

УДК 632.982.2

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ СПОР В ВОЗДУХЕ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

В. Ф. ДУНСКИЙ, А. И. КЛОЧКО, Н. А. ТИХОНОВА, В. А. ШКАЛИКОВ,
М. Б. БЕЖАНИДЗЕ

(Кафедра фитопатологии)

Рассматривается интенсивность рассеяния спор от пораженного пирикулярнозом рисового поля с точки зрения современной теории конвективной диффузии аэрозолей в атмосфере (использовано уравнение конвективной диффузии аэрозоля для плоскостного источника). Проведена экспериментальная проверка результатов с помощью усовершенствованных споролушечек. Установлена хорошая сходимость расчетных и экспериментальных данных.

При интенсивной технологии возделывания сельскохозяйственных культур возрастает роль комплексного использования химических средств, в том числе фунгицидов. Эффективность их применения во многом зависит от знания состояния возбудителя болезни, источников инфекции, скорости возобновления инфекционного начала после перезимовки, закономерностей распространения возбудителя от мест первичных поражений. Эпифитотийная способность патогена зависит от скорости его воспроизводства в период вегетации растений, распространения спор и поражения посевов.

Распространение грибных болезней растений (ржавчинные болезни злаковых, пирикулярноз риса и др.) обусловлено спорующей способностью их возбудителей, которая подвержена большим колебаниям и зависит от устойчивости сорта, вирулентности штамма гриба, условий внешней среды.

При прогнозировании грибных болезней растений необходимы данные о количестве спор в очаге, а также, что более важно, о количестве спор, сносимых за пределы очага ветром в единицу времени, т. е. нужно уметь определять удельную производительность очага M (количество спор, сносимых с единицы площади очага за его пределы в единицу времени). Следует подчеркнуть, что производительность очага M может не совпадать со спорующей способностью патогена. Последняя определяется общим количеством образовавшихся в очаге спор, а M — только той его частью, которая уносится ветром за пределы очага. Количество спор, оседающих на поверхность растений и почвы внутри очага, является частью общего количества образовавшихся спор, но не входит в величину M . Спорующая способность может быть очень большой, однако при отсутствии ветра все споры останутся в очаге и производительность его будет равна нулю. Следовательно, для эффективного прогнозирования болезни необходимо прежде всего уметь определять величину M . Решение этого вопроса применительно к конидиям гриба *Rugicularia oryzae* Sav. и является целью данной работы.

Нетрудно убедиться, что определить M путем непосредственных измерений концентраций спор в воздухе (например, при помощи споролушечек) практически не-

возможно. Мы исходили из того обстоятельства, что споры, взвешенные в воздухе, являются аэрозолем, а рассеяние спор ветром представляет собой распространение аэрозоля в атмосфере — процесс, который в механике аэрозолей рассматривается как процесс конвективной (турбулентной) диффузии взвешенных в воздухе частиц. Для количественного анализа этого процесса разработана полумпирическая теория с решением дифференциального уравнения конвективной диффузии аэрозолей.

В наших исследованиях использовано решение этого уравнения применительно к биологическому аэрозолю для «плоскостного источника», приведенное в монографии [3]. В данном случае источником биологического аэрозоля являлось пораженное пирикулярнозом рисовое поле, непрерывно эмитирующее конидии гриба *R. oryzae*.

Для определения производительности источника использовали формулу из [3]:

$$c = \frac{M}{\omega A^p \Gamma(1-p)} [x^p - (x+S)^p], \quad (1)$$

где c — счетная концентрация спор в воздухе; M — производительность источника; ω — скорость оседания спор в неподвижном воздухе под действием силы тяжести; x — расстояние от зараженного поля в направлении ветра; S — протяженность поля в направлении x

$$A = \frac{hu_1}{0,4(1+q)^2 u_2}; \quad p = \frac{-\omega}{0,4u_2(1+q)}$$

где h — средняя высота растений; u_2 — средняя скорость ветра на высоте h , дующего в направлении x ; u_2 — «скорость трения» — величина, принятая в теории диффузии аэрозолей для приземного слоя атмосферы, приблизительно равная u_1/g ; q — показатель степени в степенном законе, аппроксимирующем изменение скорости ветра с высотой, приближенно равный 0,3; Γ — символ гамма-функции (определяемой по таблице в математических справочниках) для спор $\Gamma = 1,0$. Формула (1) верна, если x не больше ширины поля S и не меньше $3A$.

Если осредненные значения параметров u_1 , ω , h известны, то формула (1) представляет собой однозначную зависимость

между производительностью источника M и концентрацией спор c на расстоянии x от поля. Следовательно, при помощи формулы (1) по значениям концентрации спор в воздухе, измеренным в двух-трех или даже в одной точке, можно оценить производительность данного источника, т. е. решение поставленной нами задачи становится не только возможным, но и достаточно простым.

Формула (1), принятая в теории атмосферной диффузии аэрозолей, была использована для определения M применительно к участкам пшеницы, зараженной двумя рядами ржавчины и пылью лугового крестовника [4]. В первом случае для спор возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы получены значения $M = 117 \div 199 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, для спор листовой ржавчины $M = 53 \div 75 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$; для пыли лугового крестовника $M = 87 \cdot 4 \div 125 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Чтобы определить правомерность использования формулы (1) применительно к рассеянию конидий возбудителя пирикулярноза с рисовых полей, необходимо было измерить концентрацию конидий *P. oryzae* в воздухе. Обычно подобные измерения производят при помощи спороловухек.

В литературе описано много различных моделей спороловухек [1—2, 4—13]. Все они имеют общий недостаток — для них трудно определить «коэффициент захвата», знание которого необходимо для точных измерений. Все спороловухи предназначены для работы в сухих условиях; однако споры возбудителя пирикулярноза в отличие от уредоспор ржавчинных грибов и грибов других видов отделяются и рассеиваются в воздухе, насыщенном водяными парами, преимущественно при выпавшей росе или слабом дожде. Данные об эффективности использования спороловухек при повышенной влажности воздуха отсутствуют. Спороловухи (кроме предметных стекол) пока не выпускаются промышленностью. Поэтому прежде чем приступить к оценке величины M по измеренным значениям концентрации спор c , пришлось проделать большую работу по выбору наиболее подходящих типов спороловухек и их усовершенствованию.

Рабочие поверхности всех спороловухек покрывали глицириножелатиновой смесью, состоящей из глицирина (46 % по массе), желатина (13 %), дистиллированной воды (40%) и фенола (1 %) [5, 6]. Перед употреблением смесь разогревали в водяной бане до жидкого состояния. Конидии, осевшие на поверхности глицириножелатиновой пленки, подсчитывали под микроскопом при увеличении в 150 раз и пересчитывали на 1 см^2 поверхности осаждения.

Ротобар, описанный Ф. Грегори в монографии [2], представляет собой U-образную вилку, изготовленную из латунного прутка, поперечное сечение которого равно $1,6 \times 1,6 \text{ мм}$; высота вилки 60, ширина 80 мм [2]. Вилка установлена на валу малогабаритного электродвигателя. Частота вращения вилки 2500 об/мин, окружная скорость — 10 м/с. Поверхность вилки покрывается глицириножелатиновым желе, после экспозиции пленка желе снимается с помощью скальпеля и просматривается под микроскопом.

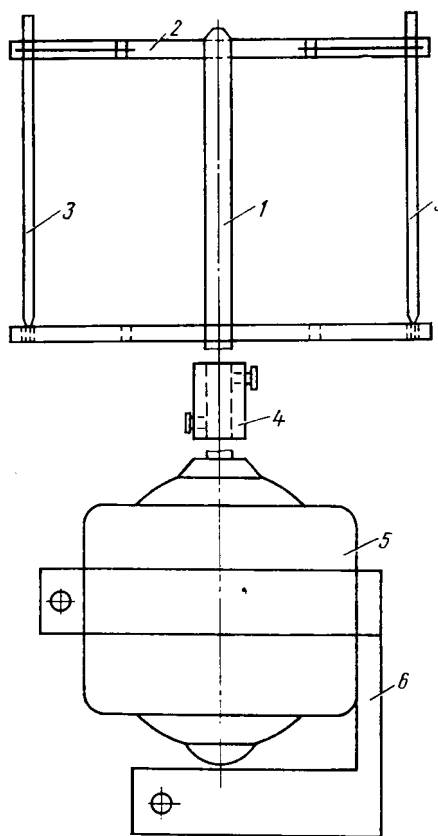


Рис. 1. Схема спороловухи микробар ВЦ (экспликация в тексте).

Ротобар — высокочувствительная спороловухка, но ее можно использовать только в сухих условиях, так как в насыщенном влагой воздухе глицириножелатиновая пленка сходит с вилки.

Чтобы иметь возможность измерять концентрацию конидий при повышенной влажности (выпадение росы и слабого дождя), ротобар модернизировали и назвали микробар ВЦ (рис. 1). Вместо латунной вилки на валу электродвигателя установлена вертикальная ось 1 с двумя горизонтальными рычагами 2, на которых помещаются два съемных прутка 3 из прозрачной пластмассы; рабочая поверхность каждого из них равна 125 мм^2 ($2,5 \times 50 \text{ мм}$). Ось изготовлена из оргстекла, а рычаги из текстолита. Поэтому масса ловушки меньше, чем ротобара, в 3 с лишним раза. Соединительная муфта 4 позволяет применять любой подходящий малогабаритный двигатель 5 переменного или постоянного тока при напряжении от 3 до 220 В. Двигатель укреплен на кронштейне 6. В случае применения электродвигателя ДПП-52 источником питания могут служить аккумуляторные или сухие батареи напряжением 4,5 В (потребляемый ток 50 мА). Прутки в этом случае вращаются с частотой 1500 об/мин (окружная скорость 6,3 м/с). Микробар, как и ротобар, рассчитан на кратковременный период работы (обычно до 6 ч, в зависимости от запыленности воздуха) и может включаться на требуемое время с помощью таймера.

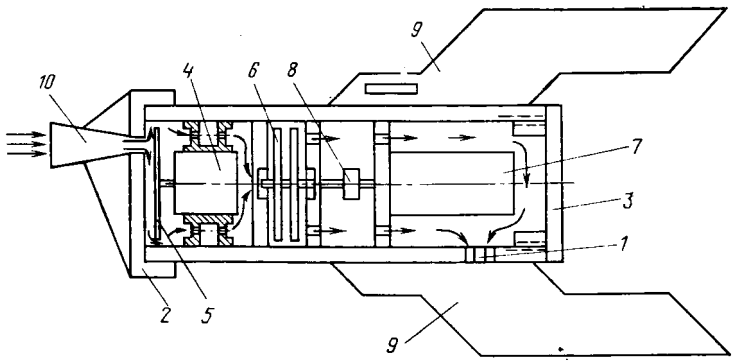


Рис. 2. Схема спороловущи импактор ИКМ (экспликация в тексте).

Сравнительные испытания микробара ВЩ и ротобара показали, что в сухих условиях запыленность рабочей поверхности у микробара в 3,5 раза ниже за счет меньшей частоты вращения вилки, а чувствительность почти в 2 раза выше, вероятно, вследствие лучшей организации потока воздуха (фронтальные стороны обоих рычагов скошены под углом 45° внутрь так, что воздух прогоняется сверху вниз к центру: прутки и рычаги работают как встречные пропеллеры).

С помощью микробара можно проводить измерения концентрации конидий во влажных условиях, съемные прозрачные прутки можно просматривать под микроскопом без предварительного снятия глицириножелатинового слоя. После экспозиции прутки заменяются новыми.

Импактор Л-2 конструкции ВНИИФ [1] рассчитан на круглосуточный забор проб воздуха с почасовой разверткой споровых отложений, т. е. позволяет определять суточный ход засоренности воздуха. Вентилятор с приводом от электродвигателя всасывает воздух через входной патрубок; струя воздуха со взвешенными в нем спорами направляется на поверхность медленно вращающегося (1 оборот за сутки) прозрачного диска, укрепленного на оси часового механизма; концентрацию спор в воздухе можно определять за каждый час отдельно.

Импактор ИКМ (рис. 2) отличается от импактора Л-2 тем, что диск осаждения 6 (с приводом от часового механизма 4) не сплошной, а в виде узких колец, что увеличивает коэффициент захвата. Прибор помещен в цилиндрическом корпусе 1. Воздух прогоняется через импактор с помощью турбинки 6 с приводом от электродвигателя 7 через муфту 8. Воздух поступает на диск 6 через сопло 10, вставленное в передний торец 2. Импактор ориентируется входным отверстием сопла 10 навстречу ветру с помощью лопастей флюгера 9.

Испытания импакторов Л-2 и ИКМ показали, что чувствительность последнего почти в 5 раз выше, чем первого, и в среднем по 11 определениям составляет 212 спор на 1 см^2 рабочей поверхности. Следовательно, коэффициент захвата импактора ИКМ в 5 раз больше.

Для сравнительной оценки чувствительности -различных спороловущек в качестве эталона использовали предметное стекло с

липким покрытием, расположенное горизонтально. Можно принять, что споры оседают на предметное стекло со скоростью, равной скорости гравитационного осаждения в неподвижном воздухе, которая определяется по формуле Стокса:

$$w = \frac{2}{9} \cdot \frac{\rho g}{\mu} k r^2, \quad (1)$$

где ρ — плотность частицы; μ , — вязкость воздуха; k — коэффициент, учитывающий форму частицы (для сферы $k = 1,0$); r — радиус частицы; g — ускорение силы тяжести.

Общее количество спор N_{CT} , осевших на 1 см^2 площади поверхности стекла за время t , равно $N_{cm} = \omega c t$, откуда искомая концентрация спор в воздухе

$$c = N_{CT} / \omega t. \quad (3)$$

Чувствительность предметных стекол недостаточна для прогнозирования болезней растений из-за малой стоксовой скорости оседания спор ω (поэтому в указанных выше спороловущках используется инерционное осаждение спор). При калибровке спороловущек инерционного типа их помещали рядом с предметным стеклом и экспонировали в течение времени t . По данным для стекла по формуле (3) определили концентрацию c спор в воздухе, а по соответствующей формуле для тест-спороловущки — коэффициент захвата E . Например, для микробара общее количество спор N_{Mb} , оседающих на 1 см^2 площади поверхности передней грани прутка за время t , равно

$$N_{Mb} = E_{Mb} u c t, \quad (4)$$

где u — линейная скорость движения прутка. Коэффициент захвата E_{Mb} определяется по формуле (4) и значению c , найденному с помощью стекла по формуле (3).

Для определения E_{Mb} в полевых условиях на расстоянии 1 м от рисового поля, пораженного пирикулярриозом, на высоте $h = 0,5$ м установили 5 микробаров. Первый из них — контрольный — вращался с частотой 1300 об/мин, для него заранее с помощью горизонтально расположенных предметных стекол было определено значение коэффициента захвата $E_{Mb} = 1,0$. Остальные микробары вращались с частотой 200, 900, 1900 и 2400 об/мин. Опыт был повторен 7 раз. Каждый опыт продолжался 11 ч.

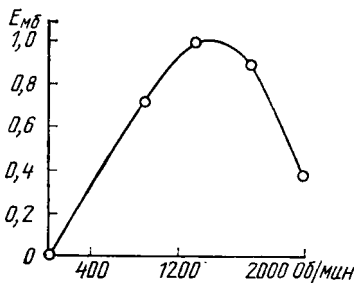


Рис. 3. Зависимость коэффициента захвата спор от скорости вращения прутков микробара ВЦ.

Как показано на рис. 3, при $n=200$ об/мин среднее значение $E_{жб}$ было очень мало (0,03), затем с ростом n оно увеличивалось, достигало единицы при $n=1300$ об/мин и далее уменьшалось до 0,38 при 2400 об/мин. Такой ход зависимости $E_{жб}$ от частоты вращения вилки представляется закономерным: при очень малой частоте вращения прутки движутся медленно и почти не захватывают споры, которые обтекают их вместе с воздухом. С ростом частоты вращения захват спор увеличивается, но после достижения максимума $E_{жб}$ (при $n=1300$ об/мин) снова убывает, вероятно, из-за того, что, во-первых, плохо прилипли споры слетают с поверхности прутка вследствие воздействия центробежных сил во-вторых, из-за увеличения запыленности поверхности при повышении скорости движения, что также препятствует захвату и удержанию спор. Значения коэффициента захвата $E_{жб}$ были определены при насыщении воздуха водяным паром; при других условиях (и других значениях запыленности воздуха) они могут отличаться от полученных.

В основных полевых опытах по проверке правильности формулы (1) применительно к рассеянию конидий *P. ogyzae* использовали споролушки микробар, импакторы Л-2 и ИКМ. Опыты проводили в 1981—1982 гг. В 1981 г. в направлении преобладающего ветра с юго-запада на северо-восток выбрали четыре контрольные точки: первая — на краю пораженного трикуляриозом поля, вторая — на расстоянии 40 м, а третья и четвертая — на расстоянии от первой соответственно 80 и 130 м. В каждой точке поместили по 4 предметных стекла на подставках на высоте 0,5 м в горизонтальном положении и по одному микробару, работающему с частотой 1300 об/мин. Каждый опыт начинали в 16 ч и заканчивали в 10 ч следующего дня. В 1981 г. с 30 июля по 11 сентября провели 32 опыта. В каждом опыте определяли плотность отложенный спор на 1 см² поверхности стекла ($N_{ст.}$) и микробара ($M_{жб}$), а по ним — концентрацию спор в воздухе c . В таблице приведены средние для всех опытов значения N по каждой контрольной точке, т. е. для различных расстояний x от пораженного поля, и соответствующие значения средней концентрации c , вычисленные по формуле (4) для микробара при $u = 5,44$ м/с и $E_{жб}=1,0$.

При проверке формулы (1) применительно к конидиям *P. ogyzae* скорость ветра u_1 и его направление измеряли лишь дважды в сутки: в 21 и 7 ч. Естественно, что в промежутках между измерениями скорость ветра и его направление могли изменяться. В 52 случаях из 62 (81,3 %) крыльчатые анемометры отмечали штиль (крыльчатка не вращалась), однако в действительности скорость ветра могла варьировать от 0 до 1 м/с. Поэтому приняли, что преобладал ветер юго-западного направления, скорость его на высоте $h=0,5$ м равнялась $u_1 = 0,5$ м/с, и ограничились расчетами не для каждого отдельного определения, а для средних по 32 определениям.

При проверке формулы (1) были приняты следующие значения параметров: $u_2 = u_1/9 = 0,5/9 = 0,056$ м/с; $q = 0,3$; $\omega = 0,4$ см/с; $\Gamma = 1,0$. Оставались неизвестными значения производительности источника M . Экспериментально определить их практически невозможно. Однако для проверки формулы в этом нет необходимости, так как критерием ее правильности может служить степень одинаковости значений M , определенных по формуле по измеренным значениям концентрации спор c на различных расстояниях x от поля. Эти значения приведены в таблице. Для разных контрольных точек они оказались близкими: от 0,113 до 0,122. Этот результат является свидетельством верности формулы (1) применительно к рассеянию конидий возбудителя трикуляриоза риса для рекомендованных условий ее применения ($5 > x > 3$ Л).

Среднее значение M в опытах 1981 г. равнялось $0,117 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (для пораженных участков $M=0,585 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$), т. е. в среднем за период проведения опытов с каждого квадратного метра пораженного поля выносилось ветром за его пределы за 1 с 0,585 конидий (около 2 конидий с каждого 3 м²). Приняв $M = 117 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, можно вычислить по формуле (1) $c_{ст}$ — теоретические значения концентрации спор для каждой контрольной точки. Они приведены в таблице и оказались близкими к измеренным.

Таким образом, сопоставление расчетов по формуле (1) с экспериментальными данными подтвердило правильность этой формулы применительно к рассеянию конидий возбудителя трикуляриоза риса. Ее можно использовать для приближенных практических оценок рассеяния конидий от пораженных полей при различных метеорологических условиях и, следовательно, для прогнозирования болезни растений.

В опытах 1982 г. было получено среднее значение $M=282 \text{ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, т. е. в 482 раза больше, чем в 1981 г. Этот результат свидетельствует о сильной вариабельности про-

Средние значения N , c , и M , полученные в опытах 1981 г.

Показатель	Расстояние от ПОЛЯ, м			
	0	40	80	130
$N_{жб}$ см ⁻²	255,6	217,8	161,6	145,0
c , М ⁻³	7,22	6,14	4,55	4,10
M , м ⁻² ·с ⁻¹	—	0,113	0,122	0,114
$c_{ст}$ М ⁻³	—	6,35	4,36	4,20

изводительности очага *M*, по-видимому, вследствие ее зависимости от устойчивости растений, вирулентности патогена, количества инокуляма, условий погоды и других факторов.

Заключение

Экспериментально доказана применимость теории атмосферной диффузии аэрозолей для изучения закономерностей рассеяния спор возбудителя пирикулярноза риса от пораженного поля. При этом с помощью

простой формулы можно получить важнейшую сложную характеристику рассеяния спор — производительность источника *M* практически не поддающуюся экспериментальному определению, для чего необходимо только измерить концентрацию спор в воздухе в двух-трех, а то и в одной точке за пределами поля. Это значительно упрощает прогнозирование болезни и принятие решений о химической защите посевов. Этот метод может быть использован также для прогнозирования других болезней, возбудители которых распространяются по воздуху

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочков Ю. П., Воронов А. И., Дунский В. Ф. Инерционные ловушки для микробиологических исследований. — С.-х. биология, 1966, вып. 1, № 6, с. 924—928. — 2. Грегори Ф. Микробиология атмосферы. — М.: Мир, 1964. — 3. Дунский В. Ф., Никитин Н. В., Соколов М. С. Пестицидные аэрозоли. — М.: Наука, 1982. — 4. Дунский В. Ф. Аэромикробиология и прогнозирование болезней растений. — М.: Колос, 1982, с. 166—192. — 5. Клочко А. И. Определение неподвижными шупами заспоренности воздуха. — Микология и фитопатология, 1969, вып. 3, № 1, с. 87—93. — 6. Клочко А. И. Анализ воздуха на заспоренность. — Защита растений, 1970, № 6, с. 40—41. — 7. Asal G. N. — *Phytopathology*, 1970, vol. 50, N. 7, p. 535—541. — 8. Borecki Z. — *Ochrona roslin*, 1965, N 1, S. 28—29. — 9. Broromfield K. R. e. a. — *Plant Dis. Repts*, 1959, vol. 43, N 11, p. 1160—1168. — 10. Gregory P. H. — *Brit. Mycol. Soc. Trans.*, 1954? vol. 37, N 4, p. 390—404. — 11. Hirst Y. M. — *Ann. Appl. Biol.*, 1952, vol. 39, N 2, p. 257—265. — 12. Kramer C. L., Pady S. M. — *Phytopathology*, 1966, vol. 56, N 4, p. 517—520. — 13. May K. R. — *J. Sci. Instr.*, 1945, vol. 22, N 7, p. 187—195.

Статья поступила 16 апреля 1986 г

SUMMARY

The results of comparative testing different spore traps under field conditions are discussed. The technique was developed to measure concentration of spores of rice piriculariose agent by means of microbar spore traps. Applicability of the atmospheric diffusion theory for studying the scattering of piriculariose of rice agent spores from the damaged stands has been first experimentally proved, and differential equation of aerosol convective diffusion for a plane source has been experimentally checked. The use of spore traps and the calculation of spore source productivity by the suggested formula allow to check the development of piriculariose on rice fields.