

УДК 582.28 (476)

**ВЛИЯНИЕ ГОЛОВНЕВОГО ГРИБА *SPORISORIUM ANDROPOGONIS*
(OPIZ) VÁNKY. НА СОСТОЯНИЕ ЦЕНОПОПУЛЯЦИИ *BOTHRIOCHLOA*
ISCHAEMUM (L.) KENG. (POACEAE) В ГОРНОМ КРЫМУ**

Просьянникова И. Б., Гусева А. А., Гришкова В. И.

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: aphanisomenon@mail.ru

Приведены данные по влиянию головневого гриба *Sporisorium andropogonis* (Opiz) Vánky. на состояние ценопопуляции *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. Изучено влияние гриба на распространенность и интенсивность поражения *B. ischaemum*. Выявлена зависимость феноспектра растения-хозяина от стадии развития *S. andropogonis*. Изучено влияние *S. andropogonis* на содержание фенольных соединений в растениях *B. ischaemum*.

Ключевые слова: головневый гриб *Sporisorium andropogonis*, питающее растение *Bothriochloa ischaemum*, распространенность и интенсивность поражения, феноспектры, фенольные соединения.

ВВЕДЕНИЕ

Умеренно-холодный и влажный климат Крымских гор с элементами средиземноморского климата способствует развитию флоры разнообразного видового состава и столь же разнообразной фитотрофной микобиоты. Головневые грибы (порядок Ustilaginales, класс Ustomycetes, отдел Basidiomycota) насчитывают около 1200 видов из более чем 50 родов, большей частью приуроченных к одному роду или виду растения и отличающихся узкой специализацией. В целом, они поражают свыше 4000 видов цветковых растений [1, 2]. Сведения о видовом составе головневых грибов Крыма постоянно пополняются новыми данными. Изучение взаимодействия фитопатогена и растения-хозяина, а также исследование закономерностей их жизненного цикла, сроков и способов инфицирования растений, жизнеспособности спор, споропродукции является актуальной научной проблемой.

Целью данной работы является изучение влияния головневого гриба *Sporisorium andropogonis* (Opiz) Vánky. на состояние ценопопуляции *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng. (Poaceae) в Горном Крыму.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в окрестностях пгт Научный Бахчисарайского района Республики Крым на одном из отрогов горы Сель-Бухра (658,2 м н. у. м.) в течение вегетационного сезона 2016 года на одной однородной пробной площади (100 м²), крутизна исследуемого склона составляет 25–30° (рис. 1). Нами были случайным

образом выделены по 20 учетных площадок площадью 1 м². Природная растительность известняковой горы Сель-Бухра представлена дубовопушистым-можжевельным редколесьем [3], где *V. ischaetum* образует довольно крупные многочисленные куртины (рис. 1).



Рис. 1. Внешний вид пробной площадки на отроге горы Сель-Бухра (658,2 м н. у. м.)

Согласно картосхеме географического районирования Крыма, пгт Научный расположен в Горном Крыму [4]. Общий ареал *V. ischaetum* – европейско-средиземноморский, вид распространен преимущественно в Горном Крыму. Биоморфа: ксеромезофит; сциогелиофит; гликофит; медоносное, витаминоносное, техническое, довольно часто встречаемое в Горном Крыму растение. Экоморфа: ксеромезофит, гелиофит, гликофит, кормовое растение, обильно встречающееся [5].

Идентификацию образцов *S. andropogonis* на листьях *V. ischaetum* проводили стандартным методом с помощью определителя [1], а название растения-хозяина представлено по литературе [6]. Объект изучения – растения *V. ischaetum*, пораженные головневым грибом *S. andropogonis*. Варианты опыта: контроль – здоровое растение, опыт – пораженное грибом *S. andropogonis*. Распространение и развитие болезни рассчитывали с использованием общепринятых в фитопатологии методов [7].

Определение фенольных соединений. Растительный материал высушивали в хорошо проветриваемом помещении при комнатной температуре до состояния ломкости. Растения были разделены на корни, листья и стебли, каждый образец был тщательно размельчен, а затем перетерт с песком до порошкообразного состояния

для максимального извлечения экстрагируемых веществ. Экстракцию проводили 70 % водным раствором изопропилового спирта в соотношении 1:10 при температуре 100 °С. Далее экстракт был охлажден и настоян в течение суток.

Хроматографические методики. Одномерная хроматография. ТСХ-анализ выполняли на пластинках «Silufol» (Чехословакия). Экстракты органов растения двух образцов нанесли на хроматографическую пластину. Одномерный ТСХ-анализ проводили параллельно в двух системах: «хлороформ – метанол – вода» (7:3:0,5) и «хлороформ – метанол – аммиак» (7:3:1).

Двумерная хроматография. Двумерный ТСХ-анализ экстрактов проводился на пластинках «Silufol», разделение веществ в направлении «1» осуществлялось в нейтральной хроматографической системе растворителей, а разделение в перпендикулярном направлении «2» – в щелочной системе растворителей. В качестве нейтральной системы использовали смесь «хлороформ – метанол – вода» (7:3:0,5); в качестве щелочной – «хлороформ – метанол – 25%-ный водный аммиак» (6:4:1). Детектировали флюоресценцию и разделение фенольных соединений излучением УФ-лампы со светофильтром, выделяющим длинноволновое УФ-излучение (365 нм) [8, 9]. Полученные данные обрабатывались общепринятыми методами математической статистики при уровне достоверности $P=0,05$ [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Головневый гриб *Sporisorium andropogonis*, зарегистрированный нами на *Bothriochloa ischaetum*, относится к семейству Ustilaginaceae. Паразит образует сорусы 15–70 мм длиной, 1–10 мм шириной, которые на первых этапах своего развития частично скрыты оболочкой, имеют цилиндрическую форму или раздваиваются в дистальной части соцветий. Как правило, сорусы гриба разрушают целые соцветия растения-хозяина, резко снижая семенную продуктивность растений, редко ограничиваются отдельными колосками (рис. 2 А). Сначала сорус покрыт хорошо развитым образованием желтовато-коричневого цвета, которое разрывается, обнажая темно-коричневую порошкообразную массу спор и группы стерильных клеток.

Известно, что данная инфекция носит системный характер [11]. Размеры устоспор колеблются в диапазоне 40–160 мкм длиной, при созревании одиночные, шаровидные, яйцевидные, эллипсоидальные, слегка неправильной формы (7,6–11,0 × (6,5–) 8–10 мкм), светло-оливково-коричневые; имеют равномерно утолщенные стенки толщиной 0,5–1,0 мкм, оболочка гладкая, волнистая (рис. 2 Б).

Как видно из данных таблицы 1, показатель распространения болезни (Р) в 2016 году в популяции *B. ischaetum* на всех пробных площадях колебался в диапазоне от 3,2 до 19,1 %. Максимум поражения растений-хозяев грибом *S. andropogonis* приходится на июль (19,1 %). Колебания интенсивности поражения растений (R) в ходе вегетационного сезона имели общую тенденцию с показателем распространенности и находились в пределах от 1,2 до 42,2 %, причем наибольшая инфекционная нагрузка на *B. ischaetum*, связанная с поражением соцветий, также была установлена в июле.

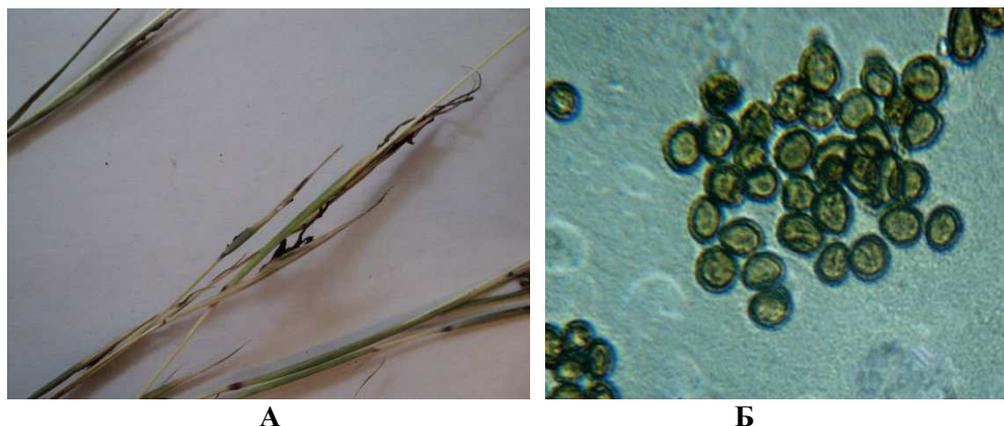


Рис. 2. Головневый гриб *Sporisorium andropogonis* (Opiz) Vánky на *Bothriochloa ischaetum* (L.) Keng (Poaceae): А – внешний вид пораженного соцветия; Б – устоспоры (увел. 400х, ориг.).

Как видно из данных таблицы 1, в августе распространенность заболевания уменьшается на 10,4 %, что связано со снижением плотности цветущих растений на единицу площади (6,4 шт/ м² в августе по сравнению с июлем – 9,4 шт/м²), что приводит к разреживанию больных растений и постепенному снижению инфекционной нагрузки на пробной площади.

Таблица 1
Характеристика распространенности и степени поражения *Bothriochloa ischaetum* (L.) Keng. (Poaceae) головневым грибом *Sporisorium andropogonis* (Opiz) Vánky. (2016 г.)

Месяц	Среднее количество растений, экз./м ²	Распространенность заболевания (P), %	Интенсивность поражения (R), %
Июнь	8,3 ± 0,2	12,0 ± 0,9	26,3 ± 0,6
Июль	9,4 ± 0,1	19,1 ± 0,6	42,2 ± 1,9
Август	6,4 ± 0,1	8,8 ± 0,2	13,2 ± 0,5
Сентябрь	9,5 ± 0,3	3,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1

Такое уменьшение количества цветущих особей *Bothriochloa ischaetum* мы связываем с высокими температурными показателями солнечной радиации и малым количеством осадков в июле – августе 2016 года на склоне горы Сель-Бухра (табл. 2).

Таблица 2
Температурный режим и количество осадков в пгт Научный Бахчисарайского района в течение вегетационного периода 2016 г.

Месяц	Средняя max температура, °С	Средняя min температура, °С	Суммарное количество осадков, мм
Май	21	10	87,7
Июнь	27	15,5	67
Июль	30	18	36,3
Август	32	19	4,6
Сентябрь	26	14	10,2

Сопоставление фенологического спектра *B. ischaetum* с фазами спороношения гриба *S. andropogonis* показало, что головневые споры закладываются и распространяются в фазу массового цветения растения-хозяина (рис. 3 А), заражая растения начиная с третьей декады июня и заканчивая в конце августа – первой декады сентября (рис. 3 Б).

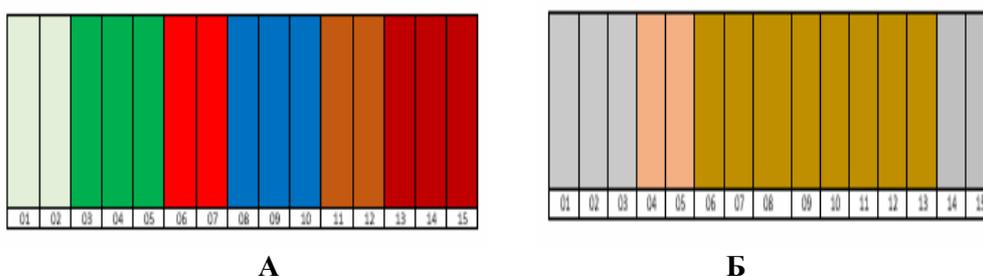


Рис. 3. Фенологический спектр *Bothriochloa ischaetum* (L.) Keng. (Poaceae) (А) и *Sporisorium andropogonis* (Opiz) Vánky. (Б):

- Период покоя
- Первичная вегетация
- Бутонизация
- Цветение
- Конец цветения
- Вторичная вегетация и цветение
- Период покоя
- Формирование устоспор
- Поражение растений-хозяев

Таким образом, сопоставляя данные таблиц 1–2 и рисунка 3, можно сделать вывод, что распространенность заболевания и интенсивность поражения в июле 2016 года по сравнению с предыдущим месяцем возрастает на 7,1 %, что связано с тем, что *B. ischaetum* в июле массово вступает в фазу бутонизации и цветения и, соответственно, при этом усиливается поражение генеративных органов растения-хозяина головневым грибом *S. andropogonis*.

В последнее время большое внимание исследователи уделяют изучению связи между химическим строением и фунгитоксичной активностью фенольных соединений. Это необходимо для более глубокого понимания роли фенолов как факторов устойчивости растений к грибным заболеваниям, а также для использования активных форм этих соединений для защиты растений, человека и животных [12].

В ходе исследований нами были получены следующие хроматограммы корней, листьев со стеблями и соцветий *B. ischaetum*, отражающие состав фенольных соединений контрольных и опытных вариантов (рис. 4). Анализ хроматограмм методом детектирования в УФ-свете выявил следующее: при поражении грибом наблюдается как появление новых компонентов с сине-фиолетовой флюоресценцией (предположительно замещенные фенолкарбоновые и коричные кислоты) и с желтой флюоресценцией (флавоноиды и их гликозиды), так и исчезновение соединений, присутствующих в здоровых органах. Иными словами, наблюдалось определенное замещение относительной интенсивности флюоресценции компонентов, присутствующих как в здоровых, так и в пораженных органах.

Как видно из данных рисунка 4, поражение грибом *S. andropogonis* приводит к определенным биохимическим сдвигам в составе тканей органов, однако сделать определенные выводы довольно сложно в силу двух обстоятельств: определенные компоненты могут быть свойственны именно самому грибу-паразиту, а не растению; можно лишь примерно предсказать природу флюоресцирующих веществ, накапливающихся в заболевших растениях. В данном случае представляются необходимыми дополнительные исследования.

Анализ хроматограмм при детектировании фосфорновольфрамовой кислотой на гликозиды и прочие вторичные метаболиты (терпеноиды) показал довольно бедный состав исследованных органов в отношении этих соединений (наличие не более 2–3 компонентов). Однако тут прослеживаются более четкие закономерности, нежели в случае флюоресцирующих соединений. Так, в корнях существенно увеличивается доля менее полярного компонента в случае поражения грибом (рис. 4 А).

В пораженных листьях и стеблях (рис. 4 Б) также в небольшом количестве появляются дополнительные малополярные компоненты. В пораженных соцветиях (рис. 4 В) вообще основной компонент исчезает, но появляются два малополярных компонента иной биохимической природы (пятна светло-розового цвета).

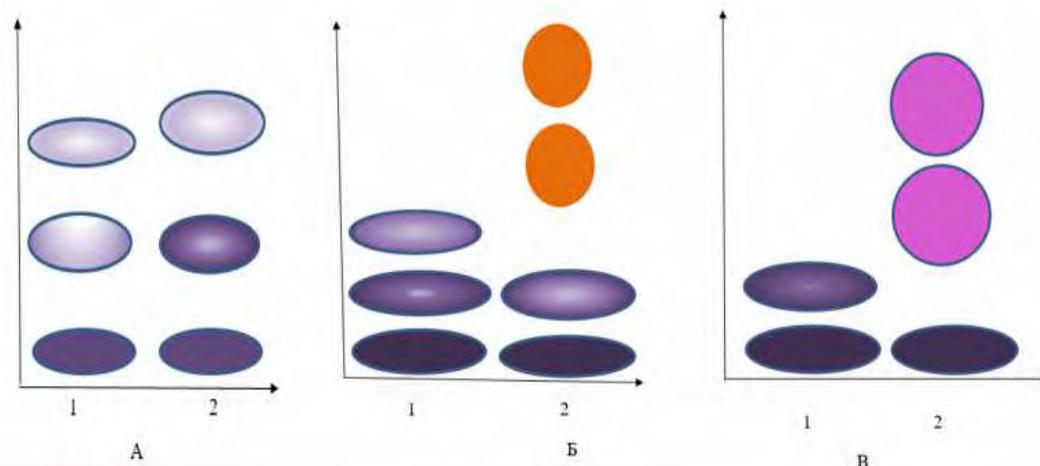


Рис. 4. Хроматограммы органов *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng при детектировании фосфорновольфрамовой кислотой на фенольные соединения: 1 – контроль (здоровые растения), 2 – опыт (зараженные растения); А – корни, Б – стебли и листья, В – соцветия.

В целом, можно заключить, что поражение растения *B. ischaemum* грибом *S. andropogonis* вызывает вполне определенные биохимические изменения в составе каждого органа растения, однако для получения детальной информации необходимы дальнейшие исследования природы обнаруженных компонентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведен анализ распространенности и интенсивности поражения ценопопуляции *Bothriochloa ischaemum* головневым грибом *Sporisorium andropogonis* на вершине горы Сель-Бухра (Горный Крым) и установлено, что ассоциированная пара «гриб – растение» образуется ежегодно.
2. Сопоставление фенологического спектра растения-хозяина *B. ischaemum* с фазами спороношения гриба *S. andropogonis* показало, что головневые споры формируются в период цветения и созревания плодов растения-хозяина, при этом максимум пораженности *B. ischaemum* приходится на июль.
3. Поражение грибом *S. andropogonis* носит системный характер. Диффузный мицелий гриба, перезимовывая в питающем растении, при закладке генеративных органов формирует генерацию устоспор для завершения инфекционного цикла *S. andropogonis* и его дальнейшего распространения в популяции *B. ischaemum*.
4. Анализ фенольных соединений *B. ischaemum* с помощью тонкослойной хроматографии показал, что под влиянием головневого гриба *S. andropogonis* наблюдается появление новых компонентов с сине-фиолетовой флюоресценцией (предположительно замещенные фенолкарбоновые и коричневые кислоты) и с желтой флюоресценцией (флавоноиды и их гликозиды).

Список литературы

1. Низшие растения, грибы и мохообразные Дальнего Востока России. Грибы. Том 3. Устомицеты (головневые), базидиомицеты (гигрофоровые), аскомицеты (лабульбениевые и пейритшиелловые), зигомицеты (энтомофторовые), хитридиомицеты (бластокладиевые-целомомицетовые): справочное издание / З. М. Азбукина, О. К. Говорова, И. В. Каратыгин, А. Е. Коваленко, Э. З. Коваль; Отв. ред. З. М. Азбукина. – СПб.: Наука, 1995. – 383 с.
2. Каратыгин И. В. Семейство Устилаговые. / Каратыгин И. В., Азбукина З. М. // Л.: Наука, 1989. – 220 с. (Определитель грибов СССР. Порядок Головневые; Вып. 1.).
3. Григора І. М. Рослинність України (еколого-ценотичний, флористичний та географічний нарис) / Григора І. М., Соломаха В. А. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 452 с.
4. Сидух Я. П. Растительный покров Горного Крыма (структура, динамика, эволюция и охрана) / Сидух Я. П. – Киев: Наукова думка, 1992. – 256 с.
5. Голубев В. Н. Биологическая флора Крыма / Голубев В. Н.–Ялта: ГНБС, 1996 – 300 с.
6. Ена А. В. Природная флора Крымского полуострова: монография. / Ена А. В. // Симферополь: Н. Орианда, 2012. – 232 с.
7. Благовещенская Е. Ю. Фитопатогенные микромицеты: учебный определитель / Благовещенская Е. Ю. – М.: ЛЕНАНД, 2015. – 240 с.
8. Набиванец Б. И. Хроматографический анализ / Б. И. Набиванец, Е. А. Мазуренко [Пособие для вузов]. – Киев. Вища школа, 1979 – 264 с.
9. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография / Ю. Кирхнер; [Пер. с англ. Д. Н. Соколова и М. И. Яновского, под ред. В. Г. Березкина.]. – М.: Мир, 1981. – 616 с.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия / Лакин Г. Ф. – М.: Высшая школа, 1983 – 293 с.
11. Riethmuller A. Phylogenetic relationships of the downy mildews (Peronosporales) and related groups based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences / Riethmuller A., Voglmayr H., Goker M. [et al.] // Mycologia. – 2002. – Vol. 94. – P. 834–849.
12. Movlyanov S. M. Phenolic compounds of *Geranium sanguineum* / S. M. Movlyanov, Sh. Yu. Islambekov, F. G. Kamaev, A. I. Ismailov // Chemistry of Natural Compounds. – 1994. – Vol. 30, № 1. – P. 33.

INFLUENCE OF THE BUNT FUNGUS *SPORISORIUM ANDROPOGONIS* (OPIZ) VÁNKY. ON THE STATE OF COENOPOPULATION OF *BOTHRIOCHLOA ISCHAEMUM* (L.) KENG. (POACEAE) IN THE MOUNTAIN CRIMEA

Prosyannikova I. B., Guseva A. A., Grishkovets V. I.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation
E-mail: aphanisomenon@mail.ru*

The investigation was carried out in the vicinity of Nautsniy in Bakhchisaray region of Crimea on the top of one of the spurs on Sel-Buhra mountain top (658.2 m above the sea level, the Crimean Mountains) on one homogeneous test area, 100 m². The natural vegetation of the limestone Mountains of Sel-Buhra is represented with pubescent oak and juniper sparse wood, where *B. ischaemum* forms rather large and multiple curtains. The spread and the intensity of lesions of *B. ischaemum* coenopopulation by the bunt fungus *S. andropogonis* was studied, as well as the associated pair of fungus-plant, which is annually produced, was found.

The comparative analysis of phenological spectrum of *B. ischaemum* with phases of sporophores *S. andropogonis*, showed that spores are formed during the period of

flowering and ripening of the fruit of the host plant, with the maximum *B. ischaemum* lesion occurring in July. For more than three years of research (2016), it was revealed that the largest lesion of *B. ischaemum* takes place in May, which coincides with the period of mass flowering of the host plant. The defeat of the fungus *Sporisorium andropogonis* is systemic in nature. Diffusive mycelium of the fungus, overwintering in the feeding plant, generates generics for the end of the infection cycle of *S. andropogonis* and its further distribution in the population of *B. ischaemum*.

Analysis of chromatograms when detecting phosphotungstic acid on glycosides and other secondary metabolites (terpenoids) showed a rather poor composition of the organs studied with respect to these compounds (the presence of not more than 2–3 components). The analysis of phenolic compounds of *B. ischaemum* by TLC revealed that a component with a blue-violet fluorescence (presumably substituted phenolcarbon and cinnamic acids) and yellow fluorescence (flavonoids and their glycosides) is formed under the influence of *S. andropogonis* bunt fungus.

Keywords: *Sporisorium andropogonis* bunt fungus, *Bothriochloa ischaemum* host plant, the spread and intensity of lesions, phenological spectrum, phenolic compounds.

References

1. Azbukina Z. M., Govorova O. K., Karatygin I. V., et al; Otv. Ed. Azbukina Z. M. *Lower plants, mushrooms and bryophytes of the Far East of Russia. Fungi. T. 3: Ustomycetes (Ustilaginales), Basidiomycetes (Hygrophorales), Ascomycetes (Laboulbeniales), Zygomycetes (Entomophthorales), Chytridiomycetes (Blastocladales-Coelomomycetales)*. Reference book. 383 (St. Petersburg: Nauka, 1995). (in Russ.).
2. Karatygin I. V., Azbukina Z. M. *Ustilagaceae of family*. 220 (Publishing House of Science, 1989). (The determinant of the USSR Order of fungi Smut, Issue 1.). (in Russ.).
3. Grigora I. M., Solomaha V. A. *Vegetation Ukraine* (Eco-tsenotichny, floristichny that geografichny Naris), 452 (Phytosotsiotsentr, Kiev, 2005). (in Ukrainian).
4. Didukh Y. P. *Vegetation cover of the Crimean Mountains* (structure, dynamics, and evolution of security.), 256 (Naukova Dumka, Kiev, 1992). (in Russ.).
5. Golubev V. N. *Biological flora of Crimea*, 300 (GNBS, Yalta, 1996). (in Russ.).
6. Yena A. V. *Natural flora of the Crimean Peninsula*, 232 (N. Oreanda, Simferopol, 2012). (in Russ.).
7. Blagoveshchenskaya E. U. *Phytopathogenic micromycetes: educational determinant*, 240 (M.: publishing house LENAND). (in Russ.).
8. Nabivanets B. I., Mazurenko E. A. *Chromatographic analysis*. Handbook for universities, 264 (Visha School, Kiev, 1979). (in Russ.).
9. Kirchner Y., Sokolov D., Janowski M., ed. V. G. Berezkina. *TLC*, 616 (Mir, Moscow, 1981). (in Russ.).
10. Lakin G. F. *Biometrics*, 293 (Higher School, Moscow, 1983) (in Russ.).
11. Riethmuller A., Voglmayr H., Goker M. et al. Phylogenetic relationships of the downy mildews (Peronosporales) and related groups based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences, *Mycologia*, **94**, 834 (2002).
12. Movlyanov S. M., Islambekov Sh. Yu., Kamaev F. G., Ismailov A. I. Phenolic compounds of *Geranium sanguineum*. *Chemistry of Natural Compounds*, **30** (1), 33 (1994).