

DOI <https://doi.org/10.26661/2312-2056/2018-23/1-09>

УДК 632.4:633.853.55

**ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНО ОБУМОВЛЕНОЇ СТІЙКОСТІ
СОРТІВ РИЦИНИ ТА СТРУКТУРИ
САПРОТРОФНОГО КОМПЛЕКСУ РИЗОСФЕРИ ДО
ФУЗАРІОЗУ**

Войтович О. М., Костюченко Н. І.
Запорізький національний університет
helenVoit@gmail.com

Досліджено генетичну здатність ричини опиратися фітопатогенному впливу *Fusarium oxysporum* та зміни структури сапротрофного комплексу мікроміцетів ризосфери під впливом штучного фузаріозного фону.

Популяція гібридів F₂, отриманих від схрещування контрастних за стійкістю до ураження фузаріозом сортів ричини, може змінювати свою структуру протягом вегетації залежно від генетичного донора стійкості. Вивчення морфометричних показників свідчить про те, що зміни в структурі популяцій гібридів F₂ є наслідком вибіркового виживання стійких до фузаріозної інфекції генотипів.

Показано зменшення на 10 % видового різноманіття мікроміцетів за рахунок зменшення кількості рідкісних видів, що свідчить про втрату стабільності. Суттєво збільшується кількість представників роду *Penicillium* та до 8–15 % – кількість меланінвмісних грибів, як показника загальної токсичності ґрунту.

Fusarium oxysporium, стійкі сорти, інфекційний фон, структура популяції рицини за кількісними ознаками, токсичність ґрунту, чисельність мікроміцетів

Гриби роду *Fusarium* є постійним компонентом ґрунтів агроценозів, який в залежності від екологічних умов існування в різній мірі впливає не тільки на формування грибного ценозу та асоціацій мікроорганізмів, але й вступає в досить складні взаємовідносини з вищими рослинами [2, 15, 17]. Саме з ґрунтовим *Fusarium oxysporium* пов'язано виникнення однієї з найбільш шкідливих хвороб сільськогосподарських культур – фузаріозного в'янення, яке призводить до значних втрат та навіть повної загибелі врожаю [1, 3].

Загальновідомо, що однією з передумов успішної боротьби з поширенням захворювання є селекційні програми з використанням інфекційних фонів, направлені на виведення стійких сортів. Зокрема показана ефективність подібних методів для рицини, льону та інших культур [13].

Фітопатогенна стійкість рослин – це комплексна ознака, що представляє систему заходів, перешкоджаючих спочатку проникненню, а потім поширенню інфекції в органах рослини завдяки морфолого-анатомічним бар'єрам та біохімічним особливостям метаболізму. Подібне тестування стійкості відбувається впродовж всієї вегетації, а ефективність боротьби крім генетично обумовленої здатності рослин до протидії патогену залежить, безумовно, від екологічних умов довкілля [10]. Саме ґрунтово-кліматичні умови можуть призвести до змін у складі ризосферного сапротрофного комплексу, що часто викликає підвищення загальної фітотоксичності ґрунту [8, 14].

Метою нашої роботи була оцінка генетичної стійкості популяції рицини до фузаріозного в'янення впродовж вегетації на інфекційному фоні за деякими морфологічними

показниками та вивчення динаміки екологічних змін її ризосферного оточення.

Матеріали та методи досліджень

Як об'єкт дослідження використовували сорти рицини та гібриди, отримані від схрещування контрастних за стійкістю до фузаріозу зразків.

Інфекційний фон створювали шляхом внесення чистої культури гриба *Fusarium oxysporium* в ґрунт з розрахунку 4 г у гніздо перед висіванням насіння (по 2 шт. у гніздо, 70×70). Виділення збудника фузаріозу та приготування інокулюма здійснювали за загальноприйнятими методиками [2, 6].

Проводили оцінку загальної здатності протистояти захворюванню шляхом прямого обліку рослин, які вижили на інфекційному фоні продовж вегетації (у відсотках до загальної кількості) та оцінку змін у структурі популяції за такими морфометричними показниками як висота рослини, довжина китиці, довжина міжвузля, кількість вузлів та довжина плодоніжки.

Зразки ризосферного ґрунту для аналізу відбирали в фазу масового цвітіння рослин та восени наприкінці вегетації. Чисельність та видовий склад грибів визначали методом висіву на тверде поживне середовище Чапека [7, 8]. Облік колоній проводили на 7–14 добу. Чисельність визначали у колонієутворюючих одиницях на грам ґрунту (КУО/г).

Родовий склад та ідентифікацію виділених культур грибів проводили за макро- та мікроморфологічними культуральними ознаками за визначниками [5, 11, 12].

Угруповання мікроміцетів у ризосфері рицини були охарактеризовані за кількісними та якісними (коефіцієнт Сьоренсена) екологічними критеріями [9].

Результати та їх обговорення

Впродовж вегетаційного періоду шляхом обліку кількості рослин, що вижили на інфекційному фоні, проводили оцінку загальної здатності рослин протистояти захворюванню (табл. 1).

Таблиця 1 – Чутливість сортів ріцини до фузаріозного в'янення

Table 1 – Sensitivity of castor bean varieties to fusariosis wilting

Фаза вегетації Сорт	Частка пошкоджених рослин, %				
	4–6 справжні листки	початок цвітіння	рясне цвітіння	дозрівання	усього за вегетацію
ВНИИМК 165 улучшенный	0	0	0	0	0
Хортицька 1	2,5±2,47	2,5±2,47	0	7,5±4,16	12,5±5,20
Донская крупнокистная	0	23,5±5,91	12±4,1	14,0±4,91	50,0±7,06
Небраска	45,0±9,91	30,0±10,2	0	0	75,0±8,00
Гібрид ранній	45,8±9,17	45,8±9,17	0	8,3±5,63	100,0

Генетично обумовлена різниця між сортами щодо схильності до захворювання простежується протягом всієї вегетації та дозволяє чітко диференціювати обрані сорти за стійкістю до фітопатогенного впливу фузаріуму. Так, сорт ВНИИМК 165 улучшенный показав абсолютну стійкість протягом усього періоду розвитку на відміну від сорту Гібрид ранній, у якого чутливість до інфекції склала наприкінці вегетації 100 %. Ступінь стійкості інших сортів була проміжною, але відмінності за кількістю пошкоджених рослин від 12,5 до 75 % дозволяють визначити сорт Хортицька 1 як стійкий, а сорти Донская крупнокистная та Небраска як нестійкі.

Безумовно ступінь пошкоджуючого фітопатогенного впливу залежить від стадії розвитку рослини, бо загальний фізіологічний стан значною мірою визначає рівень захисних можливостей організму. Найбільш сприятливими для пошкодження виявились початкові онтогенетичні стадії (до цвітіння), коли захисні можливості насамперед чутливих сортів не дозволяли їм ефективно протидіяти згубному впливу грибною інфекції та призводили до ураження 23,5–45,8 % рослин нестійких сортів.

Для оцінки генетичної основи успадкування стійкості та з'ясування можливостей ефективного селекційного процесу в цьому напрямку було проведено оцінку стійкості

гібридного покоління F₂, отриманого від схрещування контрастних батьківських пар. Результати, наведені в таблиці 2, свідчать про можливість існування двох типів успадкування цієї ознаки.

Таблиця 2 – Чутливість популяції F₂ рицини до фузаріозного в'янення

Table 2 – Sensitivity of castor bean F₂ population to fusariosis wilting

Гібрид	Частка пошкоджених рослин, %			
	4–6 справжні листки	початок цвітіння	рясне цвітіння	усього за вегетацію
Хортицька 1 × Небраска	21,9±3,19	34,5±3,67	14,3±2,70	70,7±3,5
ВНИИМК 165 улучшенный × Донская я крупнокистная	3,1±1,16	5,78±1,56	2,67±1,07	11,4±2,1

Використання в обох схрещуваннях у якості материнської рослини стійкої форми призвело до отримання абсолютно різних результатів щодо успадкування цієї ознаки. Так, гібрид Хортицька 1 × Небраска впродовж вегетації втратив від захворювання на фузаріоз майже $\frac{3}{4}$ популяції, тоді як гібриди F₂ ВНИИМК 165 улучшенный × Донская крупнокистная виявились дуже стійкими до захворювання і частка загинув рослин за всю вегетацію склала лише 11,4 %. Різний характер успадкування ознаки стійкості до фузаріозного в'янення є свідченням того, що сама здатність рослини протидіяти згубному впливу інфекції може формуватися за рахунок багатьох морфологічних особливостей та метаболічних змін, починаючи від створення механічних бар'єрів для проникнення інфекції і до змін у вуглеводному обміні з метою меланізації водопровідних тканин для зупинки розповсюдження інфекції та активації ферментних систем захисту.

Різна чутливість батьківських форм до патогенного впливу – це результат певної генетичної відмінності між ними та, враховуючи безумовно полігенний характер успадкування ознаки та складність загальної будови та експресії генетичного матеріалу, ймовірна певна ступінь зчеплення з іншими ознаками. Дослідження деяких морфометричних показників у популяціях гібридів є свідченням того, що зміни у структурі популяцій F₂отримані внаслідок вибіркового виживання стійких до фузаріозної інфекції генотипів (табл. 3).

З усіх проаналізованих нами морфометричних показників лише деякі виявили суттєву різницю між середнім значенням ознак у гібридів контрольної та дослідної популяції. Але в усіх цих випадках збільшувалась доля генотипів, які за своїми морфометричними показниками наближаються саме до стійкої батьківської форми. Враховуючи той факт, що вимірювання всіх характеристик відбувалося на стадії фізіологічної стиглості, а найбільш чутливим до інфекції є навпаки початковий етап росту, то зрозуміло, що зрушення в структурі популяції є наслідком саме виживання більш стійкої частини нащадків та загибелі чутливих до фітопатогену.

Внесення культури доволі агресивного гриба *Fusarium oxysporium* в ґрунт змінює не тільки метаболізм рослини, спричиняючи розгортання захисних програм, але й насамперед впливає на аборигенну ґрунтову мікрофлору в ризосфері рослини, змінюючи структуру біотичного оточення рицини як у відношенні якісного, так і кількісного складу компонентів.

Проведений аналіз обліку загальної чисельності грибів у ризосфері рицини показав, що кількість мікроміцетів динамічно змінюється протягом вегетації, сягаючи максимальних значень у період масового цвітіння, коли метеорологічні показники температури та вологості наближені до оптимальних, та різко зменшуючись восени як в контролі, так і в досліді (табл. 4). Одним із факторів, що сприяв такому значному падінню показників загальної чисельності видів, є безумовно різке погіршення умов зволоження, яке спостерігалось з кінця серпня майже до

Таблиця 3 – Вплив фузаріозного фону вирощування на структуру популяції F₂ рицини
 Table 3 – Influence of fusariosis background of growing on the structure of castor bean F₂ population

Висота штамба, см	Висота рослини, см	Довжина китиці, см	Довжина міжвузля, см	Кількість вузлів	Довжина плодоніжки, см
Хортицька 1					
70,7±2,18	141,1±4,68	15,3±1,00	7,5±0,29	9,1±0,32	2,1±0,15
ВНИИМК 165 улучшенный					
82,5±1,66	182,0± 4,20	17,5±0,65	9,5±0,22	9,9±0,09	1,8±0,07
Донская крупнокитная					
80,3±2,34	150,8±3,69	28,8±2,00	7,9±0,18	9,9±0,21	1,3±-,10
Гібрид ранній					
43,6±2,14	123,7±7,87	17,9±3,39	6,4±0,22	6,7±0,33	2,5±0,05
Небраска					
44,2±2,00	134,5±4,61	14,9±1,16	7,0±0,26	6,4±0,09	2,1±0,08
ВНИИМК 165 улучшенный × Небраска					
73,8±2,76	184,6±3,33	18,5±0,92	9,2±0,23	8,1±0,18	2,1±0,06
77,7±2,78	185,0±2,85	21,5±0,98**	9,3±0,21	8,7±0,18*	2,3±0,06
ВНИИМК 165 улучшенный × Донская крупнокитная					
78,1±2,95	151,8±2,41	20,5±1,17	10,9±0,27	7,2±0,15	2,1±0,08
83,2±2,34	157,9±2,76	22,0±0,91	10,6±0,17	7,8±0,14	2,3±0,07*
Хортицька 1 × Гібрид ранній					
63,0±1,19	141,1±2,17	16,2±0,95	9,4±0,16	6,9±0,16	2,0±0,05
63,5±2,43	148,8±2,9*	14,1±0,97**	9,5±0,29	6,5±0,18	2,0±0,07

Примітка: курсивом позначено контрольні варіанти (без фузаріозного фону вирощування); *, ** – різниця між контрольним та дослідним варіантом суттєва при P < 0,05 та 0,01 відповідно

жовтня. Аналогічні зміни фіксуються і для інших сільськогосподарських культур [16].

Таблиця 4 – Загальна чисельність мікроміцетів у ризосфері рицини на штучному фузаріозному фоні

Table 4 – The total number of micromycetes in the castor bean rhizosphere on an artificial fusariosis background

Варіант	Кількість мікроміцетів тис. КУО/г ґрунту		
	початок вегетації	масове цвітіння	кінець вегетації
Контроль	47,77±2,28	86,33±6,35	11,71±0,54
Дослід	–	74,67±6,35	17,99±0,94***

Примітка: *** – різниця між варіантами суттєва при $P < 0,001$

Але водночас між варіантами спостерігається суттєва різниця. У порівнянні з піковою кількістю в середині вегетації восени загальна чисельність у контролі зменшилась в 7,37 разів, тоді як у досліді лише в 4,15 рази (різниця суттєва при $P < 0,001$). Така різниця між варіантами можлива як наслідок змін у якісному складі біоценозу, бо загально відомий той факт, що в штучних фітоценозах зміни спостерігаються насамперед у бік збільшення кількості фітопатогенних мікроміцетів та зменшення мікроорганізмів-антагоністів [4].

За період вегетації рослин рицини нами було виділено 48 морфолого-культуральних типів (МКТ) мікроскопічних грибів, в тому числі 37 МКТ в контролі, та 31 МКТ в дослідному варіанті. При цьому кількість загальних для обох варіантів МКТ грибів становила 23, таких, що зустрічалися лише в контролі – 14, а на фузаріозному фоні – 8.

Найбільш різноманітним в обох варіантах ценоз був у період масового цвітіння рослин – коефіцієнт подібності Сьоренсена між варіантами досліді становив 0,61, а наприкінці вегетації – 0,67.

Виділені види мікроміцетів належать до родів *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Metarrhizium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium* (рис. 1). Домінують види роду *Aspergillus*, частка яких від загальної кількості складала 25–31 % в контролі та

25–26 % у досліді в залежності від стадії розвитку рослин. Частка представників роду *Penicillium* збільшувалась в динаміці більш суттєво: у контролі з 4 до 13 %, а в досліді з 10 до 23 %, що є результатом штучних змін типового видового складу внаслідок внесення фузаріозної інфекції.

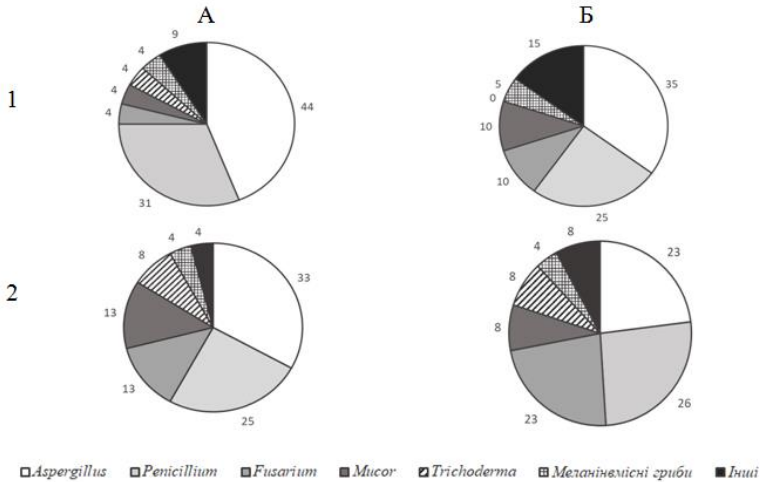


Рисунок 1 – Родовий склад мікроміцетів ризосфери рицини: 1 – фаза масового цвітіння та початку дозрівання коробочок; 2 – кінець вегетації;

А – контроль; Б – на фузаріозному фоні

Figure 1 – The generic composition of the micromycetes of the castor bean rhizosphere: 1 – the phase of mass flowering and the beginning of maturation of the boxes; 2 – the end of the vegetation; A – control; B – on the fusariosis background

Цікаво, що помітного нагромадження безпосередньо фузаріозної інфекції в ґрунті дослідних ділянок нами не встановлено, але за певними ознаками можна казати про суттєве зростання загальної токсичності ґрунту на фузаріозному фоні. Про це свідчить, по-перше, зменшення на 10 % кількості рідкісних видів, які взагалі додають ценозу стабільності та, по-друге, збільшення до 8–15 % залежно від

періоду вегетації вмісту меланінвмісних грибів як показників загальної токсичності ґрунту.

Висновки

1. Генетично обумовлена стійкість деяких сортів рицини до фузаріозного в'янення дозволяє чітко диференціювати генотипи вже на початкових етапах онтогенезу та має різний характер успадкування.

2. Різниця у стійкості до сприйняття фузаріозної інфекції на рівні гібридів, отриманих від схрещування контрастних за цією ознакою форм, призводить до певних змін у структурі популяції за деякими морфометричними характеристиками.

3. Вирощування рослин на штучному фузаріозному фоні наприкінці вегетації викликає суттєві зміни, насамперед у кількісному складі ризосферних мікроміцетів, у бік зменшення видового різноманіття та збільшення загальної токсичності ґрунту.

Література:

1. Антонова Т. С., Арасланова Н. М., Саукова С. Л. Патологические изменения у растений подсолнечника, пораженных фузариозом. Сб. докладов 2-й международной конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур» 1–2 марта 2003. Краснодар, 2003. С. 150–155.

2. Билай В. И. Фузариоз. К. : Наук. думка, 1977. 442с.

3. Дерменко О. П. Фузаріоз насіння озимого трипикале. Мікробіол. журн. 2006. 68, № 2. С. 105–112.

4. Курдіш І. К. Інтродукція мікроорганізмів у агрофітоценози: монографія. К. : Наукова думка, 2010. 255 с.

5. Литвинов М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л. : Наука, 1967. 303 с.

6. Методические указания по изучению вертициллезного и фузариозного увядания однолетних сельскохозяйственных растений. Л. : Изд-во ВИЗР, 1980. 27 с.

7. Методы почвенной микробиологии и биохимии: под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 303 с.

8. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: МГУ, 1988. 220 с.

9. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и методы его измерения. М.: Мир, 1992. 181 с.

10. Никонова В. Н., Лях В. А. Оценка клещевины на устойчивость к фузариозному увяданию в условиях искусственного климата. Науч.-тех. бюллетень ИОК УААН. Запорожье. 2002. Вып. 7. С. 26–30.

11. Пидопличко Н. М. Пеницилли (ключ для определения видов). К.: Наукова думка, 1972. 149 с.

12. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / Пер. с англ. под ред. И. Р. Дорожковой. М.: Мир, 2001. 468 с.

13. Свиридов А. А. Селекция клещевины на устойчивость к фузариозному увяданию. Автореф. дис. к.с.-х наук. Краснодар, 1992. 20 с.

14. Костюченко Н. И., Лях В. А., Лабутова Н. М. Структура грибного ценоза прикорневой зоны льна масличного на искусственном фузариозном фоне. Питання біоіндикації та екології. Запоріжжя: ЗНУ, 2006. Вип. 11, № 1. С. 62–72.

15. Экологические проблемы защиты растений от болезней/ Л.Л. Великанов [та ін.]. Итоги науки и техники. Защита растений. 1988. Т.6. С. 141.

16. Kostyuchenko N. I., Lyakh V. A. Diversity of Fungi in Rhizoplan, Rhizosphere and Edaphosphere of Sunflower at Different Stages of its Development. Helia, 2018. V. 41. N 68. P.117–127.

17. De Cal A. [et al.]. Induced resistance by *Penicillium oxalicum* against of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: histological studies of infected and induced tomato stems. Phytopathology. 2000. 90. P. 260–268.

**ESTIMATION OF GENETICALLY CONDITIONED
STABILITY OF CASTOR BEAN VARIETIES TO
FUSARIOSIS AND STRUCTURE OF SAPROTROPH
COMPLEX OF RHIZOSPHERE**

Voitovych O. M., Kostjuchenko N. I.

Zaporizhzhia National University

helenVoit@gmail.com

Influence of artificial fusariosis background on genetic ability of castorbean plants to resist phytopathogenic influence of *Fusarium oxysporum* and on the changes in the structure of saprotroph complex of rhizolithe were studied.

Castor bean varieties and hybrids obtained by crossing contrasting in resistance to fusariosis specimens were used as an object of study. Evaluation of the general ability to withstand the disease was assessed by direct accounting the number of plants, that survived against the infectious background during the growing season and an assessment of the change in the population structure by some morphometric characteristics: plant height, brush length, length of internodes, number of nodes and length of the stem. Analysis of the rhizosphere fungoid cenosis was carried out at the stage of mass flowering of plants and at the end of their growing season by estimating the number and species composition of micromycetes.

It has been shown that the population of F₂ hybrids obtained by crossing contrasting in resistance to the susceptibility of *Fusarium* castor bean varieties, changes its structure during the growing season. Depending on the genetic resistance donor, these changes can be of two types. The study of morphometric indicators suggests that changes in the structure of F₂ hybrids populations are the result of the selective survival of genotypes resistant to fusariosis infection.

Under the action of exogenous *Fusarium*, not only the plant metabolism changes, but also the structure of its biotic environment. It has been shown a 10% reduction of the species diversity of micromycetes due to a decrease in the number of rare species, which indicates a loss of stability. Selected species of micromycetes belong to the genus *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Metarrhizium*, *Mucor*,

Fusarium, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, species of the genus *Aspergillus* dominate. The proportion of representatives of the genus *Penicillium* significantly increases, and the proportion of melanin-containing fungi, as indicators of the soil general toxicity, increases to 8–15 % depending on the growing season.