

## КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ АГРЕССИВНОСТИ ИЗОЛЯТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ФОМОЗА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ УСТОЙЧИВЫХ К БОЛЕЗНИ ФОРМ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Арасланова Н.М., канд. с.-х. наук, Саукова С.Л., канд. биол. наук,  
Антонова Т.С., д-р биол. наук, Ивебор М.В., канд. с.-х. наук

ФГБНУ Всероссийский НИИ масличных культур имени В.С. Пустовойта,  
г. Краснодар

**Аннотация.** Для селекции устойчивых к фомозу форм подсолнечника предложено проводить отбор наиболее агрессивных изолятов *Phoma macdonaldii* Воегема по токсичности культурального фильтрата для прорастающих семян подсолнечника и проценту колонизированной поверхности поражённых семядолей и гипокотилия 10 дневных проростков.

**Ключевые слова:** подсолнечник, проростки, семена, фомоз, изолят, агрессивность, культуральный фильтрат, фитотоксичность.

Фомоз подсолнечника (возбудитель - *Phoma macdonaldii* Воегема) быстро и глобально распространился в последние 20 лет и перешёл из разряда потенциально опасных в разряд экономически значимых болезней [1]. Развитие патологических процессов, вызываемых *Ph. macdonaldii* у растений подсолнечника, как и других некротрофов, начинается с выделения токсинов. Фитотоксины могут вызывать повреждение тканей растений и играть значительную роль в патогенезе. В первую очередь токсины убивают ослабленные или стареющие ткани, которые у растений наблюдаются в период налива семян. Поэтому первые симптомы фомоза появляются на нижних стареющих листьях растений подсолнечника к началу цветения. Благоприятные для патогена условия внешней среды в эту фазу развития растений определяют успех инвазии. Интенсивность поражения увеличивается к концу вегетации и может ускорить созревание, а в некоторых случаях привести к гибели растений. В условиях меняющегося климата необходимо всестороннее изучение генетического разнообразия в популяциях возбудителя фомоза. Своевременное обнаружение агрессивных биотипов необходимо для успешной селекции устойчивых форм подсолнечника.

Цель наших исследований скрининг агрессивных изолятов *Ph. macdonaldii* для использования их в селекции устойчивых форм подсолнечника.

Изоляты возбудителя фомоза были выделены из поражённых растений подсолнечника, собранных в разных регионах юга РФ: Краснодарского, Ставропольского краёв, Ростовской и Воронежской областей. Видовую принадлежность их определяли по систематике Воегема et al. (2004) [2]. Изоляты представляли собой род *Phoma* вид *macdonaldii* Воегема с телеоморфной стадией *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi [3, 4]. Выделение возбудителя фомоза из фрагментов растений подсолнечника и получение моноспоровых культур проводили с использованием общепринятой методики экспериментальной микологии на

овсяной агаризованной среде (ОА). Агрессивность определяли по проценту поражённой поверхности отчленённых семядольных листьев и гипокотилей 10-дневных растений подсолнечника четырёх генотипов подсолнечника через двое суток контакта их с культурами гриба [5].

Токсичность культурального фильтрата выбранных изолятов *Ph. macdonaldii* определяли с помощью метода биопроб [6] на проростках подсолнечника двух генотипов: восприимчивого сорта ВНИИМК 8883 и толерантного гибрида Альтаир. Равные высечки из колоний 14 дневных моноспоровых культур разных изолятов гриба помещали в колбы объёмом 150 мл, в которые были разлиты жидкие питательные среды КГ (картофельно-глюкозной) и ОА (овсяный агар) и инкубировали 30 дней при температуре 25 °С. Далее культуральную жидкость фильтровали через бумажные фильтры. Семена подсолнечника промывали в проточной воде и замачивали в равных объёмах фильтратов на сутки, затем раскладывали на фильтровальную бумагу две повторности по 50 штук каждого варианта и свёртывали в рулоны. В качестве контроля для замачивания семян использовали стерильную воду. Проращивали в рулонах при температуре 22 - 25<sup>0</sup> С. На пятые сутки учитывали количество непроросших и сгнивших семян.

Для сравнения агрессивности изолятов *Ph. macdonaldii* разных лет сбора определяли средний по 4 генотипам подсолнечника процент поражённой поверхности отчленённых семядольных листьев и гипокотилей 10-дневных проростков подсолнечника через 2 суток пребывания в контакте с колониями гриба.



Рис. 1. Средний % поражённой поверхности семядольных листьев и гипокотилей 10-дневных проростков подсолнечника через 2 суток совместного культивирования с культурами изолятов *Ph. Macdonaldii*

Как показывает рис.1, процент поражённой поверхности семядольного листа и гипокотеля четырёх генотипов подсолнечника при совместном культивировании с изолятами 2013 года существенно, на 5 % уровне значимости, превышал таковые у изолятов, собранных в 2012 и 2015 годах.

Другими словами изоляты гриба, собранные в 2013 году обладали существенно более высокой агрессивностью, о чём свидетельствовала быстрая некротизация колонизированных тканей семядолей и гипокотилей подсолнечника. На рисунках 2 и 3 показано внутривидовое разнообразие изолятов *Ph. macdonaldii* по агрессивности.

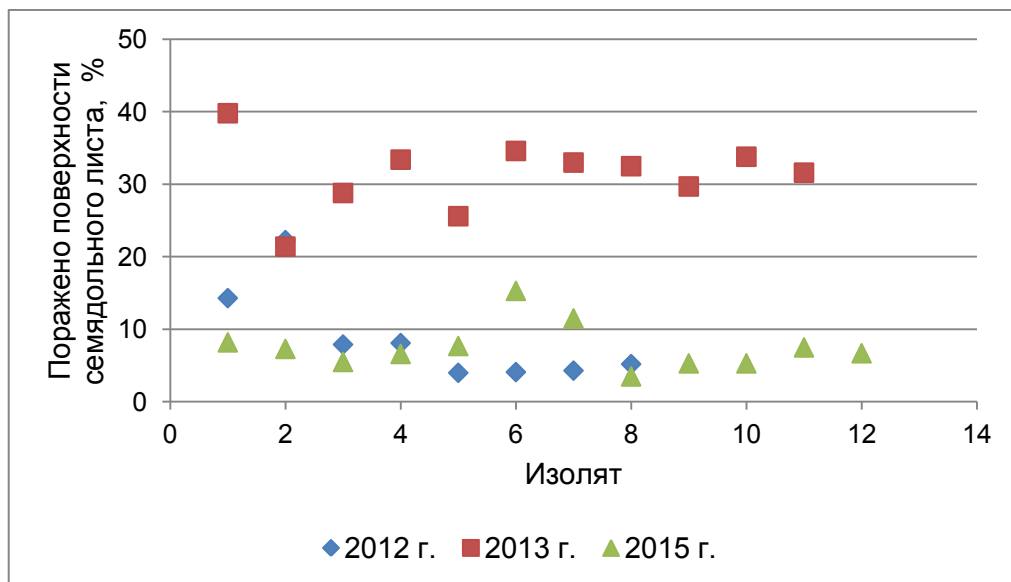


Рис. 2. Различия между изолятами *Ph. macdonaldii* разных лет сбора по проценту поражённой поверхности отчленённых семядольных листьев 10-дневных проростков подсолнечника через 2 суток пребывания в контакте с колониями гриба

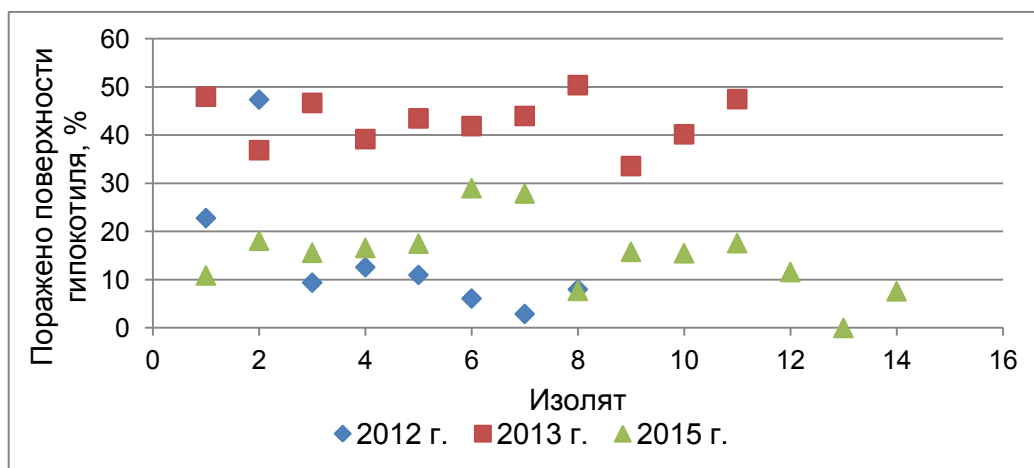


Рис. 3. Различия между изолятами *Ph. macdonaldii* разных лет сбора по проценту поражённой поверхности отчленённых гипокотилей 10-дневных проростков подсолнечника через 2 суток пребывания в контакте с колониями гриба

Варьирование степени агрессивности разных изолятов наблюдалось независимо от года сбора. Например, один изолят 2012 года был таким же агрессивным как изоляты 2013 года (рис. 3). В 2015 году, так же наблюдались разные по агрессивности изоляты как слабые, так и сильные. Таким образом, в качестве критерия для скрининга агрессивных изолятов *Ph. macdonaldii*

целесообразно использовать площадь поражённой поверхности семядолей и гипокотила подсолнечника через 2 суток пребывания в контакте с колониями гриба.

Одним из методов изучения патогенных свойств гриба является определение степени токсичности культуральной жидкости для семян и проростков хозяина. Известны факты использования культуральных метаболитов в качестве селективных агентов в клеточной селекции устойчивых растений сельскохозяйственных культур к возбудителям грибных болезней [6]. Токсичность культурального фильтрата некоторых патогенных грибов для прорастающих семян подсолнечника может быть критерием оценки степени их агрессивности. Известно о наличии связи токсичности выделений изолятов *Phomopsis helianthi* для прорастающих семян подсолнечника с их агрессивностью на вегетирующих растениях. Высоко агрессивные изоляты фомопсиса можно дифференцировать в лабораторных условиях по токсичности их культуральной жидкости для прорастающих семян подсолнечника [7].

Существенное влияние на проявление агрессивности патогена оказывает генотип хозяина. Воздействие токсинов культуральной жидкости изолятов *Ph. macdonaldii* сказалось в большей степени на жизнеспособности семян восприимчивого сорта ВНИИМК 8883, чем толерантного гибрида Альтаир (табл.1). Это свидетельствует о возможности дифференцировать генотипы подсолнечника на устойчивые и восприимчивые к фомозу по степени выносливости их семян к действию культуральной жидкости гриба.

Таблица 1

Влияние культуральных фильтратов изолятов *Ph. macdonaldii* на прорастание семян подсолнечника

Генотип	Изоляты	*Количество семян, штук							
		непроросших		ненормально-проросших		сгнивших		всего, нежизнеспособных	
		КГА	ОА	КГА	ОА	КГА	ОА	КГА	ОА
ВНИИМК 8883	1	4	7,5	6,5	8,5	5	1,7	15,5	17,7
	2	5	6,5	2,5	4,5	7	0	14,5	11,0
	3	1	8	8,0	5	8	0,5	17,0	13,5
	4	11	12,5	3,5	5	0	0	14,5	17,5
	Вода	2	1,3	1,0	0	4	4	7,0	5,3
НСР <sub>05</sub> 3,8									
Альтаир	1	0	0	1	2	1	0	3,5	3,0
	2	1	1	0	0	1	0,5	4,0	2,5
	3	0	0	1	2,5	0,5	1,5	3,5	5,5
	4	0,5	0	0	1	1	0	2,5	1,5
	Вода	0	0	0	0	1,5	1	2	1,0
НСР <sub>05</sub> 0,7									

\* - общее количество семян – 100 штук по каждому варианту

Наблюдались существенные различия по жизнеспособности семян восприимчивого сорта ВНИИМК 8883 и толерантного гибрида Альтаир после воздействия на них культуральных фильтратов изучаемых изолятов. По токсичности культурального фильтрата для прорастающих семян подсолнечника выделены изоляты №1 и №3. Представленные в таблице 1 данные свидетельствуют, что критерием агрессивности изолятов *Ph. macdonaldii* может служить как размер поражённой поверхности отсечённых семядольных листьев и гипокотилей растений подсолнечника при их совместном культивировании, так и токсичность их культурального фильтрата для прорастающих семян подсолнечника. Причём, оба критерия необходимо использовать последовательно и совместно, чтобы отобрать наиболее агрессивные изоляты гриба.

Таким образом, при отборах устойчивых к фомозу форм подсолнечника следует подбирать для искусственного заражения изоляты гриба, отличающиеся наибольшим процентом поражённой поверхности отчленённых семядолей проростков и высокой степенью токсичности культурального фильтрата для прорастающих семян.

## Литература

1. Boško Dedić. Testing Sunflower Inbred Lines for Tolerance to Phoma Black Stem // Pestic. Phytomed. (Belgrade), 27(4), 2012, P. 299–303.
2. Voerema G.H., De Gruyter J., Noordeloos M.E. and Hamers M.E.C. *Phoma identification manual. Differentiation of specific and infraspecific taxa in culture*. CABI Publishing, United Kingdom. – 2004. – P. 470.
3. Саукова С.Л., Ивебор М.В., Антонова Т.С., Арасланова Н.М. Возбудитель фомоза на вегетирующих растениях подсолнечника в Краснодарском крае // Масличные культуры, НТБ ВНИИМК. – 2014.- Вып. №2 (159-160). - С. 167-172.
4. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Ивебор М.В., Антонова Т.С. Идентификация видовой принадлежности возбудителя фомоза подсолнечника в Краснодарском крае // Современная микология в России: Матер. III Международного микологического форума (14-15 апреля 2015 г., Г. Москва).- М: Нац.акад.микол., 2015. - Т. 5. - С. 61-62.
5. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Антонова Т.С. Патогенность изолятов возбудителя фомоза для растений подсолнечника // В сборнике: Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции, материалы Международной научно-практической конференции /ФГБНУ «ВНИИТМТБ».- Краснодар, 2015. - С. 71-74. URL: [http://vniitti.ru/conf/conf2015/sbornik\\_conf\\_2015.pdf](http://vniitti.ru/conf/conf2015/sbornik_conf_2015.pdf)
6. Берестецкий, О.А. Изучение фитотоксических свойств микроскопических грибов // Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наукова думка, 1982. - с.321-333.
7. Арасланова, Н.М. Внутривидовая дифференциация агрессивных изолятов *Phomopsis helianthi* по токсичности выделений гриба для проростков под-

солнечника / Н.М. Арасланова, Т.А. Челюстникова, Т.С. Антонова // Межд. научно-практ. конф. «Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей». - Одесса, 2007. – С.46.