откладки яиц. Например, некоторых тлей и белокрылок наиболее привлекает желтый цвет, капустных мух — Серый, что используется в цветных ловушках для учета или ограничения численности вредителей. Соответственно растения с менее выраженным привлекающим цветом могут оказаться менее предпочитаемыми для вредителей. Так, сорта томата с темно- или синевато-зеленой окраской листьев менее заселяются тепличной белокрылкой (*Trialeurodes vaporariorum*), чем желто-зеленые. То же наблюдается у сортов гороха по отношению к гороховой тле (*Acyrtosyphon pisum*).

На более близких расстояниях насекомые оценивают габитуальные особенности растений: высоту, форму, кустистость, облиственность и др. С этой оценкой связан выбор растений молодых или зрелых, ослабленных или мощноразвитых. Известно, что многие вредители (злаковые мухи, блошки и др.) предпочтительно выбирают растения ослабленные, отстающие в развитии и менее стойкие к повреждениям. Другие, например стеблевой кукурузный мотылек, предпочитают наиболее мощные растения. Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*) несколько активнее заселяет сорта картофеля с большей кустистостью и лучшей облиственностью.

Важную роль в выборе растений насекомыми играет их ольфакторная (обонятельная реакция). Антенны насекомых являются

высокочувствительными анализаторами, позволяющими иногда определять локальный источник запаха на расстоянии до 10 км. Специфическая обонятельная реакция насекомых может быть вызвана не только половыми феромонами, но и пищевыми аттрактантами. Привлекательный запах кормовых растений определяется прежде всего не набором основных питательных веществ, а разнообразными летучими органическими соединениями — промежуточными или вторичными продуктами метаболизма (эфирные масла, альдегиды, спирты и др.). Для насекомых эти вещества играют сигнальную роль, являясь атрибутом, отличительным символом кормового растения. У многих насекомых обонятельная реакция первоначально проявляется в полете в форме анемотаксиса (движения против ветра при обнаружении распространяющихся в воздухе обонятельных стимулов), сменяющаяся на небольших расстояниях от растений хемотаксисом (движением по градиенту концентрации привлекающего вещества). Действие пищевых аттрактантов может быть неоднозначным для разных вредителей определенной культуры. Так, летучие агликоны крестоцветных (изотиоцианаты) являются аттрактантами для капустных мух (*Delia* sp.), крестоцветных блошек (*Phyllotreta* sp.), скрытнохоботников (*Ceuthorrhynchus* sp.), однако не оказывают заметного действия на капустную тлю (*Brevicoryne brassicae*) и репную белянку (*Pieris rapae*). Изменения концентрации или химической структуры запаховых веществ могут приводить к снижению привлекательности или даже к смене аттрактивных свойств растения на репеллентные и развитию антиксеноза.

При непосредственном контакте с растением насекомые осуществляют окончательную его оценку в качестве объекта питания и развития, продолжая пользоваться зрением и обонянием, а также контактными средствами ориентации. Контактные факторы пищевой избирательности подразделяются на обонятельные и вкусовые. С помощью вкусовых рецепторов, расположенных на ротовых органах, а также у некоторых насекомых — на лапках (некоторые бабочки, пчелы), насекомые оценивают качество пищи, проводя обычно серию мелких пробных погрызов или укусов. При наличии специфических стимулов своего кормового растения дальнейшую реакцию аппетита вызывают неспецифические низкомолекулярные растворимые органические вещества. Для многих насекомых ими служат простые сахара — сахароза, глюкоза, фруктоза, лактоза, в меньшей степени — рибоза и манноза. Также имеет значение наличие определенных аминокислот. При этом играет роль стереохимическая форма и определенная концентрация вкусовых соединений. Нарушение их оптимального для насекомых состава может стать фактором антиксеноза.

Весьма важную роль в выборе места питания и откладки яиц играют осязательные факторы. Из них наиболее сильным часто оказывается опушенность растений. Развитие листовых трихом

служит для многих растений естественным защитным фактором от неблагоприятных условий — пониженных температур, засухи, а также от фитофагов. Многие насекомые избегают питаться или откладывать яйца на сильноопушенных листьях, поскольку это неблагоприятно сказывается на их дальнейшем развитии. Так, например, опушенные формы злаков менее заселяются обыкновенной пядицей (*Lema melanopus*), злаковыми тлями и шведскими мухами (*Oscinella* sp.). Однако некоторые вредители, как, например, гессенская муха (*Mayetiola destructor*), наоборот, предпочитают опушенные растения: раздражение яйцеклада трихомами стимулирует у самок откладку яиц. Помимо опушения на избирательность могут влиять некоторые другие признаки: скульптура (ребристость, бороздчатость) поверхности растения, наличие восковой кутикулы и др. Осознательно насекомые могут оценивать величину кормовых объектов. Так, самки зерновок способны оценить размеры семян бобовых по кривизне поверхности и в соответствии с этим регулировать количество откладываемых яиц. Важное значение имеет структура повреждаемых органов. Например, к серой зерновой совке (*Apamea anceps*), откладывающей яйца за колосковые чешуи, более устойчивы сорта пшеницы с плотным, густым колосом и мягкими чешуями. Такие чешуи не отгибаются яйцекладом самки, а сминаются, в результате чего эти сорта мало заселяются вредителем. Сорта земляники с наиболее высокими прямостоячими цветоносами менее заселяются и повреждаются малинно-земляничным долгоносиком (*Anthonomus rubi*), поскольку самки этого вредителя неохотно посещают выдающиеся из яруса листьев побеги.

Факторы антибиоза. Неблагоприятное воздействие растений на жизнедеятельность питающихся на них насекомых по характеру влияния и природе иммунных факторов можно подразделить на три основные формы.

Токсический антибиоз. Эта форма антибиоза проявляется наиболее резко — в виде отказа от питания, расстройств пищеварения и быстрой гибели фитофагов. Факторами токсического антибиоза являются обычно вторичные метаболиты — промежуточные или избыточные продукты обмена, не используемые в пластических или энергетических целях, нередко служащие растениям средством защиты от патогенов, фитофагов или растений-конкурентов. Вторичные метаболиты представляют обширный и разнообразнейший круг органических соединений, куда входят гликозиды, алкалоиды, флавоноиды и соединения других групп. У разных культур известны определенные группы этих веществ, обеспечивающих иммунитет, например у злаков — флавоноиды бензоксазолиноны, у бобовых — сапонины и кумарины, у пасленовых — гликоалкалоиды, у крестоцветных — содержащие серу гликозиды. Нередко эти вещества или их производные в умеренных концентрациях являются обонятельными и вкусовыми ат-

рактантами, но в повышенных концентрациях оказывают неблагоприятное физиологическое воздействие. Вторичные метаболиты растений могут вызывать антифидантный, антиметаболический, гемолитический эффекты, подавлять гидролитические пищеварительные ферменты насекомых, нарушать функции нервной системы и половых желез. Эта форма антибиоза нередко с большим эффектом используется в селекции на устойчивость к вредителям. Так, главным фактором устойчивости кукурузы к стеблевому мотыльку (*Ostrinia nubilalis*) является повышенное содержание флавоноида метоксибензоксазолинона (МБОА). При повреждении тканей гусеницами это соединение окисляется с образованием в 2 раза более сильного токсиканта — дигидроксиметоксибензоксазолинона (ДИМБОА), действующего как гемолитический фактор и вызывающего массовую гибель гусениц. На гороховую тлю сильное нейротропное токсическое действие оказывает фитиновая кислота, вызывающая реакцию беспокойства, отказ от питания и миграцию с растений, замедление развития и снижение плодовитости. Выраженный токсический антибиоз проявляется у картофеля к цистообразующим нематодам (*Globodera* sp.) и у томата к галловым нематодам (*Meloidogyne* sp.). На устойчивых сортах наблюдается недоразвитие и массовая гибель личинок, резкое снижение плодовитости и образования цист. Фактором антибиоза для галловых нематод, возможно, является индолиламиномасляная кислота. Отмечающийся у некоторых сортов огурца токсический антибиоз к паутинным клещам (*Tetranychus* sp.) связан с содержанием тритерпеноида кукурбитацина. Сильновыраженный токсический антибиоз проявляется у сортов пшеницы по отношению к гессенской мухе. Он сопровождается массовой гибелью и недоразвитием личинок и снижением численности вредителя в 500... 1000 раз. Биохимические факторы этого антибиоза известны недостаточно; прослеживается некоторая его связь с повышенным содержанием в клетках гемицеллюлозы. Наиболее сильным фактором устойчивости пасленовых к колорадскому жуку является содержание в листьях определенных гликоалкалоидов — томатина, демисина, чаконина и др., обладающих антифидантным, гемолитическим, и паралитическим действием. Дикие американские виды пасленовых *Solanum demissum*, *S. chacoense*, *S. polyadenum* и др. с повышенным содержанием этих веществ абсолютно устойчивы к колорадскому жуку. Однако у гибридов этих видов с культурным картофелем наряду с устойчивостью сохраняется высокое содержание алкалоидов не только в надземной части, но и в клубнях, что делает их малоприемлемыми для человека. Тем не менее в родословных относительно устойчивых сортов картофеля нередко имеются указанные виды с небольшим родительским вкладом в сортовой генотип.

Пищевой антибиоз. Эта форма антибиоза определяется структурой биополимеров — веществ основного первичного обме-

на, то есть белков, жиров, углеводов. В данном случае питательные вещества устойчивых сортов обладают молекулярной структурой с неполным стереохимическим соответствием пищеварительным ферментам вредителя. В результате эти вещества менее успешно перевариваются и усваиваются. Симптомы пищевого антибиоза в целом сходны с таковыми токсического, но проявляются позднее. Насекомые предпринимают частые и безуспешные попытки питания, испытывают истощение, снижаются размеры и масса личинок, плодовитость самок. В результате происходит ослабление и массовая гибель вредителей и снижение повреждаемости растений. Известный пример пищевого антибиоза — устойчивость пшеницы к клопам-черепашкам (*Eurygaster* sp.). Главное повреждение черепашек — уколы в созревающие зерновки с введением слюны, содержащей сильные гидролитические ферменты — амилазы и протеазы, и частичное высасывание содержимого. В результате снижается не только масса семян, но и хлебопекарные качества зерна. Отмечено, что стародавние и местные сорта пшеницы, менее повреждаемые черепашками, имеют более грубодисперсную структуру эндосперма с преобладанием крупных крахмальных зерен, хуже поддающуюся гидролитическому действию ферментов вредителя. Большинство современных интенсивных сортов пшеницы отличается тонкодисперсной структурой эндосперма, с мелкими крахмальными зёрнами и наиболее благоприятны для питания и вредоносности черепашек. На устойчивых сортах возможно снижение численности черепашек до 10-кратного уровня.

Механический антибиоз. Во многих случаях неблагоприятное воздействие растений на вредителей определяется морфологическими особенностями тканей и органов, препятствующими нормальному питанию и развитию. Подобное действие оказывает опушенность листьев зерновых культур на пьявицу. Самки этого вредителя, откладывая яйца, плотно прикрепляют их к поверхности листовой пластинки, что необходимо для сохранности и успешного развития яиц. На сортах с опушенными листьями яйца отстают от листа, осыпаются или засыхают. Отродившиеся личинки, питающиеся листовой паренхимой, не могут ее достигнуть из-за слоя листовых трихом, травмирующих кишечник. Происходит массовая гибель яиц и личинок младших возрастов. Сорта, имеющие более 80 трихом на 1 мм² листовой поверхности, обычно высокоустойчивы, менее 30 трихом — как правило, неустойчивы. Главный фактор устойчивости пшеницы к стеблевому хлебному пилильщику (*Cephuspygmaeus*) — выполненность стебля. У таких растений полость соломины заполнена сухой паренхиматозной тканью, непригодной для питания личинок. Отложенные в верхнее междоузлие яйца и появляющиеся личинки в массе погибают, застревая в этой ткани. Численность пилильщиков на посевах устойчивых сортов падает до 120...300-кратного уровня. У ди-

кого вида пасленовых *Solanum berthaultii*, используемого в программах гибридизации с картофелем, наличие на листьях железистых волосков, выделяющих смолистый секрет, придает ему полную устойчивость к колорадскому жуку. Личинки вредителя увязают в секрете волосков и быстро гибнут. Железистые волоски некоторых сортов томатов защищают их от паутинного клеща. Существуют также близкие к антибиозу реакции «самоочищения» растений. У кукурузы и некоторых сортов других злаков с высокой энергией роста центральный лист выносит личинку шведской мухи из побега, опережая ее в развитии и не давая поразить конус нарастания. У некоторых сортов гороха в ответ на раздражение при откладке яиц гороховой зерновкой (*Bruchus pisorum*) развивается вырост эпидермы, отрывающий яйцо от створки боба. Механический антибиоз часто сочетается с антиксенозом: одни и те же факторы уменьшают заселение растений и увеличивают гибель вредителей.

Факторы толерантности. Выносливость растений к повреждениям, наносимым фитофагами, может обеспечиваться разнообразными способами ограничения и компенсации повреждений. К основным механизмам толерантности относятся: реакции сверхчувствительности; быстрое заживление и изоляция повреждений; повышенная способность к регенерации; образование дополнительных органов взамен поврежденных; повышение энергии роста; интенсификация метаболизма и фотосинтеза в ответ на повреждение, перераспределение пластических веществ, усиление их оттока в хозяйственно ценные органы; ускорение развития и созревания.

Классический пример толерантности — нечувствительность американских форм винограда к повреждениям корневой формы виноградной филлоксеры. Повреждения быстро изолируются перидермой и не вызывают развития крупных корневых галлов, загнивания и отмирания корневой системы. Катастрофическое поражение европейского винограда, не обладающего выносливостью к филлоксере, было предотвращено его прививками на подвой американских форм. Другой известный случай иммунитета — устойчивость панцирных сортов подсолнечника к подсолнечниковой огневке — можно рассматривать, как проявление толерантности и механического антибиоза. У этих сортов, полученных от гибридизации подсолнечника с дикими американскими родственниками, в коже семянки развит клеточный слой склеренхимы с высоким содержанием углеродистого вещества фитомелана. Гусеницы огневки не способны прогрызть такую кожуру и не наносят главного повреждения — выедания ядра семянки. Повреждая другие части корзинки, они не получают полноценного питания, что приводит к гибели и снижению численности вредителя на панцирных сортах. В защите растений известен эффект малых повреждений, которые могут стимулировать развитие и созревание растений, по-

ступление пластических веществ в генеративные или запасающие органы, что приводит к небольшому повышению продуктивности. Такие реакции, известные, например, у злаков к шведским мухам, у крестоцветных культур к блошкам, наиболее выражены у выносливых сортов. Сочетание толерантности с антиксенозом и антибиозом расширяет и укрепляет основы иммунитета растений к вредителям.

Факторы «ухода от вредителя». Механизмами этого типа устойчивости служат сдвиги или сокращения сроков наиболее уязвимых для вредителя критических стадий развития растений.

Оптимально ранние сроки посева яровых культур являются распространенным агротехническим способом защиты от ранних вредителей, особенно опасных на всходах. К периоду массового появления вредителей растения ранних посевов успевают достаточно развиться, окрепнуть и гораздо легче переносят повреждения. Так, например, шведские мухи, заселяя только молодые побеги с 2...3 листьями, на поздних посевах поражают главные формирующие урожай побеги. На ранних посевах поражаются боковые побеги и далее — побеги избыточного кущения, что уже не представляет угрозы. Ранние посевы снижают потери урожая гороха от клубеньковых долгоносиков (*Sitona* sp.), свеклы — от свекловичных блошек (*Chaetocnema* sp.) и долгоносиков, крестоцветных культур — от крестоцветных блошек. Использование ранневсхожих и быстрорастущих сортов способствует успеху этого мероприятия.

В других случаях развитие критической стадии поздних сортов следует после массового развития вредителя, поэтому растение менее им поражается. Долгоносик яблонный цветоед (*Anthonomus pomorum*), самки которого откладывают яйца в цветочные почки и молодые бутоны, значительно меньше поражает сорта со сверхранней бутонизацией и цветением; относительно менее повреждает сорта поздноцветущие, а также со сжатыми сроками бутонизации. Аналогично долгоносик земляничный цветоед меньше повреждает сорта земляники с поздними и сжатыми сроками бутонизации. По отношению к поздним вредителям, опасным для зрелых растений, имеет значение скороспелость. Быстрое созревание растений автоматически сокращает предуборочный период и соответствующие потери, а также не позволяет вредителю успешно закончить развитие, питание и подготовиться к зимовке. Скороспелые сорта зерновых культур несут меньшие потери от злаковых тлей, трипсов, черепашек, хлебных жуков (*Anisoplia* sp.), отчасти — от зерновых совок и хлебных пилильщиков. Однако следует помнить, что погодные аномалии, нарушающие обычные сроки развития вредителей или сортов, могут свести на нет все их преимущества. При использовании данной устойчивости особенно необходимы точные прогнозы развития вредителей и культуры.

11.4. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ И ЕГО ПРЕОДОЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИМИ РАСАМИ ВРЕДИТЕЛЕЙ

Знание генетики иммунитета позволяет более рационально и целенаправленно использовать его в селекционных программах. Генетические основы иммунитета изучены далеко не во всех его случаях, но известны на достаточно разнообразных примерах. В большинстве случаев устойчивость к вредителям определяется ограниченным количеством генов и наследуется по моногенному или олигогенному типу. Так наследуется у злаков опушенность листьев — фактор устойчивости к пьявице, выполненность стеблей — фактор устойчивости к стеблевым пилильщикам. Моноили олигогенное определение имеет устойчивость картофеля к цистообразующим нематодам, томата — к галловым нематодам, огурца — к паутинным клещам. Наиболее полно генетика иммунитета изучена в тех случаях, когда у вредителей возникают биологические расы, преодолевающие устойчивость определенных сортов. В результате развивается взаимоотношение фитофагов и растений по типу «ген-на-ген». Формируется сильная, но «узкая», расово-специфическая вертикальная устойчивость. В целом, у культуры обнаруживается много генов устойчивости, например у пшеницы известно 10 генов устойчивости к американским популяциям гессенской мухи, у малины выявлено 12 генов устойчивости к английским и американским популяциям малинных тлей (*Amphorophora* sp). Однако каждый из этих генов проявляет устойчивость только к определенным расам вредителя, имеет качественно выраженный эффект и дискретное расщепление в скрещиваниях, то есть отдельные варианты устойчивости наследуются вполне моногенно. В таком случае культура обладает системой сходных или различных множественных моногенных факторов устойчивости. Из хорошо изученных примеров только у кукурузы по отношению к стеблевому мотыльку наряду с олигогенной обнаружена настоящая полигенная устойчивость, определяемая генами, ассоциированными с шестью из десяти хромосом кукурузы, вносящими небольшие аддитивные вклады в общую устойчивость. Интересно, что в подавляющем большинстве случаев устойчивость растений — признак доминантный или полудоминантный, то есть проявляется уже в первом поколении гибридов от скрещиваний с чувствительными сортами. Были выдвинуты различные объяснения этого явления. Возможно, устойчивость растений обычно доминантна потому, что формируется в естественном процессе коэволюции с фитофагами как признак «дикого типа», преимущественно доминантный по отношению к новым мутантным признакам. Соответственно чувствительность развивается как результат искусственного отбора, направленного на повышение количества и качества продукции, прямо или косвенно поддержива-

ющего рецессивные мутации, вызывающие ослабление или утрату факторов устойчивости. Возможно и физиологическое объяснение доминирования устойчивости. Продукты генов — факторы устойчивости, наиболее метаболически активные вещества, эффект которых проявляется уже при их одинарной, гаплоидной дозе, а факторы чувствительности являются ослабленными или дефектными генопродуктами, проявляющимися эффектом только при отсутствии факторов устойчивости, то есть в рецессивной гомозиготе.

Проблема преодоления устойчивости сортов агрессивными биологическими расами вредителя существует, хотя она далеко не так остра, как проблема преодоления токсичности пестицидов. Пока этот процесс отмечен у сравнительно немногих вредителей, среди которых гессенская муха, некоторые виды тлей и цикадок, цистообразующие нематоды. Почти во всех отмеченных случаях расы вредителя преодолевали наиболее резко выраженную форму иммунитета — токсический антибиоз, что, возможно, объясняется возникающим при этом интенсивным отбором на резистентность к сорту. Как правило, преодолевающие устойчивость расы вредителя имеют эколого-географический характер и проявляются при продвижении устойчивого сорта в новые регионы. Например, высокоустойчивый к гессенской мухе сорт пшеницы из Канзаса оказался чувствительным к ней в Калифорнии; некоторые сорта картофеля, устойчивые к золотистой цистообразующей нематодой (*Globodera rostochiensis*) в Англии, чувствительны к голландской расе. В противоположность устойчивости растений преодоление ее вредителем часто оказывается рецессивным признаком. Таким образом, в скрещиваниях преодолевающей устойчивость расы с другими ее агрессивность не проявляется в первом поколении. Конкретные механизмы преодоления устойчивости вредителями не выяснены. Можно предполагать, что рецессивная преодолевающая устойчивость раса имеет измененные в результате мутаций генопродукты с меньшим стереохимическим соответствием факторам устойчивости — токсическим метаболитам растений. В целом, множественности генов устойчивости растений соответствует система их преодоления у вредителя. Так, у гессенской мухи выявлено пять различных генов. Решением проблемы преодоления устойчивости растений вредителями является создание сортов с наиболее широкой и разнообразной генетической базой, с одновременной устойчивостью к различным расам вредителя.

11.5. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ К ВРЕДИТЕЛЯМ

Иммунитет к вредителям можно рассматривать и использовать в селекционной работе так же, как и любой другой хозяйственно ценный признак растений. Вместе с тем это признак сложный,

многофакторный и неочевидный. На каждом этапе селекции иммунитет следует оценивать на фоне высокой численности вредителя. Дополнительно в лабораторных и полевых опытах следует изучать факторы иммунитета. В этом заключается основная специфика работы с иммунитетом к вредителям. В этой работе обычно селекционеры сотрудничают с энтомологами, специалистами по защите растений.

Лабораторные исследования. Главные достоинства лабораторных исследований — возможность наиболее четко контролировать и регулировать факторы среды, точно и быстро оценивать параметры иммунитета.

В различных лабораторных экспериментах можно оценить общую пищевую избирательность насекомых и выявить действие отдельных механизмов антиксеноза, антибиоза и толерантности. Предпочтительный выбор испытываемых сортов насекомыми оценивают в «аренах пищевого выбора» — различного рода камерах или сосудах, где образцы сортов (листовые вырезки, листья, побеги, растения в вазонах) рандомизированно или регулярно размещают на периферии, а в центр выпускают насекомых. При этом необходимо устранять или нивелировать факторы, способные повлиять на распределение насекомых: добиваться равномерной освещенности арены во избежание влияния фототропизма; следить за тем, чтобы образцы сортов имели сходные размеры и развитие. В ходе наблюдений можно подсчитывать число и длительность актов питания насекомых на разных образцах. По окончании учитывают распределение насекомых на образцах сортов и степень их поврежденности, а иногда оценивают и количество отложенных самками яиц. Можно предлагать насекомым множественный выбор с образцами нескольких сортов, но наиболее четкий альтернативный ответ дают серии парных выборов, в которых каждый из оцениваемых сортов сопоставляют с контрольным чувствительным сортом. В лабораторных опытах можно также оценивать влияние отдельных факторов. Например, обонятельные предпочтения насекомых анализируют в специальных устройствах — ольфактометрах, в которых центральная камера соединена рукавами с несколькими отсеками, куда помещают образцы или вытяжки сортов, отделенные от насекомых воздухопроницаемым материалом. В итоге неслучайное распределение насекомых у разных отсеков будет показывать их обонятельные предпочтения. Антибиоз и толерантность сортов изучают на вегетирующих растениях в вазонах с посадкой на них равного количества насекомых и установкой изоляторов. Далее регистрируют количество погибших и выживших насекомых, количество отложенных яиц, длительность развития, возможна оценка массы и размеров определенных стадий развития насекомых. У растений учитывают поврежденность, параметры развития и продуктивности. Во всех экспериментах необходима достаточная по статисти-

ческим требованиям повторность. Недостатками лабораторных исследований являются ограниченное количество тестируемого материала, искусственность и искаженность условий. Основная оценка иммунитета дается в полевых испытаниях.

Полевые испытания. Испытываемый материал кроме проходящих оценку линий, семей, гибридов или сортов должен содержать контроль чувствительности, сорт, заведомо оптимальный для заселения вредителем, его питания и развития, а также, если имеется, эталон устойчивости — заведомо высокоустойчивый к данному вредителю сорт. Иммунитет растений необходимо оценивать на фоне высокой численности вредителя, желательна, превышающем экономический порог вредоносности. Поэтому лучше всего проводить испытания в зоне высокой вредоносности вредителя, а также в соответствии с регионом районирования сортов. Растения разных сортов следует выращивать в определенной повторности с рандомизацией их размещения на опытном участке. При высокой численности вредителя на участке можно использовать естественный фон заселения. Если природных насекомых недостаточно, необходимо создать искусственный фон высокой численности вредителя. Оптимальным является поиск и массовый сбор или отлов вредителей в других местах района испытаний с дальнейшим их выпуском на опытный участок. Иногда предвзительно собранных вредителей сохраняют до выпуска в состоянии диапаузы или даже культивируют. Однако следует помнить, что при длительном культивировании возможно ослабление или вырождение насекомых с утратой их вредоносных качеств. Чаще всего создают искусственный фон с произвольным распространением насекомых на участке. Насекомых выпускают в разных местах участка случайно или регулярно, предоставляя им далее возможность свободно заселять растения. В этом случае обычно выпускают имаго как основную активную фазу распространения. Иногда создают искусственный контролируемый фон вредителя, подсаживая определенное равное количество насекомых (личинок или имаго) на каждое растение под изолятор. При этом можно более точно оценить антибиоз и толерантность растений, чего нельзя сказать о пищевой избирательности насекомых и антиксенозе растений. Для точной оценки итоговой прибавки урожая, полученной благодаря иммунитету растений, на опытном участке необходимо создать отдельный блок чистого контроля с полным набором сортов и полным отсутствием вредителей. Насекомых устраняют регулярным ручным сбором или химическими обработками. Только путем сравнения урожайности каждого сорта в опыте и чистом контроле можно оценить прибавку, полученную благодаря иммунитету, а не по каким-либо иным причинам. Далее на заселенном вредителем участке ведут регулярные, 1...3 раза в декаду, обследования, подсчитывая на каждом растении либо его стандартной учетной части число имаго, яиц или яйцекладок, личинок отдель-

но по возрастам. Впоследствии на основании этих учетов определяют степень заселенности сортов, по снижению численности оценивают смертность вредителя на разных стадиях, определяют примерную длительность развития. Попутно отмечают стандартные показатели развития растений. По окончании периода основной вредоносности насекомых учитывают поврежденность растений по стандартной визуальной балльной шкале или путем более точных измерений. Возможно также взятие выборок одновозрастных насекомых для оценки массы или размеров. В период уборки оценивают продуктивность каждого растения. При широкомасштабных испытаниях учеты проводят на выборках растений каждого сорта. В результате испытаний сорта оценивают по следующим параметрам иммунитета:

- 1) число особей вредителя (имаго, личинок) на 1 растение или его учетную часть;
- 2) доля заселенных вредителем растений, %;
- 3) число яиц или яйцекладок в расчете на растение;
- 4) смертность вредителей, %, оцениваемая по снижению его численности;
- 5) длительность развития, сут;
- 6) средняя масса или размеры вредителей;
- 7) поврежденность растений, %, условные баллы и другие единицы;
- 8) показатели продуктивности растений;
- 9) снижение урожайности, %, к чистому (без вредителей) контролю.

В зависимости от конкретных вредителей и культур этот перечень может быть дополнен или сокращен. Параметры 1...3 могут служить показателями антиксеноза, параметры 4...6 — показателями антибиоза растений. Для точной оценки толерантности необходимо рассматривать зависимость потерь продуктивности разных сортов от численности вредителя и степени поврежденностиTM растений. Параметры 7...9 могут служить итоговыми хозяйственно-экономическими показателями иммунитета. Для окончательного заключения по устойчивости сортов требуется интегрированная оценка, которую проще всего получить, ранжируя все сорта (расставляя их места) по каждому параметру в направлении его положительной или отрицательной связи с иммунитетом, с суммированием рангов всех параметров по каждому сорту. Более точную оценку можно получить путем построения регрессивной модели с учетом вклада каждого параметра в итоговый (9) показатель; далее ранги по каждому параметру умножают на его коэффициент регрессии и суммируют по каждому сорту. По этим обобщенным оценкам испытываемые сорта, сравнивая их между собой, а также с чувствительным контролем и устойчивым эталоном, можно распределить на группы высокоустойчивых, средне- или относительно устойчивых и неустойчивых, или чувствительных.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Борьба с болезнями растений: Устойчивость и восприимчивость/Пер. с англ. Л. М. Левкиной и Ю. М. Плотниковой; под ред. Ю. Т. Дьякова. — М.: Колос, 1984.

Вандерпланк Я. Устойчивость растений к болезням. — М.: Колос, 1972.

Воронкова А. А. Генетико-иммунологические основы селекции пшеницы на устойчивость к ржавчине. — М.: Колос, 1980.

Гешеле Э. Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. — М.: Колос, 1978.

Гойман Э. Инфекционные болезни растений / Пер. с нем. под ред. и с предисл. М. С. Лунина. — М.: ИЛ, 1954.

Горленко М. В. Миграция фитопатогенных микроорганизмов. — М.: Изд. МГУ, 1975.

Деверолл Б. Дж. Защитные механизмы растений. — М.: Колос, 1980.

Дунин М. С. Иммуногенез и его практическое использование. — Рига, Литгосиздат, 1946.

Дьяков Ю. Т. Популяционная биология фитопатогенных грибов. — М.: Муравей, 1998.

Дьяков Ю. Т., Долгова А. В. Вегетативная несовместимость у фитопатогенных грибов. — М.: Изд. МГУ, 1995.

Дьяков Ю. Т., Озерецковская О. Л., Джавахия В. Г., Багирова С. Ф. Общая и молекулярная фитопатология. — М.: Общество фитопатологов, 2001.

Защита растений в устойчивых системах земледелия/Под общей ред. Д. Шпаара. — Торжок: Вариант, 2003.

Инфекционные болезни растений. Физиологические и биохимические основы. — М.: Агропромиздат, 1985.

Кирай З. и др. Методы фитопатологии / Пер. с англ. под ред. М. В. Горленко. — М.: Колос, 1974.

Кривченко В. И. Методы изучения устойчивости зерновых культур к возбудителям головневых заболеваний. — Л.: ВИР, 1972.

Лихачев А. Н., Шарикадзе О. Г., Чикин Ю. А., Лекомцева О. Г. Патогенность видов и штаммов грибов рода *Botrytis* Micheli (Deuteromycota, Nuyphomycetales), выделенных с различных растений-хозяев// Микология и фитопатология. 2000. — Т. 34. - Вып. 5. - С. 60-67.

Метлицкий Л. В., Озерецковская О. Л. Как растения защищаются от болезней. — М.: Наука, 1985

Пайнтер Р. Устойчивость растений к насекомым. — М.: ИЛ, 1953.

Покровская С. Ф. Генно-инженерные технологии в производстве полевых и других культур за рубежом. — М., 2001.

Попкова К. В. Учение об иммунитете растений. — М.: Колос, 1979.

Рассел Г. Э. Селекция растений на устойчивость к вредителям и болезням/Пер. с англ. под ред. и с предисл. Ю. Н. Фадеева — М.: Колос, 1982.

Санин С. С. и др. Фитосанитарная экспертиза зерновых культур. Рекомендации. — М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2002.

Степанов К. М. Грибные эпифитотии. — М.: Сельхозгиз, 1962.

Стэкмен Э. И., Харрар Дж. Основы патологии растений/Пер. с англ. под ред. М. С. Лунина. — М.: ИЛ, 1959.

Страхов Т. Д. О механизме физиологического иммунитета растений к инфекционным заболеваниям. — Харьков: Изд. Харьковского СХИ и ХГУ, 1959.

Тарр С. Основы патологии растений/ Пер. с англ. под ред. М. С. Лунина. — М.: Мир, 1975.

Чесноков П. Г. Методы исследований устойчивости растений к вредителям. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1953.

Чесноков П. Г. Устойчивость зерновых культур к насекомым. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1956.

Чумаков А. Е. и др. Инфекционные фоны в фитопатологии. — М.: Колос, 1979.

Шапиро Д. И. Иммунитет полевых культур к насекомым и клещам. — Л.: Агропромиздат, 1985.

Sing Dhan Pal. Breeding for resistance to diseases and insect pests. — Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1986.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абиотические индукторы 16
Абсцизовая кислота 34
Авенацин 20, 45
Агликоны 31, 42
Агрессивность 116
Анализ фитосанитарного риска 107
Анастомозная группа 100
Антибиоз 166, 170... 172
Антиксеноз 166
Антиметаболический эффект 171
Антифидантный эффект 171
Антракноз 136
Арахидоновая кислота 23, 34, 69
Арбускулы 32
- Барбарис 40
Белки
— антивирусные 52
-Avg-белки 69, 70, 71
-PR-белки 51, 52, 68
- R-белки 73, 74
- URF-13 белок 74
Бензимидазол 136
Биотип 90
- Вакцинация 33
Вегетативная совместимость 100
Вивотоксины 63, 64
Вирулентность 86, 148
Вирусы 70
Возвратное скрещивание 150
Выносливость 146
- Гемолитический эффект 171
«Ген-на ген» теория 62
- Генная инженерия 62
Гены
— аддитивные 76
— большие 150
— количественных признаков (QTL) 72
— фланкирующие 109
Гетероплазмоз 100
Гибридизация 3, 95
Гликозиды 22, 42
Гликопротеиды 23, 68
Глицеоллин 4, 31, 48
Глюкан 23
Глюкозидазы 31, 45
Горох 48
- Дефензины 52
Дрейф генов 103
- Жасмоновая кислота 74
- Заспорение 125
- Изогенная линия 62
Изопрен 44
Изофлавоноиды 48
Иммунитет
— активный 16
— групповой 17
— комплексный 12
— неспецифический 17
— пассивный 8, 16
— приобретенный 16, 32
— специфический 17
Иммуномодуляторы 62
Импедины 62, 63, 66
- Индукторы 16, 33, 62
Инкубация 34
Инокулом 123, 126
Инокуляция 123
Инфекционная нагрузка 91, 112, 114
— максимальная 91, 115
— минимальная 91, 115
— оптимальная 91, 115
Инфекционность 112
Инфекционный фон 112
Инфицирование 33
ИУК 43
ИУК-оксидаза 43
- Картофель 97
Кверцитин 94
Кислота
— арахидоновая 23
— жасмоновая 23, 75
— салициловая 23, 74
Конвергентные сорта 151
Конъюгация 108, ПО
Корневые гнили 144
Косвенные методы оценки 138
Коэволюция 68
Кроссинговер 73
Кукуруза 65
Культуральная жидкость 139
Культуральный фильтрат 140
- Лейцин 73
Лигнин 18, 43
Линоленовая кислота 34
Липооксигеназа 25
Любимин 50
- Мазонон 45
Метод
— вирусных включений 147
— питательных сред 147
— серологический 147
— электронной микроскопии 147
Миграции 104
— внутри страны 105
- внутриконтинентальные 104
— из природных очагов 105
— межконтинентальные 104
— межхозяйственные 105
Митотическая рекомбинация 102
Мутации 99, 111
— генные 98, 108
— геномные 98
— хромосомные 99
- Насыщающие скрещивания 150
- Овес 124, 150
Оксинитрилаза 46
Олигогены 150
Ооспоры 97
- Паразиты
— биотрофные 17
— некротрофные 32
— облигатные 37
— факультативные 37
Парасексуальный процесс 102
Парасексуальный цикл 102
Пассирование 116
Патотоксины 20, 67
Пектин 64
Пектиназы 63
Пероксидаза 11, 43
Пизатин 3, 31, 48, 67
Плазмида ПО
Полиакриловая кислота 34
Полиацетилены 31
Полигены 151
Полифенолоксидаза 44
Полифенолы 31, 44
Популятивность 167
Популяция 71
Приспособленность (fitness) 71
Проантоцианиды 21
Протеазы 70
Протеинкиназы 24, 74
Пшеница Тимофеева 62

Разновидность 84
 Раневая перидерма 67

Соя 68
 Специализация 79, 80
 — гистотропная 79, 80
 — онтогенетическая 80
 — органотропная 80
 — тканевая 80
 -узкая 80, 81
 — филогенетическая 80, 81
 — широкая 80, 82
 Специализированная форма 82
 Супрессоры 62, 63
 Сходящиеся скрещивания 151

Табтоксин 64, 65
 Тентоксин 64
 Терпеноиды 31
 Тионины 53
 Токсины 4, 24, 139
 Толерантность 117, 173
 Томат 66
 Томатин 66
 Трансдукция сигнала 108, 110
 Транспозоны 103
 Трансформация 110

Устойчивость 86
 — вертикальная 55, 56, 149
 — горизонтальная 55, 75, 76, 158
 — индуцированная 16
 — истинная 41
 — полевая 40
 — системная приобретенная 74

Фагоцитоз 23, 31
 Фазеоллин 3, 31
 Фазеолотоксин 64
 Фенилаланин-аммиаклиаза
 (ФАЛ) 43
 Фенолы 42
 Ферменты 12, 30
 Фитоалексины (ФА) 34, 41, 46, 47
 Фитоантиципины 41
 Фитогормоны 34
 Фитонциды 11, 22
 Фитофтороз 136
 Флавоны 11, 20
 Фотосенсибилизаторы 65
 Фузариевая кислота 65

Халконсинтетаза 67
 Хитин 23, 68
 Хитиназа 23
 Хитиназы 68
 Хитозан 34, 68

Цианогенные гликозиды 45
 Цикламин 45

Штаммы 112

Эйкозопентаэновая кислота 23
 Элиситоры 3, 23, 62, 68
 Эпистаз 78
 Эффект бутылочного горлышка 103

Ячмень 24

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ

Acyrtosyphon pisum 168
Alternaria 65
 — *alternata* 64
Albugo Candida 105
Amphorophora sp. 175
Anisoplia 174
Anthonomus pomorum 174
 — *rubi* 170
Apamaea anceps 170
Aphanomyces cochlioides 80
Armillariella mellea 101
Ascochyta pisi 31, 51
Aspergillus 100

Bacillus macerans 35
 — *tumefaciens* 163
Bipolaris maidis 67
Blumeria graminis 51
Botrytis 100
 — *cinerea* 21, 27, 37
 — *convallariae* 91
 — *paeoniae* 91
 — *tulipae* 91
Brevicoryne brassicae 169
Bruchus pisorum 173

Cephalosporium 65
Cephus pygmaeus 172
Ceratocystis sp. 100
Cercospora beticola 80
Ceuthorrhynchus sp. 169
Chaetocnema sp. 174
Cladosporium 120
 — *fulvum* 59, 70
Clavibacter 65

Claviceps purpurea 80
Cochliobolus carbonum 68
 — *heterostrophus* 67
Colletotrichum circinans 22
 — *lindemutianum* 51
Cryphonestria sp. 100
Cytospora 128

Elsinoe 65
Erwinia amylovora 111
 — *carotovora* subsp. *carotovora* 80
Erysiphe cichoracearum 120
 — *cichoracearum* f.sp.
cucurbitacearum 85
Erysiphe communis 85
 — *graminis* 51
 — *hiligoni* 26
 — *labiatarum* 82
Eurygaster sp. 172

Fulvia fulva 31
Fusarium sp. 100
 — *graminearum* 54
 — *oxysporum* 32, 103
 — *solani* 31, 66
 — f. sp. *pisi* 31
 — *sulfureum* 48
Fusicoccus 65

Geumannomyces graminis 66
Globodera rostochiensis 176
Gloeosporium sorghi 66

Helminthosporium sativum 133
Homeosoma nebulellum 165

Hypochnus solani 100
Hypocrella 65
Hy poxy Ion sp. 100

Lema melanopus 170
Leptinotarsa decemlineata 168

Magnaporthe grizea 70
Mayetiola destructor 170
Melampsora lini 59
Monilia fructicola 47
—*fructigena* 31
Mycosphaerella pinodes 67

Nectria haematococca 66
Nicotiniana glutinosa 73
Nicotiniana sylvestris 73

Ophiobolus graminis var. *rntfri* 20
Orobancha aegyptiaca 84
—*cumana* 13
—*foetida* 85
—*owerinii* 83
Oscinella sp. 170
Ostrinia nubilalis 171

Penicillium sp. 100
—*italicum* 33
Peronosporaceae 37
Peronospora parasitica 83
Phoma 65
Phyllotreta sp. 169
Phytophthora sp. 100
—*cactorum* 83
—*cinnamomi* 83
—*infestans* 14, 30, 37
—*medicaginis* 84
—*megasperma* 31, 84
——var. *soyae* f. sp. *glycinea* 84
——*medicaginis* 84
—*palmivora* 85
—*so/ae* 52, 68
Лепя гарде 169
Plasmiodiophora brassicae 80

Podaspora sp. 100
Pseudomonas solanacearum 84
—*syringae* 109, 111
—*tabacum* 34
Puccinia anomala 98
—*coronifera* 98
—*disperse* 118
—*graminis* 118
— — f. sp. *agrostis* 82
poae 82
——*secalis* 82
tritici 82
—*malvacearum* 83
—*menthae* 83
—*horiana* 104
—*sorgi* 59
—*striiformis* 72
—*triticina* 118
Pyricularia oryzae 70
Pythium debarianum 80

Rhinchosporium secalis 70
Rhizoctonia solani 100
Rhizopus nigricans 71
Rhodostricta quercina 54

Sclerotinia sp. 100
—*sclerotiorum* 83
Septoria sp. 100
—*licopersici* 66
—*psi* 51
Sitona sp. 174
Solanum berthaultii 173
—*chacoense* 171
—*demissum* 135, 171
—*polyadenum* 171
Sphaerotheca pannosa 120
Sphaeropsis malorum 128
Stemphylium loti 66
Streptomyces scabies 28
Synchytrium endobioticum 15

Tetranychus sp. 171
Thielaviopsis basicola 119

Trialeurodes vaporariorum 168
Trichoderma lignorum 34
Triticum timopheevi 17
Typhula ishikariensis 101
—*ishikariensis* var. *canadensis* 101
——*idahoensis* 101
——*ishikariensis* 101

Urocystis occulta 119
Uromyces phaseoli 31
Ustilago hordei 122
—*mgra* 122
—*tritici* 80
—*zeae* 81

Venturia inaequalis 37, 44
Verticillium dahliae 13, 15, 54
Viscum album var. *pini* 82
mali 82
Viteus vitifolii 165

Xanthomonas campestris pv. 70
——*malvacearum* 70
——*vesicatoria* 111
—*citri* 19
—*oryzae* 59

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
1. История возникновения и развития учения об иммунитете растений.....	7
2. Категории иммунитета растений.....	16
2.1. Факторы пассивного иммунитета.....	17
2.2. Факторы активного иммунитета.....	23
2.3. Приобретенный иммунитет.....	32
3. Типы паразитизма у микроорганизмов.....	37
4. Генетика, биохимия и молекулярная биология иммунитета растений.....	40
4.1. Полевая и истинная устойчивость.....	40
4.1.1. Биохимические механизмы истинной устойчивости.....	41
4.2. Вертикальная и горизонтальная устойчивость.....	55
4.2.1. Вертикальная устойчивость.....	56
4.2.2. Горизонтальная устойчивость.....	75
5. Специализация патогенов.....	79
5.1. Особенности специализации и структура популяций патогенов при широкой специализации. Растения-реципиенты.....	90
5.2. Изменчивость расообразования в популяциях патогенов.....	95
5.3. Значение знаний о специализации и изменчивости патогенов растений при разработке защитных мероприятий.....	106
5.4. Генетическая изменчивость фитопатогенных бактерий.....	108
5.5. Изменчивость вирусов.....	111
6. Оценка устойчивости растений.....	112
6.1. Предрасположенность растений.....	112
6.2. Инфекционная нагрузка.....	114
6.3. Влияние условий внешней среды на заражение и последующие этапы патологического процесса.....	117
6.4. Элементы искусственности в приемах и условиях заражения растений.....	122
7. Методы инокуляции растений при их оценке на устойчивость.....	123
7.1. Инфицирование через почву.....	123
7.2. Нанесение инфекции на семена и посадочный материал.....	125
7.3. Заражение листьев и стеблей.....	126
7.4. Заражение стволов и ветвей деревьев.....	128
7.5. Нанесение инфекции на цветки растений.....	128
8. Сбор и хранение инфекционного материала.....	131
8.1. Комбинированные инфекции.....	133
8.2. Лабораторные методы оценки устойчивости.....	135
8.3. Косвенные методы оценки устойчивости.....	139
9. Методы учета результатов заражения.....	142
9.1. Интенсивность поражения.....	143
9.2. Выносливость.....	146
9.3. Методы учета устойчивости к вирусным и бактериальным болезням.....	146
10. Селекционная защита от болезней и вредителей.....	148
10.1. Использование вертикальной устойчивости.....	149
10.2. Использование горизонтальной устойчивости.....	158
10.3. Выведение сортов, устойчивых к вредителям.....	160
10.4. Селекционная защита, связанная с биотехнологическими методами.....	162
11. Иммунитет растений к вредителям.....	165
11.1. Особенности иммунитета к вредителям.....	165
11.2. Типы иммунитета.....	166
11.3. Механизмы иммунитета.....	167
11.4. Генетические основы иммунитета растений и его преодоление биологическими расами вредителей.....	175
11.5. Методы оценки иммунитета растений к вредителям.....	176
Список рекомендуемой литературы.....	180
Предметный указатель.....	182
Указатель латинских названий.....	185

В 2005 году в издательстве «КолосС»
вышли в свет

Биологическая защита растений

Под ред. М. В. Шперншиц

Изложены теоретические основы биологической защиты растений. Показано практическое использование разработанных методов экологически безопасного подавления численности вредных видов. Описаны основные агенты биологического контроля вредителей, болезней и сорняков сельскохозяйственных культур (микроорганизмы, энтомо- и акарифаги, биологически активные вещества). Дана оценка современного уровня развития биологической защиты растений. Показано усиление роли биологических методов в интегрированной защите растений, наиболее полно отвечающих целям охраны окружающей среды и здоровья человека.

Для студентов вузов, специализирующихся по защите растений, а также аспирантов и специалистов в этой области.

18 л.

Защита сельскохозяйственных культур от сорных растений

Баздырев Г. И.

Учебник является логическим продолжением ранее вышедших учебников «Защита растений от болезней» (2001 г.) и «Защита растений от вредителей» (2002 г.). Показана вредоносность сорных растений, даны их агробиологическая классификация и характеристика. Рассмотрено картирование и прогнозирование засоренности полей. Приведены система мер по предупреждению засоренности полей и истребительные меры борьбы с сорняками. Изложены вопросы экологии, охраны окружающей среды и техники безопасности при применении гербицидов.

Для студентов вузов по агрономическим специальностям.

25 л.

Учебное издание

Шкаликов Владимир Алексеевич,
Дьяков Юрий Таричанович,
Смирнов Алексей Николаевич,
Джалилов Февзи Сеид-Умерович,
Отройков Юрий Михайлович,
Коновалов Юрий Борисович,
Гриценко Вячеслав Владимирович

ИММУНИТЕТ РАСТЕНИЙ

Учебник для вузов

Художественный редактор В. А. Чуракова
Корректор Н. П. Мурзаева
Компьютерная верстка С. И. Шаровой

Сдано в набор 27.12.04. Подписано в печать 14.07.05. Формат 60x88 Vi6-
Бумага офсетная. Гарнитура Ньютон. Печать офсетная. Усл. печ. л. 11 76+0,49.
Уч.-изд. л. 12,79. Изд. № 079. Тираж 2000 экз. Заказ № 1340

ООО «Издательство «КолосС»,
101000, Москва, ул. Мясницкая, д. 17.

Почтовый адрес: 129090, Москва, Астраханский пер., д. 8.
Тел. (095) 680-99-86, тел./факс (095) 680-14-63, e-mail: koloss@koloss.ru,
наш сайт: www.koloss.ru

Отпечатано с готовых диапозитивов в ГУП РМЭ
«Марийский полиграфическо-издательский комбинат»
424000, г. Йошкар-Ола, ул. Комсомольская, 112

ISBN 5-9532-0328-4



9

**Химическая защита растений.
Средства, технология и экологическая безопасность**

Зинченко В. А.

Дана классификация пестицидов, рассмотрены их достоинства и недостатки, ассортимент, способы и масштабы применения, стратегия и тактика защиты растений. Изложены основы агрономической токсикологии, описаны препаративные формы пестицидов, их биологическая активность и селективность, механизм действия, нормы расхода, способы применения пестицидов, санитарные правила, нормы и меры личной безопасности при работе с химическими средствами защиты растений. Большое внимание уделено экологической безопасности применения пестицидов. Отдельные главы посвящены описанию современных средств защиты растений от вредителей, болезней и сорняков.

Для студентов вузов по агрономическим специальностям, а также для аспирантов, научных сотрудников, агрономов и специалистов фирм, имеющих дело с вопросами защиты растений.

14 л.

Частная физиология полевых культур

Кошкин Е. И., Гатаулина Г. Г., Головкин Т. К. и др.

Изложены современные представления о физиологии формирования урожая основных полевых культур (пшеница, кукуруза, зернобобовые, подсолнечник, лен, сахарная свекла, картофель). Рассмотрены анатомо-морфологические особенности растений, их водный обмен, минеральное питание, механизмы роста и развития, адаптация к условиям среды. Особое внимание уделено вопросам генетико-селекционного улучшения современных сортов и гибридов.

Для студентов вузов по агрономическим специальностям.

28 л.

Сделать заказ на выбранные вами книги можно:

по телефону/факсу - (095) 105-66-34, (095) 256-15-10;

по почте — 123317, г. Москва, ул. Литвина-Седого,
д. 2/13, корп. Б, стр. 2;

по электронной почте — sales@koloss.ru