

УДК: 632.4:635.21:632.4.01/.08:581.2

# ОСОБЛИВОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ ГРИБА

## *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary — збудника фітофторозу картоплі в умовах Західного Лісостепу України

Встановлено присутність у популяціях збудника фітофторозу картоплі *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary ізолятів, що належать до різних типів спарювання ( $A_1$  і  $A_2$ ), в умовах Західного Лісостепу України.

**картопля, фітофтороз, збудник, ізолят, тип спарювання, оогонія, ооспора, зооспорангій, гіфа**

Однією з найбільш поширених і шкідливих хвороб картоплі є фітофтороз, який на сьогодні поширений в усіх зонах її вирощування. В наш час фітофтороз зустрічається в Африці, Азії, Австралії, Європі, Північній, Центральній та Південній Америці [11].

Збудником фітофторозу є нижчий гриб *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary з класу *Oomycetes*, порядку *Peronosporales*, родини *Phytophthoraceae* [6].

Гриб *P. infestans* характеризується біполярним гетероталізмом з типами спарювання  $A_1$  і  $A_2$ . Термін «тип сумісності», або «тип спарювання», характеризує фізіологічний стан ізолятів, який визначає можливість чи неможливість спарювання, тому що воно здійснюється тільки між ізолятами протилежних типів [3]. При контакті міцеліїв типу  $A_1$  і  $A_2$  штами взаємно впливають один на одного, у результаті чого один з них утворює переважно антеридії, інший — оогонії. Статевий процес між ними завершується формуванням великої кількості ооспор у зоні стикання міцеліїв [1]. У Мексиці, де зустрічаються обидва типи міцелію (у співвідношенні 1:1), гриб утворює масу ооспор [14], які можуть зберігати життєздатність протягом кількох років. Схрещуючи європейські ізоляти гриба з мексиканськими, дослідники встановили, що всі європейські ізоляти гриба мають  $A_1$  тип схрещування (розвиває оогонії) і тому стерильні [10].

Наприкінці 1970-х рр. відбулася друга міграція збудника фітофторозу картоплі з місця їхнього походження — Мексики. Ця міграція призвела до появи штамів з  $A_2$  типом спарювання у регіонах, де до

**М.П. ЛІСОВИЙ,**  
академік НААНУ,  
Інститут захисту рослин НААНУ  
**Ю.С. ГОЛЯЧУК,**  
старший викладач,  
Львівський національний аграрний  
університет

того часу зустрічалися лише ізоляти з  $A_1$  типом спарювання (Європі, Близькому Сході, Азії та Південній Америці) [8].

У результаті сумісного розвитку «старої» ( $A_1$  тип сумісності) і «нової» ( $A_2$  т. с.) форми збудника фітофторозу у країнах, де донедавна зустрічався міцелій лише одного типу спарювання, став можливим статевий процес патогена [2]. Наявність обох типів сумісності забезпечує грибу необхідні умови для існування оогамії, яка призводить до рекомбінації ознак і різко збільшує адаптивні можливості окремих популяцій і виду в цілому [3]. Утворення ооспор збудником фітофторозу картоплі створює додаткові можливості для виживання патогена між вегетаційними періодами [7].

Метою наших досліджень було встановити наявність у популяціях збудника фітофторозу картоплі ізолятів з різними типами спарювання ( $A_1$  і  $A_2$ ) в умовах західного Лісостепу України.

**Методики досліджень.** З метою встановлення присутності у популяціях *P. infestans* ізолятів з різними типами спарювання нами було проаналізовано від 103 до 117 ізолятів, відібраних в умовах м. Дубляни Жовківського району Львівської області і с. Оброшино Пустомитівського району Львівської області протягом 2009—2010 рр.

Для виділення гриба в чисту культуру листки, уражені фітофторозом, дезінфікували в слабкому розчині  $KMnO_4$  (0,45 г на 1 л води), ретельно промивали у стерильній воді і розкладали між шматочками бульб прийнятливої сорту картоплі Незабудка, без генів стійкості.

Для цього бульби ретельно промивали водою, протирали спиртом, обпалювали над полум'ям спиртівки і розрізали стерильним скальпелем на шматочки завтовшки 0,5 см. Шматочки розкладали у чашки Петрі на шар вологого фільтрувального паперу. Уражені листки картоплі закладали між двома шматочками бульби. Грибницю, яка з'являлася на 3—4-й день на поверхні шматочка, відразу пересівали за допомогою голки, не торкаючись поверхні бульби, захоплювали мінімальну кількість міцелію і переносили його на агаризоване вівсяне середовище з антибіотиками (рифампіцин та ністатин) та вирощували за стандартної температури 20—21°C.

Культуру гриба, вирощену на поживному середовищі, перенесли на таке ж поживне середовище, але без антибіотиків. Для виділення моноспорних ізолятів використовували культуру гриба *P. infestans* 10—12-денного віку, вирощену на вівсяному поживному середовищі.

Гриб *P. infestans* помішали в пробірку з 8—10 мл дистильованої стерильної води. Пробірку струшували для відділення зооспорангіїв від міцелію. Суспензію доводили до концентрації 4—5 зооспорангіїв у полі зору мікроскопа ( $\times 100$ ) шляхом розбавлення стерильною водою або додавання культури гриба [4]. Отриману суспензію розливали на поверхні простерилізованого шматочка бульби завтовшки 5—6 мм і поміщали у стерильну чашку Петрі. При цьому використовували 3—4 шматочки бульби. Через 3—4 дні на поверхні шматочків з'являлися окремі колонії, які виростили з окремих зооспорангіїв. В стерильних умовах ці колонії голкою переносили на косяки вівсяного поживного середовища. Ізоляти інкубували у темряві за температури 18—20°C, що сприяє максимальному росту колоній і утворенню зооспорангіїв [13].

Тип схрещування визначали при сумісному вирощуванні досліджуваних ізолятів з тестерними. Як тестери використовували два ізоляти дос-

ліджуваної популяції, що схрещуються між собою. Одному з них умовно присвоїли  $A_1$  тип схрещування, іншому —  $A_2$  [1]. Тестерні ізоляти розташовували у чашках Петрі на вісьяному поживному середовищі [9]. Оскільки ізоляти з різних сортів мають різну швидкість росту і величину колоній, то їх розташовували на різній відстані один від одного (1—2 см). Зону взаємодії міцеліїв ізолятів обстежували за допомогою мікроскопа через 7—10 днів вирощування при температурі 18°C у темряві. Ооспори утворювалися на межі між протилежними типами спарювання [12]. Якщо досліджуваний ізолят контактував із тестерним з утворенням ооспор у зоні контакту, то його тип схрещування визначали як протилежний тестеру [9].

**Результати досліджень.** У 2009 р. нами було досліджено 103 ізоляти *P. infestans* «Дублянської» популяції, виділених із сортів Амінка, Дніпрянка, Ольвія та Ред Скарлетт. Ізоляти «Оброшинської» популяції (107 шт.) були виділені із таких сортів: Багряна, Водограй, Маркіз і Червона рута. В умовах 2010 р. з «Дублянської» популяції було обстежено 111 ізолятів зі сортів Амінка, Воля, Карптська, Фабула, а з «Оброшинської» популяції — 117 ізолятів, виділених із сортів Водограй, Мавка, Чернігівська біла і Фінка.

Сумісне вирощування ізолятів обох популяцій на поживному середовищі виявило утворення антеридіїв і оогоніїв у зоні стикання міцеліїв, які належали до різних типів спарювання (рис. 1). Так, розмір зрілих оогоніїв, які утворювалися на поживному середовищі, становили 22,22—39,51 × 23,97—42,01 мкм, а їх основа — в середньому 16,61 × 19,84 мкм.

Ооспори, що утворювалися при сумісному вирощуванні ізолятів на поживному середовищі за температури 18—20°C у темряві, проростали гіфами, на яких утворювалися термінальні зооспорові (рис. 2). Проростання ооспор відмічалось через 6—11 днів після стикання міцеліїв і, відповідно, утворення ооспор.

Нами відмічено, що ізоляти *P. infestans* відрізнялися товщиною гіф і розміром зооспорові (рис. 3).

Так, при сумісному вирощуванні ізолятів, які належали до різних типів спарювання, у зоні стикання міцеліїв спостерігалось утворення гіф, розмір яких варіював від 3,22 до 11,28 мкм. Припускаємо, що наявність гіф, товщина яких перевищує

7 мкм, зумовлена належністю цих ізолятів до  $A_2$  т. с. Крім того, розмір зооспорові теж сильно відрізнявся. При сумісному вирощуванні ізолятів різних типів спарювання відмічалось утворення зооспорові, довжина яких досягала більше 40 мкм, що теж на нашу думку, пов'язано з приналежністю їх до  $A_2$  т. с. Розмір зооспорові, які звичайно зустрічались при мікроскопічному дослідженні спороношення збудника фітофторозу картоплі, становив 7,83—22,13 × 10,45—38,40 мкм.

В результаті досліджень, проведених протягом двох років, у популяціях збудника фітофторозу картоплі нами виявлено ізоляти, які належать до різних типів спарювання (табл.).

Співвідношення типів спарювання в умовах 2009 р. у «Дублянській» популяції становило 79:24 шт., що відповідає процентному співвідношенню 76,7:23,3, а в «Оброшинській» — 85:22 шт. і 79,4:20,6%, відповідно. В середньому співвідношення типів спарювання *P. infestans* в умо-

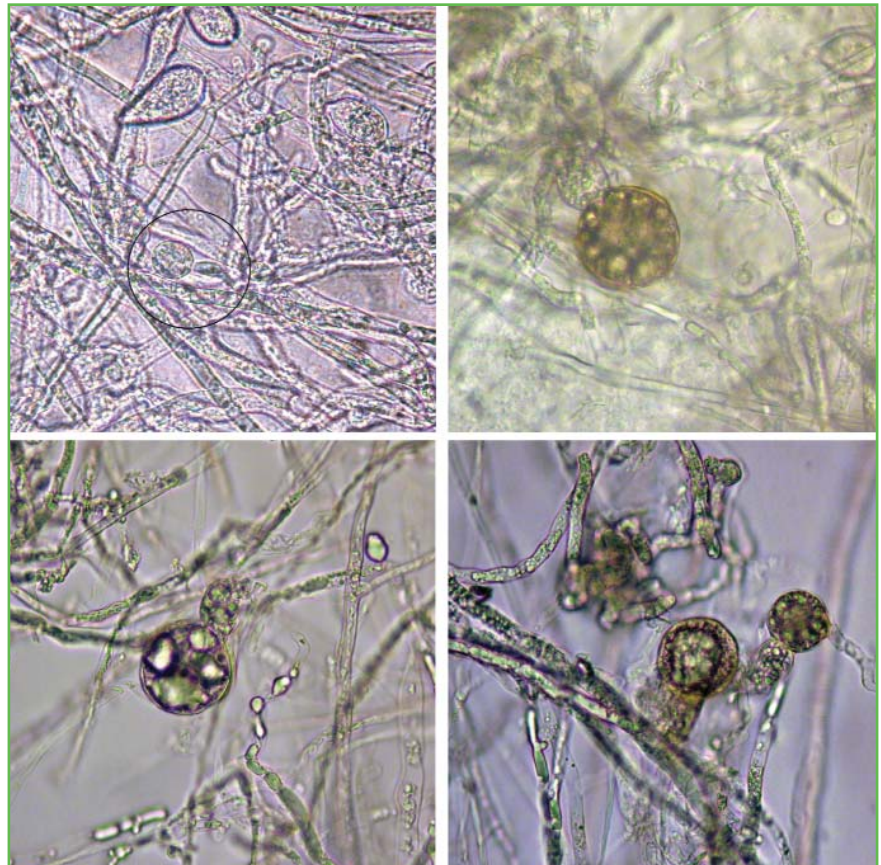


Рис. 1. Етапи утворення оогоніїв *Phytophthora infestans* на поживному середовищі при сумісному вирощуванні ізолятів (збільшення × 400)

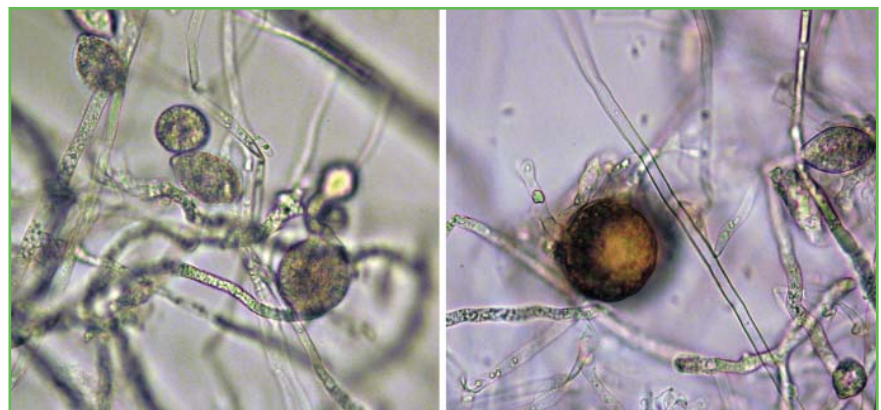


Рис. 2. Проростання ооспори *Phytophthora infestans* гіфою з термінальним зооспоровієм



*Типи спарювання *Phytophthora infestans* в умовах західного Лісостепу України в 2009–2010 рр.*

Місце відбору ізолятів	Співвідношення типів спарювання			
	2009 р.		2010 р.	
	шт.	%	шт.	%
м. Дубляни	79:24	76,7:23,3	83:28	74,8:25,2
м. Оброшино	85:22	79,4:20,6	86:31	73,5:26,5
Середнє	164:46	78,1:21,9	169:59	74,1:25,9

вах західного Лісостепу України в 2009 р. становило 78:22%.

У 2010 р. в умовах західного Лісостепу України співвідношення типів спарювання становило 74:26%. Зокрема, у «Дублянській» популяції співвідношення ізолятів склало 83:28 шт. і 74,8:25,2%, а в «Оброшинській» — 86:31 шт. і 73,5:26,5%. Виходячи з особливостей морфологічних структур досліджених ізолятів можемо зробити висновок, що менша частка ізолятів належала до  $A_2$  т. с. Таким чином, в умовах західного Лісостепу України відбулося збільшення частки ізолятів  $A_2$  т. с. у 2010 р. на 4% у порівнянні з результатами 2009 р.

### ВИСНОВКИ

За результатами досліджень, проведених протягом 2009–2010 рр., на території західного Лісостепу України у популяціях гриба *Phytophthora infestans*, який розвивається на картоплі, присутні обидва типи спарювання —  $A_1$  і  $A_2$ . При цьому відбулося збільшення частки ізолятів, які належать до  $A_2$  типу спарювання, з 22% у 2009 р. до 26% — у 2010 р. На-

явність у популяціях збудника міцелію, який належить до різних типів спарювання, забезпечує патогену можливість здійснювати статеве розмноження, що створює більшу генетичну різноманітність всередині виду, і, відповідно, зростання вірулентності й агресивності збудника по відношенню до картоплі. Виходячи з цього, ооспори, які утворює збудник в умовах західного Лісостепу України, можуть бути результатом статевого відтворення патогена, яке відбувається між гаметангіями міцеліїв різних типів сумісності.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Баджурак О.В. Фитофтороз томатів. Самофертильні ізоляти *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary — збудника хвороби в країні / О.В. Баджурак // Захист рослин — 2003. — №1. — С. 17.
2. Защита картофеля / Под ред. Ю.Б. Журовенкова // Защита картофеля и овощных культур. Приложение к журналу «Защита и карантин растений». — 2000. — № 4. — С. 1–13.
3. Изменение состава популяции *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary на территории России в 90-е годы по данным анализа митохондриальной ДНК / [Ю.В. Малеева, Д.Г. Наумов, С.П. Яцентюк и др.] // Генетика. — 1999. — Т.35. — № 9. — С. 1173–1181.
4. Методические указания по изучению

внутривидового разнообразия возбудителя фитофтороза и полевой устойчивости картофеля / [сост. А. И. Чумакова, Г.И. Локтинова, Е.Д. Коваленко и др.]. — М.: Колос, 1979. — 16 с.

5. Основные методы фитопатологических исследований / [А.Е. Чумаков, И.И. Минкевич, Ю.И. Власов и др.] — М.: Колос, 1974. — 192 с.

6. Birch P.R.J. *Phytophthora infestans* enters the genomics era / P.R.J. Birch, S.C. Whisson // Molecular Plant Pathology. — 2001. — Vol. 2. — № 5. — P. 257–263.

7. Characterization of Isolates of *Phytophthora infestans* from Southern and Southeastern Brazil from 1998 to 2000 / [A. Reis, C. D. Smart, W. E. Fry, et al.] // Plant Disease. — 2003. — Vol. 87. — № 8. — P. 896–900.

8. Goodwin S.B. Origin of the  $A_2$  Mating Type of *Phytophthora infestans* Outside Mexico / S.B. Goodwin, A. Drenth // Phytopathology. — 1997. — Vol. 87. — № 10 — P. 992–999.

9. Jaimasit P. Characterization of *Phytophthora infestans* population in potato crops from Chiang Mai and Tak Provinces / P. Jaimasit, W. Prakob // Journal of Agricultural Technology. — 2010. — Vol. 6. — P. 117–125.

10. Lehtinen A. Oospores of *Phytophthora infestans* in soil provide an important new source of primary inoculum in Finland / A. Lehtinen, A. Hannukkala // Agricultural and Food Science. — 2004. — Vol. 13. — P. 399–410.

11. Rich A.E. Potato Diseases / A.E. Rich. — London : Academic Press, 1983. — 238 p.

12. Simulation of Potato Late Blight in the Andes. II: Validation of the LATEBLIGHT Model / [J.L. Andrade-Piedra, R.J. Hijmans, H.S. Juarez, et al.] // Phytopathology. — 2005. — Vol. 95. — № 10 — P. 1200–1208.

13. Sujkowski L.S. The Influence of Temperature on *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary / L.S. Sujkowski // Journal of Phytopathology. — Vol. 120. — № 3. — P. 271–275.

14. The Population Structure of *Phytophthora infestans* from the Toluca Valley of Central Mexico Suggests Genetic Differentiation Between Populations from Cultivated Potato and Wild *Solanum* spp. / [W.G. Flier, N.J. Grunwald, L.P.N.M. Kroon, et al.] // Phytopathology. — 2003. — Vol. 93. — № 4 — P. 382–390.

**Лесовой М.П.,  
Голячук Ю.С.**

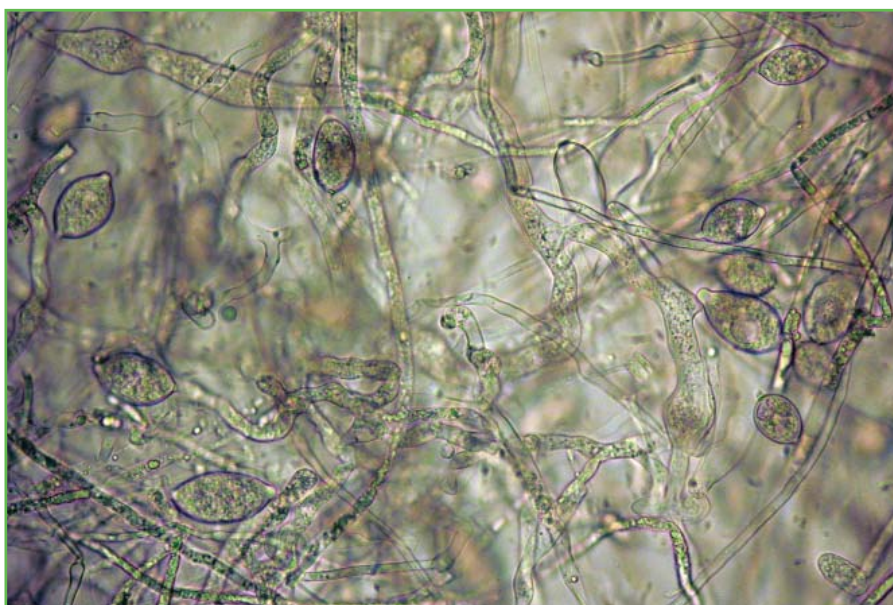
**Особенности размножения гриба *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary — возбудителя фитофтороза картофеля в условиях Западной Лесостепи Украины**

*Установлено присутствие в популяциях возбудителя фитофтороза картофеля *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary* изолятов, принадлежащих к разным типам спаривания ( $A_1$  и  $A_2$ ), в условиях Западной Лесостепи Украины.

**Lisovi M.,  
Holyachok Y.**

**Features of a reproduction of fungi *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary — the causal organism of a late blight of potato in conditions of the western Forest-steppe of Ukraine.**

*Presence at populations of the causal organism of late blight of potato *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary isolates, belonging to different mating types ( $A_1$  и  $A_2$ ), in the conditions of the western Forest-steppe of Ukraine are established.*



*Рис. 3. Морфологічні структури *Phytophthora infestans*, що належать до різних типів спарювання (збільшення × 400)*