

ХАБЛАК С. Г.✉, СПИЧАК В. М.

Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ, Україна

Україна, 04123, м. Київ, вул. Байди-Вишневецького 2А, ORCID: 0000-0003-4027-317X, 0009-0001-3734-5606

✉ [sergeyhab211981@gmail.com](mailto:sergeyhab211981@gmail.com), (066) 442-66-08

## УРАЖЕННЯ ВОВЧКОМ СОНЯШНИКОВИМ (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) РІЗНИХ ГІБРИДІВ *HELIANTHUS ANNUUS*

**Мета.** Вивчення расового складу вовчка у посівах соняшнику в умовах Лісостепу та Полісся України. **Методи.** Оцінку на стійкість гібридів соняшнику до вовчка проводили в ґрунтовій культурі за модифікованою методикою та рулонним методом пророщування насіння. **Результати.** За результатами досліджень виявлено різну реакцію гібридів соняшнику на ураження паразитом. Гібриди соняшнику Арізона, Трансол, Босфора, стійкі до раси F, у середній ступені уражувалися вовчком. У середньому налічувалося від 5 до 6 бульбочок паразита на одну рослину соняшнику. Слабше вовчком уражувалися гібриди соняшнику Естрада, Купава, Кадікс, Ласкала резистентні до рас G. У середньому на одну рослину соняшнику припадало 2-3 бульбочки паразита. Гібридів соняшнику, що мають повний імунітет до вовчка, не було виявлено. На підставі проведених досліджень визначено причини, що спричинили сильне поширення вовчка на полях у центральних, північних і західних регіонах країни. **Висновки.** Поява нових дуже агресивних рас вовчка (E, F і G) свідчить про важливу необхідність розв'язання завдання зі створення селекційного матеріалу, стійкого до нових рас цієї рослини-паразита. Інтенсивне нагромадження у посівах соняшнику паразита рас E, F і G пов'язане з порушенням сівозмін та насиченням полів гібридами даної культури, стійкими здебільшого до 5 (E) і 6 (F) рас паразита.

**Ключові слова:** *Orobanche cumana* Wallr., раса, соняшник, гібрид, коренева система.

Соняшник (*Helianthus annuus* L.) є однією з важливих олійних культур, яку вирощують у всьому світі для виробництва олії та кондитерських виробів. Серед культур, де успішно використовується гетерозис, соняшник займає важливе місце. Останні два десятиліття стали свідками прогресу в технології молекулярних маркерів і геноміки, які успішно використовувалися в селе-

кції з використанням маркерів для простих успадкованих ознак, тоді як ознаки, що регулюються локусами кількісних ознак, котрі визначають стійкість до вовчка та інших патогенів, все ще залишаються проблемою для селекціонерів. Незважаючи на наявність генів у диких видів *Helianthus*, успішному їх перенесенню в зародкову плазму гібрида перешкоджає неможливість схрещування культурного соняшнику (однорічний диплоїд) з дикими видами *Helianthus*, які відрізняються плоїдністю (тетраплоїди, гексаплоїди), що вимагає використання методів генної інженерії [1].

Культивована зародкова плазма сучасних гібридів соняшнику зберігає тільки 50 % генетичного різноманіття диких родичів сільськогосподарських культур. Це може бути під загрозою через всевітнє культивування гібридів, які мають спільне походження та джерело цитоплазматичної чоловічої стерильності. Таким чином, існує потреба у використанні наявного генетичного різноманіття в межах культивованої та дикої зародкової плазми для розробки попередніх селекційних ліній та елітного насіннєвого матеріалу з хорошою комбінованою якістю. Селекція соняшнику передбачає створення селекційних ліній, придатних для створення гібридів, що стійкі до вовчка та інших хвороб, абіотичного стресу, стійкості до гербіцидів і підвищення вмісту та якості олії. Ці цілі можна досягти шляхом створення трансгенного соняшнику з використанням геномних інструментів, таких як CRISPR/Cas і картування асоціацій повного геному [2].

Паразитний бур'ян *Orobanche cumana* Wallr. є обов'язковою та нефотосинтетичною кореневою паразитичною рослиною соняшнику (*H. annuus*), яка становить значну загрозу в Європі, особливо в Україні та країнах навколо Чорного моря та в Іспанії [3].

*Orobanche cumana* – голопаразитична рослина, яка паразитує на коренях соняшнику. Зара-

жені рослини соняшнику дрібніші, мають зменшене співвідношення насіння/лушпиння, а врожайність різко знижується. Це стало серйозною проблемою для виробництва соняшнику в усьому світі. В останні роки через імпорт гібридного насіння соняшнику, часте місцеве транспортування насіння та недостатній карантин рослин вовчок став широко поширеним в районах виробництва соняшнику у світі [4].

Вовчок соняшниковий демонструє обмежений діапазон господарів і в основному атакує соняшник (*H. annuus*). Він поширюється на величезній території від Центральної Азії до південно-східної Європи. Цей паразит також присутній у значній частині північного Китаю і став серйозним обмеженням, спричиняючи значні втрати врожайності соняшнику. Постраждали площі соняшнику (і втрати врожаю) оцінюються приблизно в 20 000 га (20–50 % втрат) у Китаї та місті Баян Нур, Внутрішня Монголія. Приблизно 40 % полів соняшнику заражені вовчком, що призводить до зниження врожаю соняшнику на 25–40 % [5].

На території України на південному сході впродовж 1990–2018 рр. були поширені 5–6 рас (А–F) [6]. Проте, із кожним роком ураження активно переміщується до центральних регіонів країни (Полтавська, Черкаська, Вінницька, Хмельницька, Житомирська області) на ті гібриди, які раніше були стійкими й не уражувалися. Відповідно на даний час значна територія України є не дослідженою.

Метою наших досліджень було ідентифікація расового складу вовчка в посівах соняшнику в умовах Лісостепу та Полісся. Це спрямовано на пошук та розробку ефективних технологій захисту соняшнику від паразита.

### Матеріали і методи

За програмою досліджень було проведено вегетаційний дослід з визначення расового складу паразиту та стійкості до нього різних гібридів соняшнику. Об'єктом для досліджень у вегетаційному досліді було насіння вовчка. Зразки насіння паразита були зібрані протягом 2016–2020 рр. на окремих, найбільш заражених полях соняшнику в Лісостепу і Поліссі.

Для ідентифікації рас вовчка використовували гібриди соняшнику Арізона, Трансол, Босфора, Естрада, Купава, Кадікс, Ласкала.

Оцінку на стійкість гібридів соняшнику до вовчка проводили у ґрунтовій культурі за модифікованою методикою та рулонним методом

пророщування насіння. Для зараження вовчком рослини соняшнику вирощували у ґрунтовій культурі у посудинах місткістю 10 кг, наповнених сумішшю ґрунту і піску у співвідношенні 3:1. Насінням вовчка інфікували ґрунтову суміш з розрахунку 100 мг насіння паразита на 1 кг ґрунтової суміші. При цьому насіння вовчка розподіляли рівномірно у верхній третині ємності. Насіння гібридів соняшнику висівали по 10 шт. у кожену посудину. Рослини культивували при 18–25°C. Освітленість у приміщенні підтримувати на рівні 16 годин на добу у межах 4000–7000 лк. Полив здійснювати при підсиханні верхнього шару ґрунту. Через 30 діб після висіву насіння визначали ступінь ураження рослин соняшнику вовчком. Для цього рослини соняшнику викопували з посудин, відмивали їх кореневу систему водою і підраховували кількість бульбочок і проростків вовчка на коренях [7].

Рулонний метод пророщування насіння вовчка полягав у можливості спільного пророщування проростків соняшнику з насінням вовчка в рулонах фільтрувального паперу. Рулони виготовляли так: аркуш фільтрувального паперу розміром 20x30 см складали завширшки вдвічі, щоб вийшов подвійний аркуш 20x15 см і зволожували його водопровідною водою. Розкладали дводенні проростки гібрида соняшнику так, щоб сім'ядолі виходили за край листка, і відстань між проростками була 3,0–4,5 см. У кожному рулоні по 15 проростків. На коріння і фільтрувальний папір рівномірно насипали насіння вовчка. Проростки накривали відігнутою половиною аркуша паперу і виготовляли рулон. Рулони поміщали вертикально в скляну посудину з невеликою кількістю води на дні. Посудину з рулонами поміщали в камеру штучного клімату. Подальше спільне культивування проводили в камері штучного клімату «Біотрон-5» протягом 10 діб за 16-годинного фотоперіоду та температурного режиму 30<sup>0</sup> С. Облік кількості пророслого насіння проводили на п'яту та десяту добу за допомогою стереоскопічного мікроскопа «МБС-10».

### Результати та обговорення

Стійкість гібридів соняшнику за стійкістю до *O. cumana* подано в таблиці. За результатами досліджень виявлено різну реакцію гібридів соняшнику на ураження паразитом. Гібриди соняшнику Арізона, Трансол, Босфора, стійкі до раси F, середньою мірою вражалися вовчком. У середньому налічувалося від 5 до 6 бульбочок паразита на одну рослину соняшнику.

Слабкою мірою вовчком уражувалися гібриди соняшнику Естрада, Купава, Кадікс, Ласкала, резистентні до рас G. У середньому на одну рослину соняшнику припадало 2-3 бульбочки паразита. Гібридів соняшнику, що мають повний імунітет до вовчка, не було виявлено.

Оскільки гібриди соняшнику Арізона, Трансол, Босфора, стійкі до раси F, середньо уражувалися, то в посівах соняшнику у великих кількостях паразитує вовчок рас А-G (7 раса). Вирощувати гібриди соняшнику, стійкі до E раси вовчка, не можна. Інакше це призведе до подальшого поширення паразита і зниження врожайності.

У зв'язку з тим, що гібриди соняшнику Естрада, Купава, Кадікс, Ласкала, стійкі до раси G, також уражаються, але слабо, то в посівах соняшнику тільки почала з'являтися раса H (8 раса). Дослідження з виявлення останніх більш агресивних (H і I рас) паразита ускладнюються відсутністю до них ліній-диференціаторів стійкості соняшнику та гібридів, що дозволили б їх ідентифікувати. На жаль, гібридів, стійких до раси H (8 раса), немає. Найкращі гібриди соняшнику стійкі до G (7 раси). Загалом гібриди соняшнику, що стійкі до G (7 раси), толерантні до паразита і більш-менш нормально контролюють вовчка. Тому рекомендується вирощувати гібриди, які стійкі до 7 і вище рас паразита А-G (А, В, С, D, E, F, G, H). Наприклад, LG 59580, стійкий до вовчка рас А-G (також стійкий до технології DuPont™ ExpressSun™).

Причини, що спричинили сильне поширення вовчка на полях у центральних, північних і західних регіонах країни є наступні:

1) збільшення площі під соняшником як однієї з найрентабельніших культур;

2) малоротаційні сівоzmіни (2, 3 культури в сівоzmіні, а то й монокультура – соняшник по соняшнику). В умовах короткої ротації в Україні найпоширенішими є такі сівоzmіни: горох-озима пшениця-соняшник, пшениця-соняшник, озима пшениця-кукурудза-соняшник, соняшник-соняшник, озима пшениця-озимий ріпак-соняшник, соняшник-соняшник-кукурудза (озима пшениця), соя-озима пшениця-соняшник, кукурудза-соняшник;

3) вирощування слабостійких гібридів соняшнику, які уражуються вовчком;

4) відсутність спостереження за поширенням і розвитком вовчка на полях за роками.

Останніми роками в Україні спостерігається ураження вовчком гібридів соняшнику, що мають стійкість до рас E, F і G. З північного Степу України ураження вовчком активно переміщується до центральних, північних і західних регіонів країни. Це обумовлено появою на цих територіях нових осередків і рас паразиту.

Нині проблема шкідливості вовчка має світове значення. Дослідження ареалу поширення паразита, визначення його расового складу та розробка заходів з обмеження шкідливості вовчка – необхідні заходи для стабілізації та підвищення врожайності соняшнику і вивчення клітинних та молекулярних механізмів стійкості культури до патогена. Важливо зосередитися на появі вовчка у центральних, північних і західних регіонах країни, потенційній шкоді, механізмах проростання насіння, ідентифікації фізіологічних рас, інтегрованому контролю та створенні стійкого соняшнику. Це має надати корисну довідкову інформацію для майбутніх досліджень, а також впровадження ефективного контролю за вовчком.

Таблиця. Ступінь ураження гібридів соняшнику вовчком

Гібрид	Селекція	Стійкість до вовчка	Кількість протестованих рослин, шт.	Уражених, рослин, %	Ступінь ураження вовчком	Кількість бульбочок вовчка на 1 уражену рослину (середнє значення)
Естрада	Syngenta	A-G	20	72	слабке	2±0,3
Купава	Syngenta	A-G	20	78	слабке	3±0,2
Арізона	Syngenta	A-F	17	90	середнє	6±0,5
Кадікс	Syngenta	A-G	20	74	слабке	3±0,5
Трансол	Syngenta	A-F	18	92	середнє	6±0,4
Босфора	Syngenta	A-F	20	94	середнє	5±0,5
Ласкала	Syngenta	A-G	20	75	слабке	3±0,4
НІР <sub>05</sub>						1,3

Примітки: ураження вовчком 7 і більше бульбочок на 1 уражену рослину (середнє значення) (7-10 балів) – сильне; 4-6 бульбочок (4-6 балів) – середнє; 1-3 бульбочки (1-3 бал) – слабке.

Згідно з поточною статистикою досліджень найкращим способом зменшити шкоду від вовчка є створення стійких гібридів соняшнику. Для цього необхідно поставити кілька ключових цілей. По-перше, важливо ідентифікувати усі раси вовчка по усій країні з картою розповсюдження патогена. По-друге, корисним буде обмін стійким вихідним матеріалом соняшнику до вовчка між селекційними установами світу. По-третє, важливо проводити молекулярні дослідження взаємодії між соняшником і патогеном для встановлення клітинних механізмів стійкості культури до паразита.

Різноманітність стратегій, що включають захисну відповідь соняшнику на ранніх стадіях життєвого циклу паразита, були описані в ряді досліджень, а саме: лігніфікація та субаризація клітинних стінок господаря; накопичення калози, пероксидаз і  $H_2O_2$  в корі та зшивання білків у клітинних стінках; активність фенілаланін-амоніази (phenylalanine ammonia lyase – PAL) і високі концентрації фенольних сполук у коренях господаря; і дегенерацію зараження після встановлення зв'язку господар-патоген [8]. Проте, немає цілісної картини залучення компонентів клітини у механізмах імунітету до паразита *O. cumana*.

Розуміння цього питання й екстраполяція цих даних на інші культури дозволить поглибити теорію імунітету рослин до патогенів, краще зрозуміти участь клітинної стінки у захисних реакціях клітини проти патогенних організмів, вивчити механізми стійкості, пов'язаних із клітинною стінкою, і зрозуміти, чому ці механізми не спрацьовують при зустрічі з деякими хвороботворними мікроорганізмами та вірусами, що має фундаментальне значення для селекції й захисту рослин. З'ясування механізмів, що контролюють стійкість до вовчка на молекулярному рівні, є, таким чином, бажаним способом отримання тривалої стійкості.

Вивчення стійкості проти паразитичних рослин має певні недоліки порівняно з іншими патогенами, такими як гриби, оскільки паразит і хазяїн є відносно близькими організмами, які мають багато спільних морфологічних, фізіологічних і біохімічних ознак. Наприклад, багато ферментів, що виділяються бактеріями або грибами, є специфічними і їх можна відрізнити від рослинних ферментів. Крім того, через відмінності в структурі клітинної стінки колонії бактерій і міцелій грибів легко розрізнити в тканинах рослин. Однак питання ускладнюється, якщо взаємодія

відбувається між двома рослинами, які зливають свої тканини.

Недавній прогрес у геномних технологіях відкрив багато нових можливостей у з'ясуванні молекулярних деталей взаємодії рослин-паразитів із рослинами-господарями. Розуміння молекулярного механізму взаємодії хазяїн-паразит було б дуже корисним у розробці нових ефективних підходів до боротьби з паразитичними рослинами.

На підставі отриманих результатів досліджень підготовлено рекомендації щодо проведення в господарствах регіону ефективного захисту соняшнику від вовчка:

1. Вирощувати гібридів, які стійкі до 7 і вище рас паразита А-Г (А, В, С, D, Е, F, G, H). Наприклад, LG 59580, стійкий до вовчка рас А-Г (також стійкий до технології DuPont™ ExpressSun™).

2. За сильного ступеня зараження посівів вовчком (сильний – 11 і більше квітконосів на  $1\text{ м}^2$ ) на полях вирощувати гібриди виробничої системи Clearfield® у комбінації з гербіцидами або Євро-Лайтінг, або Пульсар 40. Обмеження в сівозміні 3 роки. Проте хімічний метод за допомогою системи Clearfield у боротьбі із вовчком не є панацеєю, оскільки паразит може розвиватися до застосування гербіциду або наприкінці сезону, коли кінцева активність гербіциду слабшає. Тому хімічний захист від вовчка слід розглядати лише спільно з генетичною стійкістю.

3. Після озимої пшениці вирощувати противовчкову сидеральну суміш. При цьому важливо протестувати різні суміші сидератів на можливість проростання насіння вовчка рулонним методом у лабораторії з метою рекомендації найкращої суміші сидератів для проростання насіння паразита та загортання в ґрунт з осені разом із деструктором стерні та КАС.

4. У рамках сівозмін вести облік ступеня поширення вовчка зі складанням карт розповсюдження із фарбуванням за ступенем зараження та моніторити за роками, як іде процес розвитку – на зменшення чи збільшення.

5. Використовувати у рядки з рідкими комплексними добривами (РКД) під час сівби біологічні препарати, що містять бактерії, спори грибів та ін., які зменшують ступінь зараження вовчком соняшнику.

6. Для підвищення стійкості соняшнику до вовчка та його імунітету тестувати синтетичні препарати саліцилової кислоти, які відомі під загальною назвою ацибензолар-S-метил

(acibenzolar-S-methyl) та торговими марками «Actigard», «Bion 50WG», «Blockade», «Boost».

7. Вирощувати провокаційні посіви кукурудзи, які стимулюють проростання насіння вовчка, але не є господарями паразита. Найкраще провокує проростання, звісно, соняшник – від 70 % до 80 %. Проте потрібні тестування в лабораторії рулонним методом гібридів кукурудзи, які вирощуються у виробництві, на можливість проростання насіння вовчка. Після цього рекомендувати вирощувати на полях ті гібриди, які спричиняють його проростання. Окрім кукурудзи, кореневі виділення таких культур як льон, буряки, соя, ріпак, сорго, суданська трава, ріпак та деяких багаторічних бобових трав (конюшина, буркун, люцерна) здатні провокувати проростання насіння вовчка. Але, враховуючи різну морфологію коренів, вовчок не може приєднатися до цих культур і таким чином не шкодить.

### Висновки

Поступово відбувається поширення вовчка зі Степу в Лісостеп і Полісся. Популяція вовчка

на початку XXI ст., що паразитує на посівах соняшнику в центральних, північних і західних регіонах країни, має високий ступінь вірулентності, що долає імунітет найкращих гібридів іноземної селекції, стійких до E, F і G рас цього паразиту. Це свідчить про важливу необхідність розв'язання задачі зі створення селекційного матеріалу, стійкого до нових рас цієї рослини-паразита, та вивчення клітинних і молекулярних механізмів стійкості соняшнику до патогену.

За результатами досліджень виявлено різну реакцію гібридів соняшнику на ураження паразитом. Гібриди соняшнику Арізона, Трансол, Босфора, стійкі до раси F, середньою мірою уражувалися вовчком. У середньому на одній рослині соняшнику налічувалося від 5 до 6 бульбочок паразита на одну рослину. Слабкою мірою вовчком уражувалися гібриди соняшнику Естрада, Купава, Кадікс, Ласкала резистентні до рас G. У середньому на одну рослину соняшнику припадало 2-3 бульби паразита. Гібридів соняшнику, що мають повний імунітет до вовчка, не було виявлено.

### References

1. Meena H. P., Sujatha M. Sunflower Breeding. In: D. K. Yadava, H. K. Dikshit, G. P. Mishra, S. Tripathi. (Eds.). *Fundamentals of Field Crop Breeding*. Springer, Singapore, 2022. P. 971–1008. doi: 10.1007/978-981-16-9257-4\_19.
2. Rauf S. Breeding Strategies for Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Genetic Improvement. In J. Al-Khayri, S. Jain, D. Johnson (Eds.), *Advances in plant breeding strategies: industrial and food crops*. Springer, Cham, 2019. P. 637–673. doi: 10.1007/978-3-030-23265-8\_16.
3. Louarn J., Boniface M-C., Pouilly N., Velasco L., Pérez-Vich B., Vincourt P., Muñoz, S. Sunflower Resistance to Broomrape (*Orobanche cumana*) Is Controlled by Specific QTLs for Different Parasitism Stages. *Frontiers in Plant Science*. 2016. 7. 590 p. doi: 10.3389/fpls.2016.00590.
4. Shi B., Zhao J. Recent progress on sunflower broomrape research in China. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*. 2020. 27 (2). P. 30. doi: 10.1051/ocl/2020023.
5. Ye X., Zhang M., Zhang M., Ma Y. Assessing the Performance of Maize (*Zea mays* L.) as Trap Crops for the Management of Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). *Agronomy*. 2020. 10 (1). P. 100. doi: 10.3390/agronomy10010100.
6. Khablak S. G., Abdullaeva Y. A., Ryabovol L.O. Sensitivity of sunflower hybrids to new races of Broomrape. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*. 2018. 23. P. 55–57.
7. Kukin V. F. Method of evaluation of sunflower for resistance to infestation. *Plant protection from pests and diseases*. 1960. 7. P. 39.
8. Yang C., Xu L., Zhang N., Islam F., Song W., Hu L., Liu D., Xie X., Zhou W. iTRAQ-based proteomics of sunflower cultivars differing in resistance to parasitic weed *Orobanche cumana*. *Proteomics*. 2017. P. 17. doi: 10.1002/pmic.201700009.

### KHABLAK S. H., SPYCHAK V. M.

*Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Baida-Vyshnevetskoho str., 2A*

### SUNFLOWER BROOMRAPE (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) DAMAGE IN DIFFERENT HYBRIDS OF *HELIANTHUS ANNUUS*

**Aim.** To study the racial composition of broomrape in sunflower crops in the conditions of the Forest-Steppe and Polissya of Ukraine. **Methods.** Sunflower hybrids were evaluated for resistance to broomrape in soil culture using a modified method and the roll method of seed germination. **Results.** The results of the study revealed a different reaction of sunflower hybrids to the parasite. Sunflower hybrids Arizona, Transol, Bosphorus, resistant to race F, were moderately affected by broomrape. On average, there were 5 to 6 nodules of the parasite per sunflower plant. Sunflower hybrids Estrada, Kupava, Kadiks, Laskala, resistant to race G, were affected to a weak extent by broomrape. On average, there were 2-3 nodules of the parasite per sunflower plant. No sunflower hybrids with complete immunity to broomrape were

found. Based on the research, the reasons for the widespread spread of broomrape in the fields in the central, northern and western regions of the country were identified. **Conclusions.** The emergence of new very aggressive races of broomrape (E, F and G) indicates an important need to solve the problem of creating breeding material resistant to new races of this parasitic plant. The intensive accumulation of the parasite races E, F and G in sunflower crops is associated with the violation of crop rotations and saturation of fields with hybrids of this crop, which are mainly resistant to races 5 (E) and 6 (F) of the parasite.

*Keywords:* *Orobanchе sumana* Wallr., race, sunflower, hybrid, root system.