УДК 632.4, 632.9, 632.981.1
DOI: 10.36305/2712-7788-2020-4-157-26-33

СПОСОБЫ СДЕРЖИВАНИЯ РАЗВИТИЯ *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI* RANDS НА ПРЕДСТАВИТЕЛЯХ СЕМЕЙСТВА *ERICACEAE* В ОРАНЖЕРЕЯХ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПЕТРА ВЕЛИКОГО

Елизавета Андреевна Варфоломеева, Елена Олеговна Резанко

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН,
197376, г. Санкт-Петербург
E-mail: varfolomeeva.elizaveta@list.ru

Статья посвящается светлой памяти Е.Г. Веденяпиной

Последние годы в оранжереях Ботанического сада Петра Великого растет поражаемость представителей семейства *Ericaceae,* рода рододендрон (*Rhododendron*) оомицетом *Phytophthora cinnamomi*. При исследовании ризосферной почвы больных и здоровых растений было обнаружено широкое распространение *Phytophthora*. Это почвообитающие, корнепоражающие виды, которые представляют опасность для представителей данного семейства. Представлена динамика распространения заболевания с 2012 года по 2019 год. Популяция *Phytophthora cinnamomi* в почвах распределена неравномерно, изменяя в соответствии с различными микро-фитоценозами свою структуру (численность, выживаемость, сезонность, жизненный цикл). Структура популяции регулируется ценотическими взаимоотношениями с почвенными микроорганизмами. Популяция *Phytophthora cinnamomi* является «пульсирующей», с максимумом численности (в мае, июне) и минимумом в ноябре, декабре. Создание супрессивных почв и факторов супресии может служить предварительной стратегией при создании мер по защите растений Ботанического сада Петра Великого. Приведены результаты исследований влияния биопрепаратов (Витаплан, Стернифаг, Глиокладин) и удобрений (Гумат калия, Экофус) на возбудителя. Для повышения иммунитета использовались индукторы устойчивости (Иммуноцитофит, Силиплант, Хитозан).

Ключевые слова: *Phytophthora; пораженность; Rhododendron; Ericaceae; биопрепараты; индукторы устойчивости*

Введение

В настоящее время во многих странах тропическим и субтропическим растениям уделяется большое внимание, хотя они довольно трудно размножаются, требуют большего внимания при уходе. Азалии являются одной из ведущих культур защищенного грунта, цветущая в осенне-зимне-весенний период.

Азалия индийская (*Azalea indica*), или рододендрон индийский (*Rhododendron indicum*), относится к семейству Вересковых (*Ericaceae*), роду рододендрон (*Rhododendron*), который является самым многочисленным в данном семействе. Первичным центром происхождения рода являются Китай и Япония. Вересковые широко распространены по земному шару. Они не встречаются только в степях и пустынях, а в тропиках растут преимущественно в высокогорье. Весьма характерным свойством вересковых является их способность произрастать в весьма неблагоприятных условиях, на кислых почвах. Щелочных почв они не выносят. Жизнь на бедных почвах выработала у вересковых ряд приспособлений, важнейшим из которых является симбиоз с грибами в форме микоризы. Корни почти всех вересковых тесно оплетены грибными нитями, поставляющими им вещества из перегноя. Грибы в обмен получают вещества, вырабатываемые растениями.

Грибоподобные оомицеты из рода *Phytophthora* являются экологически важным компонентом почвенного микрокосма. Эти патогены поражают травянистые и древесные растения, как дикорастущие, так и культивируемые, вызывая заболевания.

Растение-хозяин – не единственная среда их жизнедеятельности; многие виды могут существовать более или менее длительное время в почве или воде, колонизируя растительные остатки. Почвообитающие фитофторы представляют особую опасность, так как экологические и генетические механизмы превращения их из безопасного обитателя почв в опасного фитопатогена часто непонятны. Большую работу в исследовании оомицетов провела Веденяпина Е.Г. (Веденяпина 1985, 2010, 2012).

Паразитическая активность видов рода *Phytophthora* в большой степени определяется внешними факторами среды. Глобальное потепление способствует активи зации оомицетов (Фирсов, 2018).

В настоящее время не существует устойчивых к фитофторе видов или сортов растений. Устойчивость определяется многими факторами: наличие микоризного симбиоза, состояния почвы. Неправильные агротехнические мероприятия могут усугублять ситуацию.

В нашей коллекции насчитывается 29 видов и 11 сортов рододендронов, а также 84 сорта азалий.

При обследовании оранжерей Ботанического сада Петра Великого нами были обнаружены растения с симптомами фитофтороза. Особенно много больных растений отмечено было в оранжерее №8 (Вересковые), где произрастают виды родов *Rhododendron и Erica*. Из ризосферы больных растений нами были выделены грибы рода *Phytophthora*. Присутствие этих оомицетов, способных поражать корни широкого круга растений–хозяев, в почве оранжерей представляет большую опасность. Многие из растений, в ризосфере которых были найдены фитофторы, погибли.

При поражении растений *Phytophthora cinnamomi* наблюдаются характерные симптомы усыхания отдельных побегов; обесцвечивание окраски листьев. Сильно поражённые растения характеризуются редкой бледноокрашенной листвой и отсыхани ем отдельных ветвей. Поражается корневая шейка, наблюдается побурение, иногда выделение эксудата. При поражении корневой системы корни становятся вялыми и со временем усыхают.

Мониторинг популяций почвообитающих патогенов, является одной из самых значительных проблем фитопатологии и экологии растительных сообществ. Почвообитающие оомицеты рода фитофтора в этом отношении представляют собой особо трудную для изучения группу, требующую специальных, часто дорогостоящих и трудоемких методов. В большинстве случаев слежение за распространением почвенных популяций фитофтор отмечается обнаружением.

Целью данной работы является разработка относительно быстрых микробиологических методов выявления фитофторы в почве, поиск биологических препаратов, которые можно использовать в системе биологического контроля патогена и повышения устойчивости растений в условиях оранжерей Ботанического сада Петра Великого.

Объекты и методы исследования

Работа выполнялась в оранжерее «Вересковые» Ботанического сада Петра Великого, в течение 2010−2019 гг.

Мониторинг проводился адаптированным микробиологическим методом приманок и селективных сред, разработанных Веденяпиной Е.Г. (Веденяпина, 1994).

На опытной площадке 15х20 м² в оранжерее №8 из ризосферы больных и без признаков патологии рододендронов и вересков взяты 10 образцов почвы. 20 г почвы из каждого образца помещали в стаканы и насыщали дистиллированной водой таким образом, чтобы над поверхностью почвы находилось не менее 2 см воды. По поверхности воды раскладывали приманки: листья рододендрона, эрики, азалии,

авокадо, лепестки гвоздики. Наличие патогена на приманке отслеживали визуально. Появление темных пятен гнили на листьях или же обесцвечивание пятен на лепестках указывают на возможность поражения приманки фитофторами.

Лучшей приманкой являлись лепестки гвоздики: симптомы поражения видны на 2 и 3 день при t =24 °С; кроме того, разложение ткани лепестков гвоздики происходит гораздо быстрее, нежели ткани листьев, что способствовало развитию в воде свободному от тканей мицелия с зооспорангиями и уже на стадии приманки позволяло выявить наличие фитофтор в почвенном образце. Для получения чистой культуры фитопатогена кусочки пораженных приманок на границе больной и здоровой ткани или же кусочки тканей с мицелием и зооспорангиями помещали на селективную среду.

Мицелий в культуре у всех изолятов очень характерен для вида *Phytophthora cinnamomi* Rands, с коралловидными вздутиями и виноградоподобными гроздями хламидоспор. Бесполое и половое спороношение в культуре не образуется. Для индукции бесполого спороношения кусочки мицелия, вырезанные из края колоний, помещали в почвенный экстракт. Зооспорангии неопадающие, непапиллированные или полупапиллированные, образуются на длинных (10−100мкм), простых или симподиально ветвящихся спорангиофорах (рис. 1).

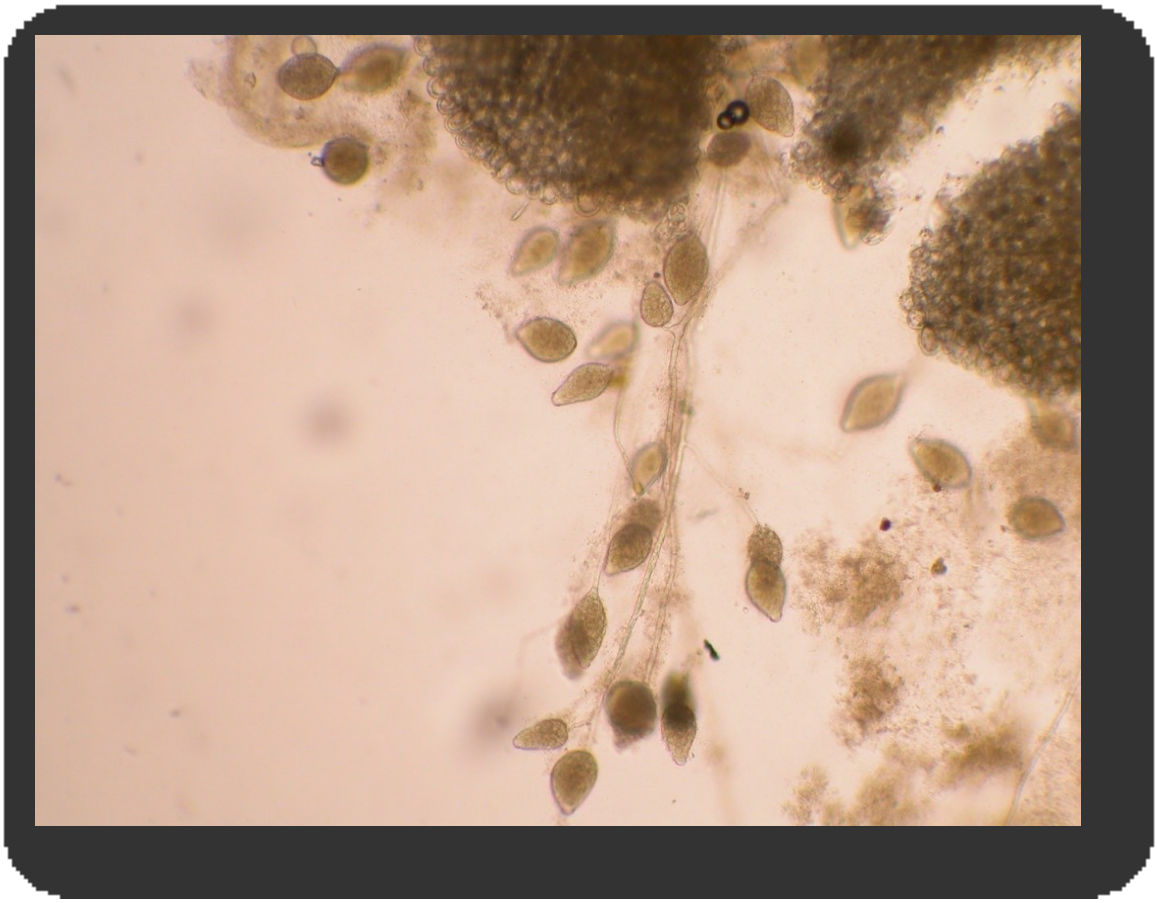

Рис. 1 Зооспорангии *Phytophthora cinnamomi* Rands на приманке (масштаб−30 мкм)
Fig. 1 Zoosporangia of *Phytophthora cinnamomi* Rands on the bait (scale is 30 µm)

Результаты и обсуждение

В течение 10 лет велись работы по наблюдению распространения *Ph. cinnamomi* в почве оранжерей и мероприятия повышению иммунитета растений.

В данной работе было выявлено количественное распространение популяций патогена, и получено представление о равномерности распределения и об очагах его максимальной численности, а также его относительной стабильности.

Результаты показали, что популяция *Phytophthora cinnamomi* в почвах распределена неравномерно, изменяя в соответствии с различными микро-фитоценозами свою структуру (численность, выживаемость, сезонность, жизненный цикл). Структура популяции регулируется ценотическими взаимоотношениями с почвенными микроорганизмами.

Популяция *Phytophthora cinnamomi* является «пульсирующей», с максимумом численности в июне и минимумом, доходящим до неопределенных величин в ноябре, декабре.

Самая высокая встречаемость (100,0%) была обнаружена в пробах грунта, взятого из ризосферы растений с ярко выраженными симптомами заболевания: *Erica saria, Rhododendron fortunei, Rh. macronulatum, Rh. scabrum, Rh. repens, Rh. smirnovii.* Все эти растения погибли и удалены из оранжереи.

Интенсивность поражения рододендронов болезнями определяли по пятибальной шкале: 0 баллов – поражение отсутствует; 1 балл – поражение до 25,0%; 2 балла – поражение 26,0–50,0%; 3 балла – поражение 51,0–75,0%; 4 балла – поражение более 75,0 % поверхности листьев растений (табл. 1).

Таблица 1

Интенсивность поражения *Phytophthora cinnamomi* Rands

Table 1

Intensity of the lesions with *Phytophthora cinnamomi* Rands

Название растения Plant's name	**Возраст, лет** Age,years	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Rhododendron discolor	~41	2,2	2,0	1,8	1,7	1,5	1,4	1,0	0,7
Rh. insigne	~19	1,9	1,8	1,7	1,5	1,4	1,3	0,7	0,7
Rh. helmut	~16	2,8	2,7	2,6	2,5	2,0	2,0	1,8	1,8
Rh. delavayi	~44	1,8	1,8	1,5	1,4	1,2	0,8	0,6	0,6
Rh. favorite	~45	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5	1,3	0,7	0,85
Rh. doberlug	~42	2,3	2,3	2,1	1,7	1,7	1,5	1,1	1,2
Rh. eclaireur	~40	2,5	2,0	1,8	1,7	1,6	1,4	1,1	1,3

Динамика гибели рододендронов за 10 летний период наблюдений отражена на рисунке 2.

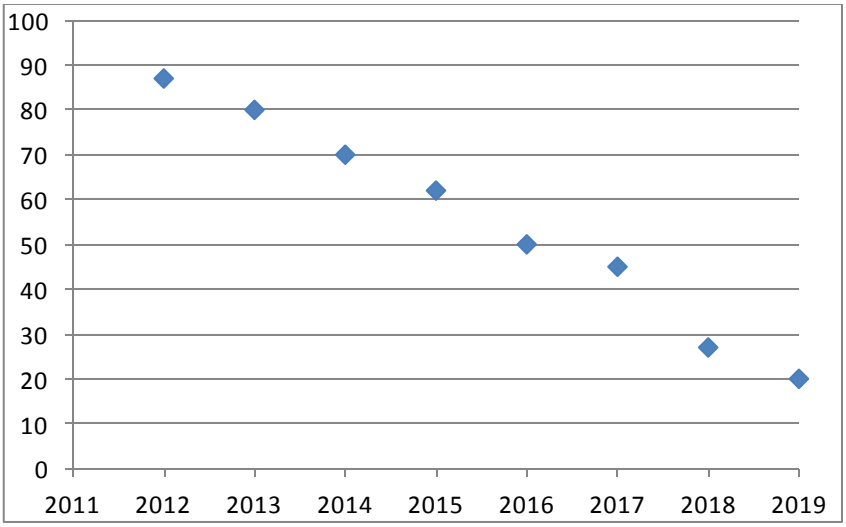

Рис. 2 Динамика гибели рододендронов от *Phytophthora cinnamomi* Rands за годы исследований (Y – количество погибших экземпляров, а шкала X – годы наблюдений)

Fig. 2 Dynamics of death of rhododendrons from *Phytophthora cinnamomi* Rands over the years of research (Y – scale is the number of dead specimens, and the X – scale is the years of observations)

Супрессивные почвы подавляют развитие болезни растений, несмотря на наличие соответствующего патогена и чувствительности хозяина (Томилин, Веденяпина, 1986; Huber, Schneider, 1982). Выявление супрессивных почв и факторов супресии может служить предварительной стратегией при создании мер защиты. Отсюда возникают требования к почве: субстрат должен быть водопроницаемым, состоять из сфагнового торфа и полуперепревшей хвои сосны в соотношении 1:1, реакция должна быть кислой (pH 3,5-5,0). Для работы микроорганизмов рекомендуется использование листовой земли в соотношении 1:0,5.

Кондуктивность или супрессивность почв и связанное с ним изменение структуры популяции *Phytophthora cinnamomi* обусловлено аллелохимическими взаимо действиями с почвенными микроорганизмами. Микориза обеспечивает биологическую защиту против *Phytophthora.*

Для усиления работы микоризы используют гуматы, при неблагоприятных услов иях они взаимодействуют с почвой, органическими, минеральными элементами, улучшая поглотительную, всасывающую способность корневой системы (Левинский, 1999).

Гумат калия обладает оптимальной кислотностью и дополнительно обогащен ми кроэлементами, что позволяет использовать его для стимуляции роста тонких корней. Поэтому весной после обильного цветения (апрель) проводили корневую подкормку 0,1% гуматом калия.

В качестве биологических мер борьбы использовали внесение в почву глиокладина (действующее вещество *Trichoderma harzianum*, штамм 18 ВИЗР). Экспериментальным путем установлена оптимальная норма внесения препарата − 80−120 г на растение. Для возрастных растений применяли максимальную дозу. С 2018 начали применять глиоген (мицелий и споры *Gliocladium catenulatum*) при норме расхода 1 г на растение. Для усиления действия хищных грибов, растения проливали хитозаном 1,0−5,0%. Наблюдалось пролонгированное действие грибов из рода *Trichoderma*. Полив хитозаном проводился в марте. Использование хитозана для защиты растений основано на его способности индуцировать в тканях обработанных растений устойчивость к фитопатогенам, причем проявление устойчивости в местах обработки защищает ткани всего растения.

Для усиления воздействия микоризы летом использовали полив фитоспорином 1,0%. Это живая споровая бактериальная культура *Bacillus subtilis* 26Д, которая подавляет продуктами своей жизнедеятельности размножение многих грибных и бактериальных патогенов растений, обладает свойством повышения иммунитета и стимуляции роста у растений, что важно для повышения их продуктивности и уменьшения повторных заражений. Кроме того, он обогащен биоактивированным препаратом Гуми. В 2018 году проводили обработку биопрепаратом Витаплан (действующее вещество *Bacillus subtilis*, штамм ВКМ-В-2604D + штамм ВКМ-В-2605D) в концентрации 0,8%.

Для повышения иммунитета растений проводилась обработка иммуноцитофито м (д.в. арахидоновая кислота). Первое опрыскивание проводилось двукратно (интервал 2 недели) после цветения (май) и повторно в октябре.

В июне, июле опрыскивали растения Силиплантом 0,2% (кремний содержащее минеральное удобрение). Кремний способствует активному росту корневой системы и листового аппарата. Он участвует в нуклеиновом, белковом, углеродном, фенольном обмене, стимулирует фосфолирование и другие процессы жизнедеятельности клеток. Повышает активность ферментов, участвующих в окислительно-восстановительных процессах.

В ноябре проводилась обработка Экофусом (универсальное органоминеральное удобрение на основе бурых морских водорослей Экофуса пузырчатого (*Fucus vesicul*). Фукус пузырчатый содержит уникальный сульфатированный полисахарид с высокой антистрессовой активностью – фукоидан (Дорожкина, Мисриева, Приходько, 2014). Общая система защиты представителей *Ericaceae* от фитофтороза, применяемая в оранжереях Ботанического сада Петра Великого, отображена в таблице 2.

Таблица 2

Система защиты представителей семейства *Ericaceae* DC от *Phytophthora cinnamomi* Rands

Table 2

Protection system for members of the Ericaceae family from *Phytophthora cinnamomi* Rands

Наименование препарата Name of the preparation	**Действующее вещество** Active substance	**Доза** Dose	**Время проведения** Time of the event	**Метод внесения** Method of making	**Цели** Goals
Глиокладин	*Trichoderma harzianum* штамм 18 ВИЗР	80−120 гр	март	внесение в почву	почвенная инфекция
Глиоген	*Gliocladium Catenulatum*	1 гр	октябрь	внесение в почву	почвенная инфекция
Витаплан	*Bacillus subtilis*, штамм ВКМ В-2604D+, *Bacillus subtilis*, штамм ВКМ В-2605 D	0,8%	июнь, июль	опрыскивание	профилактика заболеваний
Хитозан	лактат хитозана	1−5%	март, октябрь	пролив грунта	повышение иммунитета
Фитоспорин	*Bacillus subtilis* 26Д	1%	май, август, сентябрь	пролив грунта	повышение иммунитета
Гумат К	физиологически активные калиевые соли гуминовых кислот	0,1%	апрель, ноябрь	пролив грунта	стимуляция роста корней и микоризы
Иммуноцитофит	арахидоновая кислота	0,005% повтор через 2 недели	май, октябрь	опрыскивание	повышение иммунитета
Силиплант	кремний содержащее минеральное удобрение	0,1−0,2%	июнь, июль	опрыскивание	повышение иммунитета
Экофус	бурые водоросли Фукуса пузырчатого	0,3−0,5%	ноябрь	опрыскивание	повышение иммунитета

Известно, что индуцированная устойчивость растений к группе оомицетов обеспечивается сигнальным путем, запускаемым при посредстве салициловой кислоты (Stout *et al.*, 1999). Начаты разработки по использованию салициловой кислоты в разных концентрациях на растениях рода *Rhododendron.* Салициловая кислота играет центральную роль в защите растений от биотрофных патогенов, питающихся клетками растения-хозяина. Салициловая кислота является эффективным ингибитором активности каталазы в тканях обработанных хитозаном, что приводит к накоплению перекиси водорода и индукции локальной и системной устойчивости. Совместное использование хитозана и салициловой кислоты показало, что развитие патогена заметно тормозится.

Выводы

Таким образом, применение биопрепаратов *Trichoderma harzianum* и *Bacillus subtilis* (разные штаммы) способствует созданию супрессивных почв для подавления патогенов. При использовании хитозана наблюдается усиление действия биопрепаратов.

Повышение устойчивости растений достигается путем применения регуляторов роста и удобрений (Иммуноцитофит, Силиплант, Экофус).

Исследования почвообитающих оомицетов из рода *Phytophthora* необходимо продолжать. Все предлагаемые меры носят превентивный характер.

Работа выполнена в рамках госзадания по плановой теме «Коллекции живых растений Ботанического института им. В.Л. Комарова (история, современное состояние, перспективы использования)», номер АААА-А18-118032890141 – 4.

Литература / References

Веденяпина Е.Г. Популяция *Phytophthora cinnamomi* Rands в почвах различных фитоценозов // Микология и фитопатология. 1985. Том 19. Вып. 4. С. 322-329.
[*Vedenyapina E.G.* Population of *Phytophthora cinnamomi* Rands in soils of various phytocenoses. *Mycology and Phytopathology*. 1985. 19 (4): 322-329]

Веденяпина Е.Г. Использование методов приманок и селективных сред при изучении грибов классов *Oomycetes* и *Zygomycetes* в шампиньонном субстрате // Микология и фитопатология. 1994. Том 28. Вып. 3. С. 28-33
[*Vedenyapina E.G.* Use of methods of baits and selective media in the study of fungi of the *Oomycetes* and *Zygomycetes* classes in the mushroom substrate. *Mycology and Phytopathology*. 1994. 28 (3): 28-33]

Веденяпина Е.Г. Почвообитающие фитофторы в оранжерейном комплексе БИН РАН // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2010. № 1. С. 93.
[*Vedenyapina E.G.* Soil-dwelling phytophthora in the greenhouse complex of the BIN RAS. *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2010. 1: 93]

Веденяпина Е.Г., Варфоломеева Е.А. Мониторинг почвенных популяций *Phytophthora cinnamomi* при обработке грунта оранжерей ботанического института различными биопрепаратами // Современная микология в России. Материалы III съезда микологов России. 2012. С. 322-323.
[*Vedenyapina E.G., Varfolomeeva E.A.* Monitoring of soil populations of *Phytophthora cinnamomi* when processing the soil of greenhouses of the Botanical Institute with various biological products. In: Modern Mycology in Russia. Materials of the III Congress of mycologists of Russia. 2012. P. 322-323]

Дорожкина Л.А., Мисриева Б.У., Приходько Е.С. Экофус−новое органоминеральное удобрение // Агрохимический вестник. 2014. №6. С. 33−36.
[*Dorozhkina L.A., Misrieva B.W., Prikhodko E.S.* Ecofys − a new organic-mineral fertilizer. *Agrochemical messenger*. 2014. 6: 33-36]

Левинский Б.В. Все о гуматах. Иркутск. 1999. 40 с.
[*Levinsky B.V.* All about humates. Irkutsk, 1999. 40 p.]

Томилин Б.А., Веденяпина Е.Б. Супрессивность почв в связи с вопросами фитофторозной инфекции // Микроорганизмы в сельском хозяйстве. Москва. 1986. С. 57−58.
[*Tomilin B.A., Vedenyapina E.B.* Soil suppressiveness in connection with late blight infection // Microorganisms in agriculture. Moscow, 1986. P. 57-58]

Фирсов Г.А. Уровни адаптированности древесных растений и фенологическая ситуация в Санкт-Петербурге в условиях потепления климата // Ботаника в

современном мире. Тр. XIV съезда Русск. бот. общ-ва и конф. (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). Махачкала: АЛЕФ, 2018. С. 338-341.
[*Firsov G.A.* Levels of adaptation of woody plants and the phenological situation in St. Petersburg in the conditions of climate warming. *Botany in the modern world*. Works of XIV Congress of Russian bot. General and Conf. (Makhachkala, June 18-23, 2018). Makhachkala: ALEF. 2018, P. 338-341.]

Huber D.M., Schneider R.W. The description and occurrence of suppressive soils. In: Schneider R.W. ed. Suppressive Solis and Plant Disease. St. Paul. MN: The American Phytopathological Society. 1982. P. 1-7.

Stout M.J., Fidantsef A.L., Duffey S.S., Bostock R.M. 1999. Signal interactions in pathogen and insect attack: systemic plant-mediated interactions between pathogens and herbivores of the tomato, Lycopersicon esculentum // Physiol. Mol. Plant Pathol. Vol. 54. P. 115-130.

Статья поступила в редакцию 15.10.2020 г.

Varfolomeeva E.A., Rezanko E.O. Methods of supporting the development of *Phytophthora cinnamomi* rands on representatives of the *Ericaceae* DC family. In the orangeries of the Botanical garden of Peter the Great// Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2020. № 4 (157). P. 26-33.

In recent years, in the orangeries of the Peter the Great Botanical Garden, the affection of representatives of the *Ericaceae* family, the genus rhododendron *(Rhododendron* (L.) oomycete *Phytophthora cinnamomi*, has been growing. In the study of the rhizospheric soil of sick and healthy plants, a wide distribution of Phytophthora was found. representatives of this family. The dynamics of the spread of the disease from 2012 to 2019 is presented. The population of *Phytophthora cinnamomi* in the soils is unevenly distributed, changing its structure (abundance, survival, seasonality, life cycle) in accordance with various micro-phytocenoses. The population structure is governed by coenotic relationships with soil microorganisms. The Phytophthora cinnamomi population is "pulsating," with a maximum population (in May-June) and a minimum in November-December. The creation of suppressive soils and suppression factors may serve as a preliminary strategy when creating measures to protect plants of the Peter the Great Botanical Garden. The results of studies of the effects of biological products (Vitaplan, Sternifag, Gliokladin) and fertilizers (Potassium humate, Ecofus) on the pathogen are presented. To increase immunity, resistance inducers (immunocytophyte, sillplant, chitosan) were used.

Key words: *Phytophtora; Rhododendron; Ericaceae; biological products; resistance inductors*