

С. В. Ребко, аспирант; Н. Ф. Кириленкова, аспирант; Л. Ф. Поплавская, доцент;
В. А. Ярмолович, доцент

УСТОЙЧИВОСТЬ СЕМЯН ГИБРИДНЫХ ФОРМ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ К ФУЗАРИУМУ ОСТРОСПОРОВОМУ (*FUSARIUM OXYSPORUM*)

Features of defeat of seeds of a pine ordinary cluster forms and usual fructification are studied. As a result of researches it is established, that seeds of a pine cluster forms are steadier to *Fusarium oxysporum* in comparison with seeds of trees of usual fructification. The average percent of the amazed seeds of a pine cluster forms is equal 70,1%, and usual fructification of 81,3%. The analysis of a shaped variety of clones has shown, that the greatest resistency characterizes genotypes with dark color of seeds (black and brown seeds). The average percent of seeds contamination of these forms has made accordingly 72,6 and 72,1%, and motley and beige – 90,4 and 75,9%. Also unequal of seeds contamination clones of a pine ordinary depending on board of cone are characterized. Greater stability pines with turned down and pyramidal board (68,0 and 74,3%) and considerably smaller with flat and convex (89,4 and 87,1%) possess.

Введение. При выращивании посадочного материала в лесных питомниках существует опасность поражения и массовой гибели всходов и молодых сеянцев на ранних стадиях их развития. Наиболее распространенной болезнью, встречающейся в питомниках Республики Беларусь, является полегание сеянцев, вызываемое многими грибами из родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Pythium*, *Rhizoctonia* [1]. Чаще всего болезнь вызывается грибами из рода *Fusarium*, вследствие чего получила название фузариоз сеянцев. Особенность протекания этой болезни заключается в том, что патоген в своем развитии проходит две фазы – довсходовую и послевсходовую. Следовательно, при первой фазе развития заражение семян происходит в почве, когда семена еще не дали всходов, вторая фаза развития характеризуется тем, что поражение растений патогеном происходит в первые 20 дней после появления всходов [2].

В специальной научной литературе имеются сведения о патологической предрасположенности и изменении устойчивости отдельных деревьев к грибным болезням [3–9]. Имеющиеся данные о поражении растений грибами из рода *Fusarium* касаются характера протекания и развития болезни, степени поражения и устойчивости растений [10–15]. Непосредственно сведений о проведении в лабораторных условиях специальных опытов по определению степени устойчивости семян сосны обыкновенной к патогену *Fusarium oxysporum* в научной литературе нет. Постановка такого опыта позволит провести предварительный отбор и оценку генотипов сосны обыкновенной на устойчивость к патогену на уровне семян, результатом которых будет выделение наиболее устойчивых генотипов сосны обыкновенной.

Цель данной работы заключается в определении степени устойчивости и выделении наиболее резистентных гибридных форм сосны обыкновенной к *Fusarium oxysporum*. Задачи, необходимые для выполнения поставленной цели, следующие: а) определить динамику и

характер поражения сосны обыкновенной гроздешишечной формы, а также различных форм сосны обыкновенной по цвету семян и апофизу шишек; б) на основании изучения динамики и характера заражения выделить наиболее устойчивые клоны к заражению патогеном *Fusarium oxysporum*.

Объект и методика исследований. Для проведения исследований по оценке устойчивости гибридных форм сосны обыкновенной к *Fusarium oxysporum* нами в качестве объекта исследования была выбрана клоновая гибридно-семенная плантация сосны обыкновенной Негорельского учебно-опытного лесхоза. История создания и характеристика данного объекта нами описаны ранее [16, 17]. В настоящее время на плантации насчитывается 182 дерева, 19 из которых гроздешишечной формы [18]. Предметом исследования являются различия в устойчивости гибридных форм сосны обыкновенной, в том числе гроздешишечной формы, к *Fusarium oxysporum*.

Заготовка лесосеменного сырья осуществлялась на 24 деревьях, 12 из которых представлены сосной обыкновенной гроздешишечной формы. Искусственное заражение семян спорами патогена проводили в лабораторных условиях. Для этого предварительно в боксе проводили стерилизацию чашек Петри вместе с фильтровальной бумагой, при этом отдельно стерилизовали семена марганцовокислым калием $KMnO_4$. Всего для заражения было подготовлено 24 образца семян. Необходимую для заражения культуральную жидкость со спорами получали путем смыва дистиллированной водой чистой культуры гриба. Успешное заражение семян возможно лишь при определенном достаточном количестве спор патогена в суспензии. Концентрацию спор в суспензии определяли с помощью специального прибора, позволяющего произвести подсчет спор гриба, – счетной камеры Горяева. В результате расчетов установлено, что в 1 см^3 суспензии находится 250 тыс. спор гри-

ба. Такого количества достаточно для успешного искусственного заражения семян. При помощи пипетки споры гриба вместе с водой переносили в чашки Петри на фильтровальную бумагу, затем туда помещали семена (в каждую чашку Петри помещали по 25 шт.). Чашки Петри накрывали крышками и ставили в термостат с заданной постоянной температурой (26°C). Учет степени заражения семян производили в отдельные дни (примерно через 3 дня) на протяжении 65 дней. При этом визуально определяли процент поражения семян патогеном по площади покрытия фильтровальной бумаги мицелием гриба, а также проводили поштучный учет пораженных семян с последующим их удалением из чашек. При подсчете семян для увлажнения фильтровальной бумаги в чашки добавляли по 4–5 капель дистиллированной воды.

Результаты исследования. В результате проведенных исследований нами определены показатели зараженности сосны обыкновенной гроздешисечной формы, а также различных форм сосны обыкновенной по цвету семян и по апофизу шишек. Анализ данных свидетельствует о существующей достоверной разнице в зараженности семян сосны обыкновенной. Так, семена подвергались заражению патогеном на протяжении 65 дней до полного их заражения.

Учет динамики заражения показывает (таблица), что на протяжении первых трех недель с момента заражения семена сосны обыкновенной гроздешисечной формы имеют более низкие показатели заражения по сравнению с сосной обычного плодоношения. Однако достоверного различия между ними не выявлено. Затем, начиная с 25-го дня, наблюдается статистически достоверное меньшее поражение семян сосны обыкновенной гроздешисечной формы по сравнению с сосной обычного плодоношения. Критерий достоверности различий пораженности на 25-й день равен 3,75. Наблюдаемая тенденция большей пораженности семян сосны обыкновенной обычного плодоношения наблюдается до 59-го дня учета, при этом коэффициенты достоверного различия превышают стандартное табличное значение при 5%-ном уровне значимости ($t_{st} = 2,0$) [19]. Но уже на 62-й день исследования происходит выравнивание показателей заражения между двумя исследуемыми группами. На 65-й день учета было зафиксировано полное заражение всех образцов семян в 2 группах.

Таким образом, учет динамики заражения семян позволяет заключить, что на протяжении 65 дней исследования наблюдаются различия в характере заражения сосны обыкновенной

Таблица

Зараженность семян гибридных форм сосны обыкновенной патогеном *Fusarium oxysporum*

| Дни учета зараженных семян | Зараженные семена сосны обыкновенной ($M \pm m_M$), % | | Критерий достоверного различия t |
|-------------------------------------|---|-----------------------|------------------------------------|
| | гроздешисечной формы | обычного плодоношения | |
| 11 | 1,7±0,8 | 2,7±0,6 | 1,00 |
| 17 | 6,3±2,2 | 10,3±2,4 | 1,23 |
| 19 | 28,7±2,1 | 30,0±1,9 | 0,46 |
| 22 | 31,7±2,7 | 37,7±2,1 | 1,75 |
| 25 | 45,3±3,1 | 60,7±2,7 | 3,75 |
| 36 | 56,3±3,2 | 73,0±2,9 | 3,87 |
| 41 | 61,7±3,9 | 78,7±3,8 | 3,12 |
| 43 | 66,3±3,5 | 81,7±3,1 | 3,29 |
| 45 | 69,3±3,8 | 85,3±3,6 | 3,06 |
| 48 | 74,0±3,4 | 88,3±2,9 | 3,20 |
| 50 | 75,7±2,7 | 89,3±2,2 | 3,90 |
| 53 | 76,3±2,2 | 90,7±3,1 | 3,79 |
| 55 | 76,7±2,6 | 92,3±2,4 | 4,41 |
| 59 | 81,3±3,3 | 93,7±2,7 | 2,91 |
| 62 | 92,3±2,8 | 97,0±2,1 | 1,48 |
| 65 | 100,0 | 100,0 | – |
| Средневзвешенный % зараженных семян | 70,1 | 81,3 | – |

гроздешишечной формы и обычного плодоношения. При этом средневзвешенный процент заражения семян сосны обыкновенной гроздешишечной формы составил 70,1%, что на 11,2% меньше по сравнению с сосной обыкновенной обычного плодоношения.

Исследования по изучению формового разнообразия клонов сосны обыкновенной на гибридно-семенной плантации показали, что на плантации присутствуют 4 формы сосны по цвету семян (преобладает коричневосеменная форма – 46%, минимальное количество клонов с бежевыми семенами – 10%), а также 4 формы по апофизу шишек (большинство клонов с крючковатым апофизом – 36%, меньше всего представлено клонов с пирамидальным апофизом – 19%) [20]. Результаты анализа зараженности цветосеменных форм показали, что наиболее устойчивыми к патогену *Fusarium oxysporum* являются клоны с черными и коричневыми семенами (рис. 1).

Семена различных по цвету групп имеют различную тенденцию заражения. Статистической обработкой материала установлено, что до 17-го дня учета достоверных различий заражения между черными и коричневыми семенами не наблюдалось, а затем на протяжении 20 дней процент зараженных коричневых семян был существенно ниже черных. В дальнейшем показатели зараженности черных и коричневых семян выравнивались и до окончания опыта существенных различий по заражаемости между ними не наблюдалось.

Анализ динамики поражения пестрых семян показывает, что полное заражение семян данной группы отмечено на 59-й день, т. е. на неделю раньше черных и коричневых семян. При этом половина семян данной группы была поражена уже на 19-й день. Вариационно-статистическая обработка данных показывает, что данная группа семян по зараженности существенно отличается от зараженности черных и коричневых.

Динамика поражения бежевых семян значительно отличается от всех остальных цветосеменных форм сосны. Так, на 19-й день учета процент поражения бежевых семян был в 2 раза больше, чем у черных семян, в 6 раз больше, чем у коричневых и в 1,5 раза больше, чем у пестрых. Однако на 17-й день учета процент зараженности пестрых семян был несколько выше, чем бежевых. На 41-й день учета нами зафиксировано полное заражение бежевых семян.

Таким образом, изучение заражаемости семян различных цветосеменных форм показало, что в зависимости от цвета семенной кожуры наблюдается различная их зараженность патогеном *Fusarium oxysporum*. Так, выявлено, что семена с темным тоном (черный и коричневый цвет) имеют повышенную устойчивость к данной болезни, чем семена светлого тона (бежевые и пестрые семена).

Процесс заражения форм сосны обыкновенной, отличающихся строением семенных чешуй шишек, происходит несколько по-иному. Динамика заражения семян из шишек с плоским и выпуклым апофизом практически не отличается друг от друга и протекает одинаково. Достоверных различий между этими группами семян не выявлено. Однако следует отметить, что семена из шишек с плоским апофизом были полностью поражены на 53-й день учета (рис. 2).

Наблюдения за процессом заражения семян сосны с крючковатым и пирамидальным апофизом шишек показали, что до 19-го дня учета эти группы семян были поражены патогеном примерно одинаково, но в последующие дни, вплоть до 48-го, семена из шишек с крючковатым апофизом имели статистически достоверно меньшие показатели заражения, чем семена из шишек с пирамидальным апофизом. Но уже начиная с 50-го дня и до полного их заражения наблюдается выравнивание в динамике заражения семян этих исследуемых групп.

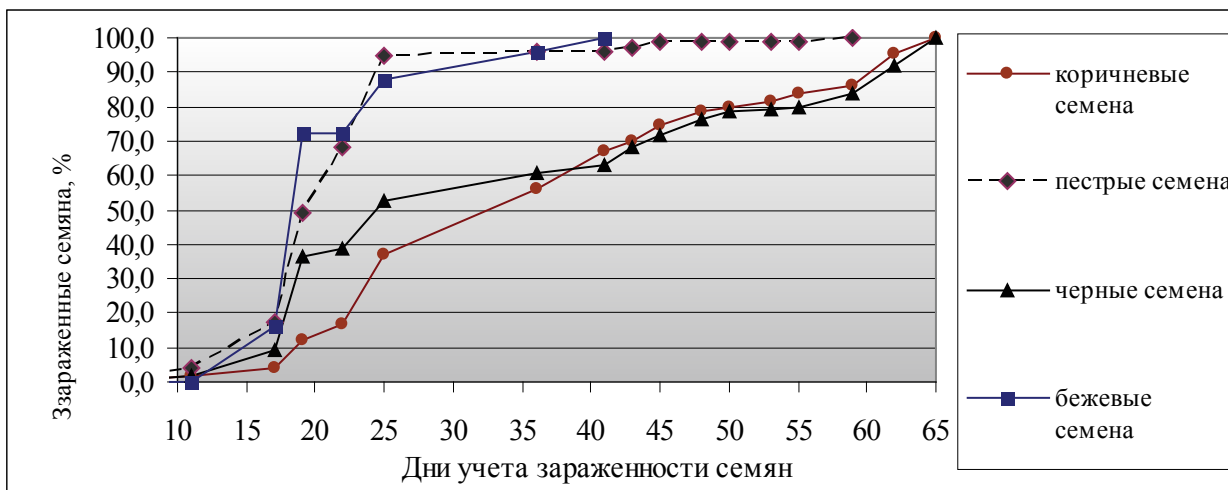


Рис. 1. Динамика заражения различных цветосеменных форм сосны обыкновенной патогеном *Fusarium oxysporum*

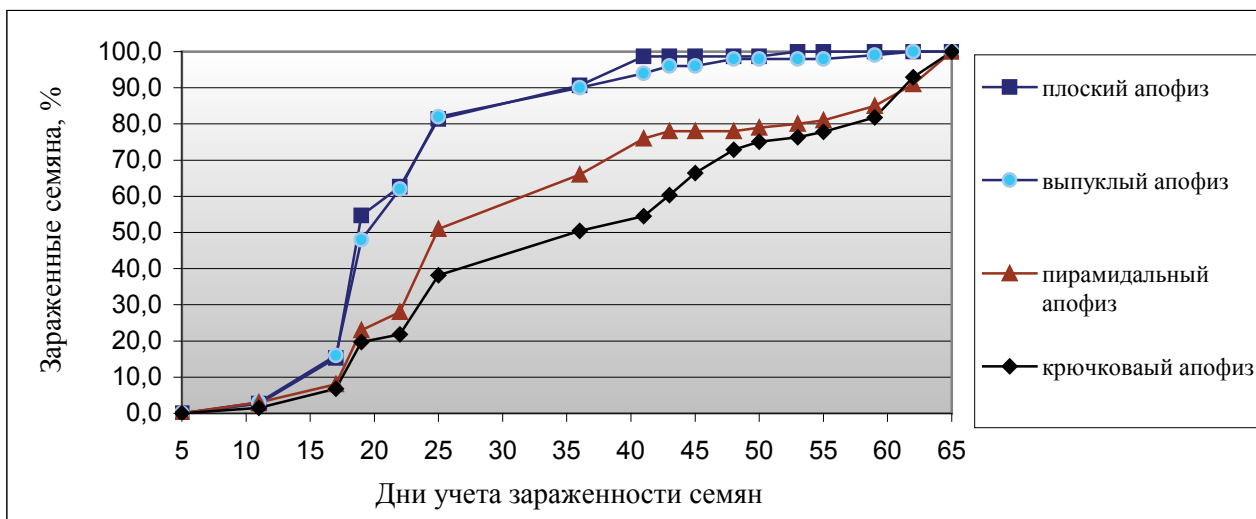


Рис. 2. Динамика заражения различных форм сосны обыкновенной по апофизу шишек патогеном *Fusarium oxysporum*

Характеризуя в целом заражение семян сосны различных форм по апофизу шишек, следует отметить, что, как видно из рис. 2, начиная с 17-го дня учета, семена из шишек с плоским и выпуклым апофизом существенно отличаются по зараженности от семян из шишек с пирамидальным и крючковатым апофизом.

Таким образом, результаты исследования позволяют заключить, что у семян, полученных из шишек с более выраженным апофизом (от плоского к крючковатому), имеется ярко выраженная тенденция более низкой заражаемости патогеном *Fusarium oxysporum*.

Кроме этого, в пределах группы сосны обыкновенной гроздешишечной формы и сосны обыкновенной обычного плодоношения нами выделены генотипы, наиболее устойчивые к заражению и генотипы, длительность заражения которых составила половину времени исследования и менее.

Из группы гроздешишечной сосны наиболее устойчивыми оказались генотипы 3–5, 9–4, 9–7, 9–8, 10–2, 10–6, 10–7. Эта группа представлена исключительно черными и коричневыми семенами и крючковатым и пирамидальным апофизом шишек.

Устойчивыми к заражению из группы сосны с обычным плодоношением оказались генотипы 3–3, 4–12, 5–1, 8–4, 12–3, в большинстве имеющие черные и коричневые семена и крючковатый апофиз.

Среди сосны обыкновенной гроздешишечной формы слабоустойчивыми оказались генотипы 6–6, 10–3, 10–4, 10–5 с преобладанием плоского апофиза шишек. Менее устойчивыми из группы сосны обыкновенной обычного плодоношения оказались генотипы 1–8, 2–2, 6–3, 8–2, имеющие пестрый и бежевый цвет семян и выпуклый апофиз.

Заключение. Проведенные исследования по определению устойчивости генотипов сосны

обыкновенной к искусственному заражению патогеном *Fusarium oxysporum* позволяют сделать следующие выводы:

а) сосны гроздешишечной формы являются более устойчивыми к *Fusarium oxysporum* по сравнению с соснами обычного плодоношения;

б) из цветосеменных форм сосны обыкновенной наибольшей резистентностью характеризуются генотипы с темным цветом семян (черные и коричневые семена), а у генотипов со светлыми семенами устойчивость к *Fusarium oxysporum* значительно ниже;

в) формы сосны обыкновенной по апофизу шишек имеют различную устойчивость к *Fusarium oxysporum*. Большей устойчивостью обладают сосны с крючковатым и пирамидальным апофизом и значительно меньшей с плоским и выпуклым;

г) среди исследованных 24 генотипов сосны обыкновенной большей устойчивостью характеризуются 12 генотипов: 3–3, 3–5, 4–12, 5–1, 8–4, 9–4, 9–7, 9–8, 10–2, 10–6, 10–7, 12–3, которые имеют темный цвет семян и крючковатый апофиз шишек. Слабоустойчивых генотипов выделено 8: 1–8, 2–2, 6–3, 6–6, 8–2, 10–3, 10–4, 10–5, которые относятся к формам со светлыми семенами и плоским апофизом семенных чешуй шишек.

Литература

1. Малыженкова, Л. А. Влияние различных препаратов на устойчивость сеянцев сосны к инфекционному полеганию в лабораторных условиях / Л. А. Малыженкова // Лес, наука, молодежь: материалы Междунар. науч. конф., Гомель, 5–7 окт. 1999 г.: в 2 т. / ИЛ НАН Беларуси; редкол.: В. Ф. Багинский [и др.]. – Гомель, 1999. – Т. 1. – С. 171–173.

2. Федоров, Н. И. Лесная фитопатология: учеб. для студентов специальности «Лесное хозяйство» / Н. И. Федоров. – Минск: БГТУ, 2004. – 462 с.

3. Чураков, Б. П. Зараженность фитопатогенными грибами различных форм сосны обыкновенной в ленточных борах Алтая / Б. П. Чураков // Лесоведение. – 1986. – № 2. – С. 62–67.
4. Чураков, Б. П. Зараженность различных форм сосны обыкновенной фитопатогенными грибами / Б. П. Чураков // Лесоведение. – 1989. – № 1. – С. 69–73.
5. Якименко, Е. Е. Влияние грибов рода *Trichoderma* на почвенные микромицеты, вызывающие инфекционное полегание сеянцев хвойных в лесных питомниках Сибири / Е. Е. Якименко, И. Д. Гродницкая // Микробиология. – 2000. – № 6. – С. 850–854.
6. Возбудители фузариоза в питомниках Красноярского края / Г. И. Громовых [и др.] // Лесоведение. – 2002. – № 6. – С. 68–71.
7. Светогоров, Ю. П. Грибные заболевания в лесных питомниках бассейна озера Байкал / Ю. П. Светогоров // Лесное хозяйство. – 1974. – № 12. – С. 74–76.
8. Kowalski, T. Endophytic fungi in needles of *Pinus nigra* growing under different site conditions / T. Kowalski, P. Zych // Polish Botanical Journal. – 2002. – Vol. 47. – № 2. – P. 251–257.
9. Schonhar, S. Infektionsversuche an Fichten- und Kiefernkemlingen mit aus kranken Fichtenfeinwurzeln isolierten Pilzen / S. Schonhar // Allgemeine Forst und Jagdzeitung. – 1986. – Vol. 9. – № 2. – P. 97–98.
10. Леухина, Т. А. Индивидуальные особенности в устойчивости сеянцев сосны обыкновенной к некоторым грибным заболеваниям / Т. А. Леухина // Лесной журнал. – 1960. – № 6. – С. 31–36.
11. Рогозин, М. В. Защита всходов сосны от полегания при испытаниях потомства деревьев / М. В. Рогозин // Лесной журнал. – 1988. – № 4. – С. 15–18.
12. Трощанин, П. Г. Устойчивость сеянцев сосны в географических культурах / П. Г. Трощанин // Лесное хозяйство. – 1950. – № 5. – С. 79–81.
13. Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* / H. Khaled [et al.] // Biotechnol., agr., soc. et environ. – 2005. – Vol. 9. – № 3. – P. 163–167.
14. Ребко, С. В. Семенная продуктивность гибридно-семенной плантации сосны обыкновенной Негорельского учебно-опытного лесхоза / С. В. Ребко // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2006. – № 5. – С. 155–157.
15. Ребко, С. В. Семеношение клоновой гибридно-семенной плантации сосны обыкновенной Негорельского учебно-опытного лесхоза / С. В. Ребко // Научное творчество молодежи – лесному комплексу России: материалы III Всероссий. науч.-техн. конф. студ. и асп., Екатеринбург, 24–25 апр. 2007 г.: в 2 ч. / Урал. гос. лесотехн. ун-т; редкол.: С. В. Залесов [и др.]. – Екатеринбург, 2007. – Ч. 2. – С. 138–141.
16. Ведерников, Н. М. Болезни сеянцев в питомниках и повышение устойчивости к ним / Н. М. Ведерников // Проблемы лесной фитопатологии и микологии: материалы 5-й Международ. конф., Москва, 7–10 окт. 2002 г. / Рос. акад. наук; редкол.: С. И. Курнаев [и др.]. – М., 2002. – С. 39–42.
17. Кустова, Ю. Г. Роль микромицетов в полегании сеянцев *Pinus sibirica* / Ю. Г. Кустова, Ю. А. Чикин // Наука и образование: материалы 5-й Общероссийской межвуз. конф. студ., асп. и молодых ученых, Томск, 23–26 апр. 2001 г.: в 2 т. / Томск. гос. ун-т; редкол.: А. П. Игнатъев [и др.]. – Мурманск, 2003. – Т. 1. – С. 283–286.
18. Ребко, С. В. Семенная продуктивность гибридно-семенной плантации сосны обыкновенной Негорельского учебно-опытного лесхоза / С. В. Ребко, Л. Ф. Поплавская // Научный поиск молодежи XXI в: материалы VIII Международ. науч. конф. студ. и асп., Горки, 23–25 окт. 2006 г.: в 2 ч. / Бел. гос. с.-х. акад.; редкол.: В. С. Обухович [и др.]. – Горки, 2006. – Ч. 1. – С. 31–34.
19. Зайцев, Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г. Н. Зайцев; под ред. В. Н. Былова. – М.: Наука, 1984. – 424 с.
20. Ребко, С. В. Репродуктивная способность и формовое разнообразие клонов сосны обыкновенной на гибридно-семенной плантации / С. В. Ребко // Сб. науч. тр. / Ин-т леса НАН Беларуси. – Гомель, 2007. – Вып. 67: Проблемы лесоведения и лесоводства. – С. 223–233.