

Г Р И Б Ы — В О З Б У Д И Т Е Л И Б О Л Е З Н Е Й Р А С Т Е Н И Й

УДК 632.4.01/08 : 582.244.2

© М. А. Кузнецова,¹ Б. Е. Козловский,¹ М. П. Бекетова,² Е. А. Соколова,² О. П. Малюченко,^{2,3}
Я. И. Алексеев,^{2,3} Е. В. Rogozina,⁴ Э. Е. Хавкин²ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ИЗОЛЯТОВ *PHYTOPHTHORA INFESTANS*, СОБРАННЫХ С УСТОЙЧИВЫХ
И ВОСПРИИМЧИВЫХ ГЕНОТИПОВ КАРТОФЕЛЯKUZNETSOVA M. A., KOZLOVSKY B. E., BEKETOVA M. P., SOKOLOVA E. A.,
MALYUCHENKO O. P., ALEKSEEV Ya. I., ROGOZINA E. V., KHAVKIN E. E. PHYTOPATHOLOGICAL
AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF *PHYTOPHTHORA INFESTANS* ISOLATES COLLECTED
ON RESISTANT AND SUSCEPTIBLE POTATO GENOTYPES¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Московская обл., Россия² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия³ Закрытое акционерное общество «Синтол», Москва, Россия⁴ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия¹ Institute of Phytopathology, Moscow Region, Russia² Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia³ Joint Stock Company Syntol, Moscow, Russia⁴ Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

rogozinaelena@gmail.com

В последние годы в составе западноевропейских популяций *Phytophthora infestans* появились новые агрессивные штаммы, которые преодолевают высокую устойчивость многих популярных сортов картофеля. Эти штаммы быстро продвигаются к востоку, вытесняя ранее известные формы этого патогена. Чтобы оценить возможные изменения в популяциях *Ph. infestans* в Северо-Западной России, мы провели в 2013—2014 гг. пилотные опыты по изучению изолятов, выделенных из листьев образцов полевой коллекции картофеля Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (Пушкин, Ленинградская обл.). Отличительной особенностью работы являлась совершенно новая постановка вопроса о связи колонизации генотипов картофеля, различающихся по устойчивости растений к патогену, с агрессивностью линий патогена. Генотипирование по 12 микросателлитным локусам выявило заметные различия между изолятами из Пушкина и изолятами, собранными в Лужском р-не Ленинградской обл. в 2008 г., при этом обе группы изолятов отличались от высокоагрессивных штаммов, описанных в Западной Европе. Среди пушкинских изолятов преобладал А2 тип спаривания; изоляты А2 типа были чувствительны к металаксилу. Агрессивность штаммов, выделенных из листьев генотипов картофеля с высокой устойчивостью к фитофторозу, была заметно ниже, чем у штаммов, выделенных с более восприимчивых растений. Показатели агрессивности патогена не были явным образом связаны с набором генов вирулентности у исследованных изолятов.

Ключевые слова: *Phytophthora infestans*, фитофтороз картофеля, SSR генотипирование, А1/А2 типы спаривания, агрессивность.

Recently new aggressive lineages have emerged in the West European populations of *Phytophthora infestans* and have overcome many elite potato varieties known for high late blight resistance. These lineages have rapidly moved eastward displacing the previously known strains of the pathogen. To evaluate the changes in *Ph. infestans* populations which spread across the North-Western Russia, we have realized in 2013—2014 two pilot experiments with isolates obtained from leaves collected in the field potato plots of the Pushkin laboratories of the N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR) in the Leningrad Region of Russia. In this study the phytopathologic characteristics of Pushkin isolates of *Ph. infestans* were supplemented, for the first time, with the molecular evidence. Potato leaves naturally infected with *Ph. infestans* were collected from variety Sarpo Mira, which manifested high level of late blight resistance in the European countries, and several interspecific hybrid clones from the VIR collection. The ability of the pat-

hogen to damage various potato genotypes was evaluated in field and laboratory trials. *R*-gene virulence phenotypes, mating type, aggressiveness and response to fungicide metalaxyl were assessed. Mating type identification was based on the oospore development and the presence of CAPS marker. The microsatellite analysis of *Ph. infestans* isolates was conducted using the established set of primers for 12 SSR loci. We have confirmed the previously observed tendency for complexity of the race profile in the Pushkin population of *Ph. infestans* and enhanced proportion of A2 genotypes, which is consistent with the general trend observed in the Western and Central Europe up to 2013. The isolates with A2 mating type were sensitive to metalaxyl. Indices of aggressiveness of strains collected from the leaves of potato genotypes highly resistant to late blight were significantly lower than in the case of more susceptible varieties. The indices for aggressiveness did not expressly match the profiles of virulence genes in the isolates. We presume that in 2013, isolates of *Ph. infestans* were collected late in the season when only resistant and moderately resistant potato plants stayed alive. In 2014, at the earlier stage of late blight progression, we also collected more aggressive isolates from susceptible potato genotypes. In the 2013 and 2014 sets of Pushkin isolates, we have not discerned the aggressive genotypes from the Western Europe.

Key words: *Phytophthora infestans*, potato late blight, SSR genotyping, A1/A2 mating types, aggressiveness.

Оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary является возбудителем фитофтороза, наиболее вредоносной болезни картофеля (Fry, 2008; Haverkort et al., 2008). В последние три десятилетия появление изолятов с типом спаривания A2 в Европе и США привело к возникновению новых генотипов *Ph. infestans* (Dyakov, Elanskiy, 2007; Fry, 2008; Fry et al., 2015). Самым ярким примером быстрого изменения состава популяций патогена стало распространение в Великобритании, Нидерландах и других странах Западной Европы (Cooke et al., 2012; Lees et al., 2012; Li et al., 2012), а также в Индии (Chowdappa et al., 2013, 2015) и Китае (Li et al., 2013b) чрезвычайно агрессивных клонов, среди которых выделяются клоны 13_A2 («голубой 13»), 6_A1 («розовый 6») и несколько других генотипов. Доля клона 13_A2 в популяции *Ph. infestans* достигала 75 % в некоторых странах Европы (Cooke et al., 2012) и 100 % в Южной Индии (Chowdappa et al., 2015). Новые генотипы *Ph. infestans* преодолевают долговременную устойчивость многих популярных сортов картофеля (Lees et al., 2012). В Западной Европе наиболее агрессивный клон *Ph. infestans* — 13_A2 быстро вытесняет другие генотипы патогена и продвигается к востоку (Meier-Runge et al., 2014); в 2013 г. 13_A2 был обнаружен вблизи наших границ в Польше (Chmielarz et al., 2014; Meier-Runge et al., 2014).

Картофелеводство является одним из традиционных направлений сельскохозяйственного производства в Северо-Западном регионе России, а природно-климатические условия Ленинградской обл. благоприятны для семеноводства. Ежегодно регион импортирует и одновременно поставяет в другие области России партии семенного картофеля, в том числе зарубежной селекции. Данные многолетних наблюдений за фитосанитарным состоянием картофеля в Ленинградской обл. свидетельствуют о различном поражении посадок фитофторозом в зависимости от погодных условий года и чередования периодов эпифитотийного и депрессивного развития болезни. Ранее проводимый мониторинг выявил существенные изменения в популяциях *Ph. infestans* в Ленинградской обл. (Vedenyapina et al., 2002; Patrikeeva et al., 2011), включая популяции, представленные в посадках мировой коллекции картофеля ВИР, где представлено обширное генетическое разнообразие культурных и дикорастущих форм *Sola-*

num. Целью проведенных нами пилотных опытов было охарактеризовать изоляты *Ph. infestans*, которые способны паразитировать на генотипах картофеля, различающихся по уровню неспецифической устойчивости к фитофторозу.

Материалы и методы

Сбор растительного материала и выделение патогена в чистую культуру. Листья, пораженные фитофторозом, были собраны с генотипов картофеля, растущих в полевой коллекции картофеля ВИР (Пушкин, Ленинградская обл.). В 2013 г. листья были собраны в конце вегетационного сезона (29 августа); в 2014 г. симптомы поражения появились намного позже, и листья были собраны 2 сентября на более ранней стадии развития болезни. В качестве источника инфекционного материала использовали образцы клоновой коллекции межвидовых гибридов картофеля, созданных в ВИЗР или ВИР (Kolobaev, Rogozina, 2013; Rogozina et al., 2014), а также сорт Sargo Mira — один из немногих западноевропейских сортов картофеля, сохранивших в последние годы высокую полевую устойчивость к фитофторозу (Rietman et al., 2012). Собранные листья помещали между срезами клубней соответствующих генотипов картофеля и в этом виде перевозили во Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ, Большие Вяземы, Московская обл.). Для выделения *Ph. infestans* кусочки зараженных листьев помещали между стерилизованными спиртом и пламенем горелки ломтиками клубней восприимчивого сорта картофеля Bintje, свободного от известных *R* генов устойчивости к фитофторозу. Полученные «сэндвичи» переносили в стерильные чашки Петри с влажной фильтровальной бумагой под верхней крышкой и инкубировали 3—4 суток при 18—20 °С в термостате, к этому времени мицелий прорастал сквозь ломтики. Небольшие пробы мицелия переносили стерильной иглой на агаризованную овсяную среду. Чистые культуры сохраняли при 5 °С и раз в месяц пересевали на ту же среду.

Оценка устойчивости генотипов картофеля. В полевых условиях пушкинских лабораторий оценку проводили по общепринятой шкале «9—1» путем об-

следования посадок, начиная с момента первого появления симптомов заболевания и до окончания периода вегетации. В качестве контроля были использованы районированные сорта, различающиеся по срокам созревания и устойчивости к фитофторозу: Елизавета, Удача, Наяда и Петербургский. Во ВНИИФ для оценки использован экспресс-метод (Filiprov et al., 2004), основанный на совместном использовании искусственного заражения отделенных листьев картофеля и математической модели, имитирующей развитие фитофтороза при благоприятных метеорологических условиях и заданном уровне инфекции патогена. На каждом изучаемом генотипе картофеля измеряли основные параметры инфекционного цикла: результативность заражения, размер некрозов и продуктивность спороношения. Расчет потерь урожая по результатам измерений проводили с помощью компьютерной программы «Эпифтора», размещенной на сайте ВНИИФ: <http://vniif.ru/index.php>. Рассчитанные потери урожая переводили в баллы в соответствии с 9-балльной шкалой, где 9 — максимальный уровень устойчивости сортообразца.

Определение вирулентности изолятов *Ph. infestans*. Для этого использовали набор растений-дифференциаторов, полученный из Международного картофельного центра (CIP, Peru); этот набор включает 22 генотипа (г, R₁—R₁₁ и различные комбинации генов устойчивости). Изучение вирулентности изолятов *Ph. infestans* проводили в лабораторных условиях на отделенных долях листьев среднего яруса растений по общепринятой методике (Statsyuk et al., 2010).

Определение типа совместимости изолятов *Ph. infestans*. Для этого изоляты *Ph. infestans* высевали попарно с тестерными штаммами 2К (A1) и 48К (A2) в чашки Петри на ржано-овощной агар на расстоянии 4—5 см друг от друга. Штамм *Ph. infestans* 2К (A1) был получен в 1970 г. из Германии, штамм 48К (A2 типа спаривания) выделен в 2009 г. в Смоленской обл. После инкубирования в темноте при 18 °С в течение 14 суток с помощью светового микроскопа определяли наличие или отсутствие ооспор в зоне контакта гиф между штаммами. Если исследуемый изолят образовывал ооспоры только со штаммом 48К и не образовывал их со штаммом 2К, то его относили к типу спаривания A1. Если исследуемый изолят образовывал ооспоры с 2К и не образовывал их с 48К, то его относили к типу спаривания A2. В случае, если исследуемый изолят образовывал ооспоры с обоими тестерами, его учитывали как A1A2, если ооспоры появлялись в монокультуре, его считали самофертильным.

Определение устойчивости изолятов *Ph. infestans* к металаксилу. Для этого оценивали спороношение изолятов на дисках из клубней картофеля сорта Santé, обработанных 1, 10 и 100 мг/л растворами фунгицида. В чашки Петри на бумажные фильтры, смоченные дистиллированной водой (контроль) или фунгицидом, помещали по 10 дисков (3 × 10 мм). На каждый диск наносили каплю (10 мкл) суспензии зооспорангиев тестируемого изолята. После инкубирования в темноте при 18—20 °С в течение 6—7 суток отмечали наличие спороношения на инкубированных

дисках. Изолят считался чувствительным к металаксилу (susceptible, S), если спороношение было полностью подавлено при концентрации фунгицида 1 мг/л; слабоустойчивым (intermediately resistant, IR), если спороношение отмечено при 1—10 мг/л, но отсутствует при 100 мг/л; устойчивым к металаксилу (resistant, R), если спороношение наблюдали при 100 мг/л.

Определение уровня агрессивности изолятов *Ph. infestans*. Этот показатель определяли методом Лапвуда (Lapwood, 1965) в модификации (Kuznetsova et al., 2014). В качестве эталона использовали клубни сорта Santé, инокулируемые изолятом N161 (выделен в Московской обл., состав генов вирулентности — 1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11, тип спаривания — A1, возраст культуры — 7—9 суток, концентрация — 5—7 конидий в поле зрения при увеличении ×100). Индекс восприимчивости клубней картофеля к фитофторозу определяли по формуле $X = (\sum a_i b_i) / n$, где X — индекс восприимчивости; a_i — средняя величина поражения относительно эталона (принимаемого равным 1), мм; b_i — средняя интенсивность спороношения относительно эталона (принимаемого равным 1), балл; n — количество заражений.

В соответствии с индексом восприимчивости клубней образцы картофеля ранжировали по группам фитофтороустойчивости (в баллах по 9-балльной шкале) и определяли уровень агрессивности изолятов *Ph. infestans*.

Методы анализа ДНК. Для определения типа спаривания использовали CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) маркер, предложенный Judelson et al. (1995), по протоколу Mazáková et al. (2010). Генотипы *Ph. infestans* идентифицировали с помощью 12 микросателлитных (simple sequence repeats, SSR) маркеров, следуя протоколу мультиплексного ПЦР анализа (Li et al., 2013a). Используемые при этом концентрации праймеров и специфичные красители (Синтол, Россия) указаны в табл. 1. Длины SSR фрагментов определяли, используя внутренний стандарт GeneScan-500LIZ (Applied Biosystems, США) и про-

Таблица 1

Концентрация SSR праймеров и специфические красители, использованные в мультиплексном ПЦР анализе пушкинских изолятов *Phytophthora infestans*

| SSR локусы | Красители | Конечная концентрация, µМ |
|------------|-----------|---------------------------|
| G11 | tamra | 0.30 |
| Pi02/SSR3 | tamra | 0.30 |
| SSR11 | tamra | 0.15 |
| D13 | fam | 0.30 |
| SSR8 | fam | 0.30 |
| SSR4 | fam | 0.05 |
| Pi04 | r6g | 0.05 |
| Pi70 | r6g | 0.05 |
| SSR6 | r6g | 0.05 |
| Pi63 | r6g | 0.05 |
| SSR2 | rox | 0.15 |
| Pi4B | rox | 0.30 |

грамму Peak Scanner Software v. 1.0, с помощью генетических анализаторов ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems) и Нанофор-05 (Институт аналитического приборостроения РАН) в Центре коллективного пользования научным оборудованием ВНИИСБ «Биотехнология». Для построения дендрограмм при филогенетическом анализе полученных данных использовали алгоритм Neighbor Joining и пакет программ PHYLIP v. 3.69 (Felsenstein, 1993).

Результаты и обсуждение

Особенности развития фитофтороза в 2013 и 2014 гг. В 2013 г. погодные условия летних месяцев были благоприятны для развития фитофтороза, и первые симптомы заболевания появились на восприимчивом сорте Bintje 30 июля. Растения районированных сортов-стандартов были полностью поражены фитофторозом во вторую (Петербургский) или третью (Наяда) декаду августа. Листья для выделения изолятов *Ph. infestans* собрали 29 августа с растений сорта Sargo Mira и девяти гибридных клонов картофеля, у которых инфекционным поражением было охвачено не более 50 % площади листовой поверхности.

В 2014 г. погодные условия в июле и августе в течение длительного периода времени препятствовали проявлению заболевания. Первые симптомы фитофтороза появились лишь в конце лета, когда резкое наступление прохладной погоды вызвало быстрое развитие инфекции, поэтому в начале сентября у сортов Петербургский и Наяда инфекционное поражение охватило 50—70 и 25—30 % площади листовой поверхности соответственно. В этот период у растений 12 гибридных клонов, с которых собирали листья для выделения изолятов *Ph. infestans*, отмечены единичные пятна фитофтороза или не более 25 % поражения площади листовой поверхности.

Устойчивость генотипов картофеля к пушкинской популяции *Ph. infestans*. Клоны межвидовых гибридов картофеля, использованные в качестве источника инфицированного материала, созданы путем сложных конвергентных скрещиваний и отборов на устойчивость к возбудителю фитофтороза (Kolobaev, Rogozina, 2013; Rogozina et al., 2014). В родословной каждого клона представлено от двух до шести дикорастущих клубноносных вида *Solanum*. Включение в селекционную программу нескольких источников устойчивости, представленных филогенетически различными видами *Solanum*, и постоянный отбор на высоком инфекционном фоне позволили создать гибридные клоны, обладающие горизонтальной устойчивостью к фитофторозу. В 2013 г. в условиях, благоприятных для развития инфекции, шесть гибридных клонов были умеренно устойчивы и три гибридных клон — умеренно восприимчивы к фитофторозу (табл. 2). Три клон, умеренно устойчивых в полевых условиях Пушкина (ВИР 194-4т, ВИР 93-5-30, Колобаев 10/05-09), по результатам лабораторного анализа были отнесены к категории умеренно восприимчивых. Данные о высокой устойчивости сорта Sargo Mira подтверждают

надежность оценки в полевом сезоне 2013 г. и лабораторном тестировании во ВНИИФ при создании «жесткого» инфекционного фона. В 2014 г. в условиях позднего проявления и быстрого развития заболевания в поле четыре гибридных клон были устойчивы, семь — умеренно устойчивы и один гибридный клон — умеренно восприимчив к фитофторозу (табл. 2).

Гены вирулентности и агрессивность изолятов. Исследованные в 2013 г. десять изолятов представляют собой семь рас с различным числом факторов вирулентности (табл. 2). У трех изолятов (87, 103 и 113) идентифицированы все 11 генов вирулентности, наименьшее число генов вирулентности (пять) — у изолята 4. Установлена высокая частота генов вирулентности — 1, 2, 3, 4, 10, 11, реже встречаются гены 5, 6, 7, 8, наименее распространенным является ген 9, обнаруженный лишь у четырех изолятов исследованной выборки. В 2014 г. девять исследованных изолятов представляли собой шесть рас, с числом генов вирулентности также от 5 до 11 (табл. 2). Наиболее распространена была раса 12345671011, идентифицированная у трех изолятов. Явное отличие изолятов 2014 г. — низкая частота генов вирулентности 8 и 9, которые выявлены только у изолята 28-14 — единственного, имевшего все гены вирулентности (табл. 2). Наши данные о частоте генов вирулентности в пушкинских изолятах 2013 и 2014 гг. согласуются с результатами изучения пушкинской популяции в эпифитотийном 2008 г., где в конце вегетации расовый состав был также представлен всеми известными генами вирулентности, из которых с наименьшей частотой встречались гены 5, 6 и 9 (Patrikeeva et al., 2011). Различия в частоте генов вирулентности у изолятов 2013 и 2014 гг. согласуются с хорошо известным явлением структурных различий в популяциях возбудителя в начальный период, в годы депрессивного развития или эпифитотийного проявления заболевания (Dyakov, Elanskiy, 2007).

При оценке агрессивности изолятов *Ph. infestans* по отношению к стандартному тест-набору сортов картофеля мы наблюдали широкий спектр изменчивости в диапазоне от высокой агрессивности до ее отсутствия. При сравнении результатов исследований в 2013 и 2014 гг. (табл. 3) отчетливо проявляется более высокая агрессивность изолятов в 2014 г.; по всей видимости, пробы патогена в 2014 г. были отобраны на более ранней стадии развития болезни. Однако способность некоторых изолятов, собранных в 2013 г. (4, 87, 103 и 106), поражать сорта-тестеры существенно варьирует в зависимости от генотипа сорта (табл. 3). Даже у эталонного изолята N 161 из коллекции ВНИИФ агрессивность на сортах Robijn, Gloria и Sargo Mira изменяется по годам (табл. 3).

В своих исследованиях мы не всегда наблюдали явную связь между числом генов вирулентности и агрессивностью изолятов *Ph. infestans*. Так, в 2013 г. изолят 113, несущий все 11 генов вирулентности, оказался наименее агрессивным в отношении большинства сортов-тестеров. Однако в 2014 г. такая связь была обнаружена у некоторых изолятов: высокоагрессивный изолят 28-14 нес все 11 генов вирулентности, а у сла-

Таблица 2

Изоляты *Phytophthora infestans*, собранные 29 08 2013 и 2 09 2014 в лабораториях ВИР, Ленинградская обл.

| Номер на дендрограмме | Изолят (номер и год отбора) | Гибриды картофеля, с которых собраны изоляты <i>Ph. infestans</i> | Устойчивость картофеля к фитофторозу* | Гены вирулентности изолятов <i>Ph. infestans</i> | Определение типа спаривания | | Устойчивость изолятов <i>Ph. infestans</i> к металаксилу** |
|-----------------------|-----------------------------|---|---------------------------------------|--|-----------------------------|-------------|--|
| | | | | | фитопатологический метод | CAPS маркер | |
| 20 | 2-13 | ВИР 194-4т | 7 УУ / 5 УВ | 12341011 | A2 | A2 | Ч |
| 21 | 4-13 | ВИР 117-2 | 5 УВ / 4 УВ | 234810 | A1 | A1 | Ч |
| 22 | 111-13 | Колобаев 38 | 7 УУ / 6,5 УУ | 12347891011 | A1A2 (A2) | A2 | Ч |
| 23 | 7-13 | ВИР 93-5-30 | 7 УУ / 4 УВ | 124561011 | A2 | A2 | Ч |
| 24 | 106-13 | ВИР 171-3 | 7 УУ / 6 УУ | 12345781011 | A1 | A1 | СУ |
| 25 | 103-13 | ВИР 163-6-2008 | 5 УВ / — | 1234567891011 | A1 | A2 | СУ |
| 26 | 132-13 | Колобаев 10/05-09 | 7 УУ / 4 УВ | 12341011 | A1A2 (A2) | A2 | Ч |
| 27 | 113-13 | Колобаев 50/1 | 7 УУ / 6,5 УУ | 1234567891011 | A1A2 (A2) | A2 | СУ |
| 28 | 131-13 | Sarpo Mira | 7 УУ / 7 УУ | 356781011 | A1 | A1 | СУ |
| 29 | 87-13 | ВИР 25-1-2007 | 5 УВ / 5 УВ | 1234567891011 | A2 | A2 | СУ |
| 30 | 7-14 | ВИР 93-5-30 | 7 УУ / 4 УВ | 124561011 | A1 | A1 | Ч |
| 32 | 18-14 | Колобаев 18/40-2000 | 6 УВ / 4 УВ | — | A1 | A1 | Ч |
| 34 | 36-14 | ВИР 91-19-3 | 8 У / — | 12345671011 | A2 | A2 | Ч |
| 35 | 43-14 | ВИР 160-17 | 8 У / — | 12367 | A2 | A2 | Ч |
| 36 | 53-14 | ВИР 34-5-2003 | 7 УУ / 5 УВ | 125671011 | — | A1 | Ч |
| 37 | 82-14 | ВИР 25-1-2007 | 7 УУ / 5 УВ | 12345671011 | A1 | A1 | Ч |
| 38 | 109-14 | ВИР 171-3 | 9 У / 6 УУ | 12345671011 | A1 | A1 | Ч |
| 39 | 118-14 | ВИР 27 | 7 УУ / 6 УУ | — | A1 | A1 | Ч |
| 40 | 119-14 | ВИР 118-5 | 8 У / 6 УУ | 12345671011 | A1 | A1 | Ч |
| 41 | 132-14 | Колобаев 12/1-09 | 7 УУ / 6 УУ | 12341011 | A2 | A1 | Ч |
| 42 | 133-14 | Колобаев 13/1-09 | 7 УУ / 5 УВ | — | A1 | A1 | Ч |
| 33 | 28-14 | ВИР 99-4-1 | 7 УУ / 4,5 УВ | 1234567891011 | A1 | A2 | Ч |
| | N161 (эталон) | Santé | 6 УВ / 4 УВ | 1234567891011 | A1 | — | Ч |

* Полевой анализ / лабораторный анализ, ВНИИФ, 2014 г.; указаны баллы и группы устойчивости: УУ — умеренно устойчивый, УВ — умеренно восприимчивый. ** Ч — чувствительный, У — устойчивый, СУ — слабоустойчивый.

боагрессивного изолята 43-14 мы нашли всего пять генов вирулентности (табл. 2 и 3).

Тип спаривания и устойчивость к металаксилу.

Результаты фитопатологического и молекулярного определения типа спаривания у изолятов из Пушкина в 2013 и 2014 гг. согласовались в подавляющем большинстве случаев (табл. 2). В 2013 г. 60—70 % изолированных генотипов принадлежали к А2 типу спаривания. Высокая доля А2 генотипов *Ph. infestans* среди пушкинских изолятов в 2013 г. согласуется с общей тенденцией, отмеченной в то же самое время в Западной и Центральной Европе (см.: Mazáková et al., 2010; Cooke et al., 2012; Chmielarz et al., 2014). Доминирование А2 генотипов в пушкинских популяциях *Ph. infestans* в годы эпифитотийного развития болезни было ранее выявлено при сравнительном изучении изолятов *Ph. infestans* из локальных популяций Ленинградской обл. (Vedenyarina et al., 2002; Patrikeeva et al., 2011). В этих опытах в оба года исследований (1998 и 2008 гг.) в пушкинской популяции наблюдалось преобладание А2 типа совместимости (60 %). Доля изолятов с А2 типом спаривания из Пушкина, по нашим данным, несколько выше уровня, отмеченного в посадках

картофеля в соседних Эстонии и Финляндии (Runno-Paurson et al., 2014). В Польше еще недавно преобладали изоляты с А1 типом спаривания, но в последние годы их вытеснили А2 генотипы (Chmielarz et al., 2014). У изолятов, собранных в Ленинградской обл. в 2008 г., наблюдали только А1 тип спаривания (Statyuk et al., 2014). Однако в 2014 г. доля А2 генотипов составляла только 20 %. В Польше эта доля в 2014 г. также пошла на убыль (Brylinska et al., 2015).

В изученной нами выборке 2013 г. три изолята (111, 113, 132) образовывали ооспоры с обоими изолятами-тестерами, поэтому они обозначены как А1А2. В 2014 г. таких изолятов мы не наблюдали. Небольшое количество изолятов, способных к спариванию с тестерами обоих типов совместимости, было обнаружено ранее в пушкинской популяции *Ph. infestans* (Patrikeeva et al., 2011), а также в популяциях из южных районов Бразилии (Santana et al., 2013), в Эстонии и Финляндии (Runno-Paurson et al., 2014).

В 2013 г. у половины изолятов из пушкинской популяции *Ph. infestans* обнаружена слабая устойчивость к металаксилу, остальные оказались чувствительны к этому фунгициду; в 2014 г. все изоляты были чувстви-

Таблица 3

Агрессивность изолятов *Phytophthora infestans* на сортах-тестерах

| Изолят | Santé | | Alpha | | Bintje | | Escort | | Esterling | | Robin | | Gloria | | Sarlo Mira | | Средний балл | Средний уровень агрессивности | |
|------------------|-------|-----|-------|-----|--------|-----|--------|-----|-----------|-----|-------|-----|--------|-----|------------|-----|--------------|-------------------------------|--|
| | 1* | 2** | 1* | 2** | 1* | 2** | 1* | 2** | 1* | 2** | 1* | 2** | 1* | 2** | 1* | 2** | | | |
| 2013 г. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7-14 | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 6 | CA | 3 | BA | 5 | YA | 3 | BA | 7 | CA | 4.1 | YA | |
| 53-14 | 5.5 | YA | 5 | YA | 3 | BA | 6 | CA | 3 | BA | 5 | YA | 3 | BA | 7 | CA | 4.7 | YA | |
| 28-14 | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 5 | YA | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 7 | CA | 3.7 | BA | |
| 36-14 | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 6 | CA | 3 | BA | 4.5 | YA | 4 | YA | 7 | CA | 4.2 | YA | |
| 43-14 | 5.5 | YA | 5 | YA | 4 | YA | 6 | CA | 5.0 | YA | 6 | CA | 5 | YA | 8 | HA | 5.6 | CA | |
| 82-14 | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 5 | YA | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 7 | CA | 3.8 | BA | |
| 109-14 | 5.5 | YA | 6 | CA | 3 | BA | 5 | YA | 3 | BA | 6.5 | CA | 4 | YA | 7 | CA | 5 | YA | |
| 118-14 | 6 | CA | 6 | CA | 5 | YA | 5 | YA | 5 | YA | 5.5 | YA | 4 | YA | 7 | CA | 5.4 | YA | |
| 119-14 | 5.5 | YA | 5.4 | YA | 3 | BA | 6 | CA | 3 | BA | 5.5 | YA | 4 | YA | 7 | CA | 4.9 | YA | |
| 132-14 | 4 | YA | 5.5 | YA | 3 | BA | 6 | CA | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 7 | CA | 4.3 | YA | |
| 133-14 | 5.5 | YA | 5.5 | YA | 4.0 | YA | 6 | CA | 4.5 | YA | 5.5 | YA | 4 | YA | 7 | CA | 5.3 | YA | |
| N161 (эталон) | 5.5 | YA | 3 | BA | 3 | BA | 5.5 | YA | 3 | BA | 4 | YA | 4 | YA | 7 | CA | 4.3 | YA | |
| 131-13 | 6 | CA | 5.4 | YA | 5 | YA | 7 | CA | 5 | YA | 6 | CA | 6 | CA | 7 | CA | 5.9 | CA | |
| Средние величины | 4.7 | YA | 4.5 | YA | 3.4 | BA | 5.7 | CA | 3.5 | BA | 4.8 | YA | 3.8 | BA | 7 | CA | | | |
| 2014 г. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4-13 | 6.9 | CA | 5.3 | YA | 3 | BA | 7 | CA | 3 | BA | 6.5 | CA | 5.4 | YA | 8 | HA | 5.6 | CA | |
| 106-13 | 5.4 | YA | 6.5 | CA | 5.2 | YA | 6 | CA | 3 | BA | 5.3 | YA | 4 | YA | 8 | HA | 5.4 | YA | |
| 103-13 | 5.4 | YA | 6.5 | CA | 5.4 | YA | 6 | CA | 3 | BA | 5.3 | YA | 5.4 | YA | 8 | HA | 5.6 | CA | |
| 132-13 | 5.3 | YA | 5.4 | YA | 5 | YA | 5 | YA | 3 | BA | 5.3 | YA | 5.4 | YA | 8 | HA | 5.3 | YA | |
| 113-13 | 8 | HA | 8 | HA | 8 | HA | 8 | HA | 5.3 | YA | 8 | HA | 8 | HA | 8 | HA | 7.6 | HA | |
| 131-13 | 7 | CA | 8 | HA | 7 | CA | 8 | HA | 6.5 | CA | 8 | HA | 7 | CA | 8 | HA | 7.4 | CA | |
| 87-13 | 5.4 | YA | 6.5 | CA | 4 | YA | 4 | YA | 3 | BA | 6.5 | CA | 4 | YA | 8 | HA | 5.1 | YA | |
| N161 (эталон) | 5.4 | YA | 3 | CA | 3 | CA | 5.3 | YA | 3 | BA | 3 | BA | 3 | BA | 8 | HA | 4.2 | YA | |
| Средние величины | 6.1 | CA | 6.1 | CA | 5 | YA | 6.1 | CA | 3.7 | YA | 5.9 | CA | 5.2 | YA | 8 | HA | | | |

Примечание. *1 — устойчивость сорта (по 9-балльной шкале); **2 — уровень агрессивности изолятов *Ph. infestans*: HA — неагрессивный, CA — слабоагрессивный, YA — умеренно агрессивный, BA — высокоагрессивный.

тельны к металаксилу (табл. 2). Сходная закономерность была характерна для изолятов, собранных в Ленинградской обл. в 2008 г. (Statsyuk et al., 2014). По мнению Gisi et al. (2011) и Runno-Paurson et al. (2014), фенотипические и генетические исследования не позволяют считать A2 тип спаривания и устойчивость к металаксилу сцепленными признаками. Стоит отметить, что в посадках коллекции картофеля ВИР не проводят обработок металаксиллом, которые могли бы индуцировать устойчивость к этому фунгициду (Childers et al., 2015). Обнаружение устойчивых к металаксилу изолятов на листьях гибридных клонов ВИР, вероятно, связано с тем, что инфекция была привнесена с других полей, где применяли эти препараты. Распространение возбудителя болезни воздушным путем происходит с помощью зооспорангиев, которые могут переноситься на значительные расстояния.

SSR генотипирование. При анализе пушкинских изолятов, собранных в 2013 и 2014 гг., мы обнаружили

70 аллелей в 12 SSR локусах, от 3 до 18 аллелей на locus (табл. 4). Для пяти локусов (D13, Pi04, SSR4, Pi63 и G11) у некоторых генотипов найдено по три аллеля, что, вероятно, объясняется полиплоидным геномом патогена (Delgado et al., 2013). У большинства образцов из Пушкина, собранных в 2013 г., распределение SSR аллелей резко отличалось от картины, известной для штаммов из Западной Европы и для изолятов из Ленинградской обл. 2008 г. (Statsyuk et al., 2014). Отметим, что пушкинские изоляты 106-13 и 131-13 и несколько образцов, собранных в Ленинградской обл. в 2008 г., содержат по несколько дискриминантов, характерных для западноевропейских генотипов *Ph. infestans* (табл. 4; см. рисунок).

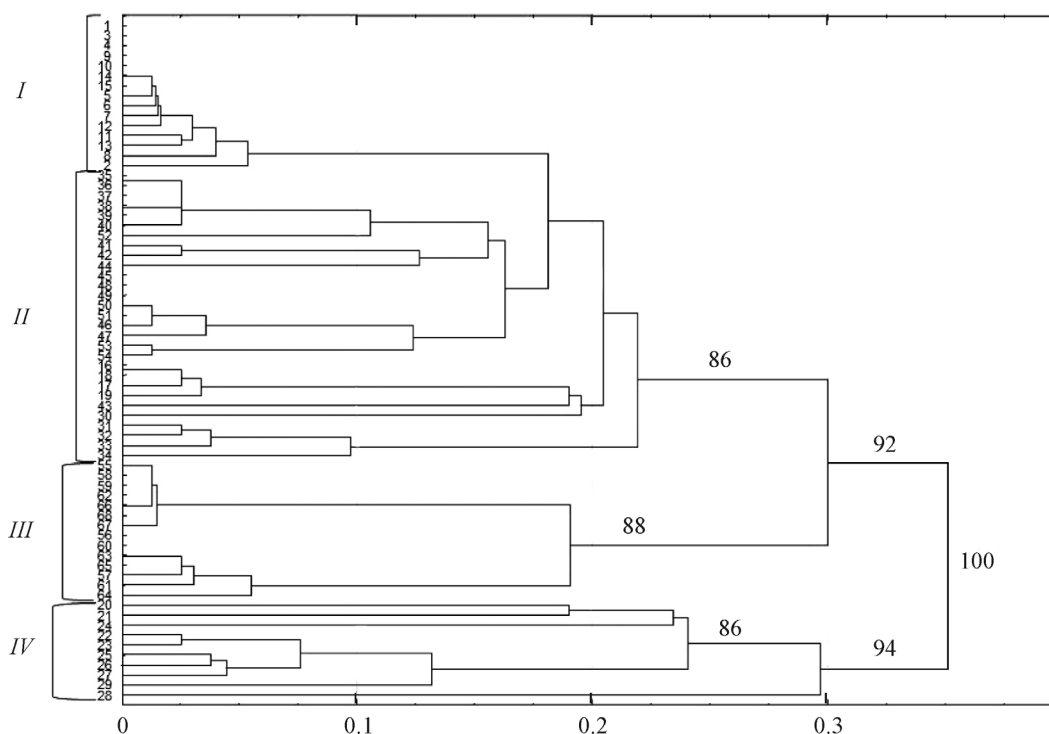
Специальный интерес представляет сравнение пушкинских изолятов, собранных в 2013 и 2014 гг. с одного и того же гибрида картофеля: это изоляты 7-13 и 7-14 с клона ВИР 93-5-30, изоляты 106-13 и 109-14 с клона ВИР 171-3 и изоляты 87-13 и 82-14 с клона ВИР

Таблица 4

Аллельный состав 12 SSR локусов, использованных для генотипирования пушкинских изолятов *Phytophthora infestans*

| Изолят | Аллели SSR локусов | | | | | | | | | | | |
|------------|---|-------------|---------|-------------|-------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|---------|---------|
| | SSR11 | D13 | P4B | G11 | P104 | P163 | P170 | SSR2 | P102/SSR3 | SSR4 | SSR6 | SSR8 |
| | 2013 г. | | | | | | | | | | | |
| 2-13 | 341/341 | 128/140 | 205/213 | 142/162/168 | 160/168 | 270/276/279 | 192/195 | 173/175 | 268/268 | 292/292 | 242/244 | 266/266 |
| 4-13 | 331/341 | 152/154 | 205/205 | 162/162 | 160/168 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 284/284 | 242/244 | 260/266 |
| 111-13 | 341/355 | 128/128 | 213/213 | 142/168 | 160/168 | 279/279 | 192/195 | 173/175 | 258/268 | 284/288 | 240/244 | 260/266 |
| 7-13 | 341/355 | 128/128 | 213/213 | 142/168 | 160/168 | 276/279 | 192/195 | 173/175 | 258/268 | 284/288 | 240/244 | 260/266 |
| 106-13 | 331/341 | 128/138 | 213/213 | 154/168 | 160/166 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/292 | 242/244 | 260/266 |
| 103-13 | 341/355 | 118/128 | 213/213 | 142/168 | 160/168 | 276/279 | 192/195 | 173/175 | 258/268 | 284/288 | 240/244 | 260/266 |
| 132-13 | 341/355 | 118/128 | 213/213 | 142/168 | 160/168 | 276/279 | 192/195 | 173/175 | 258/268 | 284/288 | 240/244 | 260/266 |
| 113-13 | 341/355 | 118/128 | 213/213 | 168/168 | 160/168 | 276/279 | 192/195 | 173/175 | 258/268 | 284/288 | 240/244 | 260/266 |
| 131-13 | 331/341 | 140/154 | 213/217 | 148/150/152 | 166/170 | 273/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 286/288/294 | 244/244 | 266/266 |
| 87-13 | 341/355 | 128/136 | 213/213 | 168/168 | 160/168 | 276/279 | 192/195 | 173/175 | 258/268 | 284/288 | 240/244 | 260/266 |
| | 2014 г. | | | | | | | | | | | |
| 7-14 | 355/355 | 134/136 | 205/205 | 152/154 | 160/168 | 279/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 286/294 | 240/242 | 266/266 |
| 16-14 | 341/355 | 0/0 | 205/217 | 154/160/168 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 286/286 | 242/244 | 260/260 |
| 18-14 | 341/355 | 0/0 | 205/213 | 138/206 | 166/170 | 279/279 | 192/195 | 173/175 | 268/268 | 286/294 | 240/242 | 260/260 |
| 28-14 | 341/341 | 118/134/136 | 213/217 | 154/206 | 160/168 | 273/279 | 192/192 | 173/175 | 258/268 | 284/294 | 242/244 | 260/266 |
| 36-14 | 341/341 | 152/154 | 205/213 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 284/294 | 240/242 | 260/266 |
| 43-14 | 341/341 | 152/154 | 205/213 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 284/294 | 240/242 | 260/266 |
| 53-14 | 341/341 | 0/0 | 213/217 | 156/162 | 166/170 | 270/273 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/288 | 242/244 | 260/260 |
| 82-14 | 341/341 | 0/0 | 213/217 | 156/162 | 166/170 | 270/273 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/288 | 242/244 | 260/260 |
| 109-14 | 341/341 | 0/0 | 213/217 | 156/162 | 166/170 | 270/273 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/288 | 242/244 | 260/260 |
| 118-14 | 341/341 | 0/0 | 213/213 | 162/168 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 294/294 | 242/244 | 260/260 |
| 119-14 | 341/341 | 0/0 | 213/217 | 156/162 | 166/170 | 270/273 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/288 | 242/244 | 260/260 |
| 132-14 | 341/355 | 118/136 | 213/217 | 156/160/162 | 162/166/170 | 273/279 | 192/192 | 173/175 | 258/268 | 284/286/292 | 242/244 | 266/266 |
| 133-14 | 355/355 | 136/136 | 205/217 | 150/152 | 160/168 | 279/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 286/294 | 242/242 | 266/266 |
| | Изоляты из Ленинградской обл. 2008 г. (Statsyuk et al., 2014) | | | | | | | | | | | |
| LK-2/1.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 244/244 | 260/260 |
| LK-2/2.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 260/260 |
| LK-3.08 | 341/341 | 152/152 | 205/205 | 154/162 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/290 | 244/244 | 260/266 |
| LK-4/2.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 260/260 |
| LK-9.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 258/258 |
| LK-11/1.08 | 341/341 | 152/152 | 205/205 | 154/162 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/292 | 244/244 | 260/266 |
| LK-11/2.08 | 341/341 | 154/154 | 205/213 | 154/162 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/292 | 244/244 | 260/266 |
| LK-12/1.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/173 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 260/260 |
| LK-13/1.08 | 341/341 | 152/154 | 205/213 | 154/162 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/292 | 244/244 | 260/266 |
| LK-14/1.08 | 341/341 | 150/150 | 205/213 | 154/162 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/292 | 244/244 | 260/266 |
| LK-17/1.08 | 331/355 | 152/152 | 205/205 | 154/162 | 166/170 | 279/279 | 192/192 | 173/173 | 258/268 | 284/292 | 244/244 | 260/266 |
| LK-20/1.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 260/260 |
| LK-20/2.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 260/260 |
| LK-76.08 | 331/355 | 0/0 | 213/217 | 154/154 | 166/170 | 270/279 | 192/192 | 173/175 | 268/268 | 288/288 | 242/244 | 260/260 |

Примечание. Нумерация пушкинских изолятов, как в табл. 1.



Филогенетический анализ изолятов *Phytophthora infestans*. Нумерация изолятов, хранящихся в Пушкине, приведена в табл. 1. Дендрограмма построена методом Neighbor Joining; указаны значения бутстрепа для 1000 повторностей, превышающие 0.70.

Штаммы *Ph. infestans* — (см.: Li et al., 2013a): 1—15 — 13_A2; 16—19 — 6_A1; 44—46 — 2_A1; 47—4_A1; 48—53 — 8_A1; 54—55 — 5_A1; 58—64 — 1_A1; 65 — 10_A2; 66—67 — 23_A1. Штаммы-стандарты: 43 — US1_A1; 56 — US8_A2; 57 — EC1_A1. 20—29 — изоляты из Пушкина 2013 г. (2-13, 4-13, 11-13, 7-13, 106-13, 103-13, 132-13, 113-13, 131-13; 87-13); 30—42 — изоляты из Пушкина 2014 г. (7-14, 16-14, 18-14, 28-14, 36-14, 43-14, 53-14, 82-14, 109-14, 118-14, 119-14, 132-14, 133-14); 68—81 — изоляты, собранные в Ленинградской обл. в 2008 г. (LK-2/1.08, LK-2/2.08, LK-3.08, LK-4/2.08, LK-9.08, LK-11/1.08, LK-11/2.08, LK-12/1.08, LK-13/1.08, LK-14/1.08, LK-17/1.08, LK-20/1.08, LK-20/2.08, LK-76.08). Кластеры I—IV обсуждаются в тексте.

25-1-2007. В двух случаях (7-13 и 7-14; 87-13 и 82-14) изменился тип спаривания; в двух случаях (87-13 и 82-14; 106-13 и 109-14) изменился набор генов вирулентности и степень чувствительности к металаксилу. Изменился и набор аллелей SSR локусов в изолятах, собранных в 2013 и 2014 гг. с одного и того же генотипа картофеля.

Мы провели филогенетический анализ всей совокупности результатов микросателлитного анализа пушкинских изолятов 2013 и 2014 гг. и изолятов, собранных в Ленинградской обл. в 2008 г., а также данных Li et al. (2013a) о размерах SSR аллелей у клона 13_A2, нескольких A1 линий и генотипов-стандартов US1_A1, EC1_A1 и US8_A2 (табл. 4; см. рисунок). Кластер I объединяет три субкластера. В субкластер Ia входят линии 13_A2; в субкластер Ib входят два пушкинских изолята 2014 г. (36-14; 43-14); в субкластер Ic попали некоторые ленинградские изоляты 2008 г. В субкластере Па мы находим большинство западноевропейских A1 линий, большинство ленинградских изолятов 2008 г. (тоже A1), A1 пушкинские изоляты, собранные в 2013 и 2014 гг., и неожиданно — стандарт 10_A2. В субкластере Пб собраны линии 6_A1. В кластере III оказались остальные изоляты, собранные в Пушкине в 2013 и 2014 гг., по большей части с A2 типом спаривания. Пушкинские изоляты в кластере III отчетливо отличаются от генотипов из Западной Евро-

пы, описанных Cooke et al. (2012) и Li et al. (2013a), и изолятов, собранных в Ленинградской обл. в 2008 г.

Необходимо подчеркнуть, что представленные здесь результаты микросателлитного анализа изолятов *Ph. infestans* не вполне согласуются со спектрами генов вирулентности, установленными фитопатологическим методом (см. выше). Так, собранные в 2013 г. изоляты 2, 4 и 106, заметно отличающиеся по генам вирулентности, мало различались по SSR локусам, но в то же время изоляты 87-13 и 113-13 с одинаковым набором генов вирулентности различались аллельным составом локуса D13 (табл. 2 и 4). В 2014 г. изоляты 82-14 и 109-14 с одинаковым набором генов вирулентности имели отличия в локусе Pi02/SSR3 (табл. 2 и 4).

В результате нашего исследования впервые фенотипическая характеристика изолятов пушкинской популяции *Ph. infestans* дополнена результатами их генотипирования с помощью молекулярных маркеров. Мы подтвердили обнаруженную ранее (Patrikeeva et al., 2011) тенденцию к усложнению расового состава пушкинской популяции патогена и высокую долю в ней A2 типа, что согласуется и с общей тенденцией, отмечаемой в последнее время в Западной и Центральной Европе.

Проведенный анализ изолятов, поражавших гибридные генотипы картофеля в течение двух сезонов,

контрастных по метеоусловиям, выявил отчетливое фенотипическое и генотипическое разнообразие этих изолятов, предполагающее их принадлежность к разным клональным линиям. Разнообразие изолятов 2013 и 2014 гг. по генам вирулентности, спектрам SSR локусов, типу спаривания и чувствительности к металаксу отражает изменения в структуре популяции *Ph. infestans* в процессе отбора клонов, более приспособленных к условиям среды и неспецифической устойчивости растения-хозяина. Известно, что различие в реакции на изменения температурного режима является одной из основных причин смены доминирующих клонов в жизненном цикле *Ph. infestans*. Вероятно, неблагоприятные для возбудителя фитофтороза погодные условия вегетационного периода стали причиной снижения вирулентности и усиления агрессивности изолятов 2014 г. по сравнению с эпифитотийным 2013 г.

Сегодня во всех регионах, где выращивают картофель, отмечают увеличение разнообразия внутри местных популяций *Ph. infestans* (Cooke et al., 2015; Fry et al., 2015). Вновь появляющиеся более агрессивные штаммы отличаются высоким генетическим полиморфизмом. Например, в Великобритании у клональной линии исходного генотипа 13_A2 выявлено около 100 мутаций и отмечена явная дивергенция популяции на субклоны; при этом возникает характерная картина (pattern) регионального распределения генотипов патогена (Cooke et al., 2015) Возникновение новых аллелей у изолятов пушкинской популяции, так же как триомиа по некоторым локусам, вероятно, обусловлены мутационным процессом при вегетативном способе размножения патогена. Возможно, что использованный нами набор 12 SSR маркеров не вполне пригоден для сравнительного анализа в России, подобно тому как используемый для характеристики европейских популяций спектр изоферментов глюкозо-6-фосфат изомеразы, не применим для характеристики российских популяций, в которых с 1993 г. представлен лишь один гомозиготный генотип (Дьяков, Еланский, 2007). Для определения наиболее информативных SSR маркеров необходимо проведение дополнительных исследований на обширной выборке изолятов *Ph. infestans* в России.

Авторы благодарят проф. D. Cooke (The James Hutton Institute, Invergowrie, Dundee, UK) за любезное содействие при проведении этого исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 13-04-00163а и 14-04-31613а) и Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № RFMEFI62114X0003).

REFERENCES

Brylinska M, Sobkowiak S, Stefańczyk E, Śliwka J (2015) Diversity of *Phytophthora infestans* in Poland in selected regions. http://euroblight.net/fileadmin/euroblight/Workshops/Brasov/Scientific_Program_Brasov_V6.pdf
Childers R, Danies G, Myers KL, Fei Z, Small IM, Fry WE (2015) Acquired resistance to mefenoxam

in sensitive isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 105(3): 342—349

Chmielarczyk M, Sobkowiak S, Dezbinski K, Cooke DE, Brurberg MB, Sliwka J (2014) Diversity of *Phytophthora infestans* from Poland. *Plant Pathology* 63(1): 203—211

Chowdappa P, Kumar NB, Madhura S, Kumar MS, Myers KL, Fry WE, Squires JN, Cooke DE (2013) Emergence of 13_A2 blue lineage of *Phytophthora infestans* was responsible for severe outbreaks of late blight on tomato in South-West India. *Journal of Phytopathology* 161(1): 49—58

Chowdappa P, Nirmal Kumar BJ, Madhura S, Mohan Kumar SP, Myers KL, Fry WE, Cooke DE (2015) Severe outbreaks of late blight on potato and tomato in South India caused by recent changes in the *Phytophthora infestans* population. *Plant Pathology* 64(1): 191—199

Cooke D, Cano L, Raffaele S, Bain R, Cooke L, Etherington GJ, Deahl KL, Farrer RA, Gilroy EM, Goss EM, Grünwald NJ, Hein I, MacLean D, McNicol JW, Randall E, Oliva RF, Pel MA, Shaw DS, Squires JN, Taylor MC, Vleeshouwers VG, Birch PR, Lees AK, Kamoun S (2012) Genome analyses of an aggressive and invasive lineage of the Irish potato famine pathogen. *PLoS Pathog* 8(10): e1002940. doi:10.1371/journal.ppat.1002940

Cooke D, Kessel G, Lassen P, Baby S, Hansen JG (2015) Update on European *P. infestans* populations: new tools, new insights. http://euroblight.net/fileadmin/euroblight/Workshops/Brasov/Scientific_Program_Brasov_V6.pdf

Delgado RA, Monteros-Altamirano AR, Li Y, Visser RG, Lee TA, Vosman B (2013) Large subclonal variation in *Phytophthora infestans* populations associated with Ecuadorian potato landraces. *Plant Pathology* 62(5):1081—1088

Dyakov YuT, Elanskiy SN (2007) Population genetics of *Phytophthora infestans*. In: Dyakov YuT, Sergeev YuV (ed) *Mycology Today*, Moscow, National Academy of Mycology, vol 1, pp 107—139 (in Russ.)

Felsenstein J (1993) PHYLIP: phylogeny inference package, version 3.69. University of Washington, Seattle, Washington

Filippov AV, Gurevich BI, Kozlovsky BE, Kuznetsova MA, Rogozhin AN, Spiglazova SYu, Smetanina TI, Smirnov AN (2004) A rapid method for evaluation of partial potato resistance to late blight and of aggressiveness of *Phytophthora infestans* isolates originating from different regions. *Plant Breeding and Seed Science* 50(1): 29—41

Fry WE (2008) *Phytophthora infestans*, the crop (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology* 9(3): 385—402

Fry WE, Birch PR, Judelson HS, Grünwald NJ, Danies G, Everts KL, Gevens AJ, Gugino BK, Johnson DA, Johnson SB, McGrath MT, Myers KL, Ristaino JB, Roberts PD, Secor G, Smart CD (2015) Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology* 105(7):966—981

Gisi U, Walder F, Resheat-Eini Z, Edel D, Sierotzki H (2011) Changes of genotype, sensitivity and aggressiveness in *Phytophthora infestans* isolates collected in European countries in 1997, 2006 and 2007. *J Phytopathol* 159(4):223—232

Haverkort AJ, Boonekamp P M, Hutten R, Jacobsen E, Lotz AP, Kessel GJ, Visser R G, van der Vossen EA (2008) Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research* 51(1):47—57

Judelson HS, Spielman LJ, Shattock RC (1995) Genetic mapping and non-Mendelian segregation of mating type

loci in the oomycete, *Phytophthora infestans*. Genetics 141(2): 503—512

Kolobaev VA, Rogozina EV (2013) Using the genepool of tuber-bearing *Solanum* species for potato protection against late blight. Plant Protection News 1: 44—54 (in Russ.)

Kuznetsova MA, Spiglazova SYu, Rogozhin AN, Smetanina TI, Filippov AV (2014) A new approach to measure potato susceptibility to *Phytophthora infestans*, a causal organism of the late blight. In: Schepers H (ed) PPO-Special Report, no 16, pp 223—232

Lapwood DH (1965) Laboratory assessment of susceptibility of potato-tuber tissue to late blight (*Phytophthora infestans*). European Potato J 8(4):215—225

Lees AK, Stewart JA, Lynott JS, Carnegie SF, Campbell H, Roberts AM (2012) The effect of a dominant *Phytophthora infestans* genotype (13_A2) in Great Britain on host resistance to foliar late blight in commercial potato cultivars. Potato Research 55(2):125—134

Li Y, van der Lee TA, Evenhuis A, van den Bosch GB, van Bekkum PJ, Förch MG, van Gent-Pelzer MP, van Raaij HM, Jacobsen E, Huang SW, Govers F, Vleeshouwers VG, Kessel GJ (2012) Population dynamics of *Phytophthora infestans* in the Netherlands reveals expansion and spread of dominant clonal lineages and virulence in sexual offspring. G3 (Bethesda) 2(12):1529—1540

Li Y, Cooke DE, Jacobsen E, van der Lee T (2013a). Efficient multiplex simple sequence repeat genotyping of the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. J Microbiol Methods 92(3):316—322

Li Y, van der Lee T, Zhu JH, Jin GH, Lan CZ, Zhu SX, Zhang RF, Liu BW, Zhao ZJ, Kessel G, Huang SW, Jacobsen E (2013b). Population structure of *Phytophthora infestans* in China — geographic clusters and presence of the EU genotype Blue_13. Plant Pathology 62(4):932—942

Mazáková J, Zouhar M, Ryšánek P, Táborský V, Hausvater E, Doležal P (2010) Mating type distribution of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in the Czech Republic in 2007 and 2008. Plant Protection 46(3):89—97

Meier-Runge F, van den Bosch T, Förch M, Evenhuis B, Kessel G (2014) First results of an EU-wide genotype monitoring of *Phytophthora infestans* using FTA cards. In: Schepers H (ed) PPO-Special Report, no 16, pp 75—82

Patrikeeva MV, Vedenyapina EG, Vorobiev NI (2011) *Phytophthora infestans* population of Leningrad Region in the year of its epiphytotic development. Mikologiya i fitopatologiya 45(3):279—288 (in Russ.)

Rietman H, Bijsterbosch G, Cano LM, Lee HR, Vossen JH, Jacobsen E, Visser RG, Kamoun S, Vleeshouwers VG (2012) Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors. Molecular Plant Microbe Interactions 25(7):910—919

Rogozina EV, Kolobaev VA, Khavkin EE, Kuznetsova MA, Beketova MP, Sokolova EA (2014) Interspecific potato hybrids as a resource for late blight resistance genes. Russian Agricultural Sciences 40(1):10—13

Runno-Paurson E, Hannukkala A, Kotkas A, Koppel M, Williams IH, Mänd M (2014) Population changes and phenotypic diversity of *Phytophthora infestans* isolates in Estonia and Finland. Journal of Plant Pathology 96(1):85—95

Santana FM, Gomes CB, Rombaldi C, Bianchi VJ, Reis A (2013) Characterization of *Phytophthora infestans* populations of southern Brazil in 2004 and 2005. Phytoparasitica 41(5):557—568

Statsyuk NV, Kuznetsova MA, Kozlovskaya IN, Kozlovsky BE, Elansky SN, Morozova EV, Valeva EV, Filippov AV (2010) Characteristics of the *Phytophthora infestans* population in Russia. In: Schepers H (ed) PPO-Special Report, no 14, pp 247—254

Statsyuk NV, Semina YV, Perez FG, Larsen MM, Kuznetsova MA, Kozlovskaya IN, Morozova EV, Deahl KL, Grünwald NJ (2014) Characterization of Russian *Phytophthora infestans* populations: DNA fingerprinting and SSR analysis. In: Schepers H (ed) PPO-Special Report, no 16, pp 255—266

Vedenyapina EG, Zotееva NM, Patrikeeva MV (2002) *Phytophthora infestans* in the Leningrad Region: genes of virulence, mating types and oospore fitness. Mikologiya i fitopatologiya 36(6):77—85 (in Russ.)

Веденяпина Е. Г., Зотеева Н. М., Патрикеева М. В. (Vedenyapina et al.) *Phytophthora infestans* в Ленинградской области: гены вирулентности, типы совместимости и жизнеспособность ооспор // Микология и фитопатология. 2002. Т. 36, вып. 6. С. 77—85.

Дьяков Ю. Т., Еланский С. Н. (Dyakov, Elanskiy) Популяционная генетика *Phytophthora infestans* // Ю. Т. Дьяков, Ю. В. Сергеев. Микология сегодня. Т. 1. М.: Национальная академия микологии, 2007. С. 107—139.

Колобаев В. А., Рогозина Е. В. (Kolobaev, Rogozina) Использование генофонда клубненосных видов рода *Solanum* для защиты картофеля от фитофтороза // Вест. защиты растений. 2013. Т. 1. С. 44—54.

Патрикеева М. В., Веденяпина Е. Г., Воробьев Н. И. (Patrikeeva et al.) Характеристика ленинградской популяции *Phytophthora infestans* в год эпифитотийного развития // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45, вып. 3. С. 279—288.

Поступила 07 11 2014