

УДК 633.854.78:632.4:631.522

DOI 10.25230/2412–608X–2018–2–174–107–111

ФОМОЗ (*Phoma macdonaldii* Boerema) В СЕМЕНАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА

С.Л. Саукова,

кандидат биологических наук

Н.М. Арасланова,

кандидат сельскохозяйственных наук

Т.С. Антонова,

доктор биологических наук

М.В. Ивебор,

кандидат сельскохозяйственных наук

ФГБНУ ВНИИМК

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

Тел.: (861) 275-86-53,

E-mail: saukova-s@mail.ru

Для цитирования: Саукова С.Л., Арасланова Н.М., Антонова Т.С., Ивебор М.В. Фомоз (*Phoma macdonaldii* Boerema) в семенах подсолнечника // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – Вып. 2 (174). – С. 107–111.

Ключевые слова: подсолнечник, патогенная микрофлора, фомоз, *Phoma macdonaldii*, пикнида, пикноспоры.

Исследования проводили в лаборатории иммунитета и молекулярного маркирования. В течение трех лет (2015–2017) было проанализировано 40 партий семян подсолнечника из ООО «Солнечная страна» Волгоградской области на наличие патогенной микрофлоры. Выделен возбудитель фомоза из семян подсолнечника и определена его видовая принадлежность. Это гриб из рода *Phoma* Sacc. – *Phoma macdonaldii* Boerema, teleomorph *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi. Представлены иллюстрации пикнид и пикноспор, сформировавшихся на семенах подсолнечника, их морфологические признаки, подтверждающие видовую принадлежность гриба по систематике Boerema et al. (2004). Наличие репродуктивных органов *Phoma macdonaldii* на семянках означает, что зараженные семена подсолнечника способствуют распространению фомоза.

UDC 633.854.78:632.4:631.522

Stem blight (*Phoma macdonaldii* Boerema) in sunflower seeds.

S.L. Saukova, PhD in agriculture

N.M. Araslanova, PhD in agriculture

T.S. Antonova, doctor of biology

M.V. Iwebor, PhD in agriculture

All-Russian Research Institute of Oil Crops by the name of Pustovoi V.S. (VNIIMK)

17 Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 275-86-53,

E-mail:

Key words: sunflower, pathogenic microflora, stem blight, *Phoma macdonaldii*, pycnidium, pycnosporos.

The research was carried out in the laboratory of immunity and molecular marking. During three years (2015–2017) 40 lots of sunflower seeds from “Solnechnaya strana”-Ltd. from the Volgograd region were analyzed for the presence of pathogenic microflora. The stem blight pathogen in sunflower seeds was identified and its species was determined. It is a fungus of genus *Phoma* Sacc. – *Phoma macdonaldii* Boerema, teleomorph *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi. The illustrations of pycnidia and pycnosporos formed on sunflower seeds are presented, as well as their morphological features confirming the species belonging to the fungus according to the classification of Boerema et al. (2004). The presence of reproductive organs of *Phoma macdonaldii* on the achenes means that infected sunflower seeds contribute to the spread of stem blight.

Введение. Фомоз, или черная стеблевая пятнистость, возбудителем которого является *Phoma macdonaldii* Boerema [1], teleomorph *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi [2], – одна из наиболее распространенных болезней подсолнечника во Франции, Сербии, Югославии, Румынии, Болгарии, Аргентине, Канаде, Китае и других странах [3]. Распространению фомоза в России способствовало расширение посевных площадей подсолнечника, которое в 2014 г. достигло свыше 7 млн га, а также применение севооборотов короткой ротации, на фоне изменения климата в сторону повышения температуры и влажности. В результате накопления инфекции на растительных остатках может происходить быстрое формирование биотипов грибов высокой агрессивности [4]. Одной из причин распространения фомоза может быть и увеличивающийся в последние годы импорт инфицированного семенного материала. На вероятность распро-

странения возбудителя фомоза с семенами указывали многие учёные [5; 7].

В Пакистане возбудитель фомоза *Phoma oleracea* Sacc. впервые был выделен из семян подсолнечника в 2005 г., и сделано заключение о влиянии инфекции на их всхожесть [5]. Исследования 2008 г. образцов семян подсолнечника, полученных из разных мест возделывания в Сербии, показали отсутствие в семенной микрофлоре грибов из рода *Phoma* Sacc., и был сделан вывод, что семена не могут служить источником распространения болезни [6]. В 2014 г. Maširević с соавторами обнаружили гриб *Phoma macdonaldii* Boerema в необработанных фунгицидами семенах различных гибридов подсолнечника, частота его встречаемости составляла 1,2–3,5 % [7]. Аналогичный процент заражённых семян (0,25–3,25 %) был подтвержден исследователями Югославии [8]. В Китае выделен возбудитель фомоза гриб *P. macdonaldii* из семян подсолнечника и установлена связь распространения болезни с импортом семян для коммерческих посевов из других стран [9].

В Российской Федерации микрофлора семян подсолнечника изучалась многими авторами. По данным Ментюкова Н.С., за период с 2001 по 2003 гг. в трёх зонах Волгоградской области была установлена высокая инфицированность семян подсолнечника патогенными грибами *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, и *Sclerotium bataticola*. Однако не было описано поражение семян подсолнечника фомозом [10]. Пивень В.М. и Мурадасилова Н.В. [11] при проведении ряда опытов по патогенной микрофлоре семян подсолнечника, выращенных в условиях Западного Предкавказья, отмечали, что выделялись многие фитопатогенные грибы, но не упоминали о присутствии грибов из рода *Phoma* Sacc. Тогда как в Тамбовской области в 2010 г. на сортоиспытательной станции был выделен возбудитель болезни *P. macdonaldii* из семян сортов и гибридов подсолнечника российской и зарубежной селекции [12].

Разноречивость литературных сведений о возможности распространения возбудителя фомоза семенами и его видовой принадлежности свидетельствует о недостаточной изученности этих вопросов.

Цель нашего исследования уточнить видовую принадлежность гриба из рода *Phoma* Sacc., выделенного из образцов семян подсолнечника, выращенных в Волгоградской области Российской Федерации.

Материалы и методы. Научные исследования проводили в лаборатории иммунитета и молекулярного маркирования. Для анализа семян на семенную инфекцию использовали методику Наумовой [13]. Из каждой партии произвольно отбирали по 100 семян, раскладывали в стерильные одноразовые пластмассовые чашки Петри на голодный агар по 10 штук и инкубировали в течение 10 дней при температуре +25 °С в термостате. На второй и последующие дни семена просматривали с помощью стереоскопического микроскопа МБС-10 для выявления микрофлоры.

Возбудителей болезней идентифицировали по морфологическим признакам. Измерение пикнид и пикноспор возбудителя фомоза под световым микроскопом Motic BA 310 выполняли при помощи окуляр-микрометра [14]. По систематикам Билай, Пидопличко, Boerema et al. определяли видовую принадлежность фитопатогенных грибов [1; 15; 16].

Распространенность или частоту встречаемости пораженных возбудителем фомоза семян подсолнечника вычисляли по формуле:

$$P = \frac{n \times 100}{N},$$

где P – распространенность пораженных семян, %;

N – общее количество семян в пробе;

n – количество пораженных семян в пробе;

100 – коэффициент для пересчета в проценты.

Результаты и обсуждение. В лаборатории иммунитета и молекулярного маркирования ежегодно проводится работа

по изучению микробиоты партий семян подсолнечника. В течение трех лет (2015–2017 гг.) было проанализировано 40 партий семян подсолнечника из ООО «Солнечная страна» Волгоградской области на наличие патогенной микрофлоры. Распространённость грибов зависела от складывающихся погодных условий, в которых возделывался подсолнечник исследуемых партий семян. В исследованных семенах изученных лет преобладали виды грибов рода *Alternaria* spp. Nees, вызывающие альтернариоз подсолнечника. По литературным данным и нашим наблюдениям, грибы этого рода встречаются наиболее часто на семенах подсолнечника [10; 11; 18]. Распространённость возбудителей других вредоносных болезней: *Fusarium* spp. Link. (фузариоз), *Botrytis cinerea* Pers. (серая гниль), *Rhizopus* spp. Ehren. (сухая гниль), *Phomopsis helianthi* Munt.-Čvet. et al. (фомопсис), *Phoma* sp. Sacc. (фомоз) и бактериоза была в эти годы невысокой. В 2015 г. развитие бактериозов на семянках составляло 13,88 %. В последующие годы количество инфицированных бактериями семянок было в 3–4 раза меньше. Микробиота семян в 2015 г. была представлена *Alternaria* spp. – 5,15 %, *Fusarium* spp. – 0,15 и *Rhizopus* spp. – 0,55 %. В 2016 и 2017 гг. распространённость возбудителей альтернариоза на семенах была выше бактериальных. Частота встречаемости в партиях семян возбудителей фузариоза и фомоза была менее 1 %, так, возбудитель фомоза был выявлен с частотой встречаемости 0,33 % и 0,17 % соответственно (таблица).

Таблица

Частота встречаемости семянок, поражённых возбудителями болезней, в партиях семян подсолнечника из Волгоградской области, %

Год	Все-го партий семян, шт.	Все-го се-мян, шт.	Поражено, %						
			<i>Alter-naria</i> spp.	<i>Fusa-rium</i> spp.	<i>Rhi-so-pus</i> spp.	<i>Pho-ma</i> sp.	<i>Pho-mop-sis heli-anthi</i>	<i>Bo-trytis cine-rea</i>	Бак-те-рии
2015	13	1300	5,15	0,15	0,55	0	0	0	13,88
2016	9	900	36,22	0,22	0,11	0,33	1,55	6,0	3,55
2017	18	1800	15,83	0,17	0,10	0,17	1,28	0,22	4,12

Из этих партий путём визуального анализа были отобраны семянки с пикнидами фомоза. Около 5000 семянок были просмотрены под стереоскопическим микроскопом для обнаружения репродуктивных органов возбудителя болезни. В основном пикниды располагались хаотично под слоем эпидермиса околоплодника (лузги) на расширенной части семянки (рис. 1).



Рисунок 1 – Семянка подсолнечника с пикнидами возбудителя фомоза *Phoma macdonaldi* Воегера на лузге под эпидермисом (ориг.)

Для идентификации видовой принадлежности возбудителя семянка подсолнечника, пораженные фомозом, раскладывали на голодный агар в чашки Петри. На 3–4-й день на семенах появлялся белый мицелий с сероватыми тяжами. Семена с таким мицелием изолировали в отдельные чашки Петри на питательную среду овсяный агар (ОА). Изолирование проводили для того, чтобы исключить постороннюю микробиоту. Через три дня на семянке и на воздушном мицелии образовывались округлые пикниды с плотной коричневой до черной цвета оболочкой (рис. 1). Под лузгой в местах проникновения патогена можно было обнаружить некроз на семядолях. Побурение тканей зародышевого корешка свидетельствовало о начале патологического процесса и о наличии в них инфекционного начала возбудителя болезни. Через 7–10 дней мицелий и образовавшиеся пикниды плотно покрывали лузгу и появившийся проросток, который в дальнейшем загнивал. Через апикальный остиол (отверстие) пикнид при созрева-

нии выделялся экссудат грязно-белого или бело-розового цвета (рис. 2).

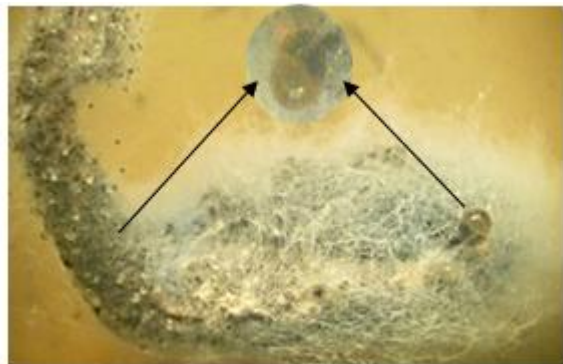


Рисунок 2 – Пикниды возбудителя фомоза *Phoma macdonaldii* Воерема на воздушном мицелии и семянке подсолнечника с выходящим экссудатом (показан стрелками) при их созревании (ориг.)

Пикниды с небольшим слоем эпидермиса переносили иглой на предметное стекло. Размеры пикнид, образовавшихся на лузге, составляли 70–200 мк, а на воздушном мицелии пикниды были меньше 35–170 мк (рис. 2). При микроскопическом анализе были видны пикноспоры гриба. Пикноспоры бесцветные, одноклеточные, большей частью яйцевидно-эллипсоидальные, их размеры составили 4,5–10 × 1,5–3,6 мк (рис. 3).

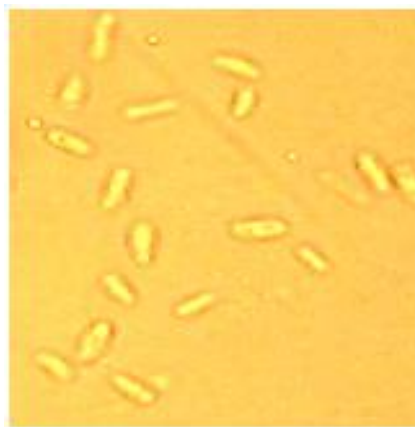


Рисунок 3 – Пикноспоры гриба *Phoma macdonaldii* Воерема (4,5–10 × 1,5–3,6 мк) (ориг.)

По систематике Воерема et al. (2004) размеры репродуктивных органов возбудителя фомоза *Phoma* sp. Sacc., выделен-

ного из семян подсолнечника, соответствуют виду *Phoma macdonaldii*. Результаты исследований согласуются с описанными в литературе фактами встречаемости *Phoma macdonaldii* на семенах подсолнечника [18]. То, что на семячках и вегетирующих растениях подсолнечника был обнаружен один и тот же вид возбудителя фомоза, свидетельствует о возможности распространения болезни инфицированными семенами [17].

Вывод. Таким образом, определена видовая принадлежность гриба из рода *Phoma* Sacc., выделенного из образцов семян подсолнечника Волгоградской области. При визуальном осмотре семянок поражёнными считали те, на которых присутствовали пикниды гриба под слоем эпидермиса. Размеры репродуктивных органов гриба по систематике Воерема et al. (2004) соответствовали *Phoma macdonaldii*. Наличие репродуктивных органов гриба *Phoma macdonaldii* на семячках означает, что в определённых условиях зараженные семена подсолнечника способствуют распространению фомоза.

Список литературы

1. 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.
2. Frezzi M.J. *Leptosphaeria lindquistii* n. sp., forma sexual de *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc., hongo causal de la mancha negra del tallo' del girasol (*Helianthus annuus* L.), en Argentina // *Patologia Vegetal*. – 1968. – 5. – P. 73–80.
3. Roustaei A., Costes S., Dechamp-Guillaume G. and Barrault G. Phenotypic variability of *Leptosphaeria lindquistii* (anamorph: *Phoma macdonaldii*), a fungal pathogen of sunflower // *Plant Pathology*. – 2000. – 49. – P. 227–234.
4. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Антонова Т.С. Патогенность изолятов возбудителя фомоза для растений подсолнечника // В сб.: *Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции*. – Краснодар, 2015. – С. 71–74.
5. Sharfun-Nnahar, Muhammad Mushtaq and M.H. Hashmi. Seed-borne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Pak. J. Bot.* – 2005. – 37 (2). – P. 451–457.
6. Jelena Lević, Slavica Stanković, Vesna Krnjaja, Aleksandra Bočarov-Stančić and Dragica Ivanović. Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia // *Pestic. Phytomed.* (Belgrade). – 2012. – 27 (1). – P. 33–40.
7. Stevan N. Maširević, Slađana S. Medić-Pap, N. Terzić, Boško P. Dedić, and Igor Dž. Balalić. *Phoma*

macdonaldi on seed and its importance in etiology of phoma black stem in sunflower // Сборник Матице српске за природне науке // Jour. Nat. Sci, Matica Srpska, Novi Sad. – 2014. – No 126. – P. 57–65.

8. Mirjana Stajić, Jelena Vukojević, Sonja Duletić-Laušević and Nada Lačok. Development of reproductive structures of *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. et al. AND *Phoma macdonaldii* Boerema on sunflower seeds // Helia. – 2001. – V. 24. – No 34. – P. 83–94.

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

10. Ментюков Н.С. Микозы семян подсолнечника и разработка мероприятий по снижению их вредоносности в условиях Волгоградской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Краснодар, 2005. – 21 с.

11. Пивень В.Т., Мурадасилова Н.В., Шуляк И.И., Алифирова Т.П. Способы обнаружения инфицированности семян подсолнечника патогенной микрофлорой // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2013. – Вып. 2 (155–156). – С. 123–130.

12. Выприцкая А.А., Выприцкий 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.

13. Наумова Н.А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. – Л.: Колос, 1970. – 208 с.

14. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. 4-е изд. перераб. и доп. – М: Агропромиздат, 1988. – 271 с.

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

16. Пидопличко Н.М. Грибы – паразиты культурных растений. Пикнидиальные грибы. – Киев: Наукова думка, 1978. – Т. 3. – 230 с.

17. Саукова С.Л., Ивебор 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.

18. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Ивебор М.В. Частота встречаемости возбудителей болезней на семянках подсолнечника, выращенных в разных регионах РФ // В сб.: Современные системы и методы фитосанитарной экспертизы и управления защиты растений. Материалы Международной конференции с элементами научной школы для молодых ученых, аспирантов и студентов. – 2015. – С. 85–93.

References

1. 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. – R. 364–366.

2. Frezzi M.J. *Leptosphaeria lindquistii* n. sp., forma sexual de *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc., hongo causal de la mancha negra del tallo' del girasol (*Helianthus annuus* L.), en Argentina. *Patologia Vegetal* 5, 1968. – R. 73–80.

3. Roustae A., Costes S., Dechamp-Guillaume G. and Barrault G. Phenotypic variability of *Leptosphaeria lindquistii* (anamorph: *Phoma macdonaldii*), a fungal pathogen of sunflower // *Plant Pathology*. – 2000. – 49. – R. 227–234.

4. Araslanova N.M., Saukova S.L., Antonova T.S. Patogennost' izolyatov vzbuditelya fomoza dlya rasteniy podsolnechnika // V sb.: Innovatsionnye issledovaniya i razrabotki dlya nauchnogo obespecheniya proizvodstva i khraneniya ekologicheski bezopasnoy sel'skokhozyaystvennoy i pishchevoy produktii. – Krasnodar, 2015. – S. 71–74.

5. Sharfun-Nnahr, Muhammad Mushtaq and M.H. Hashmi. Seed-borne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Pak. J. Bot.* – 2005. – 37 (2). – R. 451–457.

6. Jelena Lević, Slavica Stanković, Vesna Krnjaja, Aleksandra Bočarov-Stančić and Dragica Ivanović. Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia // *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*. – 2012. – 27 (1). – R. 33–40.

7. Stevan N. Maširević, Slađana S. Medić-Pap, N. Terzić, Boško P. Dedić, and Igor Dž. Balalić. Phoma *macdonaldi* on seed and its importance in etiology of phoma black stem in sunflower. *Zbornik Matitse srpske za prirodne nauke // Jour. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad.* – 2014. – № 126. – P. 57–65.

8. Mirjana Stajić, Jelena Vukojević, Sonja Duletić-Laušević and Nada Lačok. Development of reproductive structures of *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. et al. AND *Phoma macdonaldii* Boerema on sunflower seeds // *Helia*. – 2001. – V. 24. – №. 34. – R. 83–94.

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

10. Mentyukov N.S. Mikozy semyan podsolnechnika i razrabotka meropriyatiy po snizheniyu ikh vredenosti v usloviyakh Volgogradskoy oblasti: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. – Krasnodar, 2005. – 21 s.

11. Piven' V.T., Muradasilova N.V., Shulyak I.I., Alifirova T.P. Sposoby obnaruzheniya infitsirovannosti semyan podsolnechnika patogennoy mikofloroy // *Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK.* – 2013. – Vyp. 2 (155–156). – S. 123–130.

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

13. Naumova N.A. Analiz semyan na gribnuyu i bakterial'nuyu infektsiyu. – L.: Kolos, 1970. – 208 s.

14. Pausheva Z.P. Praktikum po tsitologii rasteniy. 4-e izd. pererab. i dop. – M: Agropromizdat, 1988. – 271 s.

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

16. Pidoplichko N.M. Griby – parazity kul'turnykh rasteniy. Piknidial'nye griby. – Kiev: Naukova dumka, 1978. – T. 3. – 230 s.

17. Saukova S.L., Ivebor M.V., Antonova T.S., Araslanova N.M. Vzbuditel' fomoza na vegetiruyushchikh rasteniyakh podsolnechnika v Krasnodarskom krae // *Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK.* – 2014. – Vyp. 2 (159–160). – S. 167–172.

18. Araslanova N.M., Saukova S.L., Ivebor M.V. Chastota vstrechaemosti vzbuditelya bolezney na semyankakh podsolnechnika, vyrashchennykh v raznykh regionakh RF // V sb.: Sovremennye sistemy i metody fitosanitarney ekspertizy i upravleniya zashchitoy rasteniy. Materialy Mezhdunarodnoy konferentsii s elementami nauchnoy shkoly dlya molodykh uchenykh, aspirantov i studentov. – 2015. – S. 85–93.