

БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

Влияние ионизирующего излучения на рост фитопатогена *R. solani*

У. А. Близнюк,^{1,а} В. А. Леонтьев,^{1,б} А. А. Малюга,²
В. В. Ханкин,³ А. П. Черняев,^{1,3} Н. С. Чуликова,² Д. С. Юров³

¹ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, физический факультет. Россия, 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.

² Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН. Россия, 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск, ул. Центральная, д. 2Б.

³ Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д. В. Скобельцына МГУ имени М. В. Ломоносова. Россия, 119234, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.

Поступила в редакцию 09.06.2020, после доработки 06.10.2020, принята к публикации 23.11.2020.

Проведены экспериментальные исследования по изучению роста фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani* Kuhn, являющегося возбудителем одного из наиболее вредоносных и распространенных заболеваний картофеля — ризоктониоза. Склероции гриба подвергались облучению ускоренными электронами с энергией 1 МэВ в различных дозах в диапазоне от 0.02 до 38 кГр. По итогам проведенного исследования установлено, что воздействие электронами в указанном диапазоне оказало как ингибирующее, так и стимулирующее воздействие на фитопатогенные грибы вида *R. solani*, зависимость показателя роста грибов от поглощенной дозы не являлась линейной. Значения поглощенной дозы свыше 4.5 кГр обеспечили полное подавление прорастания склероциев *R. solani*.

Ключевые слова: облучение электронами, доза облучения, склероции *Rhizoctonia solani* Kuhn, торможение и стимулирование роста фитопатогена.

УДК: 539.1.047. PACS: 87.53.-j.

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение безопасности жизнедеятельности человека базируется не только на соблюдении санитарно-гигиенических норм в отношении разнообразных вредных веществ и воздействий, но и на сохранении качества окружающей среды, устойчивого развития природных экосистем. В различных секторах природопользования — промышленном, сельскохозяйственном, промышленном — все большее внимание уделяется развитию экологически-ориентированной политики. Актуальным является развитие физических технологий, связанных с облучением сельскохозяйственной продукции ионизирующим излучением [1]. Радиационные технологии зарекомендовали себя как экономически эффективные и безопасные методы обработки широкого спектра пищевой продукции с целью их дезинсекции, стерилизации и увеличения сроков хранения.

Ученое сообщество исследует влияние ионизирующего излучения на различные микробиологические, биохимические и органолептические показатели продуктов питания [2–7]. В отношении зерновых культур исследуется жизнеспособность фитофагов и качество зернопродуктов после проведения их радиационной обработки [8]. Изучается возможность предпосевного облучения семян с целью стимуляции развития проростков и снижения поражения их грибными болезнями [8].

При использовании ионизирующего излучения возможно как снижение, так и увеличение вирулентности и агрессивности патогенов. Так, после облучения гамма-излучением уредоспор стеблевой

ржавчины *Puccinia graminis Pers. f. sp. tritici Erikss. et Henn.* (раса 11) дозами 15–50 Гр отмечено увеличение их прорастания и вирулентности, отсутствие строгой зависимости спорообразующей способности патогена от дозы [9].

Сельскохозяйственные культуры, в частности картофель, поражаются широким спектром грибных, вирусных, бактериальных заболеваний, среди которых одним из наиболее распространенных и вредоносных является ризоктониоз (черная парша), возбудитель которого — фитопатогенный гриб *Rhizoctonia solani* Kuhn. В настоящее время, вследствие отсутствия развитой системы семеноводства в России и низкого уровня агротехнологий выращивания картофеля, зараженность ризоктониозом используемого посадочного материала составляет не менее 20% клубней, у которых 25–50% поверхности покрыто склероциями *R. solani* [10], в результате чего ежегодные потери урожая от черной парши в России достигают 50%, а мировые потери от этого заболевания составляют 7–36% [10–15].

Цель данной работы — исследование роста фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani* Kuhn, выращенного из склероциев, облученных различными дозами электронного излучения.

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1. Облучение склероциев

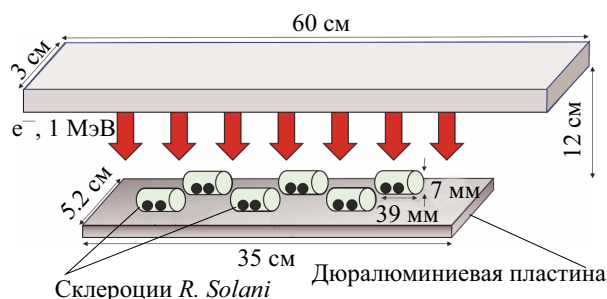
Объекты исследования — склероции *Rhizoctonia solani* Kuhn. В ходе эксперимента склероции подвергались воздействию электронного излучения, источником которого являлся линейный ускоритель электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001 с энергией 1 МэВ и максимальной мощностью пучка 25 кВт [16]. Склероции шарообразной формы

^а E-mail: uabliznyuk@gmail.com

^б E-mail: vleon-98@yandex.ru

Таблица 1. Параметры облучения склероциев

| № образца | Время облучения, с | Ток пучка, мкА | Заряд на пластине, нКл | Поглощенная доза, кГр |
|-----------|--------------------|----------------|------------------------|-----------------------|
| 1 | 7 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 978 ± 29 | 0.02 ± 0.006 |
| 2 | 26 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 2120 ± 64 | 0.04 ± 0.01 |
| 3 | 58 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 4246 ± 127 | 0.075 ± 0.02 |
| 4 | 128 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 10627 ± 319 | 0.15 ± 0.05 |
| 5 | 223 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 21256 ± 638 | 0.4 ± 0.01 |
| 6 | 318 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 31825 ± 955 | 0.6 ± 0.02 |
| 7 | 426 ± 1 | 0.1 ± 0.002 | 42530 ± 1280 | 0.9 ± 0.03 |
| 8 | 56 ± 1 | 1.7 ± 0.003 | 84870 ± 2540 | 1.8 ± 0.05 |
| 9 | 134 ± 1 | 1.7 ± 0.003 | 218280 ± 6550 | 4.5 ± 0.14 |
| 10 | 231 ± 1 | 1.9 ± 0.003 | 425800 ± 12800 | 7.5 ± 0.23 |
| 11 | 197 ± 1 | 4.8 ± 0.007 | 852000 ± 25000 | 15.0 ± 0.45 |
| 12 | 463 ± 1 | 4.8 ± 0.007 | 2125000 ± 63000 | 38.0 ± 1.14 |

Рис. 1. Схема облучения склероциев *R. solani*

со средним диаметром (3 ± 1) мм в количестве 2 штук помещались в стерильные пробирки типа «эппендорф» объемом 2 мл. Образцы выкладывали на дюралюминиевую пластину размерами 35 см × 5.2 см в количестве 6 штук (рис. 1). Расстояние от выхода пучка до облучаемых образцов составляло 12 см. Образцы подвергались облучению 12 различными дозами. В ходе облучения температура в помещении составляла 18°C, контрольные образцы находились в тех же условиях, что и образцы, подвергавшиеся воздействию электронов.

Дозы излучения, поглощенные склероциями *R. solani*, определялись с помощью компьютерного моделирования. Был использован программный код GEANT 4, базирующийся на методе Монте-Карло. Моделирование производилось с учетом геометрических параметров образцов и технических характеристик ускорителя, таких как спектр полученных от него электронов (рис. 2).

В каждом сеансе облучения измерялись значения заряда, поглощенного пластиной; погрешность определения заряда не превышала 3%. Также фиксировалось время облучения. Средние значения заряда, ток пучка, времена облучения и рассчитанные значения доз, поглощенных образцами, представлены в табл. 1.

Пробирки моделировались полипропиленовыми цилиндрами длиной 39 мм с внутренним диаметром 7 мм, склероциии *R. solani* — водными фантомами соответствующих размеров. Количество электронов в модельных расчетах, необходимое для достижения статистической значимости, составило $Q_{\text{model}} = 10^8$ единиц. Доза, поглощенная фантомами, опре-

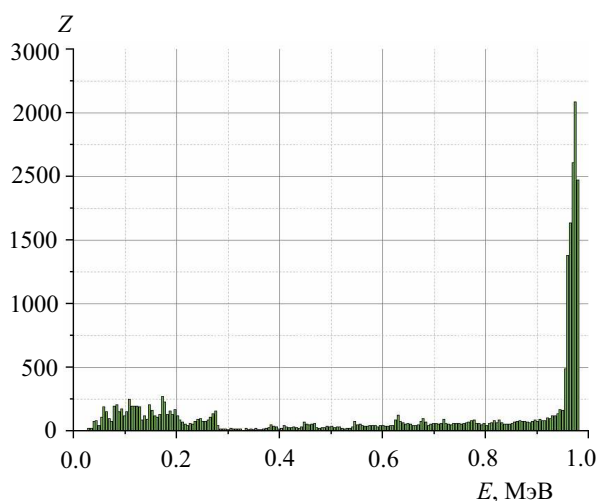


Рис. 2. Спектр электронов пучка на выходе ускорителя УЭЛР-1-25-Т-001

делялась по формуле $D_{\text{model}} = \frac{\Delta E_{\text{model}}}{M_{\text{model}}}$, где ΔE_{model} — поглощенная водным фантомом энергия, M_{model} — масса фантома. Поглощенная доза в опытных образцах пропорциональна значению заряда Q_{exp} , поглощенного пластиной в ходе облучения. Таким образом, значение поглощенной дозы в рассматриваемом образце рассчитывается по формуле $D_{\text{phantom}} = \frac{Q_{\text{exp}}}{Q_{\text{model}}} \times D_{\text{model}}$, где D_{model} — значение поглощенной дозы в водном фантоме, соответствующее калибровочному значению поглощенного пластиной заряда Q_{model} , Q_{exp} — значение заряда, фиксируемое в ходе облучения.

Для оценки равномерности облучения склероциев электронами с энергией 1 МэВ в ходе моделирования водная сфера диаметром 3 мм разбивалась на слои толщиной 0.1 мм в направлении, перпендикулярном направлению пучка электронов, как показано на рис. 3. Далее в каждом слое рассчитывалось распределение дозы по радиусу сферы в плоскости, перпендикулярной направлению пучка электронов. На рис. 4 представлено распределение дозы, рассчитанной в относительных единицах, по радиусу фантома для слоев, расположенных на разной глубине. Отношение максимального значения дозы D_{max} к минимальному значению D_{min} в различных слоях варьировалось в пределах значений 1.2–1.6.

Таблица 2. Данные мониторинга роста гриба *R. solani*, выращенного из облученных различными дозами склероциев

| № | D_{exp} , кГр | Диаметр колоний, мм \pm доверительный интервал ($\alpha \leq 0.05$) | | | | Коэффициент торможения T , % (стандартная ошибка средней) ($\alpha \leq 0.05$) | | | |
|----|------------------------|---|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|--------------------|--------------------|-------------------|
| | | Через 24 ч | Через 48 ч | Через 72 ч | Через 96 ч | Через 24 ч | Через 48 ч | Через 72 ч | Через 96 ч |
| 1 | 0 | 16.9 \pm 4.2 | 37.7 \pm 6.8 | 60.8 \pm 5.2 | 81.2 \pm 5.3 | | | | |
| 2 | 0.02 | 16.0 \pm 3.8 | 37.5 \pm 5.5 | 61.3 \pm 4.0 | 87.5 \pm 4.4 | +5.3 (1.4) | +0.50 (3.8) | -0.80 (1.4) | -7.8 (1.1) |
| 3 | 0.04 | 19.2\pm3.8 | 45.2\pm4.6 | 61.5 \pm 3.8 | 83.5 \pm 3.4 | -13.6 (1.1) | -19.9 (2.2) | -1.20 (0.4) | -2.8 (0.6) |
| 4 | 0.075 | 16.5 \pm 1.6 | 35.8 \pm 6.8 | 57.5 \pm 4.2 | 80.0 \pm 1.7 | +2.4 (3.7) | +5.0 (2.9) | +5.4 (2.7) | +1.50 (0.1) |
| 5 | 0.15 | 14.0\pm1.8 | 30.8 \pm 4.2 | 52.0 \pm 4.0 | 77.8 \pm 3.4 | +17.2 (1.4) | +18.3 (3.6) | +14.5 (1.3) | +4.2 (1.2) |
| 6 | 0.4 | 17.5 \pm 3.0 | 38.7 \pm 6.1 | 61.2 \pm 3.5 | 83.7 \pm 5.5 | -3.5 (1.4) | -2.7 (3.9) | -0.70 (0.2) | -3.1 (1.1) |
| 7 | 0.6 | 18.0 \pm 1.3 | 41.5\pm2.7 | 64.2 \pm 2.4 | 89.2 \pm 1.2 | -6.5 (2.8) | -10.1 (2.8) | -5.6 (1.4) | -9.9 (0.6) |
| 8 | 0.9 | 16.3 \pm 1.0 | 36.0 \pm 3.5 | 59.0 \pm 4.0 | 81.7 \pm 3.8 | +3.5 (2.3) | +4.5 (3.6) | +3.0 (1.4) | -0.60 (0) |
| 9 | 1.8 | 6.7\pm2.2 | 26.7\pm3.8 | 45.7\pm4.0 | 74.0\pm4.6 | +60.4 (4.4) | +29.2 (2.0) | +24.8 (2.6) | +8.9 (1.1) |
| 10 | 4.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 11 | 7.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 12 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 13 | 38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |

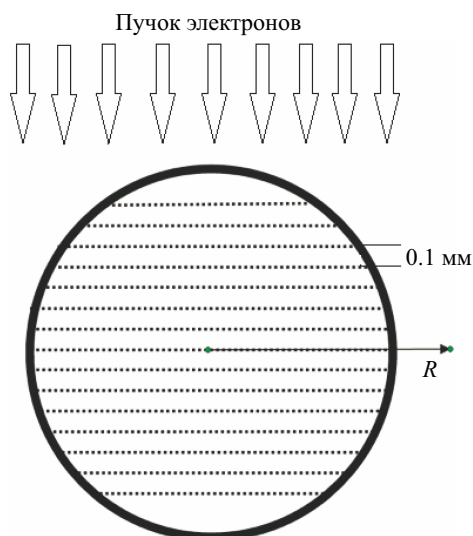


Рис. 3. Схема разбиения водной сферы на слои по глубине по направлению пучка

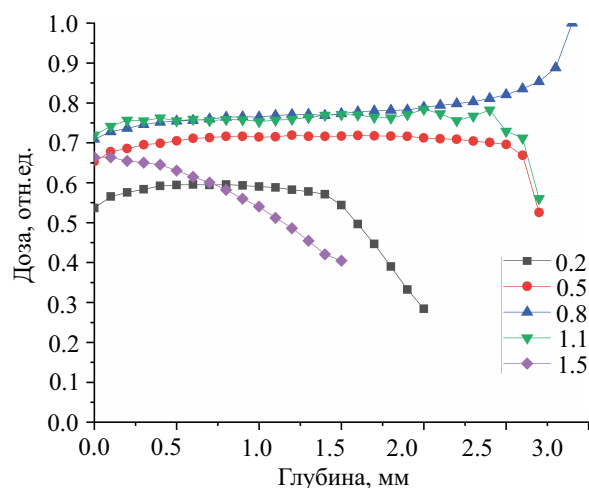


Рис. 4. Распределение дозы по радиусу водной сферы диаметром 3 мм в различных слоях фантома, расположенных на глубине 0.2 мм, 0.5 мм, 0.8 мм, 1.1 мм, 1.5 мм от верхней точки фантома

1.2. Мониторинг роста гриба *R. solani*

Облученные склероции были помещены на питательную среду КДА (картофель—декстрозный агар) в чашки Петри. Чашки с посевами культивировали в термостате при температуре 24°C. Мониторинг роста образцов гриба осуществляли спустя 24, 48, 72 и 96 ч с момента посева. Диаметр колоний измеряли при помощи металлической линейки [17, 18].

Степень торможения или стимулирования роста грибов рассчитывали по формуле Эббота для коэффициента торможения роста T [19]. При стимулировании роста грибов T имеет отрицательное значение, при подавлении — положительное.

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакета прикладных программ СНЕДЕКОР, основанного на использовании стандартных методов математической обработки [20].

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 2 представлены значения диаметра колоний гриба *R. solani*, выращенного из склероциев, облученных различными дозами, измеренные спустя 24, 48, 72 и 96 ч после проведения облучения. Мониторинг роста гриба в течение 4 сут после проведения радиационной обработки проводился с целью выявления зависимости радиобиологического эффекта от времени после воздействия ионизирующего излучения на фитопатоген.

Спустя 24 ч с момента посева активный рост мицелия гриба наблюдался у образцов, облученных дозами 0.02–0.9 кГр, однако статистически значимых различий между данными образцами и контрольными не отмечено. При этом наибольший диаметр колонии гриба по сравнению с контрольными значениями наблюдали при обработке дозой 0.04 кГр — 19.2 ± 3.8 мм, стимулирование роста фитопатогена составляло 13.6%, а наименьший диаметр при 0.15 кГр — 14.0 ± 1.8 мм при коэффициенте торможения, равном 17.2%.

Достоверное снижение диаметра колоний *R. solani* относительно контрольных значений наблюдалось у образцов, облученных дозой 1.8 кГр, значение T составило +60.4%. При этом диаметр соответствующих колоний был на 52.4–63.5% меньше диаметра колоний, чем при облучении дозами 0.02–0.9 кГр. В свою очередь, у образцов, облученных дозами свыше 4.5 кГр, не отмечено развития гриба из облученных склероциев в течение всего периода наблюдения.

Спустя 48 ч мониторинга диаметр колоний гриба у контрольных образцов и образцов, облученных дозами от 0.02 до 0.9 кГр, увеличился в 2.0–2.3 раза относительно диаметра, измеренного спустя 24 ч с момента культивации. У образца, облученного дозой 1.8 кГр, значение этого параметра за вторые сутки выросло в 4.0 раза. Коэффициент торможения для данной дозы значительно уменьшился по сравнению с предыдущим значением и составил 29.2%. Для образцов, облученных дозами 0.04 и 0.6 кГр, коэффициент торможения T имел наибольшие по модулю отрицательные значения и составил –19.9% и –10.1% соответственно, т.е. наблюдалось дальнейшее стимулирующее воздействие указанных доз на развитие *R. solani*.

Спустя 72 и 96 ч наблюдения стимулирующий эффект для дозы облучения 0.04 кГр более не наблюдался. Для дозы 0.6 кГр он оставался достоверным: значения T составили –5.6% и –9.9% соответственно. У образцов, облученных дозой 1.8 кГр, коэффициент торможения по-прежнему был положителен, но его значения существенно снижались, составив 24.8% и 8.9% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам проведенного исследования установлено, что воздействие электронами с энергией 1 МэВ в диапазоне доз от 0.02 до 38 кГр оказывает как ингибирующее, так и стимулирующее воздействие на фитопатогенные грибы вида *R. solani*, при этом зависимость коэффициента торможения роста грибов от поглощенной дозы не является линейной в течение 4 сут после проведения облучения.

Получено, что облучение электронами дозами 0.04 и 0.6 кГр стимулирует рост колоний гриба *R. solani*, при этом значения диаметра колоний, выращенных из облученных указанными дозами склероциев, превышают контрольные значения в 1.1–1.2 раза. Диаметры колоний, выращенных из склероциев, обработанных дозами 0.075, 0.15 и 0.9 кГр, практически не отличаются от контрольных значений.

Обработка склероциев дозой 1.8 кГр привела к существенному замедлению роста гриба в течение первых двух суток наблюдения. Значения поглощенной дозы свыше 4.5 кГр обеспечили полное подавление прорастания склероциев *R. solani*.

Немонотонность зависимости радиобиологического эффекта от дозы облучения и времени после воздействия ионизирующим излучением связана со сложностью жизненного цикла грибов как биологических

систем и их нелинейного отклика на физические воздействия [21]. Представляют интерес дальнейшие исследования воздействия ускоренных электронов на склероции *R. solani* в диапазоне доз 1.5–4.5 кГр. Также предполагаются необходимыми исследования по облучению склероциев данного фитопатогена непосредственно на поверхности клубней семенного картофеля.

Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Фотонные и квантовые технологии. Цифровая медицина».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ульяненко Л. Н., Удалова А. А. // Радиация и риск. 2015. **24**, № 1. С. 118.
2. Feliciano C. P., De Guzman Z. M., Tolentino L. M. M. et al. // Food Chemistry. 2014. **163**. P. 142.
3. Blessington T., Scheuring D. C., Ndambe Nzaramba M. et al. // American Journal of Potato Research. 2015. **92**. P. 609.
4. Nam H.-A., Ramakrisnan S. R., Kwon J.-H. // Food Chemistry. 2019. **286**. P. 338.
5. Kim J., Moreira R. G., Castell-Perez M. E. // Journal of Food Engineering. 2008. **86**. P. 595.
6. Carcel J. A., Benedito J., Cambero M. I. et al. // Food and Bioprocess Technology. 2015. **96**. P. 133.
7. Черняев А. П., Авдюхина В. М., Близнюк У. А. и др. // Технологии живых систем. 2019. **16**, № 1. С. 59.
8. Лой Н. Н., Санжарова Н. И., Гулина С. Н. и др. // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2016. № 6. С. 53.
9. Филипас А. С., Лой Н. Н., Ульяненко Л. Н., Степанчикова Н. С. // Доклады РАСХН. 2008. № 6. С. 18.
10. Малюга А. А., Енина Н. Н., Щеглова О. В. Агротехнические и химические меры борьбы с ризоктониозом картофеля. Новосибирск, 2010.
11. Евстратова, Л. П., Николаева Е. В., Кузнецова Л. А., Харин В. Н. // Агро XXI. 2006. № 4–6. С. 10.
12. Халиков С. С., Малюга А. А., Чуликова Н. С. // Агротехника. 2018. № 10. С. 46.
13. Иванюк В. Г., Александров О. Т. // Изв. Академии аграрных наук Республики Беларусь. 1996. № 2. С. 55.
14. Малюга А. А., Маринкина Г. А., Баранов Д. С., Васильев В. Г. // Защита и карантин растений. 2011. № 1. С. 28.
15. Шалдыева Е. М. Экологическое обоснование систем мониторинга и защиты картофеля от ризоктониоза в Западной Сибири. Автореф. ... докт. биол. наук, специальность: 06.01.11. Краснодар, 2007.
16. Yurov D. S. et al. // Proceedings of RUPAC2014. 2014. P. 248.
17. Билай В. И. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982.
18. Паников Н. С. Кинетика роста микроорганизмов. М.: Наука, 1991.
19. Андреева Е. И., Картомышева В. С. Методические рекомендации по испытанию химических веществ на фунгицидную активность. Черкаassy, 1990.
20. Сорокин О. Д. Прикладная статистика на компьютере. Краснообск: ГУП РПО СО РАСХН, 2004.
21. Кудряшов Ю. Б. Радиационная биофизика (ионизирующее излучение). ФИЗМАТЛИТ, 2004.

The Effect of Ionizing Radiation on the Phytopathogen Growth of *R. Solani*

U. A. Bliznyuk^{1,a}, V. A. Leontiev^{1,b}, A. A. Malyuga², V. V. Hankin³, A. P. Chernyaev^{1,3}, N. S. Chulikova², D. S. Yurov³

¹Physics Department, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia.

²Siberian Federal Research Center of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Sciences. Krasnoobsk 630501, Russia.

³Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119234, Russia.
E-mail: ^auabliznyuk@gmail.com, ^bvleon-98@yandex.ru.

Growth of the plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* Kuhn, which is the causative agent of one of the most harmful and widespread potato diseases (black scab), has been experimentally studied. Sclerotia of *Rhizoctonia solani* are irradiated with accelerated electrons with an energy of 1 MeV at various doses in the range from 0.02 to 38 kGy. The results of the study made it possible to conclude that the exposure to electrons in the dose range both inhibited and stimulated the growth of *R. solani* plant pathogenic fungi; the dependence of the growth rate of *R. solani* fungi on the absorbed dose is not linear. Germination of *R. solani* sclerotia was completely suppressed when the absorbed dose was more than 4.5 kGy.

Keywords: electron irradiation, radiation dose, sclerotia of *Rhizoctonia solani* Kuhn, inhibition and stimulation of phytopathogen growth.

PACS: 87.53.-j.

Received 09 June 2020.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2021. **76**, No. 1. Pp. 51–55.

Сведения об авторах

1. Близнюк Ульяна Александровна — канд. физ.-мат. наук, ст. преподаватель; тел.: (495) 939-49-46, e-mail: uabliznyuk@gmail.com.
2. Леонтьев Валерий Андреевич — студент; тел.: (495) 939-49-46, e-mail: vleon-98@yandex.ru.
3. Малуга Анна Анатольевна — доктор с.-х. наук, ст. науч. сотрудник, зам. руководителя СибНИИЗиХ СФНЦА РАН; тел. (383) 348-06-55, e-mail: anna_malyuga@mail.ru.
4. Ханкин Вадим Валерьевич — мл. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-56-22, e-mail: v-k32@yandex.ru.
5. Черняев Александр Петрович — доктор физ.-мат. наук, зав. кафедрой физики ускорителей и радиационной медицины, зав. лабораторией пучковых технологий и медицинской физики; тел.: (495) 939-49-46, e-mail: a.p.chernyaev@yandex.ru.
6. Чуликова Наталья Сергеевна — канд. сельскохозяйственных наук, вед. науч. сотрудник СибНИИЗиХ СФНЦА РАН, уч. секретарь СибНИИЗиХ СФНЦА РАН, тел.: (383) 348-06-55, e-mail: natalya-chulikova@yandex.ru.
7. Юров Дмитрий Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник; тел.: (495) 939-56-22, e-mail: d_yurov88@mail.ru.