

Выявление инфекций в посадочном материале чеснока озимого *in vitro*

Detection of infections in planting material of winter garlic *in vitro*

Муравьева И.В., Азопкова М.А., Поляков А.В.

Аннотация

Чеснок (*Allium sativum* L.) – исключительно вегетативно размножаемое растение, которое подвержено заражению многочисленными грибными, бактериальными и другими фитопатогенами. При размножении инфицированных растений фитопатогены передаются потомству, что приводит к снижению урожайности, потере качества, лежкоспособности и часто к вырождению сортов. Сложность своевременного выявления наличия внутренней инфекции в посадочном материале чеснока послужила причиной исследования приемов биотехнологии для решения данной проблемы. Целью исследования было определение уровня и состава контаминации на эксплантах чеснока при введении в культуру *in vitro*. Исследования проведены на зубках чеснока ярового и озимого, выращенных в полевых условиях опытного участка ВНИИО – филиала ФГБНУ ФНЦО и хранившихся при температуре около 10 °C в течение 7-8 месяцев. Для введения в культуру *in vitro* отбирали внешне здоровые, не поврежденные зубки, донце которых служило эксплантом. Зубки чеснока промывали в проточной воде, выдерживали в 0,1% -ном растворе перманганата калия 20 минут, затем в условиях ламинарного бокса обрабатывали 70%-ным этанолом и стерилизовали в растворе гипохлорита натрия 1,5% в течение 20 минут. После стерилизации экспланты были помещены на питательную среду MS. Культивирование зубков чеснока ярового и озимого на питательной среде в культуре *in vitro* позволило выявить присутствие внутренней инфекции, характерной для чеснока, относящейся к родам *Fusarium*, *Penicillium*, *Pseudomonas*. Установлена инфицированность посадочного материала чеснока грибами рода *Aspergillus*, ранее не зафиксированной в условиях Московской области. Доля пораженных эксплантов чеснока озимого этим патогеном составила 9,3%, ярового – 8,2%. Наибольшую распространенность получили грибы рода *Fusarium*, доля которых составила в среднем на чесноке озимом 65,6%, на чесноке яровом – 27,6%. Проведенные исследования показали, что посадочный материал чеснока озимого и ярового заражен характерными для культуры болезнями и нуждается в комплексном оздоровлении.

Ключевые слова: *in vitro*, чеснок, донце, эксплант, фитопатогены, контаминация.

Для цитирования: Муравьева И.В., Азопкова М.А., Поляков А.В. Выявление инфекций в посадочном материале чеснока озимого *in vitro* // Картофель и овощи. 2020. №10. С. 20-22. <https://doi.org/10.25630/PAV.2020.31.13.002>

Murav'eva I.V., Azopkova M.A., Polyakov A.V.

Abstract

Garlic is exclusively vegetatively propagated crop which is damaged by numerous fungi, bacterial and other phytopathogens. Under propagation of infected plants phytopathogens are transferred to progenies that leads to decrease productivity, to loss of quality, storability and frequently to degeneration of cultivars. The complexity of timely identification of presence of internal infection in landing material of garlic caused investigation of methods of biotechnology for the solution of this problem. The investigations were carried out on cloves of summer and winter garlic grown up in field conditions of the experimental plot belonging to All-Russian Research Institute of Vegetable Growing – a branch of FSBSI Federal Scientific Vegetable Centre and stored in laboratory room at the temperature about 10 °C within 7-8 months. For introduction to *in vitro* culture there were selected outwardly healthy, not defective cloves the bottom parts of which were used as explants. After sterilization explants were placed on a medium. Cultivation of explants of summer and winter garlic on a medium *in vitro* culture allowed to reveal presence of the internal infection, the characteristic of garlic which is falling into the sorts *Fusarium*, *Penicillium*, *Pseudomonas*. Contamination of landing material of garlic by fungi of the sort *Aspergillus*, earlier not recorded in the conditions of the Moscow region was established in the experiment. The share of damaged explants of winter garlic by pathogens made 9.3%, summer garlic – 8.2%. The greatest abundance was received by genus *Fusarium* fungi share of which on winter garlic consisted of 65.6%, on summer garlic – 27.6%. The carried out investigations showed that landing material of winter and summer garlic is infected with the diseases, characteristic of culture, and needs complex improvement.

Key words: *in vitro* propagation, garlic, disk, explant, phytopathogens, contamination.

For citing: Murav'eva I.V., Azopkova M.A., Polyakov A.V. Detection of infections in planting material of winter garlic *in vitro*. Potato and vegetables. 2020. No10. Pp. 20-22. <https://doi.org/10.25630/PAV.2020.31.13.002> (In Russ.).

Чеснок – вегетативно размножаемая культура. Многие заболевания чеснока не проявляются при выращивании, но наносят большой вред в период хранения. Из литературных данных известно, что чеснок наиболее часто поражается следующими фитопатогенами: шейковая гниль, белая гниль донца, пенициллез (зеленая или синяя плесень), фузариоз, черная плесень, бактериозы [1, 2, 3].

Наибольший ущерб посадкам чеснока наносят грибные болезни. Видовой состав и интенсивность поражения зависят от места выращивания и погодных условий [1, 2].

Шейковая гниль. Возбудитель – грибы рода *Botrytis* *Midi*. На чесноке выделены виды: *B. aclada*, *B. allii*, *B. porry*. Источником первичной инфекции служат склероции, сохраняющиеся на растительных остатках, в почве. Заражение происходит в период выращивания чеснока, но ви-

зуально чаще всего не проявляется. Наибольший вред заболевание причиняет при хранении материала. На зубках образуются пятна с серо-бурым налетом, которые распространяются на донце и другие участки луковицы. Пораженные луковицы и зубки являются источником вторичной инфекции [4, 5, 6].

Белая гниль донца чеснока. Возбудителем болезни является грибок *Sclerotium cepivorum* Berk. Источником инфекции являются склероции, зимую-

ющие в почве. Поражение и проявление болезни наблюдается в любой период роста и развития растений и во время хранения посадочного материала [4, 5, 6].

Пеницеллез (зеленая или синяя плесень). Возбудитель – грибы рода *Penicillium* Link.: *P. allii*, *P. hirsutum*, *P. corymbiferum*. Возбудитель пеницеллеза чеснока сохраняется в почве на растительных остатках. Зеленая плесень достигает массового проявления через 2–3 месяца после укладки луковиц на хранение [3, 4, 5, 6].

Фузариоз. Возбудитель – грибы рода *Fusarium*: *F. culmorum* (roseum), *F. solani*, *F. acuminatum*, *F. proliferatum*, *F. verticillioideus*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme* [7, 8].

Источником первичной инфекции служат хламидоспоры, сохраняющиеся на растительных остатках, в почве. При инфицировании растений мицелий гриба закупоривает сосуды, выделяет токсины. Зараженные луковицы и зубки чеснока во время хранения становятся мягкими, покрываются грибковым мицелием и к концу хранения луковицы и зубки мумифицируются.

Черная плесень. Возбудитель – грибы рода *Aspergillus* чаще всего вида *Aspergillus niger* Tiegh. Заболевание проявляется и передается при нарушении режима хранения луковиц и в большей степени проявляется в южных районах РФ [7, 8]. В 2015 году в Московской области на луке обнаружен новый для этой зоны патоген *Aspergillus niger*, вызывающий черную плесень к концу вегетации [8].

Бактериозы. На чесноке заболевания вызывают пять видов бактерий, которые относятся к родам *Pectobacterium*, *Pantoea* и *Pseudomonas*. Меньший ущерб наносит *Pantoea agglomerans* (ранее *Erwinia herbicola*), которая пора-

жает поверхность зубков чеснока мелкими точечными язвочками, не проникающими вглубь. Виды рода *Pseudomonas* (*Ps. gladioli pv allucova*, *Ps. fluorescens*, *Ps. eruginosa*) занимают второе место по распространенности, но, являясь условно патогенными, проявляются только в период хранения чеснока, вызывая гниение отдельных зубков. *Ps. gladioli pv allucova* сильно поражает донце и зубки чеснока, вызывая образование глубоких язв. *Ps. fluorescens* также поражает донце и зубки чеснока, при этом они становятся стекловидными и теряют вкусовые качества [3, 4, 5].

Цель исследований: определить степень инфицированности зубков чеснока озимого и ярового возбудителями болезни, идентифицировать роды патогенов.

Условия, материалы и методы исследований

Исследования проведены в отделе биотехнологии и инновационных проектов Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства» в 2018–2019 годах.

Материалом исследований служили зубки чеснока озимого и ярового по истечении 7–8 месяцев хранения. Посадочный материал хранили в сухом помещении при температуре около 10 °С. Для введения в культуру *in vitro* отбирали внешне здоровые, не поврежденные зубки, донце которых служило эксплантом. Введение в культуру осуществляли во второй и третьей декадах марта и первой декаде апреля. Патогены определяли по определителю и микроскопическими исследованиями [3, 5, 9].

Стерилизацию материала проводили в два этапа. Первый – очистка

растительного материала от внешних загрязнений, включающий промывку в проточной воде 30–60 минут, выдерживание зубков в 10%-ном растворе хозяйственного мыла 40–60 минут, промывки в проточной воде и выдерживание в 0,1% -ном растворе марганцовокислого калия – 15–20 минут.

Второй этап – стерилизация в условиях ламинарного бокса, которая включала в себя обработку 70%-ным этанолом 30 секунд, 1%-ным раствором гипохлорита натрия 20 минут и трехкратную промывку стерилизованной дистиллированной водой.

При таком способе стерилизации достигается высокая степень очистки растительного материала от внешней инфекции [10, 11].

Результаты исследований

Исследования показали, что после введения в культуру донцев зубков в течение недели проявлялась контаминация эксплантов различными патогенами. Уже на третьи сутки наблюдался рост бактерий, а через 6–7 дней – фитопатогенных грибов.

Отмечено, что зубки чеснока озимого в большей степени подвержены воздействию патогенной микрофлоры. В среднем, доля инфицированных эксплантов на чесноке озимом составила 77,8%, а на яровом – 65,9% (табл.).

Обнаружены грибы родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, а также бактерии рода *Pseudomonas*. По видам инфекции наблюдались существенные различия. На чесноке озимом наибольшее число эксплантов было инфицировано грибами рода *Fusarium*, доля которых составила 65,6% от общего числа инфицированных. Это объясняется тем, что грибы этого рода развиваются во внутренних тканях растений и лучше там сохраняются. В то время как

Инфицированность материала чеснока озимого и ярового в культуре *in vitro* (в среднем за 2018-2019 годы)

Дата закладки	Введено экс- плантов, шт.	Инфицировано эксплантов		Род							
				Fusarium		Penicillium		Aspergillus		Pseudomonas	
		шт.	%±Sp	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
Чеснок озимый											
II декада марта	81	56	69,1±5,2	39	69,6±6,1	0	0,0	6	10,7±4,1	11	19,6±5,3
III декада марта	65	47	72,3±5,5	41	87,2±4,9	1	2,1±2,1	3	6,4±3,6	2	4,3±2,9
I декада апреля	48	48	100,0	19	39,6±7,1	20	41,7±7,1	5	10,4±4,4	4	8,3±3,9
Всего	194	151	77,8	99	65,6	21	13,9	14	9,3	17	11,3
Чеснок яровой											
II декада марта	111	64	57,7±4,7	20	31,3±5,8	32	50,0±6,3	5	7,8±3,4	7	10,9±3,9
III декада марта	60	27	45,0±6,4	15	55,6±9,6	0	0,0	2	7,4±5,0	10	37,0±9,3
I декада апреля	198	152	76,8±3,0	32	21,1±3,3	44	28,9±3,7	13	8,6±2,3	63	41,4±4,0
Всего	369	243	65,9	67	27,6	76	31,3	20	8,2	80	32,9

возбудители грибов родов *Penicillium*, *Aspergillus*, являясь патогенами хранения, находятся на внешних покровах луковицы и при стерилизации зубков перед введением в культуру уничтожаются. Количество экплантов, пораженных грибами рода *Penicillium*, составил 13,9%, агрибами рода *Aspergillus* – 9,3%. Микроскопически патогены этих родов очень похожи, отличаются только по споронным структурам. Ранее данное заболевание отмечено на луке репчатом [7]. Уровень бактериальной инфицированности на эксплантах чеснока озимого составил 11,3%.

На чесноке яровом наибольшее число экплантов было инфицировано грибами родов *Penicillium* (31,3%) и *Fusarium* (27,6%) и бактериями рода *Pseudomonas* (32,9%). Разница в количественном составе патогенной микрофлоры объясняется биологическими особенностями развития чеснока ярового. У многих форм ярового чеснока слабо развито стрелкование и образование воздушных луковичек. Размножение происходит только зубками, в результате чего происходит накопление возбудителей грибной и бактериальной инфекции во внутренних тканях растений. Несмотря на стерилизацию растительного материала внутренняя инфекция сохраняется и впоследствии проявляется на эксплантах *in vitro*.

Необходимо отметить тенденцию к усилению контаминации по мере увеличения срока хранения посадочного материала, так при закладке в середине марта инфицированность в среднем составила 69,1% на чесноке озимом и 57,7% на чесноке яровом, а в начале апреля составила 100% и 76,8% соответственно.

Выводы

В результате исследований установлено, что на внешне здоровых зубках чеснока ярового и озимого присутствует внутренняя инфекция, которая проявляется после стерилизации и последующим *in vitro* культивированием. Инфицированность экплантов грибами рода *Fusarium* на чесноке озимом составила 65,6%, на чесноке яровом – 27,6%, грибами рода *Penicillium* 13,9% и 31,3% соответственно. Впервые в Московской области отмечено поражение чеснока озимого (9,3%) и ярового (8,2%) грибами рода *Aspergillus*. Идентификация патогенов показывает, что посадочный материал чеснока озимого и ярового заражен характерными для культуры болезнями и нуждается в комплексном оздоровлении.

Библиографический список

1. Распространение и вредоносность микозов на культуре чеснока озимого в условиях Московской области / Т.М. Середин, Л.И. Герасимова, Е.Г. Козарь, И.А. Енгальчева, Е.В. Баранова // *Овощи России*. 2018. №6. С. 84–90. DOI: 10.18619/2072-9146-2018-6-84-90
2. Шестакова К.С. Селекционно-иммунологическая характеристика устойчивости чеснока озимого (*Allium sativum* L.) к фузариозным гнилям: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. М., 2009. 23 с.
3. Хохряков М.К. и др. Определитель болезней растений. СПб.: Лань, 2003. 302 с.
4. Ткаченко О.Б., Сайто И., Хошино Т. Видовой состав и распространение основных психотрофных фитопатогенных склероциальных грибов с К-стратегией. 1 съезд микологов. Современная микология в России. 2002. С. 213.
5. Степанова М.Ю. и др. Указатель возбудителей болезней сельскохозяйственных растений. Л., 1978. 500 с.
6. Nelson P.E., Tousson T.A., Marasas W.F.O. *Fusarium* species: an Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University press, University Park and London, 1983. 193 p.
7. Тимина Л.Т., Енгальчева И.А. Комплекс патогенов на овощных культурах в условиях центрального региона РФ // *Овощи России*. 2015. №3–4. С. 123–129. DOI: 10.18619/2072-9146-2015-3-4-123-129
8. Хмельницкая И.И. Распространение грибов *Aspergillus* в почвах различных регионов России. 1 съезд микологов. Современная микология в России. 2002. С. 53–54.
9. Саттон Д., Фоторгилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 464 с.
10. Регенерация растений чеснока озимого (*Allium sativum* L.) *in vitro* из воздушных луковичек / А.В. Поляков, М.А. Азопкова, Н.Н. Лебедева, И.В. Муравьева // *Овощи России*. 2018. №4. С. 20–25. DOI: 10.18619/2072-9146-2018-4-20-25
11. *In vitro* регенерация растений чеснока озимого (*Allium sativum* L.) из воздушных луковичек / А.В. Поляков, М.А. Азопкова, Н.Н. Лебедева, И.В. Муравьева // *Вестник МГОУ. Естественные науки*. 2018. №4. С. 115–124. DOI: 10.18384/2310-7189-2018-4-115-124

References

1. Harmfulness of mycosis on culture of garlic winter-annual in the conditions of Moscow region. Seredin T.M., Gerasimova L.I., Kozar E.G., Engalycheva I.A., Baranova E.V. *Vegetable crops of Russia*. 2018. No6. Pp. 84–90. DOI: 10.18619/2072-9146-2018-6-84-90 (In Russ.).
2. Shestakova K.S. Selection and immunological characteristics of winter garlic (*Allium sativum* L.) resistance to *Fusarium* rot: authoref. dis. ... cand. sci. (Agr). Moscow. 2009. 23 p. (In Russ.).
3. Hokyryakov M.K. et al. A continuant of diseases of plants. S-Petersbrg. Lan. 2003. 302 p. (In Russ.).
4. Tkachenko O.B., Sayto I., Hoshino T. Specific structure and distribution of the main psikhofrofykh phytopathogenic the sklerotsialnykh of fungi with to K-strategy. 1-st congress of mycologists. Modern mycology in Russia. 2002. 213 p. (In Russ.).
5. Stepanov M.Y. et al. Index of causative agents of diseases of agricultural plants. Leningrad. 1978. 500 p. (In Russ.).
6. Nelson P.E., Tousson T.A., Marasas W.F.O. *Fusarium* species: an Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University press. University Park and London. 1983. 193 p.
7. Timina L.T., Engalycheva I.A. A complex of pathogens on vegetable cultures in the conditions of the central region of the Russian Federation. *Vegetables of Russia*. 2015. No3-4. Pp. 123–129. DOI: 10.18619/2072-9146-2015-3-4-123-129. (In Russ.).
8. Khmelnytskaya I.I. Distribution of fungi of *Aspergillus* in soils of various regions of Russia. 1 congress of mycologists. Modern mycology in Russia. 2002. Pp. 53–54 (In Russ.).
9. Sutton D., Fotorgill A., Rinaldi M. Opredelitel of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. Moscow. World. 2001. 464 p.
10. Regeneration of plants of garlic winter (*Allium sativum* L.) *in vitro* from air bulbils. Polyakov A.V., Azopkova M.A., Lebedeva N.N., Muraveva I.V. *Vegetables of Russia*. 2018. No4. Pp. 20–25. DOI: 10.18619/2072-9146-2018-4-20-25/ (In Russ.).
11. *In vitro* regeneration of plants of garlic winter (*Allium sativum* L.) from air bulbils. Polyakov A.V., Azopkova M.A., Lebedeva N.N., Muraveva I.V. *MGOU Bulletin. Natural sciences*. 2018. No.4. Pp. 115–124. DOI: 10.18384/2310-7189-2018-4-115-124. (In Russ.).

Об авторах

Муравьева Ирина Владимировна, м.н.с. отдела биотехнологии и инновационных проектов, ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО. E-mail: biotekh438@mail.ru

Азопкова Марина Александровна, канд. с.-х. наук, н.с. отдела биотехнологии и инновационных проектов, ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО. E-mail: biotekh438@mail.ru

Поляков Алексей Васильевич, доктор биол. наук, профессор, заведующий отделом биотехнологии и инновационных проектов, ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО. E-mail: vita100plus@yandex.ru

Author details

Muraveva I.V., junior research fellow, Department of Biotechnology and Innovative Projects, ARRIVG – a branch of FSBSI FSVC. E-mail: biotekh438@mail.ru

Azopkova M.A., Cand. Sci. (Agr.), research fellow, Department of Biotechnology and Innovation Projects, ARRIVG – branch of FSBSI FSVC. E-mail: biotekh438@mail.ru

Polyakov A.V., D. Sci. (Biol.), professor, head of Department of Biotechnology and Innovation Projects, ARRIVG – branch of FSBSI FSVC. E-mail: vita100plus@yandex.ru