

**МЕТОДЫ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ
ПОДСОЛНЕЧНИКА ГРИБАМИ РОДА
*Rhizopus Ehrenb.***

**А. А. Выприцкая, А. А. Кузнецов,
Ю. В. Зеленева, А. В. Козачек**

*Среднерусский филиал ФГБНУ «ФНЦ им. И. В. Мичурина»,
п. Новая жизнь, Тамбовский р-н, Тамбовская обл., Россия;
ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет
им. Г. Р. Державина», г. Тамбов, Россия;
ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный технический
университет», г. Тамбов, Россия*

Рецензент д-р с.-х. наук Н. Я. Каширская

Ключевые слова: водная суспензия патогенов; инокуляция; искусственный фон; метод; патогены; подсолнечник; распространенность.

Аннотация: Приведены данные по распространенности в мире, России и Тамбовской области грибов рода *Rhizopus Ehrenb.* – возбудителей сухой гнили корзинок, их паразитизме, оптимальным условиям для их развития; данные авторов по видовому составу патогенов этого рода, паразитирующих на подсолнечнике в области. Представлены результаты испытания известного метода и методов, опробованных авторами.

Введение

Грибы рода *Rhizopus Ehrenb.* – возбудители широко распространенной в мире и высоко вредоносной сухой гнили корзинок подсолнечника. *Rhizopus spp.* – низшие грибы семейства *Mucoraceae* класса *Zygomycetes*. Токсигенные грибы, факультативные паразиты. Термофилы.

Выприцкая Ася Александровна – кандидат биологических наук, руководитель группы болезней подсолнечника; Кузнецов Александр Анатольевич – научный сотрудник, Среднерусский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр им. И. В. Мичурина», п. Новая жизнь, Тамбовский район, Россия; Зеленева Юлия Витальевна – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры медицинской биологии с курсом инфекционных болезней, ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г. Р. Державина», г. Тамбов, старший научный сотрудник лаборатории иммунитета растений, Среднерусский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр им. И. В. Мичурина», e-mail: zelenewa@mail.ru, п. Новая жизнь, Тамбовский район, Россия; Козачек Артемий Владимирович – кандидат педагогических наук, доцент, заведующий кафедрой «Природопользование и защита окружающей среды», ТамбГТУ, г. Тамбов, Россия.

В Тамбовской области сухая гниль до недавнего времени была не изучена. Обобщенные литературные сообщения по ее распространению в мире и России, оптимальным условиям для развития возбудителей болезни, их паразитизме, вредоносности и методам учета пораженности корзинок приведены ранее [1].

По нашим наблюдениям в области болезнь встречается ежегодно, и распространенность ее носит волнообразный характер в зависимости от погодных условий. В 1996–2009 гг. она составляла 0,1–14,5%. С 2010 г., когда многие фермерские хозяйства стали возделывать преимущественно гибриды иностранной селекции (Испания, Франция, США), распространенность возбудителей сухой гнили значительно расширилась. В 2010–2016 гг., когда температура воздуха в летние месяцы повышалась до 38,8 °С в июне, 41,1 °С – июле и 40,7 °С – августе, распространенность их составляла уже 28,2–67,5% (рис. 1), а зараженность семян – 11,5–71,8%.

Наибольшая распространенность (62,4%) болезни отмечена в хозяйствах, возделывавших гибрид *MAC 81NP* испанской селекции, а зараженность посевного материала данного гибрида достигала 68,5%, причем до 100% инфекции находилось на ядрах. В конце вегетации пораженность подсолнечника в этих хозяйствах достигала 100% растений.

Установлено [2, 3], что возбудителями сухой гнили корзинок в Тамбовской области являются два вида – *Rh. stolonifer* var. *stolonifer* и *Rh. oryzae*, описаны их морфологические признаки, отмечено, что в годы с нежарким летом (температура воздуха в период формирования корзинок – цветения в пределах 25 °С) преобладает *Rh. stolonifer* var. *stolonifer* (до 65,6%).

Учитывая, что грибы этого рода распространяются аэрогенным способом, можно предположить, что помимо благоприятных условий, причиной высокой распространенности патогенов в Тамбовской области является высокая зараженность ими иностранных гибридов культуры.

Для изучения влияния природной популяции *Rhizopus spp.* на всхожесть и масличность перспективных сортов подсолнечника селекции филиала ФНЦ им И. В. Мичурина «ФГБНУ ТНИИСХ», по методу Ю. М. Сосниной [4], проведен анализ корзинок всех изучаемых сортов, площадь поражения которых составляла 75–100%. Установлено, что всхожесть семян снижена на 3,2–12,5%, масличность – 3,5–47,7%.

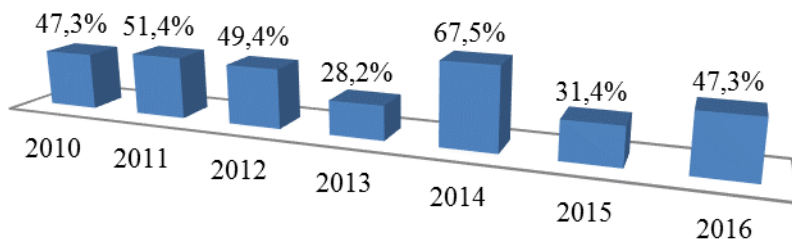


Рис. 1. Распространенность сухой гнили корзинок (*Rhizopus spp.*) в Тамбовской области

Изложенное обусловило цель проведения дальнейших исследований – поиска способа снижения вредоносности болезни за счет приближения к естественным условиям заражения корзинок подсолнечника высокопатогенными грибами рода *Rhizopus Ehrenb.* Самым безопасным и малозатратным способом является придание высокопродуктивным сортам и гибридам устойчивости к болезни [5]. Опробованы несколько методов создания искусственного инфекционного фона *Rhizopus spp.* для изучения устойчивости к ним подсолнечника.

За основу взят метод, представленный в литературе [6], модифицированный использованием в качестве питательной среды для выращивания *Rhizopus spp.* картофельно-сахарозной питательной среды, содержащей по четверти основных компонентов – картофеля и сахарозы, обеспечивающей обильное спороношение многих грибов, а том числе *Rhizopus spp.* [7]. Работу проводили на высокопродуктивном сорте подсолнечника селекции филиала ФГБНУ ФНЦ им. И. В. Мичурина «ГНИИСХ» Чакинский 77. С семидневной культуры патогена смывали дистиллированной водой спорангии и спорангиоспоры. Концентрацию готовой суспензии доводили до $5 \cdot 10^3$ спор/мл [6], объем суспензии – 15 мл. В конце цветения корзинки инокулировали опрыскиванием цветоложа спорово-мицелиальной суспензией и закрывали пергаментной бумагой. Иммунологическую оценку испытываемых сортов проводили по шкале, разработанной С. Г. Бородиным [5] и приведенной в табл. 1. Описанные методы инкубации патогенов, концентрацию водной суспензии патогенов и иммунологическую шкалу использовали и в других опытах.

Результаты применения данного метода показали его трудоемкость и то обстоятельство, что замкнутое пространство и высокая влажность в дополнение к высокой инфекционной нагрузке способствует быстрому сгниванию всех корзинок, что не характерно для проявления сухой гнили. К тому же, в литературе не встретились сообщения о 100%-м сгнивании в природе корзинок, пораженных сухой гнилью. Данный метод не может считаться приближенным к условиям естественного заражения корзинок возбудителями сухой гнили – *Rh. stolonifer* var. *stolonifer* и *Rh. oryzae*.

Таблица 1

Иммунологическая шкала для оценки селекционного материала подсолнечника на устойчивость к сухой гнили

| Балл поражения | Площадь поражения | Иммунологическая оценка |
|----------------|---|---------------------------|
| 1 | Поверхности корзинки до 25 % | R – устойчивый |
| 2 | Пораженной корзинки 50 % | MR – среднеустойчивый |
| 3 | Пораженной поверхности корзинки до 75 % | S – восприимчивый |
| 4 | Пораженной поверхности более 75 % | VS – сильно восприимчивый |

Указанный существенный недостаток привел к необходимости создания нового, адаптированного к условиям Тамбовской области, метода искусственного заражения подсолнечника грибами рода *Rhizopus Ehrenb.* для изучения устойчивости к ним подсолнечника.

В течение 2014 – 2016 гг. опробовали несколько методов инокуляции корзинок водной суспензией данных патогенов.

1. В конце цветения инокулировали инъекцией водной суспензии патогенов тыльную сторону корзинок, руководствуясь разработанными методическими пособиями [7]. Полученные результаты были аналогичны описанным нами при изучении методов искусственного заражения подсолнечника грибами рода *Fusarium Link et Fr.* [7]: в местах инокуляции образовывались небольшого размера (диаметром до 0,8 см) участки отмершей ткани. Реизоляция патогенов из фрагментов пораженной ткани была положительной. Однако инфекция не распространялась по корзинке, в связи с чем считаем данный метод не перспективным.

2. Проводили опрыскивание цветоложа суспензией спорангиев и спорангиоспор патогенов без использования изоляторов. Работу проводили в вечернее время при наступлении прохлады и перед выпадением росы, создающей эффект естественной влажности. Учитывая, что механические повреждения корзинок (трещины, царапины, оставляемые птицами, насекомыми и др.) могут служить «воротами» для проникновения различной инфекции, перед нанесением инокулюма цветоложе в нескольких местах накалывали тонким шилом или иглой от медицинского шприца для лучшего внедрения водной суспензии патогена в ткань корзинки. Проведенная в конце вегетации иммунологическая оценка показала, что у 24,5 % растений тестируемого сорта площадь поражения корзинок составляла 31,7 – 48,3 %, что, согласно приведенной шкале, соответствует второму баллу поражения, обозначающему относительную устойчивость (см. табл. 1). Отобранные с растений корзинки оставляли для повторения опыта в следующем году.

3. Как уже сказано, возбудители сухой гнили корзинок распространяются аэрогенным способом. В то же время, известно, что *Rh. stolonifer* является возбудителем мягкой гнили картофеля, а *Rh. oryzae* – корневой гнили риса [8], что может означать постоянное присутствие патогенов в почве, а также возможность передачи инфекции с зараженных семян или зараженного посадочного материала на вегетирующие растения. В исследованиях получали заражение проростков подсолнечника возбудителями сухой гнили, выделенными с зараженных корзинок. В литературе нам не встретились сведения о передаче инфекции *Rhizopus spp.*, содержащейся на пораженных семенах, на корзинки подсолнечника. Тем не менее провели исследования с целью изучить такую возможность. Для этого, по аналогии с методом изучения устойчивости подсолнечника к грибам рода *Fusarium et Fr.* [7], семена сорта Чакинский 77 заражали суспензией патогенов (*Rhizopus spp.*), выращенных на картофельно-сахарозной среде, выдерживали их в суспензии патогенов двое суток и высаживали в открытый грунт. Полученные результаты показали, что всхожесть зараженных семян тестируемого сорта составила 62,1 %; к концу вегетации разную степень

восприимчивости корзинок культуры к этим патогенам показали 58,3 % растений (корзинок).

Считаем целесообразным продолжить исследования в данном направлении с учетом поиска механизма передачи инфекции на корзинки.

Выводы

В результате проведенных исследований можно сделать заключение о том, что для получения устойчивых к *Rhizopus spp.* форм подсолнечника может быть использован метод опрыскивания корзинок водной суспензией патогенов без использования изоляторов; перспективным является метод посева в открытый грунт семенами, зараженными *Rhizopus spp.*

Список литературы

1. Грибы рода *Rhizopus Ehrenb.* на подсолнечнике в Тамбовской области / А. А. Выприцкая [и др.] // Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 125-летию со дня рождения Н. И. Вавилова. Большие Вяземы Московской области, 18 – 21 июля 2012 г. – Большие Вяземы, 2012. – С. 141 – 147.
2. Грибы рода *Rhizopus Ehrenb.* на подсолнечнике в Тамбовской области / А. А. Выприцкая [и др.] // Вестник ТГУ им. Г. Р. Державина. – 2014. – Т. 19, вып. 3. – С. 1005 – 1008.
3. Выприцкая, А. А. Микобиота подсолнечника в Тамбовской области : монография / А. А. Выприцкая. – Тамбов : Принт-Сервис, 2015. – 144 с.
4. Соснина, Ю. М. Селекционный способ снижения вредоносности сухой гнили на растениях подсолнечника / Ю. М. Соснина // Материалы V Междунар. конф. молодых ученых и специалистов / ВНИИМК. – Краснодар, 2009. – С. 215 – 219.
5. Бородин, С. Г. Создание исходного материала, устойчивого к возбудителю сухой гнили корзинки подсолнечника / С. Г. Бородин, И. А. Котлярова, Ю. М. Соснина // Масличные культуры: Науч.-техн. бюлл. ВНИИМК. – 2010. – Вып. 1(142–143). – С. 8 – 15.
6. Пат. 2376752 Российская Федерация, А01Н 1/00 (2006.01). Способ определения устойчивости растений подсолнечника к сухой гнили корзинки / Бородин С. Г., Котлярова И. А., Терещенко Г. А., Соснина Ю. М.; заявитель и патентообладатель ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта Российской академии сельскохозяйственных наук. – № 2008127548/13; заявл. 07.07.2008; опубл. 27.12.2009. – Бюл. № 39. – 7 с.
7. Кузнецов, А. А. Создание искусственного инфекционного фона фузариозной корневой гнили подсолнечника для специалистов по защите растений, научных сотрудников, преподавателей вузов, аспирантов, студентов биологических и агрохимических факультетов / А. А. Кузнецов, А. А. Выприцкая. – Тамбов : Принт-Сервис, 2016. – 20 с.
8. Микроорганизмы – возбудители болезней растений / В. И. Билай [и др.]. – Киев : Наукова Думка, 1988. – 552 с.

References

1. Vyprickaya A.A., Kuznecov A.A., Puchnin A.M., Mustafin I.I., Mazurina Z.I. *Immunogeneticheskaya zashchita sel'sko-hozyajstvennyh kul'tur ot boleznej: teoriya i praktika: materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchennoj 125-letiyu so dnya rozhdeniya N. I. Vavilova* [Immunogenetic Protection of Agricultural Crops from Diseases: Theory and Practice: Materials of the Intern. scientific-practical. dedicated to

the 125th anniversary of the birth of N.I. Vavilov], Bol'shie Vyazemy Moskovskoj oblasti, 18-21 July 2012, Bol'shie Vyazemy, 2012. pp. 141-147. (In Russ.)

2. Vyprickaya A.A., Kuznecov A.A., Puchnin A.M., Mustafin I.I., Mazurina Z.I. [Mushrooms of the genus *Rhizopus* Ehrenb. on sunflower in Tambov region], *Vestnik TGU im. G.R. Derzhavina* [Bulletin of TSU named after. G.R. Derzhavin], 2014, vol. 19, issue 3, pp. 1005-1008. (In Russ., abstract in Eng.)

3. Vyprickaya A.A. *Mikrobiotika podsolnechnika v Tambovskoj oblasti* [Mycobiotic sunflower in Tambov region], Tambov: Print-Servis, 2015, 144 p. (In Russ.)

4. Sosnina, Yu.M. *Materialy V Mezhdunar. konf. molodyh uchenyh i specialistov. VNIIMK* [Materials V Intern. Conf. young scientists and specialists. VNIIMK.], Krasnodar, 2009, pp. 215-219. (In Russ.)

5. Borodin, S.G., Kotlyarova I.A., Sosnina Yu.M. [Creation of a source material, resistant to the causative agent of dry rot of a sunflower basket], *Maslichnye kul'tury: Nauchn.-tekhn. byull. VNIIMK* [Oilseeds: Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK], 2010, Issue 1(142-143), pp. 8-15. (In Russ., abstract in Eng.)

6. Borodin S.G., Kotlyarova I.A., Tereshchenko G.A., Sosnina Yu.M. *Sposob opredeleniya ustojchivosti rastenij podsolnechnika k suhoj gnili korzinki* [Method for determining the resistance of sunflower plants to dry rot of a basket], Russian Federation, 2009, Pat. 2376752 (In Russ.)

7. Kuznetsov A.A., Vyprickaya A.A. *Sozdanie iskusstvennogo infekcionnogo fona fuzarioznoj kornevoj gnili podsolnechnika dlya specialistov po zashchite rastenij, nauchnyh sotrudnikov, prepodavatelej vuzov, aspirantov, studentov biologicheskikh i agrohimicheskikh fakul'tetov* [Creation of an artificial infectious background of fusarium root sunflower rot for plant protection specialists, researchers, university professors, post-graduate students, biological students and agrochemical faculties], Tambov: Print-Servis, 2016, 20 p. (In Russ.)

8. Bilaj V.I., Gvozdyak R.I., Skripal' I.R., Kraev V.G., EHllanskaya I.A., Zirka T.I., Muras V.A. *Mikroorganizmy – vzbuditeli boleznej rastenij* [Microorganisms are plant pathogens], Kiev: Naukova Dumka, 1988, 552 p. (In Russ.)

Methods of Artificial Contamination of Sunflower with the *Rhizopus Ehrenb.* Fungus

A. A. Vypritskaya, A. A. Kuznetsov, Yu. V. Zeleneva, A. V. Kozachek

*Srednerussky Branch of I.V. Michurin Federal Research Center,
Novaya Zhizn, Tambov District, Tambov Region, Russia;
G. R. Derzhavin Tambov State University, Tambov, Russia;
Tambov State Technical University, Tambov, Russia*

Keywords: sunflower; pathogens; dissemination; inoculation; aqueous suspension of pathogens; method; artificial background.

Abstract: The data on spreading of the *Rhizopus Ehrenb.* fungi in the world, Russia and the Tambov region are given. The *Rhizopus Ehrenb.* fungi are causative agents of dry rot of the buds. The article contains the data of the parasitism of the fungi, optimal conditions for their growth, as well as the authors' data on a specific composition of pathogens of this genus parasitizing on sunflower in the region. The results of testing the known method and the methods due to the authors are presented.

© A. A. Выприцкая, А. А. Кузнецов, Ю. В. Зеленева, А. В. Козачек, 2018