

Научная статья

УДК 631.524.86:633.854.78

DOI: 10.25230/2412-608X-2022-4-192-29-34

**О применении
монопустульных изолятов *Puccinia helianthi* Schwein.
в селекции подсолнечника
на устойчивость к ржавчине**

Нина Михайловна Арасланова

Татьяна Сергеевна Антонова

Светлана Леонидовна Саукова

Мария Вячеславовна Ивебор

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17

Тел.: (861) 275-86-53

araslanova-nina@mail.ru

Аннотация. Широкое распространение ржавчины подсолнечника в разных регионах Российской Федерации вызвало необходимость идентификации расовой принадлежности возбудителя болезни (*Puccinia helianthi*) и проведения селекции на устойчивость к этому облигатному паразиту. Проведено сравнение заражения растений линий-дифференциаторов устойчивости подсолнечника двумя способами: 1) смесью спор из разных урединий, собранных с листьев поражённого растения и 2) монопустульными изолятами (клоны спор из отдельных изолированных урединий). Показано, что первый способ предпочтительнее для идентификации расовой принадлежности полевых образцов поражённых листьев подсолнечника. Как более простой и экономичный, он позволяет в короткий срок выявить наиболее часто встречающиеся биотипы возбудителя и обозначить спектр рас, имеющих в исследуемых регионах. Второй способ необходим для выявления резистентных генотипов подсолнечника в селекции на устойчивость к ржавчине. Для этого необходимо создать и поддерживать рабочую коллекцию спор разной расовой принадлежности монопустульного происхождения возбудителя. При идентификации монопустульных изолятов, выделенных с поражённых листьев подсолнечника из Краснодарского края и Саратовской области, обнаружались новые расы, которые

не были выявлены нами ранее в полевых образцах: 500, 503, 510, 516, 546. Подтвердилась устойчивость линий HAR 266 и HAR 340 к расам старой номенклатуры (3, 4) при заражении инокулятами монопустульных изолятов. Однако биотипы возбудителя ржавчины с вирулентными кодами 710 и 747 преодолели устойчивость этих линий.

Ключевые слова: подсолнечник, линии-дифференциаторы, *Puccinia helianthi*, урединио-споры, идентификация, монопустульный изолят, раса

Для цитирования: Арасланова Н.М., Антонова Т.С., Саукова С.Л., Ивебор М.В. О применении монопустульных изолятов *Puccinia helianthi* Schwein. в селекции подсолнечника на устойчивость к ржавчине // Масличные культуры. Вып. 4 (192). С. 29–34.

UDC 631.524.86:633.854.78

About usage of monopustule isolates of *Puccinia helianthi* Schwein. in breeding of sunflower for resistance to rust

N.M. Araslanova, leading researcher, PhD in agriculture

T.S. Antonova, head of the lab., chief researcher, doctor of biology

S.L. Saukova, senior researcher, PhD in biology

M.V. Ivebor, leading researcher, PhD in agriculture

V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops

17, Filatova str., Krasnodar 350038, Russia

Abstract. A wide distribution of rust on sunflower in the different regions of the Russian Federation caused the necessity to identify races of this disease (*Puccinia helianthi*) and to conduct breeding on resistance to this obligate parasite. Two methods of inoculation of plants of the lines-differentiators of sunflower resistance were compared: 1) with a mixture of spores of the different uredinia collected on the leaves of an infected plant, and 2) with monopustule isolates (clones of spores from the separate isolated uredinia). The first method is shown to be more appropriate for identification of a racial origin of the field samples of infected sunflower leaves. As being simpler and economic, in a short time, it allows revealing the most common biotypes of a pathogen and identifying a spectrum of races occurring in the studying regions. The second method is necessary for revealing the resistant sunflower genotypes in breeding for resistance to rust. Therefore, it is necessary to create and maintain a working collection of spores of the different races of the pathogen of the various

monopustule origin. Identifying monopustule isolates collected from the infected sunflower leaves in the Krasnodar and Saratov region, we determined new races, which were not detected earlier in field samples: 500, 503, 510, 516, and 546. Resistance of the lines HAR 266 and HAR 340 to races of the previous nomenclature (3, 4) was proved under inoculation with the monopustule isolates. However, the biotypes of a rust pathogen with a virulent codes 710 and 747 overcame the resistance of these lines.

Key words: sunflower, lines-differentiators, *Puccinia helianthi*, urediniospores, identification, monopustule isolate, race

Введение. Ржавчина распространена во всех странах, где возделывается подсолнечник [1; 2; 3; 4]. Интенсивность её развития зависит от наличия инфекционного потенциала, локально сложившихся погодных условий и может различаться в пределах одного и того же региона. Наиболее сильные эпифитотии случаются во время периодов длительного увлажнения листьев подсолнечника при температуре воздуха не выше 28 °С. В регионах Центрально-Черноземного района и Поволжья с влажным климатом до появления толерантных к болезни сортов подсолнечника сбор масла с гектара снижался на 50 %, а в отдельных случаях наблюдалась полная гибель урожая [4].

Возбудитель болезни *Puccinia helianthi* Schwein. обладает широким спектром вирулентности. Периодически возникают новые расы, которые преодолевают действие известных генов устойчивости у возделываемых сортов и гибридов подсолнечника [4; 5]. Сильное распространение ржавчины в Ростовской, Саратовской областях, Краснодарском крае и других регионах Российской Федерации в течение последних двух десятилетий связано с изменением климатических условий и появлением новых рас. За период 2017–2021 гг. нами было обнаружено 17 рас *P. helianthi*. Пятнадцать из них выявлены в России впервые: 304, 351, 352, 364, 700, 710, 722, 704, 736, 740, 741, 745, 760, 762, 772. Определение расовой принадлежности проводили по реакции линий-

дифференциаторов устойчивости подсолнечника с известными генами устойчивости. Их искусственно заражали смесью урединиоспор *P. helianthi*, собранных с полевых образцов поражённых листьев подсолнечника [6]. В 80-е годы прошлого века изучение спектра вирулентных биотипов возбудителя для многих видов ржавчины, в том числе и *P. helianthi* было принято проводить путём выделения в чистую культуру урединиоспор отдельных пустул (далее по тексту – «монопустульный изолят»). Поскольку в РФ раса 1 была единственной, а в других странах, возделывающих подсолнечник, доминирующей по частоте встречаемости, сравнение результатов при заражении инокулятами из монопустульного изолята и смеси урединиоспор из пустул, собранных на листьях поражённых растений в поле (далее по тексту – «полевого изолята»), не показывало различий [5]. В селекции устойчивых сортов было принято для заражения использовать не отдельные расы, а смесь урединиоспор полевых изолятов из разных регионов. В то же время известно, что использование монопустульных изолятов позволяет выявить редко встречающиеся расы [7; 8; 9]. В связи с увеличением количества выявленных нами новых рас возбудителя ржавчины в Российской Федерации и необходимостью разработки адекватной методики селекции устойчивых к ним форм подсолнечника требуется уточнение необходимости применения в качестве инокулята спор монопустульного происхождения.

Цель работы – изучение расовой принадлежности возбудителя ржавчины монопустульного происхождения, выделенного из образцов поражённых листьев подсолнечника в Краснодарском крае и Саратовской области. Обоснование необходимости применения монопустульных изолятов в селекционных целях.

Материалы и методы. Исследования проводили в 2020–2022 гг. во ВНИИМК. Из поражённых ржавчиной образцов ли-

стве двух гибридов подсолнечника (Меркурий, Факел и сорта ВНИИМК 100), выращенных в Саратовской области, и двух сортов (ВНИИМК 8883, Белочка), выращенных в Краснодарском крае, были получены и размножены по 10 монопустульных изолятов.

Монопустульные изоляты *P. helianthi* получали следующим образом (рисунок).



Рисунок – Получение и размножение монопустульных изолятов *Puccinia helianthi* Schwein. (ориг.)

Сначала заражали урединиоспорами растения подсолнечника восприимчивого сорта ВНИИМК 8883 в фазе одной пары настоящих листьев. Через 9 дней при появлении спороношения созревшие урединиоспоры отдельных пустул снимали стерильным скальпелем и наносили на влажный лист срезанного в фазе двух пар настоящих листьев растения подсолнечника. Отдельными пустулами было заражено по 10 срезанных растений. Каждое растение помещали отдельно во влажную камеру при температуре 20 °С на сутки, после чего выдерживали в оптимальных условиях, периодически увлажняя, до образования и созревания новых уредиций. Для размножения монопустульных изолятов заражали полученными урединиоспорами растения восприимчивого сорта ВНИИМК 8883, выращенные в горшках объёмом 2 литра. Семена линий-дифференциаторов устойчивости подсолнечника к ржавчине (СМ 90, СМ 29, Р-386, НАР-1, НАР-2, НАР-3, НАР-4, НАР-5) и сорта ВНИИМК 8883, используемого нами в качестве восприимчивого ко всем расам патогена, высевали рядами в цветочные ящики вместимостью 6 кг

почвы и помещали в камеру искусственного климата, где растения выращивали при температуре 25 °С днём и 23 °С ночью при 16-часовом фотопериоде до появления второй пары настоящих листьев.

Полив растений осуществляли ежедневно. Урединиоспоры монопустульных изолятов смывали кисточкой в дистиллированную воду. С помощью камеры Горяева подсчитывали количество урединиоспор в суспензии. Оптимальная их концентрация для поражения восприимчивых растений подсолнечника на 100 % должна составлять 100–110 тыс. штук в 1 мл воды [3]. Полученной суспензией спор опрыскивали растения-дифференциаторы, достигшие 2-й пары настоящих листьев, и помещали ящики с ними во влажную камеру на 24 часа. Затем выращивали в прежних условиях до появления признаков поражения на листьях. Через 9 дней учитывали поражённые растения и классифицировали как R (resistant) или S (susceptible) в соответствии с их реакциями [7].

Генотипы подсолнечника, известные как устойчивые к четырём расам старой номенклатуры: RHA 419, НАР 340, НАР 266, а также гибрид НСХ 498 заражали описанным выше способом монопустульными изолятами с кодами вирулентности 300, 700, 710, 747.

Результаты и обсуждение. Особенность облигатного паразита *P. helianthi* в том, что он не вызывает системного заражения растений подсолнечника. Заражение происходит при прорастании урединиоспоры в устьице листа. При этом на лист могут попасть разные по расовой принадлежности урединиоспоры. В результате на одном листе могут формироваться пустулы с разными по вирулентности биотипами возбудителя ржавчины, и инокулят, которым заражают растения линий-дифференциаторов устойчивости, будет разнороден по расовому составу. Видимая наблюдателю реакция растений-дифференциаторов зависит от соотношения присутствующих в

инокуляте биотипов паразита разной вирулентности. Если инокулят представляет смесь нескольких биотипов, то код вирулентности определяется по доминирующей в образце расе. Урениоспоры других рас при малой концентрации их в инокуляте могут вызывать поражение с единичным количеством пустул.

При определении расовой принадлежности возбудителя, выделенного из поражённых ржавчиной листьев подсолнечника, собранных на разных полях, мы выявили 15 новых рас. Идентификация расовой принадлежности биотипов патогена из монопустульных изолятов показала наличие среди них представителей рас, обнаруженных нами ранее при изучении полевых изолятов, а также были выявлены новые расы с кодовыми номерами: 500, 503, 510, 516, 546 (табл. 1).

Таблица 1

Код вирулентности биотипов из монопустульных изолятов *Puccinia helianthi* Schwein.

Гибрид, сорт	Монопустульный изолят, № вирулентный код									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Саратовская область, Балаковский район										
Меркурий	364	304	304	546	300	700	300	300	710	300
Факел	724	747	300	503	300	516	710	700	300	300
ВНИИМК 100	300	300	500	100	700	100	300	300	710	700
Краснодарский край, селекционный питомник ЦЭБ ВНИИМК										
ВНИИМК 8883	300	100	300	300	700	304	300	100	100	300
Белочка	304	300	300	100	700	300	100	300	510	500

Изоляты возбудителя ржавчины монопустульного происхождения, выделенные с листа гибрида Меркурий, выращенного в Саратовской области, были представлены на 40 % расой с кодовым номером 300, раса 304 составляла 20 % и по 10 % расы с кодовыми номерами: 364, 700, 710 и 546 (новая). На листьях гибрида Факел, кроме биотипов 710, 724 и 747, были обнаружены расы с кодовыми номерами 503 и 516. Половина изолятов, выделенных из листьев гибрида ВНИИМК 100, была идентифицирована как раса 300, и 20 % – как биотип 100.

Расовая принадлежность монопустульных изолятов, выделенных из полевых образцов, собранных в Краснодарском крае, была представлена на листьях сорта Белочка четырьмя расами 100, 500, 300, 700 (по старой номенклатуре 1, 2, 3, 4), которые встречались ещё в 70–80-х годах прошлого века на полях подсолнечника Канады, Америки и других стран. Присутствовали также новые биотипы с кодовыми номерами 510 и 304. На листьях сорта ВНИИМК 8883 биотип с кодовым номером 500 не был обнаружен.

По реакции растений дифференциаторов на заражение возбудителем ржавчины как из полевых, так и монопустульных изолятов определяется их код вирулентности (табл. 2).

Таблица 2

Реакция растений-дифференциаторов устойчивости подсолнечника к ржавчине на заражение спорными суспензиями из монопустульных изолятов *Puccinia helianthi* Schwein.

Дифференциатор	Код	Реакция дифференциатора													
<i>Триплет 1</i>															
ВНИИМК 8883	1	В	В	В	В	В	В	В	В	В	В	В	В	В	В
СМ 90	2	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У
СМ 29	4	У	В	В	В	В	В	У	У	У	У	У	У	У	У
<i>Триплет 2</i>															
Р-386	1	У	У	У	В	В	У	У	У	У	У	У	У	У	У
НАР-1	2	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У
НАР-2	4	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У
<i>Триплет 3</i>															
НАР-3	1	У	У	В	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У	У
НАР-4	2	У	У	В	У	В	В	У	У	У	У	У	У	У	У
НАР-5	4	У	У	У	У	В	В	У	У	У	У	У	У	У	У
Код вирулентности		100	500	503	510	516	546	300	304	364	700	710	724	747	

Возможно расы, триплетный код которых начинается с 5, являются менее конкурентоспособными по сравнению с другими расами в инокуляте полевого изолята.

Возникает вопрос: какие изоляты использовать в качестве инокулята для идентификации расовой принадлежности *P. helianthi* и искусственного заражения растений подсолнечника при оценке их устойчивости, если монопустульные изоляты представляют собой «чистые» расы,

а полевые – смесь рас с преобладанием в ней наиболее распространённых. Способ идентификации расовой принадлежности возбудителя в полевых изолятах позволяет за более короткий срок и с меньшими затратами труда выявить преобладающие в инокуляте и, следовательно, наиболее распространённые расы возбудителя ржавчины. Однако для оценки устойчивости селекционного материала правильнее использовать биотипы возбудителя монопустульного происхождения. Необходимо создание коллекции рас монопустульных изолятов, в которой будут присутствовать как наиболее распространённые, так и менее вирулентные для использования их в селекционных целях.

Для того чтобы уточнить, какова вирулентность новых, обнаруженных нами рас, мы заразили генотипы подсолнечника RHA 419, HAR 340, HAR 266, HСХ 498, известные как устойчивые к указанным выше четырём расам старой номенклатуры, монопустульными изолятами с кодами вирулентности 300, 700 и новыми – 710, 747 (табл. 3).

Таблица 3

Количество поражённых растений разных генотипов подсолнечника при заражении монопустульными изолятами *Puccinia helianthi* Schwein.

Генотип	Поражено растений (%) изолятами с вирулентным кодом			
	300	700	710	747
ВНИИМК 8883 (контроль)	100	100	100	100
RHA 419	7	100	100	100
HAR 340	0	0	6	15
HAR 266	0	0	3	100
HСХ 498	39	100	100	100

Всего лишь 7 % растений линии RHA 419 поразились расой 300 и 100 % – расами 700, 710 и 747.

Линия HAR 340 проявила устойчивость к расам 300 и 700. Расы 710 и 747 вызвали поражение соответственно 6 и 15 % растений этой линии. Причём поражение проявилось на 2–3 дня позже, чем в контрольном варианте.

Линия HAR 266, которая в 80-х годах прошлого века была признана источником устойчивости ко всем указанным выше расам возбудителя ржавчины старой номенклатуры, проявила устойчивость к биотипам 300 и 700, но поразила на 100 % расой 747. Раса 710 вызвала поражение 3 % растений. Гибрид HСХ 498 был поражён на 100 % расами 700, 710, 747, и лишь 39 % растений оказались восприимчивы к расе 300.

Устойчивость линий HAR 266 и HAR 340 к расам старой номенклатуры (3, 4) подтвердилась в наших экспериментах при заражении инокулятами монопустульных изолятов. Однако биотипы возбудителя ржавчины с вирулентными кодами 710 и 747 преодолели устойчивость этих линий.

Заключение. Изоляты отдельных спор, выделенные из разных пустул *Puccinia helianthi* Schwein. с одного листа растения подсолнечника, имеют разную вирулентность. При изучении расовой принадлежности монопустульных изолятов возбудителя ржавчины выявлены новые расы: 503, 516, 546 и 500 в Краснодарском крае и Саратовской области.

Подтверждена устойчивость линий-дифференциаторов HAR 266 и HAR 340 к расам старой номенклатуры (3, 4) при заражении инокулятами монопустульных изолятов и показано, что биотипы возбудителя ржавчины с кодами вирулентности 710 и 747 преодолели устойчивость этих линий.

Для идентификации возбудителя ржавчины *P. helianthi* можно использовать полевые изоляты (смесь спор из разных пустул), что позволяет экономично и в короткий срок выявить наиболее часто встречающиеся биотипы возбудителя и обозначить спектр рас, имеющих в исследуемых регионах. Однако для выявления устойчивых генотипов подсолнечника необходимо применять биотипы возбудителя монопустульного происхождения. Для дифференциации селекционного материала по степени устойчивости к ржавчине необходимо создать и под-

держивать в соответствующих условиях рабочую коллекцию спор возбудителя разной расовой принадлежности монопустьного происхождения.

Список литературы

1. Sackston W. Studies on sunflower rust. III. Occurrence, distribution, and significance of races of *Puccinia helianthi* Schw. // Canadian Journal of Botany. – 1962. – 40. – P. 1449–1458.

2. Gulya T.J. The sunflower rust situation: current races in the northern and central Great Plains, and resistance in oilseed and confection hybrids // In: Proceedings of the 28th sunflower research workshop. Fargo, ND, 11–12 January 2006: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.sunflowerusa.com/research/research-workshop/documents/Gulya_Rust_06.

3. Децына, А.А., Терещенко Г.А., Илларионова И.В. Распространённость ржавчины на сортах подсолнечника в условиях Краснодарского края // Масличные культуры. Науч.-тех.бюл. ВНИИМК. – 2018. – Вып. 2 (174). – С. 101–106.

4. Вытрицкая А.А. Микобиота подсолнечника в Тамбовской области. – Тамбов: Принт-Сервис, 2015. – 143 с.

5. Слюсарь Э.Л. Расы ржавчины подсолнечника // Защита растений. – 1981. – № 11. – С. 42–43.

6. Araslanova N., Antonova T., Lepeshko E., Usatenko T., Saukova S., Iwebor M., Pitinova Y. New races of rust pathogen on sunflower in Russia // Helia. – 2021. – Vol. 44. – No 75. – P. 147–154.

7. Yang, S.M., Antonelli E.E., Luciano H., Lucinai N.D. Argentine and Australian sunflower rust differentials to four North American cultures of *Puccinia helianthi* from North Dakota // Plant Disease. – 1986. – 70. – P. 883–886.

8. Гешеле Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. – М.: Колос, 1978. – 206 с.

9. Dandan Guo, Lan Jing, Wenjie J. Hu, Xun Li, Shrishail Sharanappa Navi. Race identification of sunflower rust and the reaction of host genotypes to the disease in China // Biology European Journal of Plant Pathology. – 2016. – Vol. 144. – P. 419–429.

References

1. Sackston W. Studies on sunflower rust. III. Occurrence, distribution, and significance of races of *Puccinia helianthi* Schw. // Canadian Journal of Botany. – 1962. – 40. – P. 1449–1458.

2. Gulya T.J. The sunflower rust situation: current races in the northern and central Great

Plains, and resistance in oilseed and confection hybrids // In: Proceedings of the 28th sunflower research workshop. Fargo, ND, 11–12 January 2006: [Elektronnyy resurs]. – Режим доступа: http://www.sunflowerusa.com/research/research-workshop/documents/Gulya_Rust_06.

3. Detsyna, A.A., Tereshchenko G.A., Illarionova I.V. Rasprostranennost' rzhavchiny na sortakh podsolnechnika v usloviyakh Krasnodarskogo kraya // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh.byul. VNIIMK. – 2018. – Vyp. 2 (174). – S. 101–106.

4. Vypritskaya A.A. Mikobiota podsolnechnika v Tambovskoy oblasti. – Tambov: Print-Servis, 2015. – 143 s.

5. Slyusar' E.L. Rasy rzhavchiny podsolnechnika // Zashchita rasteniy. – 1981. – № 11. – S. 42–43.

6. Araslanova N., Antonova T., Lepeshko E., Usatenko T., Saukova S., Iwebor M., Pitinova Y. New races of rust pathogen on sunflower in Russia // Helia. – 2021. – Vol. 44. – No 75. – P. 147–154.

7. Yang, S.M., Antonelli E.E., Luciano H., Lucinai N.D. Argentine and Australian sunflower rust differentials to four North American cultures of *Puccinia helianthi* from North Dakota // Plant Disease. – 1986. – 70. – P. 883–886.

8. Geshele E.E. Osnovy fitopatologicheskoy otsenki v selektsii rasteniy. – М.: Kolos, 1978. – 206 s.

9. Dandan Guo, Lan Jing, Wenjie J. Hu, Xun Li, Shrishail Sharanappa Navi. Race identification of sunflower rust and the reaction of host genotypes to the disease in China // Biology European Journal of Plant Pathology. – 2016. – Vol. 144. – P. 419–429.

Сведения об авторах

Н.М. Арасланова, вед. науч. сотр., канд. с.-х. наук

Т.С. Антонова, зав. лаб., гл. науч. сотр., д-р биол. наук

С.Л. Саукова, ст. науч. сотр., канд. биол. наук

М.В. Ивебор, вед. науч. сотр., канд. с.-х. наук

Получено/Received

07.11.2022

Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed

08.11.2022

Получено после доработки/Manuscript revised

09.11.2022

Принято/Accepted

11.11.2022

Manuscript on-line

30.12.2022