

ПОПУЛЯЦИИ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *PYTHIUM* НА КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ

Дата поступления статьи в редакцию: 15.04.2014

Рецензенты: В.М. Положенец доктор с.-х. наук, профессор ЖНАУ,
Буга С.Ф., доктор с.-х. наук, профессор

Аннотация. Представители рода *Pythium* широко распространены в почвах посевов многих сельскохозяйственных культур. Однако информация относительно их видового состава и патогенности часто противоречива. Нами из корней озимой пшеницы были выделены изоляты, согласно культурально-морфологическим свойствам, принадлежащие к видам *P. sylvaticum*, *P. graminicola*, *P. ultimum*, *P. debaryanum*, *P. irregulare*. В условиях вегетационного опыта определены патогенные свойства выделенных изолятов. Наиболее высокой патогенностью характеризовались виды *P. irregulare* и *P. graminicola*.

Ключевые слова: пшеница (*Triticum aestivum* L.), *Pythium* spp., патогенность, виды.

Введение. Виды рода *Pythium Pringsheim* - группа распространенных в природе микроорганизмов. Впервые описал питиевые Прингшейм [18]. На протяжении долгой истории своего изучения питиевые рассматривались как низшие грибы класса оомицеты, т.е. относились к царству грибов (*Fungi*). Однако, в отличие от высших грибов, они по физиолого-биохимическим характеристикам более подобны растениям. Поэтому, на основе результатов последних исследований, оомицеты изъяты из царства грибов и перенесены в новое царство - *Chromista* [12]. В настоящее время микроорганизмы рода *Pythium* уже не являются грибами, хотя традиционно их продолжают так называть. Питиевые составляют большую группу почвенных микроорганизмов, однако исследовать их распространенность в почве не просто. Как отмечает Дьяков [1], на обычных питательных средах они легко вытесняются другими грибами, поэтому если применить для анализа метод грунтовых разведений, выделить их не удастся. Известны многочисленные сообщения о поражении питиевыми кукурузы, рапса, табака, махорки, люцерны, сахарной свеклы, капусты, сеянцев плодовых [2, 5, 6, 7, 16]. Однако их вредоносность на зерновых колосовых до сих пор мало исследована, хотя, согласно многочисленным публикациям зарубежных авторов [10, 11, 13, 14, 17], эти патогены доста-

точно распространены на пшенице, ячмене и других зерновых культурах. Заболевание проявляется на самых ранних стадиях развития растения и приводит к снижению всхожести семян, уменьшению площади поверхности первых листьев, задержке роста растений, снижению кустистости, отмиранию корневой системы и потерям урожая [11, 14, 21]. Важнейшей проблемой является то, что виды *Pythium* поражают всходы пшеницы первыми, что создает благоприятные условия для дальнейшего заселения другими патогенными грибами, в том числе вторичными колонизаторами, в частности, *Fusarium* spp.

В зависимости от классификации [8, 15, 19, 20], род *Pythium* включает от 25 до 180 видов. Виды *Pythium* были изолированы из почвы пахотных земель, пастбищ, лесов, питомников, болот и воды. Они обнаружены в гнездах, на перьях, в кишечнике и помете птиц. Переносчиками этих микромицетов также являются земляные черви, другие животные и даже человек. Виды *Pythium* изолированы из рыбы, дафний и *Bosmina*, но об их паразитизме на животных сведений нет [19].

Виды *Pythium* наиболее известны благодаря их патогенности на растениях. Отмечается широкое разнообразие видов *Pythium* по степени патогенности на растениях: одни виды признаны как истинные патогены растений (*P. ultimum*, *P. debaryanum*, *P. irregulare*, *P. sylvaticum*, *P. aristosporum*, *P. volutum*), другие рассматриваются в качестве патогенов лишь условно [9, 14].

В культивируемых почвах отмечено большее разнообразие видов, особенно в верхнем слое, чем в целинных и кислых, где их численность контролируется видами *Trichoderma*. Виды из тропиков отличаются от тех, что обнаружены в регионах с умеренным и даже арктическим климатом, хотя в теплицах этих регионов часто обнаруживают тропические виды [19].

Целью данной работы было исследовать видовое разнообразие *Pythium* на корнях пшеницы озимой в условиях Полесья Украины. Анализ патогенности выделенных изолятов позволит определить, какие виды играют главную роль в заболевании корней пшеницы в самый ранний период их развития.

Материалы и методы. Наблюдения за развитием питиозной корневой гнили проводили на посевах пшеницы озимой в условиях опытного поля Житомирского национального агроэкологического университета, расположенного в Полесской почвенно-климатической зоне, Житомирская область, Украина.

Выделения изолятов *Pythium* spp. проводили из корневой системы растительных проб пшеницы озимой. Пробы отбирали в 2011-2013 гг. в фазе всходов (3-4 недели после посева). Затем в лаборатории корни промывали под проточной водой в течение часа, нарезали их на отрезки длиной 1-2 см, ополаскивали 2 раза стерильной водой, просушивали между двумя слоями фильтровальной бумаги. Полученные фрагменты раскладывали в чашки Петри на поверхность селективной для *Pythium* питательной среды [3]. Чашки инкубировали в термостате при температуре 24 °С в течение трех суток. Затем выросшие колонии отсеивали в пробирки с картофельно-глюкозным агаром для дальнейших исследований.

Идентификацию видов *Pythium* проводили по морфологическим признакам, используя описания в работах Krcber, 1985, Пидопличко, 1977, Van der Plaats-Niterink, 1981, Waterhouse, 1968. Для этого изоляты культивировали в чашках Петри на водном агаре на протяжении 10 суток, после чего органы спороношения просматривали под микроскопом (x160) непосредственно в чашках. Оригинальные фотографии морфологических структур отдельных изолятов сделаны с использованием вебкамеры Celestron 44420.

Патогенность изолятов определяли в лабораторных условиях с помощью ранее описанного метода искусственного заражения проростков пшеницы возбудителями корневых гнилей [4]. Для получения инокулюма изоляты *Pythium* выращивали в чашках Петри на КГА на протяжении 7 суток. После этого в пластиковые цилиндрические емкости насыпали по 40 г стерильного песка, сверху помещали агаровый диск, колонизированный одним из изолятов *Pythium* spp. По диску равномерно, на расстоянии 1-1,5 см друг от друга, делали отверстия, в них помещали семена пшеницы озимой, сверху присыпали тем же стерильным песком (5 г). Поливали из расчета 10 мл воды на 45 г песка. Емкости оставляли при комнатной температуре для проращивания семян. После появления всходов, растения периодически обильно поливали. Через 5-6 недель растения из емкостей вынимали, корни тщательно промывали водой и определяли степень поражения по шкале: 0 балл - нет поражения, растение здоровое; 1 балл - единичные коричневые поражения на корнях; 2 балла – более 50 % корневой системы поражено, часть корней отмерла; 3 балла – весь корень поражен.

Результаты и их обсуждения. В результате обследования посевов пшеницы озимой, проведенных в осенний период на протяжении

2011-2013 годов, установлено, что заселенность корней микромицетами рода *Pythium* составляет от 60 до 71,3% [3]. В связи с этим представляло интерес изучить видовой состав популяций *Pythium*, паразитирующих на корневой системе.

В период проведения исследований нами было выделено из корней пшеницы озимой 45 изолятов *Pythium* spp, из них идентифицировано 32. Видовую принадлежность определяли на основании морфологических характеристик вегетативных и генеративных органов: зооспорангиев, ооспор, оогониев и антеридий.

В результате идентификации нами было выявлено присутствие на корневой системе пшеницы озимой пяти видов *Pythium*, при этом доминирующими оказались виды *P.sylvaticum*, *P. irregulare* и *P.graminicola* с частотой встречаемости 31,0, 25 и 19,0 %, соответственно. Значительно реже встречались виды *P.ultimum* и *P.debaryanum* и составляли, соответственно, 13,0 % и 9,0%. Один изолят вызвал затруднение при диагностике и был отнесен нами к *Pythium* sp., его встречаемость составила 3% (рисунок 1).

Следует отметить, что используемые в настоящее время классификации рода *Pythium* отличаются между собой не только по количеству описанных видов, но и характеристикой отдельных, наиболее распространенных видов. Например, в некоторых классификациях отсутствует вид *P.debaryanum* [15, 19]. Причем, в первой утверждается, что это название часто используется ошибочно при идентификации штаммов *P.ultimum*, *P.irregulare* и даже *P.sylvaticum*. В то же время, согласно Пидопличко [8], этот вид является патогеном на многих растениях. Характерным морфо-

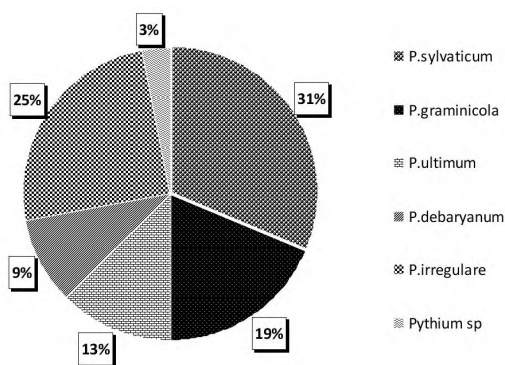


Рисунок 1 - Структура видовой состава *Pythium* на корнях пшеницы озимой



Рисунок 2 - Оогонии и антеридии *P.debaryanum*



Рисунок 3 - Оогонии и антеридии *P. ultimum*



Рисунок 4 - Оогонии и антеридии *P.irregulare*

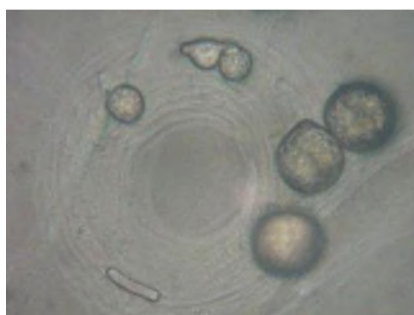


Рисунок 5 - Зооспорангии *P.graminicola*

логическим признаком *P.debaryanum* есть несколько отдаленное расположение моноκлинных антеридий относительно оогония (рисунок 2), в то время как у *P.ultimum* антеридии образуются непосредственно под оогонием (рисунок 3). Несмотря на то, что отдаленное расположение антеридий относительно оогония наблюдается и у *P.irregulare*, от последнего *P.debaryanum* отличается оогониями с гладкой поверхностью, в то время как у *P.irregulare* оогонии часто имеют неровную поверхность (рисунок 4). Для вида *P.graminicola* характерным признаком есть вздутия нитевидных спорангиев, что напоминает дендроидные структуры (рисунок 5), в то время как у большинства идентифицированных нами видов зооспорангии имеют шаровидную форму (рисунок 6).

Все выделенные нами изоляты *Pythium* в той или иной мере проявляли патогенность на проростках пшеницы озимой. Если поражение пророс-

тков на искусственном инфекционном фоне превышало 1 балл, изолят определялся нами как высокопатогенный, при поражении от 0,5 до 1 балла – как среднепатогенный и при поражении до 0,5 балла – низкопатогенный (таблица).

В результате проведенных нами анализов отмечена дифференциация изолятов *Pythium* по признаку патогенности внутри отдельных видов. Так, среди изолятов *P.sylvaticum* 70 % обладали низкой патогенностью, 30 % - средней. Вид *P.irregulare* оказался самым патогенным, большинство (89 %) изолятов проявили себя как высокопатогенные. Внутри видов *P.graminicola*, *P.ultimum* и *P.debaryanum* нами отмечены изоляты с низкой, средней, высокой патогенностью.

Наличие отдельных низкопатогенных изолятов внутри патогенных видов *P.irregulare* и *P.graminicola*, и наоборот, выявление среднепатогенных изолятов у непатогенного вида *P.sylvaticum*, свидетельствуют как о



Рисунок 6 - Зооспорангии *P.sylvaticum*

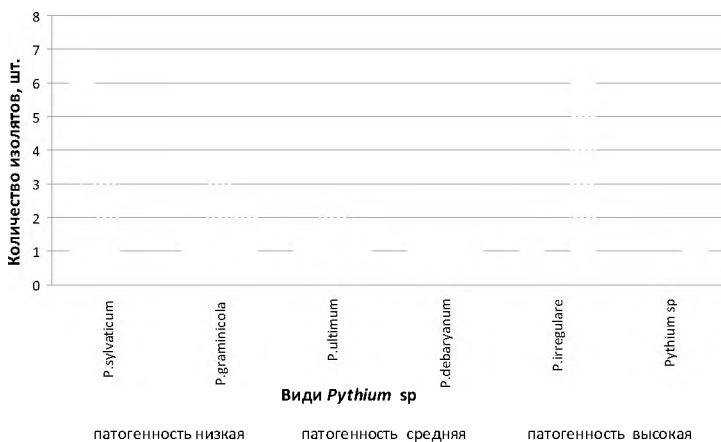


Рисунок 7 - Соотношение патогенных и непатогенных изолятов отдельных видов *Pythium*

Патогенность изолятов *Pythium*, выделенных из корней пшеницы озимой

<i>Pythium</i> spp	Количество изолятов	Развитие болезни, балл (0-3)		
		мин.	макс.	средняя
Высокопатогенные				
<i>P.irregulare</i>	6	1,1	2,08	1,59
<i>P.graminicola</i>	2	1,0	1,4	1,2
<i>P.ultimum</i>	1	1,5	1,5	1,5
<i>P.debaryanum</i>	1	1,1	1,1	1,1
<i>Pythium</i> sp	1	2,3	2,3	2,3
Среднепатогенные				
<i>P.sylvaticum</i>	3	0,7	0,9	0,8
<i>P.graminicola</i>	3	0,6	1,0	0,82
<i>P.ultimum</i>	2	0,62	0,65	0,63
<i>P.debaryanum</i>	1	0,65	0,65	0,65
Низкопатогенные				
<i>P.sylvaticum</i>	7	0,12	0,75	0,44
<i>P.graminicola</i>	1	0,19	0,19	0,19
<i>P.irregulare</i>	2	0,16	0,4	0,28
<i>P.ultimum</i>	1	0,5	0,5	0,5
<i>P.debaryanum</i>	1	0,4	0,4	0,4

непрекращающейся микроэволюции в сторону паразитизма у почвенных микроорганизмов, так и о возможной потере ими патогенных свойств (рисунк 7). Однако, само наличие свойства патогенности у всех, без исключения, выделенных изолятов в значительной мере объясняет широкое распространение видов *Pythium* в почве под посевами сельскохозяйственных культур.

Закключение. Результаты наших исследований свидетельствуют, что на корнях пшеницы озимой в условиях Полесья Украины распространены виды *P.sylvaticum*, *P.graminicola*, *P.ultimum*, *P.debaryanum*, *P.irregulare*. Среди них доминируют *P.sylvaticum*, *P. irregulare* и *P.graminicola* с частотой встречаемости 31,0, 25,0 и 19,0 %, соответственно. При искусственном заражении проростков пшеницы установлено, что наиболее высокой патогенностью характеризовались изоляты *P. irregulare* и *P.graminicola*.

Литература

1. Дьяков Ю.Т. Семейство Птиевые (Pythiaceae) / В кн. Жизнь растений. В. 6-ти томах. Т.2. Грибы. Под ред. М.В.Горленко. М., Просвещение, 1976. – С.45-56.
2. Кирик М.М. *Pythium ultimum* var. *ultimum* Trow – збудник пігізної кореневої гнилі *brassica napus* L. / М.М. Кирик, Т.І. Зубова // Наукові доповіді Національного аграрного університету. – 2006.- березень № 1 / www.nbuu.gov.ua/le-journals / nd/ 2006-1.
3. Крючкова Л.О. Кореневі гнилі пшениці озимої – поширення в Північному Лісостепу України / Л.О.Крючкова, Н.В. Грицюк // Карантин і захист рослин. – 2014. – №2. – С. 9-12.
4. Крючкова Л.О. Стимулювання ростових процесів та підвищення стійкості проти хвороб у проростках озимої пшениці під впливом регуляторів росту природного походження / Л.О. Крючкова, Т.І. Маковейчук // Сільськогосподарська мікробіологія. Міжвідомчий тематичний збірник. – 2007. – Вип.5. – С.153-160.
5. Ларченко К.А. Генетична стійкість як інтегрована система захисту рослин кукурудзи від шкідників і хвороб / К.А. Ларченко, Р.І. Марченко, Г.І. Пономаренко, В.О. Хроменко // Інтегрований захист рослин на початку XXI століття. Мат. міжнар. наук.-прак. конф. – К., 2004. – С.726-729.
6. Маклакова Г.Ф. Новые агротехнические приемы борьбы с заболеванием растений капусты черной ножкой / Г.Ф. Маклакова // В кн: Достижения науки сельскохозяйственному производству. Овощеводство и картофелеводство – Л.: Лениздат, 1952. – 406 с.
7. Новотельнова Н.С. Корневая и прикорневая гниль культурных растений / Н.С. Новотельнова, К.А. Пыстина – Л.: Наука. – 1978. – 78 с.
8. Пидопличко Н.М. Грибы – паразиты культурных растений: определитель в 3-х т. / Н.М. Пидопличко.– Киев: Наукова думка, 1977. – Т. 1: Грибы совершенные. – 1977. – 296 с.
9. Chamswarnig, C. Identification and comparative pathogenicity of *Pythium* species from wheat roots and wheat field soils in the Pacific Northwest / C. Chamswarnig, R. J. Cook // Phytopathology. – 1985. – 75. – P. 821-827.
10. Cook R.J. Wheat health management / R.J. Cook, R.J. Veseth // Phytopathological Society, St. Paul, MN, 1991. – 153 pp.
11. Cook R.J. Influence of soil treatments on growth and yield of wheat and implications for control of *Pythium* root rot / R.J. Cook, J.W. Sitton, W.A Haglund // Phytopathology. – 1987. – 77. – P.1192-1198.
12. Dictionary of the fungi. 2004 CABI Bioscience. // www.indexfungorum
13. Harvey P. Little-known *Pythium* disease stunts crop growth / P. Harvey, B. Hawke, Ch. Kidd // Farming ahead. – 2002. – 125. – P. 42-43.
14. Higginbotham R.W. Virulence of *Pythium* species isolated from wheat fields in eastern Washington / R.W. Higginbotham, T.C. Paulitz, K.K. Kidwell // Plant Dis. – 2004, 88. – P. 1021-1026.
15. Крүбер Н. Experiences with *Phytophthora de Bary* and *Pythium Pringsheim*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, H.225, 1985. - 176 p.
16. Larkin, R.P. The relationship of infection by *Pythium* spp. to root system morphology of alfalfa seedlings in field / R.P. Larkin, J.T. English, J.D. Mihail // Plant Dis. – 1996. – P. 281-285.
17. Lawrence L. Rooting out *Pythium* and its allies / L. Lawrence, P. Harvey // Farming ahead. – 2006. – 177. – P.42-44.
18. Pringsheim N. Veber die Befruchtung und Vermehrung der *Saprolegnien* / N. Pringsheim // Mber. Dt.Akad. Wiss. Berlin. – 1857. – P.315-330.
19. Van der Plaats-Niterink A.J. Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol. No. 21, 1981. – 244 p.
20. Waterhouse G.M. The genus *Pythium* Pringsheim. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 1968. – 79p.
21. Weller D.M. Increased growth of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads, and implication of *Pythium* control / D.M.Weller, R.J. Cook // Can. J. Plant Path. – 1986. – 8. – P.328-334.

N.V. Gritsyuk, L.O. Kriuchkova
Zhitomir National Agroecological University

PYTHIUM POPULATION IN WINTER WHEAT ROOTS

Annotation. Members of *Pythium* genera are widely spread in the soil under many agricultural crops. However the information about their species affiliation and pathogenicity is often contradicted. From the roots of winter wheat we recovered *Pythium* isolates which, according to their cultural and morphological characteristics, belong to the species *P.sylvaticum*, *P.graminicola*, *P.ultimum*, *P.debaryanum*, *P.irregulare*. In greenhouse assay the pathogenicity of these isolates have been identified. The most pathogenic were species *P.irregulare* and *P.graminicola*.

Key words: wheat (*Triticum aestivum* L.), *Pythium* spp., pathogenicity.