К вопросу о передаче инфекционного начала возбудителя фомоза семенами подсолнечника

С.Л. Саукова,

кандидат биологических наук

Т.С. Антонова,

доктор биологических наук

Н.М. Арасланова,

кандидат сельскохозяйственных наук

М.В. Ивебор,

кандидат сельскохозяйственных наук

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17

Тел.: (861) 275-86-53

E-mail: saukova-s@mail.ru

Для цитирования: Саукова С.Л., Антонова Т.С., Арасланова Н.М., Ивебор М.В. К вопросу о передаче инфекционного начала возбудителя фомоза семенами подсолнечника // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 4 (180). – С. 113–118.

Ключевые слова: подсолнечник, *Phoma macdonaldii*, искусственная инокуляция, фомоз, инфицированные семена, некроз, мицелий, пикниды.

Исследования проводили в 2018 г. на центральной экспериментальной базе ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Целью исследования было показать, что посев семян подсолнечника, в разной степени пораженных фомозом, способствует переносу возбудителя в другие регионы и накоплению инфекционного начала гриба в почве. В фазе цветения растений гибридов подсолнечника Ахиллес, Меркурий, Фактор, Альтаир, Донской с разной степенью устойчивости к фомозу корзинки искусственно инокулировали возбудителем (*Phoma macdonaldii* Boerema) путём помещения под листочки обертки питательной среды из семян, искусственно инфицированных грибом в лабораторных условиях. Во всех вариантах опыта наблюдалось поражение 100 % растений. Некротические участки поражённой ткани занимали менее 50 % всей площади морфологически нижней стороны корзинки, однако распространялись вглубь её и доходили до семян, на которых

появлялись признаки поражения. Посев таких семян в условиях теплицы приводил либо к изреженности всходов за счёт полной гибели зародыша или проростков, либо вырастающие растения имели внешние симптомы поражения фомозом. Таким образом, модельный эксперимент показал, что семена подсолнечника, в разной степени поражённые фомозом, способствуют накоплению инфекционного начала гриба в почве и переносу возбудителя в другие регионы.

UDC 633.854.78:632.4:631.522

To a question about transfer of fusarium infectious matter with sunflower seeds.

S.L. Saukova, PhD in biology

T.S. Antonova, doctor of biology

N.M. Araslanova, PhD in agriculture

M.V. Ivebor, PhD in agriculture

V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops

17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 275-86-53

E-mail: saukova-s@mail.ru

Key words: sunflower, *Phoma macdonaldii*, artificial inoculation, Phoma, infected seeds, necrosis, mycelium, picnidium.

The purpose of the research was to show usage of sunflower seeds infected with Phoma causes pathogen transfer to the other regions and accumulation of fungus infectious matter in soil. Sunflower hybrids Achilles, Mercury, Factor, Altair, and Donskoy having different level of resistance to Phoma were used as an object of the study. The research was conducted in fields and laboratories of the V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops. We infected sunflower heads with the pathogen (*Phoma macdonaldii* Boerema) putting under bracts a nutrient medium from the seeds artificially inoculated with fungus in laboratory. In all variants the infection level was equal 100%. Necrotic spots of infected tissue occupied less than 50% of total morphologically low side of sunflower head but they extended deeply and reached seeds. And we observed infection symptoms on seeds. Having planted such seeds in greenhouses we detected either spaced seedlings due to full blight of embryos or seedlings or growing plants had external symptoms of Phoma. Thus, the modeling experiment showed sunflower seeds infected with Phoma in any levels causes accumulation of fungus infectious matter in soil and pathogen transfer to the other regions.

Введение. Возбудитель фомоза, или черной пятнистости – *Phoma macdonaldii*

Boerema (в сумчатой стадии – *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi) – сохраняет жизнеспособность на растительных остатках (пораженных стеблях, корневой системе и семенах) в виде мицелия и плодовых тел [1; 2; 3; 4]. В весеннее время при созревании псевдотец *L. lindquistii* и пикнид *P. macdonaldii* на растительных остатках происходят первые выбросы аскоспор и пикноспор, которые разносятся воздушными потоками и водой. Это позволяет возбудителю фомоза аэрогенно распространяться на большие расстояния. Массовый лет спор совпадает с началом появления всходов и продолжается в течение всей вегетации подсолнечника [5]. Известно, что при плотности перезимовавших стеблей в поле в среднем 16 шт./м², плотность псевдотец *L. lindquistii* составляла 81200 шт./м². В одном псевдотеце может находиться до 6000 аскоспор. Значительные выбросы аскоспор происходят в дождливый день и составляют до 50 % от общего количества созревших псевдотец, а в сухой день – 28 % [6]. Пораженные фомозом растения подсолнечника замедляют рост, уменьшается диаметр стебля, в результате растения имеют более короткий период вегетации [7]. Seassau [8] в 2010 г. выдвинул гипотезу о том, что прогрессирование проникновения мицелия гриба *P. macdonaldii* и его токсинов в сосуды ксилемы стебля подсолнечника приводит к их постепенной обструкции, раннему старению, о чем свидетельствует уменьшение активной поверхности листы, сопровождающееся снижением водоснабжения растения. Поражение корзинок подсолнечника происходит почти одновременно с появлением пятен на стеблях растений [9]. При поражении корзинок существенно снижается урожай семян и качество масла [10]. Многие авторы указывали, что патоген может сохраняться в семенах [3; 11]. При этом недостаточно изучена полевая всхо-

жесть семян, пораженных возбудителем фомоза.

Целью исследования было показать, что посев семян подсолнечника, в разной степени пораженных фомозом, способствует переносу возбудителя в другие регионы и накоплению инфекционного начала гриба в почве.

Материалы и методы. На физиологической площадке (карантинном участке) ВНИИМК в 2018 г. проводили посев семян гибридов подсолнечника Ахиллес, Меркурий, Фактор, Альтаир, Донской. Повторность 2-кратная, по десять растений в каждой. Схема посева 70 × 70 см, оставляли по два растения в гнезде после прорывки. Для заражения корзинок использовали наиболее патогенный изолят гриба *P. macdonaldii*, выделенный в 2017 г. из пораженного фомозом стебля подсолнечника Красногвардейского района Ставропольского края [12].

Для идентификации видовой принадлежности возбудителя болезни при реинкуляции использовали систематики Билай [13], Boerema [14].

Искусственную инокуляцию корзинок гибридов подсолнечника выполняли с применением инфекционного начала *P. macdonaldii*, которое получали следующим образом: семена подсолнечника замачивали в воде на один час, затем промывали проточной водой и раскладывали в колбы по 50 граммов. Колбы закрывали фольгой, сверху пергаментной бумагой и автоклавировали при 1,2 атм. в течение 30 мин. После стерилизации в колбу добавляли 10 мл стерильной разогретой до жидкого состояния среды овсяный агар (ОА) и встряхивали для равномерного распределения. Затем высевали одинаковые по размеру (1 × 1 см) агаровые высечки колоний моноспоровой культуры *P. macdonaldii*, выращенной в чашках Петри на среде ОА. Колбы герметично закрывали и помещали в термостат, инкубировали 30 дней при температуре

25 °С. Поражённые грибом семянки использовали для заражения корзинок подсолнечника в фазе цветения путём помещения одной под листочки обёртки. Накрывали влажной ватой для создания микроклимата с повышенной влажностью, что благоприятствовало прорастанию спор и заражению фомозом. Вату смачивали стерильной водой в утренние часы ежедневно в течение 7 дней. У контрольных растений под листочки обёртки помещали стерильные семянки. Отмечали внешние симптомы поражения возбудителем фомоза корзинок подсолнечника. Учеты проводили на 30-й день после инокуляции. У гибридов подсолнечника поверхность морфологически нижней стороны корзинки визуально делили на восемь равных частей и выражали размеры некротической ткани в условных процентах от её площади. В конце вегетации корзинки срезали. Из поражённых грибом зон отбирали семена (по 10 шт. с каждой корзинки) с внешними симптомами фомоза. В зимний период в условиях теплицы (2018–2019 гг.) проводили посев этих семян (по 10 штук в рядке) в короба, наполненные почвой и песком в соотношении 2 : 1. В контрольном варианте посев осуществляли семенами из непораженных корзинок. Выращивали в течение двух месяцев при температуре 25–30 °С, 16-часовом фотопериоде и освещении 20 тыс. лк. Полив осуществляли проточной водой по мере подсыхания почвы. Учитывали количество всходов и растений с симптомами болезни до фазы цветения. В соответствии с постулатами Коха, из заражённых растений выделяли возбудителя и проводили его идентификацию.

Результаты и обсуждение. Согласно данным Roustaee с соавторами [15], оптимальными условиями для роста и развития возбудителя фомоза на растениях подсолнечника в природе является температура 25 °С и капельно-жидкая влага.

Однако климатические условия 2018 г. (сухая жаркая погода с конца июля, выпадение недостаточного количества осадков и относительно низкая влажность воздуха в августе) в период искусственной инокуляции складывались не очень благоприятно для развития фомоза. Несмотря на сложившиеся обстоятельства, во всех вариантах наблюдалось 100%-ное поражение растений. Однако размеры некротических участков составляли менее 50,0 % площади каждой корзинки (рис. 1). Наибольшие размеры участков некротизированной ткани отмечали на корзинках гибридов Ахиллес и Меркурий – 41,0 и 44,0 % соответственно. Наименьший процент поражённой площади поверхности морфологически нижней стороны корзинок наблюдали у гибрида Донской.

Рисунок 1 – Поражённая площадь морфологически нижней стороны корзинок у гибридов подсолнечника на 30-й день после искусственной инокуляции

В местах инокуляции образовывались небольшого размера участки отмершей ткани. Затем темно-коричневые (бурые) до черного цвета пятна от центра заражения увеличивались, осваивая новые участки поверхности внешней стороны корзинки. Часто встречались некротические участки, имеющие по краю концентрические круги, отличающиеся более темной окраской (рис. 2). Инфицированная ткань была мягкой, но не гниющей, в отдельных местах растрескивалась. К концу вегетации растений на поверхности

некротических участков формировались пикниды. При сильной колонизации тканей корзинки мицелием гриба трубчатые цветки бурели.

Рисунок 2 – Внешние симптомы поражения корзинки подсолнечника грибом *Phoma macdonaldii* на 30-й день после искусственного заражения путём размещения инфицированной семянки под листочком обёртки (ориг.)

При продольном разрезе корзинок подсолнечника в местах поражения фомозом наблюдался некроз тканей от темно-оливкового до черного цвета, мицелий гриба пронизывал расширенную часть цветоложа, поражая прицветники цветка и семена (рис. 3). Семена таких поражённых цветков формировались невыполненные, щуплые и выполненные, но с мицелием и репродуктивными органами гриба на плодовой оболочке. Пораженное ядро семянки имело некроз бурого цвета.

Рисунок 3 – Продольный разрез корзинки подсолнечника через 40 дней после искусственного заражения под листочек обёртки возбудителем фомоза *Phoma macdonaldii* и пораженная семянка (ориг.)

Для посева в теплице отбирали из зон поражения семена, отличающиеся выполненностью, но с наличием признаков поражения на плодовой оболочке. Типы поражения проростков разных гибридов подсолнечника изучаемым патогеном были сходны, различия наблюдались лишь в количестве здоровых и больных растений у каждого гибрида подсолнечника. Семена восприимчивых гибридов подсолнечника, инфицированные возбудителем фомоза, не прорастали (рис. 4), а проростки, появившиеся на поверхности почвы, имели опоясывающие черные участки в области корневой шейки, которые распространялись на гипокотиль. Всходы с такими признаками поражения сгнивали.

Рисунок 4 – Изреженность растений гибрида подсолнечника Меркурий, выросших из пораженных фомозом семян (слева) в условиях теплицы. Справа – рядок контрольных растений, выросших из здоровых семян (ориг.)

Наблюдали растения с некротическими участками черного и бурого цвета на семядольных листьях, образовавшихся под действием гриба (рис. 5). При этом ослабленные растения отставали в росте и полегали. Наиболее восприимчивыми к возбудителю фомоза были гибриды подсолнечника Ахиллес и Меркурий: процент сгнивших семян и нежизнеспособных проростков составил 55,5 и 55,7 % (таблица), что соответствовало и наибольшему размеру некроза, занимающего 44,0 и 41,0 % всей поверхности корзинки

при заражении растений на участке открытого грунта (рис. 1).

Таблица

Влияние поражения фомозом семян гибридов подсолнечника на их всхожесть и зараженность проростков в условиях теплицы

Гибрид	Вариант	Всхо- жесть се- мян, %	Поражено проростков, %		
			гни ли	про- росли, но сгнили	некрозы на семя- дольных листьях
Ахиллес	Пораженные семена	35,6	43,3	12,2	8,9
	Контроль	100,0	0,0	0,0	0,0
Меркурий	Пораженные семена	27,1	54,3	1,4	17,2
	Контроль	100,0	0,0	0,0	0,0
Фактор	Пораженные семена	57,0	38,0	0,0	5,0
	Контроль	100,0	0,0	0,0	0,0
Альтаир	Пораженные семена	66,8	20,0	0,0	13,2
	Контроль	100,0	0,0	0,0	0,0
Донской	Пораженные семена	76,7	10,0	8,3	5,0
	Контроль	100,0	0,0	0,0	0,0

Рисунок 5 – Пораженные фомозом семядольные листья растений гибридов подсолнечника Ахиллес (слева) и Меркурий (справа) (ориг.)

Всходы растений у гибридов подсолнечника Фактор, Альтаир и Донской варьировали от 57,0 до 76,7 %, при поражении поверхности корзинок 31,0 и 37,0 % соответственно. У всех гибридов подсолнечника отмечали от 5,0 до 17,2 % растений с некрозами на семядольных листьях, которые распространялись на черешок, но без проявления внешних симптомов фомоза на стебле до фазы цветения. Такие растения способны выжить и дать урожай в поле при склады-

вающихся благоприятных условиях для подсолнечника. В контрольных вариантах процент внешне здоровых растений гибридов подсолнечника составил 100,0 %.

Реизоляция патогена из пораженных частей корзинки, семян, проростков и из единичных кусочков стеблей на месте отмерших семядольных листьев растений подсолнечника подтвердила, что образовавшийся мицелий и репродуктивные органы принадлежат виду *Phoma macdonaldii* Boerema.

В результате исследований, проведенных в контролируемых условиях, следует, что фаза прорастание семян – появление всходов является самым уязвимым периодом для подсолнечника. Зараженность семян фомозом непосредственно приводит к снижению их прорастания. Посев пораженных семян влечет накопление в почве инфекционного начала гриба, тем самым создаются очаги инфекции, которые обуславливают заражение нового урожая.

Выводы. Заражение морфологически нижней стороны корзинок подсолнечника возбудителем фомоза вызывает поражение в разной степени части семян вплоть до полной гибели зародыша. Посев пораженных фомозом семян приводит к изреженности всходов подсолнечника, распространению и образованию новых очагов инфекционного начала возбудителя.

Таким образом, модельный эксперимент показал, что посев семян подсолнечника, в разной степени пораженных фомозом, способствует переносу возбудителя в другие регионы и накоплению инфекционного начала гриба в почве.

Список литературы

1. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Антонова Т.С., Ивевбор М.В. К вопросу о вредоносности *Phoma macdonaldi* Boerema на подсолнечнике // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2018. – Вып. 3 (175). – С. 117–123.
2. Саукова С.Л., Ивевбор М.В., Антонова Т.С., Арасланова Н.М. Возбудитель фомоза на вегетирующих растениях подсолнечника в Краснодарском крае // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2014. – Вып. 2 (159–160). – С. 167–172.
3. Jiafeng Luo, Pinshan Wu. Detection and identification of *Phoma macdonaldii* in sunflower seeds

imported from Argentina // Australasian Plant Pathology. – 2011. – P. 82–83.

4. Marić A., Maširević S., El Sayed F. Pojava *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi, savršenog stadija gljive *Phoma macdonaldii* Boerema prouzrokovava crne pegavosti suncokreta u Jugoslaviji // Zaštita bilja. – 1981. – Vol. 32 (4). – P. 329–334.

5. Maric A., Camprag D., Masirevic S. Sunflower black stem (In Serbo-Croatian). – Nolit, Belgrad, Yugoslavia. – 1988. – P. 37–45.

6. Descorps C., Hebrard C., Rakotonindrainy T., Dechamp-Guillaume G., Mastries E., Aubertot J.N. Advances in *Phoma macdonaldii* (*Leptosphaeria lindquistii*) epidemiology // Proc. of 18th International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina, 2012. – 01-VC – P. 8.

7. Аһимовић М.: Болести сунцокрета. Институт за ратарство и повртарство. – Нови Сад, 1998. – С. 1–736.

8. Sessau C., Dechamp-Guillaume G., Mestries E., Debaeke P. Nitrogen and water management can limit premature ripening of sunflower induced by *Phoma macdonaldii* // Field Crop Science. – 2010. – Vol. 115. – P. 99–106.

9. Лукомец В.М., Пивень В.Т., Тишков Н.М. Бolestи подсолнечника. – Агрорус, 2011. – 210 с.

10. Darvishzadeh, R., Dechamp-Guillaume, G., Hewezi, T., Sarrafi, A. Genotype-isolate interaction for resistance to black stem in sunflower (*Helianthus annuus*) // Plant Pathology. – 2007. – Vol. 56. – P. 654–660.

11. Выпріцкая А.А., Выпріцкий А.С., Кузнецов А.А., Мустафин И.И. Видовой состав и вредоносность микобиоты семян подсолнечника в Тамбовской области // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2010. – Вып. 1 (142–143). – С. 63–67.

12. Саукова С.Л., Антонова Т.С., Арасланова Н.М., Ивевор М.В. Сравнение двух методов искусственного заражения растений подсолнечника возбудителем фомоза *Phoma macdonaldii* Boer. в условиях теплицы // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2019. – Вып. 1 (177). – С. 92–98.

13. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. [и др.]. Микроорганизмы возбудители болезней растений. – Киев: Наукова думка, 1988. – 582 с.

14. Boerema G.H., Gruyter J. de, Noordeloos M.E., Hamers M.E. *C Phoma* identification manual // In: *G Phoma* sect. *Plenodomus* CABI Publishing, UK, 2004. – P. 364–366.

15. Roustaee A., Costes S., Dechamp-Guillaume G., Barrault G. Phenotypic variability of *Leptosphaeria lindquistii* (anamorph: *Phoma macdonaldii*), a fungal pathogen // Plant Pathology. – 2000 (b). – 49. – P. 227–234.

References

1. Araslanova N.M., Saukova S.L., Antonova T.S., Ivebor M.V. K voprosu o vredonosnosti *Phoma macdonaldi* Boerema na podsolnechnike // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2018. – Vyp. 3 (175). – S. 117–123.

2. Saukova S.L., Ivebor M.V., Antonova T.S., Araslanova N.M. Vozbuditel' fomoza na vegetiruyushchikh rasteniyakh podsolnechnika v Krasnodarskom krae // Maslichnye kul'tury. Nauch.-

tekh. byul. VNIIMK. – 2014. – Vyp. 2 (159–160). – S. 167–172.

3. Jiafeng Luo, Pinshan Wu. Detection and identification of *Phoma macdonaldii* in sunflower seeds imported from Argentina // Australasian Plant Pathology. – 2011. – P. 82–83.

4. Marić A., Maširević S., El Sayed F. Pojava *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi, savršenog stadija gljive *Phoma macdonaldii* Boerema prouzrokovava crne pegavosti suncokreta u Jugoslaviji // Zaštita bilja. – 1981. – Vol. 32 (4). – P. 329–334.

5. Maric A., Camprag D., Masirevic S. Sunflower black stem (In Serbo-Croatian). – Nolit, Belgrad, Yugoslavia. – 1988. – P. 37–45.

6. Descorps C., Hebrard C., Rakotonindrainy T., Dechamp-Guillaume G., Mastries E., Aubertot J.N. Advances in *Phoma macdonaldii* (*Leptosphaeria lindquistii*) epidemiology // Proc. of 18th International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina, 2012. – 01-VC – P. 8.

7. Аһимовић М.: Болести сунцокрета. Институт за ратарство и повртарство. – Нови Сад, 1998. – С. 1–736.

8. Sessau C., Dechamp-Guillaume G., Mestries E., Debaeke P. Nitrogen and water management can limit premature ripening of sunflower induced by *Phoma macdonaldii* // Field Crop Science. – 2010. – Vol. 115. – P. 99–106.

9. Lukomets V.M., Piven' V.T., Tishkov N.M. Bolesti podsolnechnika. – Agrorus, 2011. – 210 s.

10. Darvishzadeh, R., Dechamp-Guillaume, G., Hewezi, T., Sarrafi, A. Genotype-isolate interaction for resistance to black stem in sunflower (*Helianthus annuus*) // Plant Pathology. – 2007. – Vol. 56. – P. 654–660.

11. Vypritskaya A.A., Vypritskiy A.S., Kuznetsov A.A., Mustafin I.I. Vidovoy sostav i vredonosnost' mikrobioty semyan podsolnechnika v Tambovskoy oblasti // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2010. – Vyp. 1 (142–143). – S. 63–67.

12. Saukova S.L., Antonova T.S., Araslanova N.M., Ivebor M.V. Sravnenie dvukh metodov iskusstvennogo zarazheniya rasteniy podsolnechnika vozbuditelom fomoza *Phoma macdonaldii* Boer. v usloviyakh teplitsy // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2019. – Vyp. 1 (177). – S. 92–98.

13. Bilay V.I., Gvozdyak R.I., Skripal' I.G. [i dr.]. Mikroorganizmy vozbuditeli bolezney rasteniy. – Kiev: Naukova dumka, 1988. – 582 s.

14. Boerema G.H., Gruyter J. de, Noordeloos M.E., Hamers M.E. *C Phoma* identification manual // In: *G Phoma* sect. *Plenodomus* CABI Publishing, UK, 2004. – P. 364–366.

15. Roustaee A., Costes S., Dechamp-Guillaume G., Barrault G. Phenotypic variability of *Leptosphaeria lindquistii* (anamorph: *Phoma macdonaldii*), a fungal pathogen // Plant Pathology. – 2000 (b). – 49. – P. 227–234.

Получено: 14.05.2019 Принято: 11.11.2019

Received: 14.05.2019 Accepted: 11.11.2019