

Оптимизация способа заражения растений огурца для экспресс-оценки устойчивости к ВЗКМО

Selection of an express method for infecting cucumber plants to assess the resistance to CGMV

Теплякова Д.Д., Шевкунов В.Н.

Аннотация

На сегодняшний день остается актуальной проблема потери урожая вследствие поражения гибридов огурца вирусом зеленой крапчатой мозаики огурца (ВЗКМО). Наиболее эффективным методом профилактики является выбор устойчивых гибридов, при создании которых в ходе селекционного процесса нужно учитывать непрерывную изменчивость вируса. В связи с этим нужно регулярно проводить оценку селекционного материала на устойчивость к нему. Перед нами была поставлена задача оптимизировать селекционный процесс, подобрав способ экспресс-оценки устойчивости и восприимчивости растений огурца к ВЗКМО, на искусственно созданном инфекционном фоне, при внедрении современных устойчивых и толерантных гибридов. Опыт был заложен в трех повторностях. Изучено 8 образцов: родительские линии и два стандарта восприимчивый – F₁ Кибрия и устойчивый – F₁ Verdon. Родительские линии подбирали по степени устойчивости исходя из суммарных результатов оценки, проведенных в теплицах в разных оборотах на естественном инфекционном фоне. Подобрали по две устойчивые, толерантные или слабо восприимчивые и не устойчивые линии. Материал высевали в кассеты для рассады, с торфяным грунтом в каждой делянке было по 20 растений, из которых 16 заражали, а четыре растения оставляли в качестве контроля, необработанными. Проанализировав четыре способа заражения растений (капля в точку роста, втирание инокулюма в одну семядолю; втирание инокулюма в две семядоли; втирание в две семядоли и капля в точку роста) пришли к выводу, что, степень поражения прямо зависит от дозы инокулюма, а самый высокий уровень эффективности показал способ втирания инокулюма в семядоли. При других способах эффективность снижается, то есть с увеличением инфекционной нагрузки уменьшается контрастность реакций, так, как и у устойчивых образцов проявляются признаки ВЗКМО. Практическое применение данной методики позволило выбрать Модель 5629/22, как перспективный, урожайный, современный гибрид, толерантный к ВЗКМО.

Ключевые слова: огурец, ВЗКМО, искусственный инфекционный фон.

Для цитирования: Теплякова Д.Д., Шевкунов В.Н. Оптимизация способа заражения растений огурца, для экспресс-оценки устойчивости к ВЗКМО // Картофель и овощи. 2024. №7. С. 37-40. <https://doi.org/10.25630/PAV.2024.90.27.003>

В сельском хозяйстве на сегодняшний день остается актуальной проблема потери урожая от болезней и вредителей. Одна из главных целей селекционной работы, наряду с высокой продуктивностью и качеством – создание конкурентоспособных, генетически устойчивых сортов и гибридов.

Культура огурца – не исключение [1, 2]. Наиболее агрессивным является вирус зеленой

Teplyakova D.D., Shevkunov V.N.

Abstract

Today, the problem of crop loss due to damage to cucumber hybrids by the cucumber green mottled mosaic virus (CGMV) remains very urgent. The most effective method of prevention is the selection of resistant hybrids. When creating them during the breeding process, the continuous adaptability of the virus must be taken into account; therefore, it is necessary to regularly evaluate the breeding material for resistance to diseases and pests. We were tasked with optimizing the breeding process in our conditions by selecting a method for rapid assessment of the resistance and susceptibility of cucumber plants to IBD, on an artificially created infectious background, to create modern stable and tolerant hybrids of cucumber plants to CGMV, against an artificially created infectious background. The experience was laid down in three repetitions. 8 samples were studied: parent lines and two standards susceptible – F₁ Kibria and stable – F₁ Verdon. The parent lines were selected according to the degree of resistance based on the total results of the assessment carried out in greenhouses in different turns on a natural infectious background. Two stable, tolerant or weakly receptive and unstable lines were selected. The material was sown in cassettes for seedlings, with peat soil. In each plot there were 20 plants, of which 16 were infected, and four plants were left untreated as a control. Having analyzed four methods of infecting plants (1 – dripped into the growing point, 2 – rubbed the inoculum into one cotyledon, 3 – rubbed into two cotyledons and 4 – buried into the growing point and rubbed into two cotyledons) we came to the conclusion that the highest level of effectiveness showed the second method. In the third and fourth methods, the effectiveness decreases, that is, with an increase in the infectious load, objectivity is lost, since resistant samples show signs of CGMV. The Model 5629/22 was chosen as a promising, productive, modern tolerant hybrid to the CGMV.

Key words: cucumber, CGMV, artificially created infectious background.

For citing: Teplyakova D.D., Shevkunov V.N. Selection of an express method for infecting cucumber plants to assess the resistance to CGMV. Potato and vegetables. No7. Pp. 37-40. <https://doi.org/10.25630/PAV.2024.90.27.003> (In Russ.).

крапчатой мозаики огурца (ВЗКМО) [3]. При поражении этим вирусом растения становятся угнетенными, молодые листья – плохо развитыми с темными, выпуклыми, неровными пятнами [4]. Распространение вируса происходит многими способами, самым опасным из которых – зараженный семенной материал. Наиболее эффективный метод профилактики ВЗКМО – выбор гибридов, устойчивых к вирусным заболеваниям [5, 6].

При создании таких гибридов в ходе селекционного процесса нужно учитывать непрерывную изменчивость вируса и регулярно оценивать селекционный материал на устойчивость к болезням и вредителям. Оценивать и изучать образцы необходимо не только на естественном фоне, так как условия для размножения и развития патогенов из года в год отличаются, но и создавать искусственный инфекционно-провокационный фон в оптимальных для развития болезни условиях.

При работе на искусственном инфекционном фоне нужно учитывать, что на результаты заражения растений влияет несколько факторов. Это плотность инокулюма, которую называют инфекционной нагрузкой. При оценке устойчивости стремятся создавать оптимальную инфекционную нагрузку, которая даст наибольшее проявление болезни в данных условиях. Также важна равномерность концентрации инокулюма при обработке растений. Внешние факторы – температура, влажность воздуха и т.д., – тоже влияют на скорость развития патогена [7].

Цель нашей работы – подобрать оптимальный способ заражения растений огурца ВЗКМО на искусственно созданном инфекционном фоне, для ускорения процесса отбора слабовосприимчивых и устойчивых селекционных образцов.

Условия, материалы и методы исследований

В 2023 году на базе ООО «НИИСОК» в г. Крымске был заложен опыт по подбору способа заражения растений огурца ВЗКМО на искусственно созданном инфекционном фоне.

Опыт был заложен в трех повторностях. Изучено 8 образцов: родительские линии и два стандарта восприимчивый – F₁ Кибрия и устойчивый – F₁ Verdon. Родительские линии подбирали по степени устойчивости, исходя из суммарных результатов оценки, проведенных в теплицах в разных оборотах на естественном инфекционном фоне. Подобрали по две устойчивые, толерантные или слабо восприимчивые и неустойчивые линии. Материал высевали в кассеты для рассады, с торфяным грунтом В каждой деланке было по 20 растений, из которых 16 заражали, а четыре растения оставляли в качестве контроля, необработанными.

Заражение проводили в фазу трехдневных семядолей [8]. Для искусственного заражения был выбран метод механической инокуляции соком пораженных растений. Данный способ является очень простым и действенным, что не раз подтверждалось в процессе работы. Собранные молодые листья с четко проявленными признаками ВЗКМО растерли в фарфоровой ступке с добавлением 0,03М фосфатного буфера. Полученную суспензию использовали сразу после приготовления. Всего на 1 растение в среднем использовали около 0,3 мл суспензии [9].

Для изучения было выбрано четыре способа инокуляции: 1. капля в точку роста; 2. втирали инокулюм в одну семядолю; 3. втирали в две семядоли; 4. втирали в две семядоли и капали в точку роста. Степень поражения визуально независимо оценивали три сотрудника лаборатории селекции тыквенных культур, используя шкалу оценки, которую разработали и оптимизировали исходя из имеющихся литературных источников. Методику ВНИИССОК, изложенную в методических указани-

ях «Оценка и отбор огурца на устойчивость к вирусу зеленой крапчатой мозаики» [4], использовали как основу при оценке материала.

Оценку проводят по четырехбалльной шкале:

1 – отсутствие у растений визуальных симптомов болезни. Необходимо проверка на скрытое вирусносительство;

2 – слабая мозаичная расцветка верхушечных листьев, задержка роста визуально незаметна;

3 – мозаика листьев среднего яруса, слабая гофрированность листьев, незначительная задержка роста;

4 – резко выраженная мозаика, сильная гофрированность и деформация листьев, поражена точка роста [4, 9].

Для ускорения селекционного процесса нам необходимо было разработать свой экспресс метод, который в сжатые сроки и на большом количестве образцов, позволит отбраковать сильно восприимчивый материал к ВЗКМО, до высадки растений в теплицы. Доработав методику ВНИИССОК, мы составили свою шкалу оценки, где

0 – отсутствие симптомов, обработанные растения равны контролю;

1 – балл, отсутствуют явные симптомы, но растения угнетены по сравнению с контролем;

2 – балла, явное поражение вирусом, то есть на самом молодом листе проявляются симптомы ВЗКМО.

Данная шкала разработана для оценки устойчивости в фазу 3-4 листа. Сроки выращивания оцениваемого материала были сокращены от всходов до появления первых симптомов вируса. В оптимальных условиях (температура окружающей среды 26-28 °С ночью и 30-35 °С днем) симптомы заражения проявлялись на 11 день после инокуляции [9, 10].

Результаты исследований

В ходе статистической обработки данных в каждом варианте рассчитали средний балл для каждого образца. Исходя из степени поражения растений ВЗКМО, было обнаружено явное различие между вариантами с разными методами заражения (табл. 1). Стандарты в каждом варианте подтвердили объективность проведения опыта, так как устойчивый стандарт F₁ Verdon получил минимальные баллы или поражения не было вовсе, а восприимчивый стандарт F₁ Кибрия значительно поразился вирусом в каждом варианте.

Самый низкий балл поражения отмечен при способе, когда капали инокулюм в точку роста, средний балл составил 0,17. Из 8 образцов можно выделить только два образца: невосприимчивый стандарт F₁ Verdon и линия Б111 признаки отсутствовали. У остальных линий не было признаков поражения, но некоторые растения были немного угнетены (молодые листья были сморщены).

Во втором варианте инокулюм втирали в одну семядолю, и признаки были более выражены, чем в первом варианте. Средний балл 0,48, поражение было слабое. На общем фоне четко выделились устойчивые образцы. Разница между неустойчивыми и толерантными несущественная, в каждой деланке были угнетенные растения, но четких признаков поражения не было.

В третьем и четвертом варианте степень поражения была более высокой, и все образцы

Таблица 1. Результаты заражения ВЗКМО родительских линий разными способами, 2023 год

Название	Степень поражения образцов, балл			
	капали в точку роста	втирали в 1 семядолю	втирали в две семядоли	втирали в две семядоли и капали в точку роста
St F ₁ Verdon	0,00	0,13	0,15	0,17
Б111	0,00	0,11	0,15	0,23
ДК123	0,11	0,00	0,17	0,25
ДН222	0,23	0,50	0,70	0,90
К123	0,30	0,70	0,90	1,00
КР333	0,23	0,70	1,40	1,08
БР222	0,15	0,70	1,54	1,73
St F ₁ Кибрия	0,32	1,00	1,20	1,30
Средний балл	общий	0,17	0,48	0,78
	восприимчивых	0,23	0,80	1,38
	устойчивых	0,04	0,08	0,16
Эффективность*	6,4	10,0	8,8	6,3

* Отношение суммы средних арифметических восприимчивых генотипов к сумме средних арифметических устойчивых генотипов.

можно было четко разделить на группы и выделить устойчивые: от 0,15 до 0,25 баллов Б111 и ДК123, были отмечены единичные угнетенные растения, толерантные – от 0,7 до 1 ДН222 и К123, явных признаков поражения вирусом не было, но значительная часть растений была угнетена в сравнении с контролем, и неустойчивые от 1,08 и выше КР333 и БР222; встречались растения с явным поражением ВЗКМО. Разница между устойчивыми и не устойчивыми была существенной.

Для каждого способа заражения рассчитали эффективность. Самый высокий уровень эффективности показал второй способ. Исходя из результатов можно сделать вывод, что во втором варианте сочетаются оптимальные условия для оценки устойчивости на искусственно созданном фоне. Самое важное это инфекционная нагрузка, позволяющая четко разделить устойчивые и восприимчивые образцы. В третьем и четвертом способе эффективность снижается, то есть с увеличением инфекционной нагрузки уменьшается контрастность, так, как и у устойчивых образцов тоже проявляются признаки ВЗКМО. Скорее всего, во втором варианте требовалось больше времени для того, чтобы симптомы поражения проявились сильнее. Но так как мы разрабатываем экспресс метод, то для своей дальнейшей работы мы выбрали третий способ, позволяющий в оптимальные сроки, с минимальными трудозатратами, (в отличие от четвертого способа) получить результаты, четко показывающие устойчивые, слабовосприимчивые и неустойчивые образцы.

Несколько опытов позволили определить, что второй способ более эффективен в условиях, максимально благоприятных для развития ВЗКМО. Но

при изменении условий, например, при снижении температуры, нужно повышать дозу инокулюма, как в третьем способе.

Применяя выбранный экспресс метод оценки устойчивости к ВЗКМО, удалось значительно ускорить процесс создания устойчивых гибридов, наличие устойчивости у которых оценивали как на искусственно созданном фоне в фазу 3-4 настоящих листьев, так и на естественном фоне в процессе предварительного и конкурсного сортоиспытания на протяжении всего периода вегетации.



Модель 5629/22

Таблица 2. Урожайность партенокарпических короткоплодных бугорчатых гибридов огурца в пленочных теплицах, 2023-2024 годы

Название	Урожайность, кг/м ²			
	дата посева			
	весенний оборот		летне-осенний оборот	
	04.04.2023	01.04.2024	29.07.2023	27.07.2024*
Контроль	8,9	8,1	6,1	4,7
К-5629/22	10,2	8,4	6,9	5,8

* данные учета урожайности на 9.10.2024, сборы продолжаются.

По результатам испытаний особо была отмечена Модель 5629/22 (**рис.**), которая на искусственно созданном фоне проявила толерантность: на зараженных растениях не было отмечено явных симптомов ВЗКМО, лишь на некоторых растениях проявилось незначительное изменение формы и поверхности листьев: стали немного сморщенными. А на естественном фоне, в пленочных теплицах при выращивании и в весеннем и летне-осеннем оборотах признаков поражения ВЗКМО вообще не обнаружили. Также Модель 5629/22 отвечает всем требованиям рынка в сегменте партенокарпических короткоплодных бугорчатых гибридов огурца: партенокарпический гибрид; для весеннего и летне-осеннего оборота; средний срок созревания; хорошая сила роста; листовая пластина больше среднего, насыщенно зеленой окраски; в узле закладывается 1-2 завязи, средняя длина междоузлий 8-9 см; плод 14-16 см, средняя масса плода 110-120 г, зеленая насыщенно темно-зеленой окраски; бугорки довольно крупные, частые, четкие; форма плода цилиндрическая; устойчивость: к мучнистой росе, толерантность к ВЗКМО.

Учет урожая проводили в 2023 и 2024 годах в пленочных теплицах в весеннем и летне-осеннем оборотах (**табл. 2**). По результатам конкурсного сортоиспытания Модель 5629/22 превысила по уровню урожайности выбранный контроль – востребованный у фермеров гибрид для выращивания в пленочных теплицах. Также особо отметили высокую товарность, качество плодов, пригодных для длительного хранения и транспортировки.

Выводы

Проанализировав четыре способа заражения растений (капля в точку роста, втирание инокулюма в одну семядолю; втирание инокулюма в две семядоли; втирание в две семядоли и капля в точку роста) пришли к выводу, что, степень поражения прямо зависит от дозы инокулюма, а самый высокий уровень эффективности показал способ втирания инокулюма в семядоли. Практическое применение данной методики позволило выбрать Модель 5629/22, как перспективный, урожайный, современный гибрид, толерантный к ВЗКМО.

Библиографический список

- 1.Ахатов А.К., Ахатов Е.А. Наиболее вредоносные болезни овощных культур в современных тепличных комбинатах // Гавриш. 2014. №3. С. 16–23.
- 2.Истомина Е.А., Коростылева Т.В., Конопкин А.А. и др. Защита огурца от вирусной инфекции // Гавриш. 2016. №6. С. 56–61.
- 3.Плотников К.О., Пашковский С.Е. Изучение зависимости вирусной нагрузки и проявляющихся симптомов вируса зеленой крапчатой мозаики огурца // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых: сборник материалов VII международной научно-практической конференции. Новосибирск, 2019. С. 100–103.
- 4.Юрина О.В., Настенко Н.В., Черемушкина Н.П., Можаяева К.А. Методические указания: «Оценка и отбор огурца на устойчивость к вирусу зеленой крапчатой мозаики». М.: Агропромиздат, 1990. 17 с.
- 5.Истомина Е.А., Андреева Э.Н., Славохотова А.А. и др. Вакцинация – эффективный способ защиты растений от вируса зеленой крапчатой мозаики огурца // Гавриш. 2014. №4. С. 41–45.
- 6.Гордеева Е.И., Крюкова А.В., Курбатова З.И. Иммунитет растений: учебное пособие. Великие Луки, 2011. С. 101–118.
- 7.Растения огурца, устойчивые к заболеваниям. Номер патента: RU2418405C2. [Электронный ресурс]. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2418405C2/ru/> Дата обращения: 17.10.2024/
- 8.Григоровская П.И. Установление инфекционности заболевания [Электронный ресурс]. URL: https://www.pesticidy.ru/dictionary/Establishing_the_infectivity_of_the_disease. Дата обращения 10.12.2022.
- 9.Гринко Н.Н., Зеленая крапчатая мозаика огурцов в защищенном грунте // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2005. №1. С. 53–55.
- 10.Ахатов А.К. Мир огурца глазами фитопатолога. М.: Тов-во науч. изданий «КМК», 2020. 132–135 с.

Reference

- 1.Akhatov A.K., Akhatov E.A. The most harmful diseases of vegetable crops in modern greenhouse plants. Gavrish. 2014. No3. Pp. 16–23 (In Russ.).
- 2.Istomina E.A., Korostyleva T.V., Konopkin A.A. et al. Protection of cucumber from viral infection. Gavrish. 2016. No6. Pp. 56–61 (In Russ.).
- 3.Plotnikov K.O., Pashkovsky S.E. Study of the dependence of the viral load and the manifesting symptoms of the cucumber green mottled mosaic virus. Newest directions in the development of agricultural science in the works of young scientists: collection of materials of the VII international scientific and practical conference. Novosibirsk. 2019. Pp. 100–103 (In Russ.).
- 4.Evaluation and selection of cucumber for resistance to green mottled mosaic virus: guidelines: O.V. Yurina, N.V. Nastenka, N.P. Chermushkina, K.A. Mozhaeva Moscow. Agropromizdat. 1990. 17 p. (In Russ.).
- 5.Istomina E. A., Andreeva E. N., Slavokhotova A. A. et al. Vaccination is an effective way to protect plants from cucumber green mottled mosaic virus. Gavrish. 2014. No4. Pp. 41–45 (In Russ.).
- 6.Gordeeva E.I., Kryukova A.V., Kurbatova Z.I. Plant immunity: textbook. Velikie Luki. 2011. Pp. 101–118 (In Russ.).
- 7.Disease resistant cucumber plants. Patent number: RU2418405C2 [Web resource]. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2418405C2/ru/> Access date: 17.10.2024/
- 8.Grigorovskaya P.I. Establishing the infectivity of a disease. [Web resource]. URL: https://www.pesticidy.ru/dictionary/Establishing_the_infectivity_of_the_disease. Access date: 12.10.2022 (In Russ.).
- 9.Grinko N.N., Green speckled mosaic of cucumbers in protected ground, Bulletin of the Russian Academy of Agricultural Sciences. 2005. No1. Pp. 53–55 (In Russ.).
- 10.Akhatov A.K. The world of cucumber through the eyes of a plant pathologist. Moscow. Society of Scientific publications KMK. 2020. Pp. 132–135 p. (In Russ.).

Об авторах

Теплякова Дарья Дмитриевна, н.с. E-mail: ira.kalinovskaya@mail.ru. Тел.: +7 (928) 247-64-94.
Шевкунов Валерий Николаевич, зам. директора по науке. E-mail: vshevkunov@mail.ru. Тел.: +7 (928) 282-82-21.
ООО «НИИСОК»

Author details

Tepliyakova D.D., research fellow. E-mail: ira.kalinovskaya@mail.ru. Phone: +7 (928) 247-64-94.
Shevkunov V.N., deputy director for science. E-mail: vshevkunov@mail.ru. Phone: +7 (928) 282-82-21.
LLC «Research Institute of Vegetable Breeding»



Подписано к печати 05.11.24. Формат А4. Бумага глянцевая мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 7,4. Заказ №2405. Отпечатано в ГБУ РО «Рязанская областная типография» 390023, г.Рязань, ул.Новая, д 69/12. Сайт: www.ryazanskaya-tipografiya.rf. E-mail: ryazan_tip@bk.ru. Телефон: +7 (4912) 44-19-36