

Новый подход к оценке межвидовых отношений микромицетов из рода *Fusarium* Link. с *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem.

Е. Ю. ТОРОПОВА¹, И. Г. ВОРОБЬЕВА^{2, 3}, О. А. КАЗАКОВА¹

¹Новосибирский государственный аграрный университет
630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160
E-mail: 89139148962@yandex.ru

²Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101

³Новосибирский государственный педагогический университет
630126, Новосибирск, ул. Виллюйская, 28

Статья поступила 29.11.2022

После доработки 28.12.2022

Принята к печати 09.01.2023

АННОТАЦИЯ

Цель исследования состояла в разработке подхода к количественной оценке характера межвидовых отношений почвенных микромицетов. Исследования проводили в северной лесостепи Западной Сибири общепринятыми и авторскими методами. Установлено, что в течение 2020–2022 гг. фитопатогенный микocenоз подземных и генеративных органов культурных и дикорастущих злаков характеризовался стабильностью: основными фитопатогенами были *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem. и грибы рода *Fusarium* Link., встречаемость которых была близка к 100 %. Общее число видов микромицетов на подземных органах составило 13, на генеративных – 8. Максимальное биологическое разнообразие грибов отмечено во влажных условиях, выявлена смена доминирования влаголюбивого *F. roae* (Peck.) Wollenw. засухоустойчивым *F. oxysporum* Schltdl. Коэффициенты общности видового состава возбудителей фузариозной корневой гнили отражали степень контрастности погодных факторов вегетаций. Выявлена сукцессия грибов рода *Fusarium* в системе органов растений по фазам вегетации и определены параметры перекрытия их реализованных экологических ниш. Изучение попарных межвидовых отношений микромицетов методом встречных культур, благодаря разработке новой оригинальной шкалы для количественной оценки взаимодействия видов, позволило выявить наиболее конкурентоспособные виды. Конкуренция выражалась в снижении скорости радиального роста колоний (до 2,5 раза), значительных морфологических отклонениях от чистых культур (до 7 признаков из 10), в формировании зоны лизиса шириной более 7 мм (максимально 12 мм), а также в изменении интенсивности споруляции как в сторону стимуляции (максимально до 20 раз), так и угнетения (максимально до 30 раз). В пределах исследованных сочетаний конкурентные отношения выявлены в 46,4 % случаев, а нейтральные – в 53,6 %.

Ключевые слова: микромицет, межвидовые отношения, конкуренция, биологическое разнообразие, генеративный орган, колонизация, подземный орган, шкала количественной оценки.

ВВЕДЕНИЕ

Многие почвенные микромицеты, являясь естественными резидентами педоценозов, в процессе эволюции сформировали паразитарные системы с дикорастущими представителями флоры, часть из которых в дальнейшем были введены в культуру. Особенно распространены на всех континентах паразитарные системы “мятликовые растения – почвенные фитопатогены родов *Fusarium* Link. и *Helminthosporium* Link.” [Chelkowski et al., 2007; Barnhart et al., 2012; Fels-Klerxa et al., 2012; Kriss et al., 2012; Stenglein et al., 2014; Toropova et al., 2021b]. Среди почвенных фитопатогенов грибы рода *Fusarium* и *H. sativum* Pam. (sin. *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem.) занимают особое место не только потому, что являются возбудителями болезней (корневых гнилей, пятнистостей и ожогов листьев, увяданий, вилтов и др.) более 200 видов культурных и дикорастущих растений и заселяют почвы всего мира, но и благодаря их способности вызывать у зерновых культур чрезвычайно опасный для людей и животных микотоксикоз зерна [Langseth et al., 1999; Hussein, Brasel, 2001; Sebaert et al., 2009; Oerke et al., 2010; Fels-Klerxa et al., 2012; Kriss et al., 2012; Гагкаева и др., 2014; Торопова и др., 2019].

Почвенные фитопатогенные микромицеты, обладая К-стратегией жизненного цикла, способны длительное время сохраняться в почве. Так, длительность выживания грибов рода *Fusarium* в форме хламидоспор, склероциев и других покоящихся структур достигает 15 лет, что обеспечивает функционирование долговременных стационарных очагов в естественных стациях и агроценозах [Vorob'eva, Toropova, 2020, 2022]. *B. sorokiniana* сохраняется в почве в форме конидий, хламидоспор и мицелия 5–7 лет [Toropova et al., 2021a]. Экологические ниши фитопатогенных микромицетов *B. sorokiniana* и рода *Fusarium* включают не только подземные органы растений, но и генеративные органы, которые они колонизируют при благоприятных гидротермических условиях. Фитопатогены могут сохраняться в зерновках мятликовых растений до 7 лет, что расширяет почвенные очаги и способствует формированию новых при прорастании инфицированных семян [Burlakoti et al., 2014; Торопова, Стецов, 2018]. Интенсивность заражения генеративных органов мятликовых

растений фитопатогенными почвенными микромицетами определяется рядом абиотических и биотических факторов, среди которых существенную роль играют генетические особенности растений, численность в почве покоящихся структур фитопатогенов, межвидовые отношения с другими микромицетами и антагонистической микрофлорой, погодные условия [Bateman, Murray, 2001; Rossi et al., 2001; Kriss et al., 2012; Торопова и др., 2019].

Исследование патогенных микоценозов подземных органов культурных и дикорастущих злаков показало, что грибы рода *Fusarium* формируют совместные патоконплексы с *B. sorokiniana*. Видовое разнообразие фузариевых микромицетов на подземных органах сортов яровой пшеницы разного географического происхождения, по данным авторов, составляло 10–12 видов [Торопова и др., 2022]. Самая высокая частота встречаемости на подземных органах культурных злаковых растений была у *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti* [Toropova et al., 2021b; Торопова и др., 2022]. На подземных органах дикорастущих злаков *Bromopsis inermis* Holub. и *Setaria glauca* (L.) Beauv. присутствовали *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. poae* [Торопова и др., 2018].

На семенах культурных злаков в Сибири постоянно присутствовал *B. sorokiniana* и достаточно широкий набор видов рода *Fusarium*, среди которых с разной частотой встречались *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. avenaceum*, *F. incarnatum*, *F. heterosporum*, *F. acuminatum*, *F. solani*, *F. graminearum* и др. [Торопова и др., 2019]. На семенах дикорастущих злаков также был выявлен комплекс микромицетов, где доминировали *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. oxysporum*. Распространению и развитию фитопатогенов на генеративных органах растений способствовали высокие температуры в последней декаде июля и в августе, превышающие средние многолетние данные на 3–5 °С, а также обильные осадки в августе [Казакова и др., 2016; Гагкаева и др., 2014; Торопова и др., 2019]. Коэффициенты корреляции степени инфицирования генеративных органов злаков грибами рода *Fusarium* и суммы осадков за август составили $r = 0,721 \dots 0,869$, тот же показатель по

B. sorokiniana – 0,732 ... 0,916 [Казакова и др., 2016; Торопова, Стецов, 2018]. Инфицирование генеративных органов злаков повсеместно носит комплексный характер, может быть вызвано несколькими видами фитопатогенов, вступающих в сложные отношения как с растением-хозяином, так и друг с другом [Barnhart et al., 2012; Гагкаева и др., 2014; Казакова и др., 2016; Торопова, Стецов, 2018; Торопова и др., 2019, 2022]. Кроме того, в экологии и фитопатологии хорошо известно явление замещения экологических ниш элиминированных фитопатогенов близкими видами, часто не менее агрессивными [Vorob'eva, Toropova, 2019].

Колонизируя колос, фитопатогены могут продуцировать микотоксины, крайне опасные для здоровья человека и животных [Hussein, Brasel, 2001; Fels-Klerxa et al., 2012; Мазыгула, Харламова, 2015; Монастырский, 2016]. Многие виды *Fusarium*, поражающие зерновые культуры, продуцируют фузариотоксины дезоксиниваленол (ДОН), ниваленол (НИВ), зеараненон (ЗЕА), Т-2 токсин, а также фумонизины, индуцирующие онкологические заболевания [Vogelgsang et al., 2008; Kriss et al., 2012; Гагкаева и др., 2014; Stenglein et al., 2014; Торопова и др., 2019]. Так, основной возбудитель фузариоза колоса озимой пшеницы токсинопродуцирующий вид *F. graminearum* Schwabe. синтезирует ДОН и его ацетатные производные, а также НИВ [Hussein, Brasel, 2001; Hörberg, 2002; Ward et al., 2008; Karlsson et al., 2021]. Фузариотоксины обладают нефротоксичными, иммуносупрессивными и канцерогенными свойствами [Hussein, Brasel, 2001; Vogelgsang et al., 2008; Sebaert et al., 2009]. Токсинообразующие виды грибов рода *Fusarium* больше приурочены к теплым и влажным регионам, однако их очаги периодически появляются и в регионах с экстремальными погодными условиями [Гагкаева и др., 2014; Торопова и др., 2019]. В 2016 году на территории Сибири выявлен *F. graminearum* – основной производитель наиболее опасных микотоксинов ДОН, его ацетатные производные и НИВ, вызывавший типичные симптомы поражения зерновых культур фузариозом колоса [Торопова и др., 2019]. Недавними исследованиями установлено, что *F. graminearum* является полноценным членом патогенного микоценоза подземных органов сортов яровой пшеницы [Торопова и др., 2021].

Закономерное изменение степени реализации фундаментальных экологических ниш фитопатогенами в пространстве и времени в ходе онтогенеза видов растений-хозяев отражается в неоднородности видового состава патогенных микоценозов и обусловлено сложностью межвидовых отношений в системе “растение–фитопатогены–антагонисты почвы” [Godoy et al., 2018; Vorob'eva, Toropova, 2020]. Межвидовые взаимоотношения в сообществах микроорганизмов рассмотрены преимущественно в классических работах [Burkholder, 1952; van Cemerden, Kuenen, 1984; Abrams, 1987]. В относительно недавнее время сделана попытка комплексного подхода к типизации межвидовых взаимодействий животных, что указывает на актуальность подобных исследований [Хабибуллин, 2014].

Ранее проведенные авторами эксперименты свидетельствуют о том, что межвидовые отношения почвенных микромицетов, выделенных из генеративных органов злаков, носят сложный и разнообразный характер – от антагонизма до кооперации, что, несомненно, вносит вклад в формирование патогенных микоценозов и перспективно для прогнозирования исхода конкурентных взаимодействий фитопатогенных почвенных микромицетов [Казакова и др., 2016]. Однако в литературе отсутствуют сведения о возможности количественной оценки напряженности межвидовых отношений фитопатогенных микромицетов.

Цель исследования – разработка подхода к количественной оценке характера межвидовых отношений почвенных микромицетов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследование проведено в 2020–2022 гг. на сортах яровой пшеницы разного географического происхождения из коллекции ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (лаборатория генофонда растений) из различных регионов: Новосибирская-15, Сибирская-17, Обская-2 (Новосибирская область), ЛТ-3 (Ленинградская обл.), Воронежская-18 (Воронежская обл.), Тулайковская Надежда (Самарская обл.), Зауралочка (Курганская обл.), Long Fu 13 (Китай), Степная-53 (Казахстан), DL 803-2 (Индия), Maon-1 (Сирия), Remus (Германия), Manu (Финляндия), Quarna (Швейцария), Тома (Белоруссия), Evros (Греция),

Calingiri (Австралия), NIL Thatcher Lr35 (Канада), M83-1541 (США), Karee (ЮАР), а также на дикорастущих злаках *Bromopsis inermis* Holub. и *Setaria glauca* (L.) Beauv. в северной лесостепи Западной Сибири. Растительные образцы отбирали из пяти точек популяции по 20 растений в течение трех лет. Исследовали подземные органы растений, зерновки и стержни колосьев (метелок) каждого вида растений в динамике по фазам вегетации, определяя таксономический состав микромицетов [Gerlach, Nirenberg, 1982; Шипилова, Иващенко, 2008]. В исследованиях использовали общепринятые методы анализа [Чулкина и др., 2017].

Изучение попарных межвидовых отношений наиболее распространенных фитопатогенов проводили методом встречных культур [Burkholder, 1952]. Проведена серия опытов сочетаний восьми видовых изолятов (*Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem., *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., *F. oxysporum* Schltdl., *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. equiseti* (Corda) Sacc., *F. sporotrichioides* Sherb., *F. sambucinum* Fuckel) в пятикратной повторности. Все показатели учитывали на 3-и, 7-е и 10-е сутки культивирования. В ходе исследований разработана новая шкала количественной оценки межвидовых отношений микромицетов по комплексу из четырех групп показателей: 1) изменение скорости радиального роста колоний (измерения проводили на 3-и, 7-е и 10-е сутки, вычисляли среднюю скорость), 2) изменение характера роста колоний культур микромицетов ((2.1. пигментация реверса (цвет, интенсивность), 2.2. пигментация мицелия (цвет), 2.3. строение колонии (пушистая, волокнистая, бархатистая, клочковатая и т. д.), 2.4. характер края (зубчатый, гладкий, волокнистый, фестончатый, реснитчатый и т. д.), 2.5. структура колонии (однородная, волокнистая, зернистая), 2.6. консистенция колонии (мягкая, плотная), 2.7. поверхность колонии (гладкая, шероховатая), 2.8. профиль колонии (плоский, изогнутый, выпуклый), 2.9. форма колонии (круглая, концентрическая), 2.10. строение центральной части колонии (куполообразное, плоское, кратерообразное), всего 10 показателей)), 3) наличие и ширина зоны лизиса, 4) изменение в любую сторону интенсивности споруляции микромицетов, которую учитывали в динамике на 3-и, 7-е и 10-е сутки в цен-

тре колоний и на крае со стороны встречной колонии (табл. 1).

В качестве контроля использовали чистые колонии микромицетов, которые выращивали одновременно с опытными вариантами. По каждой из четырех групп показателей были разработаны четырехбалльные шкалы оценки конкурентоспособности микромицета: от 0 – минимальная конкурентоспособность, до 4 – сильный конкурент, не реагирует на наличие другого гриба. Баллы каждого вида суммировались по четырем группам показателей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В течение 2020–2022 гг. фитопатогенный микocenоз подземных органов 20 сортов яровой пшеницы характеризовался стабильностью: основными фитопатогенами были *B. sorokiniana* и грибы рода *Fusarium*, встречаемость которых на всех органах растений и в течение всех фаз вегетаций была близка к 100 % (табл. 2). Во влажные годы происходило увеличение видового разнообразия фузариев, особенно если благоприятные условия складывались в начале вегетационного сезона и происходила успешная колонизация подземных органов всходов влаголюбивыми видами – *F. poae*, *F. graminearum*, *F. solani*, *F. culmorum* и др. Засушливые условия начала вегетации обеспечивали преимущества более засухоустойчивым видам – прежде всего *F. oxysporum* и *F. equiseti*, *F. avenaceum*. Биологическое разнообразие грибов рода *Fusarium* было максимальным в 2020 г. – 10 видов, в 2021 г. – 7, а в 2022 г. – 6 видов, максимальное по фазам вегетации и органам растений разнообразие видов фузариев было отмечено на вторичных корнях в фазу цветения яровой пшеницы независимо от года.

Видовой состав фузариевых микромицетов в 2020 и 2021 гг. был представлен доминантами *F. poae* и комплексом видов *F. oxysporum*, а в засушливом 2022 г. доминировал только *F. oxysporum*. Дополнительными видами в течение трех лет были *F. equiseti*, *F. solani* и *F. sporotrichioides* Sherb., редко встречающимися: в 2020 г. – *F. graminearum*, *F. culmorum* Sacc., *F. heterosporum*., *F. acuminatum*, в 2021 г. – *F. semitectum* и *F. sambucinum*, в 2022 г. – *F. avenaceum*.

Т а б л и ц а 1

Шкала для оценки межвидовых отношений микромицетов методом встречных культур*

Показатель	Характеристика	Балл
1. Замедление радиальной скорости роста колонии	Замедление скорости роста нет или она не превышает 10 %	4
	Замедление небольшое, 11–20 %	3
	Замедление умеренное, 21–30 %	2
	Замедление сильное, 31–50 %	1
	Замедление очень сильное, более 50 %	0
2. Изменение морфологии колоний	Изменений морфологии по сравнению с контролем нет	4
	Изменения по 1–2 признакам из 10	3
	Изменение по 3–4 признакам из 10	2
	Изменение по 5–6 признакам из 10	1
	Изменение по 7–10 признакам	0
3. Наличие зоны лизиса между встречными колониями	Зона лизиса отсутствует, края колоний имеют типичную форму и пигментацию	4
	Зона лизиса до 2 мм или у колонии отмечено усиление пигментации или изменение характера края	3
	Зона лизиса от 2 до 5 мм	2
	Зона лизиса от 5 до 7 мм	1
	Зона лизиса более 7 мм	0
4. Изменение интенсивности споруляции в сторону стимуляции или подавления	Отклонения нет или оно не превышает 10 %	4
	Отклонение 11–20 %	3
	Отклонение 21–30 %	2
	Отклонение 31–50 %	1
	Отклонение более 50 %	0
Максимальная сумма баллов по всем блокам шкалы		16

* В качестве контроля для сравнения используется чистая культура.

Т а б л и ц а 2

Биологическое разнообразие микромицетов в патогенных комплексах подземных органов злаковых растений по фазам вегетации, 2020–2022 гг.

Вид	Всходы						Цветение						Зрелость											
	Первичные корни			Основание растений			Первичные корни			Вторичные корни			Основание растений			Первичные корни			Вторичные корни			Основание растений		
	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2
<i>B. sorokiniana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. poae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. oxysporum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. equiseti</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. sambucinum</i>	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0
<i>F. graminearum</i>	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. solani</i>	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. sporotrichioides</i>	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0
<i>F. culmorum</i>	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0
<i>F. heterosporum</i>	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. acuminatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. semitectum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
<i>F. avenaceum</i>	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0

П р и м е ч а н и е. 0 – 2020 г., 1 – 2021 г., 2 – 2022 г.

Коэффициенты общности видового состава возбудителей фузариозной корневой гнили злаков составили между 2020 и 2021 гг. 0,55–0,63, между 2020 и 2022 гг. – 0,38–0,56, между 2021 и 2022 гг. – 0,63–0,83, отражая степень контрастности погодных факторов вегетаций.

Выявлена сукцессия фузариев в системе органов растений по фазам вегетации и определены параметры перекрытия их реализованных экологических ниш. Показана приуроченность *F. equiseti* к фазе всходов, особенно к основаниям стеблей, *F. graminearum* и *F. sporotrichioides* – к фазе цветения-колошения сортов, особенно к корневой системе растений, *F. solani* и *F. culmorum* – к концу вегетации безотносительно подземных органов растений. Перекрытие экологических ниш по частоте совместной встречаемости видов было максимальным, до 100 %, у *F. poae* и *F. oxysporum*. Отмечена дивергенция экологических ниш на всех подземных органах растений в течение всех вегетаций у *F. solani* с *F. equiseti* – перекрытие их реализованных ниш всегда было меньше в 1,5–2 раза, чем индивидуальные реализованные ниши этих микромицетов. По остальным видам перекрытие экологических ниш зависело от органов растений, где они были реализованы, а также от фаз вегетации. В ряде случаев выявлена полная дивергенция экологических ниш видов по органам и сортам.

Результаты исследования биологического разнообразия видов микромицетов по органам колоса и зерновки представлены в табл. 3. Данные таблицы показывают, что все изученные таксоны микромицетов (*B. sorokiniana*, грибы родов *Alternaria* и *Fusarium*) имели 100 % встречаемость на органах колосьев и зерновок сортов яровой пшеницы. Среди грибов рода *Fusarium* доминировал *F. oxysporum*, который встречался на 93,2 % образцов. К дополнительным видам с 43,2 % встречаемости следует отнести *F. poae* и *F. equiseti*. Редкими видами были *F. sporotrichioides* и *F. avenaceum* с частотой встречаемости 25 и 13,6 % соответственно. Самый редкий *F. sambucinum* с частотой 4,6 %, он был выделен из зародышей и оболочек зерен только одного сорта – ЛТ-3 из Ленинградской области.

Общее биологическое разнообразие видов микромицетов колебалось от 3 (сорт Зауралочка из Курганской обл.) до 7 (финский сорт Ману). По органам колоса и зерновки 7 видов было выявлено в зародышах и оболочках зерновок, 6 – в стержнях колосьев и эндоспермах зерновок. *B. sorokiniana* и *F. oxysporum* инфицировали органы колоса и зерновок равномерно. Можно отметить тенденцию приуроченности *F. poae* к стержням колосьев, а *F. equiseti* – к стержням колосьев и оболочкам зерен.

Коэффициенты общности видового состава микромицетов по сортам составляли от 1

Т а б л и ц а 3

Биологическое разнообразие микромицетов по органам колоса и зерновки сортов яровой пшеницы на фазе зрелости, 2021–2022 гг.

Сорт	<i>Bipolaris sorokiniana</i>				<i>Fusarium oxysporum</i>				<i>Fusarium poae</i>				<i>Fusarium equiseti</i>				<i>Fusarium sporotrichioides</i>				<i>Fusarium sambucinum</i>				<i>Fusarium avenaceum</i>				<i>Alternaria</i> spp.			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Сибирская-17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Remus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nil Thatcher Lr35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jin Chun 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Зауралочка	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ЛТ-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K-65834	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Quarna	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Calingiri	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Karee	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Частота встречаемости, %	100				93,2				43,2				43,2				25,0				4,6				13,6				100			

П р и м е ч а н и е. 1 – стержень колоса; 2 – зародыш; 3 – эндосперм; 4 – оболочка.

(NIL Thatcher Lr13, LT-3, Karee) до 0,44 у сортов Remus (Германия) и Зауралочка (Курганская область) с сортом Manu (Финляндия). Анализ перекрытия экологических ниш микромицетов по частоте совместной встречаемости показал, что максимальное перекрытие 93,2 % было у *B. sorokiniana* с *F. oxysporum*. Умеренное перекрытие ниш 36,4–43,2 % выявлено у *B. sorokiniana* и *F. oxysporum* с *F. poae* и *F. equiseti*.

Относительно небольшое перекрытие ниш, на уровне 11,4–25 %, было у *B. sorokiniana*, *F. oxysporum*, *F. poae* с *F. sporotrichioides*, у *F. poae* с *F. equiseti* и *F. avenaceum*, а также у *F. sporotrichioides* с *F. avenaceum*. В остальных комбинациях видов перекрытие отсутствовало или было незначительным – до 4,6 %.

Таким образом, исследования показали, что большое число фитопатогенных микромицетов постоянно взаимодействует между собой, влияя на реализацию видами фундаментальных экологических ниш [Whitfield, 2002; Торопова и др., 2021]. Эти связи складывались по мере образования и развития вида как целостной системы. Фактор влияния одного микромицета на другой при их ассоциативном взаимоотношении на питательной среде может быть связан с выделением в окружающую среду продуктов метаболизма [Langseth et al., 1999; Baayen et al., 2001; Vogelgsang et al., 2008; Karlsson et al., 2021].

Результаты количественной оценки взаимодействия микромицетов представлены в табл. 4.

Данные таблицы свидетельствуют, что взаимоотношения между отдельными видами микромицетов носили индивидуальный характер и значительно отличались по остро-

те и характеру. Следует отметить, что число набранных отдельными микромицетами баллов различалось в 8 раз, от 2 баллов, набранных *B. sorokiniana*, при взаимодействии с *F. sambucinum*, до 16 баллов у *F. oxysporum* во встречной культуре с *F. poae*. Учитывая существенные различия в набранных баллах, мы предлагаем взаимодействие видов считать нейтральными, если оба набрали 10 баллов и более, а разница между видами не превышает 3 баллов. Такого рода отношения были выявлены у *F. sporotrichioides*, *F. equiseti*, *F. poae*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum* с пятью другими видами рода *Fusarium*. Конкурентные отношения сложились у всех фузариевых грибов с *B. sorokiniana*, причем он доминировал над *F. sporotrichioides*, *F. solani* и *F. avenaceum*. Напротив, *F. sambucinum*, *F. equiseti*, *F. poae* и *F. oxysporum* доминировали при их совместном культивировании с *B. sorokiniana*, причем во многих случаях отмечено сильное взаимное угнетение. *F. sambucinum* показал конкурентное подавление таких видов, как *F. equiseti*, *F. solani* и *F. oxysporum*, и равные по силе, но конкурентные отношения с *F. sporotrichioides*, *F. poae* и *F. avenaceum*. Конкуренция выражалась в снижении скорости радиального роста колоний (до 2,5 раза), значительных морфологических отклонениях от чистых культур (до 7 признаков из 10), в формировании зоны лизиса шириной более 7 мм (максимально 12 мм), а также в изменении интенсивности споруляции как в сторону стимуляции (максимально до 20 раз), так и угнетения (максимально до 30 раз). В пределах исследованных сочетаний конкурентные отношения были выявлены в 46,4 % случаев, а нейтральные – в 53,6 %.

Т а б л и ц а 4

Попарные межвидовые взаимоотношения фитопатогенов во встречных культурах, баллы шкалы

Вид		Сумма баллов видов столбец/строка						
<i>F. sambucinum</i>	4/2	–						
<i>F. sporotrichioides</i>	6/8	7/7	–					
<i>F. equiseti</i>	14/8	8/13	11/14	–				
<i>F. poae</i>	8/6	8/8	10/11	11/12	–			
<i>F. solani</i>	4/7	7/10	14/13	10/11	15/14	–		
<i>F. oxysporum</i>	6/4	9/13	15/12	13/11	16/13	14/11	–	
<i>F. avenaceum</i>	5/7	8/8	13/13	12/11	11/13	14/15	13/11	
	<i>B. sorokiniana</i>	<i>F. sambucinum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. poae</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>	

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований были подтверждены полученные во многих регионах мира данные о совместном паразитировании почвенных микромицетов *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem. и грибов рода *Fusarium* Link. в системе подземных органов растений [Bateman et al., 2001; Rossi et al., 2001; Del Ponte et al., 2015; Xu et al., 2018; Garmendia et al., 2018; Duffeck et al., 2020; Торопова и др., 2021, 2022; Гаврилова и др., 2022]. Уточнен видовой состав грибов рода *Fusarium* на подземных и генеративных органах растений и выявлено более низкое разнообразие видов на надземных органах, являющихся дополнительной экологической нишей видов, что согласуется с более ранними публикациями [Торопова и др., 2020, 2021, 2022]. Установлено влияние экстремальных погодных условий вегетации, характерных для регионов с остро континентальным климатом, на видовой состав грибов рода *Fusarium*, а также на смену доминирования видов фузариев, что упоминалось в ряде отечественных публикаций и работ из других стран мира [Doohan et al., 2003; Vogelgsang et al., 2008; Garmendia et al., 2018; Xu et al., 2008; 2018; Торопова и др., 2019; Гаврилова и др., 2022]. Коэффициенты общности видового состава возбудителей фузариозной корневой гнили злаков отражали степень контрастности погодных факторов вегетаций. В ходе исследований получила дальнейшее развитие концепция фундаментальных экологических ниш фитопатогенов [Whitfield, 2002; Scheele et al., 2017; Vorob'eva, Toropova, 2019, 2020]. В частности, сделана детальная количественная оценка степени реализации фундаментальных ниш и их перекрытия по частоте совместной встречаемости видов, установлена приуроченность отдельных видов к органам растений и фазам вегетации, что свидетельствует о сукцессии фитопатогенных микромицетов [Торопова, 2021, 2022].

Впервые в отечественной и мировой науке проведена количественная оценка взаимодействия встречаемых культур наиболее распространенных видов фитопатогенов по вновь разработанной шкале. Это позволило расширить представления о закономерностях и факторах реализации экологических ниш почвенными фитопатогенными микромицетами в подземных и генеративных орга-

нах растений-хозяев и обеспечило прогресс в прогнозировании исхода конкурентных взаимодействий видов [Торопова, 2022]. Так, нейтральные межвидовые отношения *F. solani* с *F. equiseti* подтверждают выявленную дивергенцию их экологических ниш, а близкое к 100 % перекрытие ниш у *B. sorokiniana* с *F. oxysporum*, *F. poae* и *F. equiseti* также нашло подтверждение в соотношении баллов по шкале.

Дальнейшее расширение исследований попарных отношений фитопатогенных микромицетов, часто паразитирующих совместно на органах растений-хозяев, обеспечит прогресс как в области понимания закономерностей реализации микромицетами их экологических ниш, так и в области прогноза состава сообществ, что будет иметь большое практическое значение в фитосанитарной диагностике экосистем разного уровня сложности.

ВЫВОДЫ

Установлено, что в течение 2020–2022 гг. фитопатогенный микоценоз подземных и генеративных органов культурных и дикорастущих злаков характеризовался стабильностью: основными фитопатогенами были *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem. и грибы рода *Fusarium* Link., встречаемость которых была близка к 100 %. Общее число видов микромицетов на подземных органах составило 13, на генеративных – 8. Биологическое разнообразие грибов было максимальным во влажных условиях, отмечена смена доминирования влаголюбивого *F. poae* (Peck.) Wollenw. засухоустойчивым *F. oxysporum* Schltdl. Коэффициенты общности видового состава возбудителей фузариозной корневой гнили яровой пшеницы отражали степень контрастности погодных факторов вегетаций. Была выявлена сукцессия фузариев в системе органов растений по фазам вегетации и определены параметры перекрытия их реализованных экологических ниш.

Изучение попарных межвидовых отношений микромицетов методом встречных культур, благодаря разработке шкалы для количественной оценки взаимодействия видов, позволило выявить наиболее конкурентоспособные виды. Конкуренция выражалась в снижении скорости радиального роста колоний (до 2,5 раза), в значительных морфологических

отклонениях от чистых культур (до 7 признаков из 10), в формировании зоны лизиса шириной более 7 мм (максимально 12 мм), а также в изменении интенсивности споруляции как в сторону стимуляции (максимально до 20 раз), так и угнетения (максимально до 30 раз). В пределах исследованных сочетаний конкурентные отношения были выявлены в 46,4 % случаев, а нейтральные – в 53,6 %.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 22-26-00066.

ЛИТЕРАТУРА

- Гаврилова О. П., Гагкаева Т. Ю., Орина А. С., Гогина Н. Н. Разнообразие грибов рода *Fusarium* и их микотоксинов в зерне из азиатской части России // Микология и фитопатология. 2022. Т. 56, № 3. С. 194–206.
- Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П., Левитин М. М. Биоразнообразие и ареалы основных токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium* // Биосфера. 2014. Т. 6, № 1. С. 36–45.
- Казакова О. А., Торопова Е. Ю., Воробьева И. Г. Взаимоотношения фитопатогенов семян ячменя в Западной Сибири // АПК России. 2016. Т. 23, № 5. С. 931–934.
- Мазыгула Е. Д., Харламова М. Д. Оценка токсичности и экологической опасности сырья и кормов, содержащих микотоксины // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Сер. экология и безопасность жизнедеятельности. 2015. № 1. С. 50–56.
- Монастырский О. А. Микотоксины – глобальная проблема безопасности продуктов питания и кормов // Агрохимия. 2016. № 6. С. 67–71.
- Торопова Е. Ю., Стецов Г. Я. Предпосевное протравливание семян (методические аспекты) // Защита и карантин растений. 2018. № 2. С. 3–7.
- Торопова Е. Ю., Воробьева И. Г., Казакова О. А., Трунов Р. И. Биологическое разнообразие фитопатогенных почвенных микромицетов на сортах яровой пшеницы в Западной Сибири // Агрохимия. 2022. № 10. С. 56–64.
- Торопова Е. Ю., Воробьева И. Г., Мустафина М. А., Селюк М. П. Грибы рода *Fusarium* на зерне пшеницы в Западной Сибири // Защита и карантин растений. 2019. № 1. С. 21–23.
- Торопова Е. Ю., Воробьева И. Г., Пискарев В. В., Трунов Р. И. Экологические ниши грибов рода *Fusarium* Link. на растениях разных сортов яровой пшеницы в Западной Сибири // Агрохимия. 2021. № 10. С. 53–61.
- Торопова Е. Ю., Селюк М. П., Казакова О. А. Факторы доминирования грибов рода *Fusarium* в патоккомплексе корневых гнилей зерновых культур // Агрохимия. 2018. № 5. С. 73–82.
- Торопова Е. Ю., Стецов Г. Я., Воробьева И. Г., Сухомлинов В. Ю. Взаимодействие консортов в агроценозах яровой пшеницы Западной Сибири // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34, № 9. С. 50–57.
- Хабибуллин В. Ф. Комплексный подход к типизации межвидовых взаимодействий животных // Вестн. ТГУ. 2014. Т. 19, вып. 5. С. 1611–1613.
- Чулкина В. А., Торопова Е. Ю., Стецов Г. Я., Кириченко А. А., Мармулева Е. Ю., Гришин В. М., Казакова О. А., Селюк М. П. Фитосанитарная диагностика агроэкосистем / под ред. Е. Ю. Тороповой. Барнаул, 2017. 210 с.
- Шпилилова Н. П., Иващенко В. Г. Систематика и диагностика грибов рода *Fusarium* на зерновых культурах. СПб., 2008. 84 с.
- Abrams P. A. On classifying interactions between populations // Oecologia. 1987. Vol. 73, N 2. P. 272–281.
- Baayen R. P., O'Donnell K., Breeuwsma S., Geiser D. M., Waalwijk C. Molecular relationships of fungi within the *Fusarium redolens* – *F. hostae* clade // Phytopathology. 2001. Vol. 91. P. 1037–1044.
- Barnhart A., Torp M., Clasen P.-E., Loes A.-K., Kristoffersen A. B. Influence of agronomic and climatic factors on *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination of cereals in Norway // Food Addit. Contamin. 2012. Part A. P. 1–12.
- Bateman G. L., Murray G. Seasonal variations in populations of *Fusarium* species in wheat-field soil // Appl. Soil Ecol. 2001. Vol. 18. P. 117–128.
- Burkholder P. R. Cooperation and conflict among primitive organisms // Amer. Sei. 1952. Vol. 40. P. 601–631.
- Burlakoti R. R., Shrestha S. M., Sharma R. C. Effect of natural seed-borne inoculum of *Bipolaris sorokiniana* on the seedling emergence and vigour, and early establishment of foliar blight in spring wheat // Arch. Phytopathol. and Plant Protection. 2014. Vol. 47, N 7. P. 812–820.
- Chelkowski J., Ritieni A., Wisniewska H., Mulé G., Logrieco A. Occurrence of toxic hexadepsipeptides in pre-harvest maize ear rot infected by *Fusarium poae* in Poland // J. Phytopathol. 2007. Vol. 155. P. 8–12.
- Del Ponte E. M., Spolti P., Ward T. J., Gomes L. B., Nicolli C. P., Kuhnem P. R., Silva C. N., Tessmann D. J. Regional and Field-Specific Factors Affect the Composition of *Fusarium* Head Blight Pathogens in Subtropical No-Till Wheat Agroecosystem of Brazil // Phytopathology. 2015. Vol. 105, N 2, P. 246–254.
- Doohan F. M., Brennan J., Cooke B. M. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals // Europ. J. Plant Pathol. 2003. Vol. 109, N 7. P. 755–768.
- Duffeck M. R., Alves K. S., Machado F. J., Esker P. D., Del Ponte E. M. Modeling yield losses and fungicide profitability for managing *Fusarium* head blight in Brazilian spring wheat // Phytopathology. 2020. Vol. 110. P. 370–378.
- Fels-Klerxa van der H. J., Rijka de T. C., Booijs C. J. H., Goedhart P. W., Boersa E. A. M., Zhaobd C., Waalwijk C., Molaand H. G. J., Lee van der T. A. J. Occurrence of *Fusarium* Head Blight species and *Fusarium* mycotoxins in winter wheat in the Netherlands in 2009 // Food Additives & Contaminants: Part A. 2012. Vol. 29, N 11. P. 1716–1726.
- Garmendia G., Pattarino L., Negrin C., Martinez-Silveria A., Pereyra S., Ward T. J., Vero S. Species composition, toxigenic potential and aggressiveness of *Fusarium* isolates causing Head Blight of barley in Uruguay // Food Microbiol. 2018. Vol. 76. P. 426–433.
- Gerlach W., Nirenberg H. The genus *Fusarium* – a Pictorial Atlas // Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstw. Berlin – Dahlem, 1982. 406 p.

- Godoy O., Bartomeus I., Rohr R. P., Saavedra S. Towards the Integration of Niche and Network Theories // Trends in Ecol. Evolut. 2018. Vol. 33, N 4. P. 287–300.
- Hörberg H. M. Patterns of splash dispersed conidia of *Fusarium poae* and *Fusarium culmorum* // Eur. J. Plant Pathol. 2002. Vol. 108. P. 73–80.
- Hussein H. S., Brasel J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals // Toxicology. 2001. Vol. 167, N 2. P. 101–134.
- Karlsson I., Persson P., Friberg H. *Fusarium* head blight from a microbiome perspective // Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. P. 628373.
- Kriss A. B., Paul P. A., Xu X., Nicholson P., Doohan F. M., Hornok L., Rietini A., Edwards S. G., Madden L. V. Quantification of the relationship between the environment and *Fusarium* head blight, *Fusarium* pathogen density, and mycotoxins in winter wheat in Europe // Eur. J. Plant Pathol. 2012. Vol. 133. P. 975–993.
- Langseth W., Bernhoft A., Rundberget T., Kosiak B., Gareis M. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereals // Mycopathologia 1999. Vol. 144. P. 103–113.
- Oerke E.-C., Meier A., Dehne H.-W., Sulyok M., Krska R., Steiner U. Spatial variability of *Fusarium* head blight pathogens and associated mycotoxins in wheat crops // Plant Pathol. 2010. Vol. 59. P. 671–682.
- Rossi V., Ravanetti A., Patteri E., Giosuè S. Influence of temperature and humidity on the infection of wheat spikes by some fungi causing *Fusarium* head blight // J. Plant Pathol. 2001. Vol. 83. P. 189–198.
- Scheele B. C., Foster C. N., Banks S. C., Lindenmayer D. B. Niche contractions in declining species: mechanisms and consequences // Trends Ecolol. Evolut. 2017. Vol. 32, N 5. 148–149.
- Sebaert S., de Saeger S., Devresse R., Verhoeven R., Maene P., Heremans B., Haesaert G. Mycotoxin-producing *Fusarium* species occurring in winter wheat in Belgium (Flanders) during 2002–2005 // J. Phytopathol. 2009. Vol. 157. P. 108–116.
- Stenglein S. A., Dinolfo M. I., Barros G., Bongiorno F., Chulze S. N., Moreno M. V. *Fusarium poae* pathogenicity and mycotoxin accumulation on selected wheat and barley genotypes at a single location in Argentina // Plant Dis. 2014. Vol. 98. P. 1733–1738.
- Toropova E. Yu., Glinushkin A. P., Insebaeva M. K., Stetsov G. Ya. The conidia *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shohem. distribution in the soil of Altai and Kazakhstan arid regions // J. Phys.: Conf. Ser. 1942. 2021a. 012078. 5 p. IOP Publishing.
- Toropova E. Yu., Vorob'ova I. G., Kirichenko A. A., Trunov R. I. Parasitic activity of plant pathogens at the underground organs of spring wheat in the West Siberia // J. Phys.: Conf. Ser. 1942. 2021b. 012079. 5 p. IOP Publishing.
- van Cemerden H., Kuenen J. G. Strategies for growth and evolution of microorganisms in oligotrophic habitats // Heterotroph. Act. Sea Proc. NATO Adv. Res. Jnst. Microb. Metabiol. and Cyel. Org. Matter Sea, Cascais. N. Y. 1984. Vol. I. P. 25–54.
- Vogelgsang S., Sulyok M., Hecker A., Jenny E., Krska R., Schuhmacher R., Forrer H. R. Toxigenicity and pathogenicity of *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum* on wheat // Eur. J. Plant Pathol. 2008. Vol. 122. P. 265–276.
- Vorob'eva I. G., Toropova E. Yu. On the Issue of Ecological Niches of Plant Pathogens in Western Siberia // Contemporary Problems of Ecology. 2019. Vol. 12, N 6. P. 667–674.
- Vorob'eva I. G., Toropova E. Yu. Fungi ecological niches of the genus *Fusarium* Link // BIO Web of Conferences 24, 00095. 2020.
- Vorob'eva I. G., Toropova E. Yu. Ecological Niches of *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. in Western Siberia // Contemporary Problems of Ecology. 2022. Vol. 15, N 4. P. 393–399.
- Ward T. J., Clear R. M., Rooney A. P., O'Donnell K., Gaba D., Patrick S., Starkey D. E., Gilbert J., Geiser D. M., Nowicki T. W. An adaptive evolutionary shift in *Fusarium* head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic *Fusarium graminearum* in North America // Fungal Genet. Biol. 2008. Vol. 45. P. 473–484.
- Whitfield J. Ecology: neutrality versus the niche // Nature. 2002. Vol. 417. P. 480–481.
- Xu F., Yang G., Wang J., Song Y., Liu L., Zhao K., Li Ya., Han Z. Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the north China plain and its relationship with climate variables // Frontiers in Microbiology. 2018. Vol. 9, N 5. P. 1054–1072.
- Xu X., Nicholson P., Thomsett M. A., Simpson D., Cooke B. M., Doohan F. M., Brennan J., Monaghan S., Moretti A., Mule G., Hornok L., Beki E., Tatnell J., Rietini A., Edwards S. G. Relationship between the fungal complex causing *Fusarium* head blight of wheat and environmental conditions // Phytopathology. 2008. Vol. 98. P. 69–78.

A new approach to assessing interspecific relationships of micromycetes from the genus *Fusarium* Link. with *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem

E. Yu. TOROPOVA¹, I. G. VOROB'EVA^{2, 3}, O. A. KAZAKOVA¹

¹Novosibirsk State Agrarian University
630039, Novosibirsk, Dobrolyubova str., 160
E-mail: 89139148962@yandex.ru

²Central Siberian Botanical Garden SB RAS
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101

³Novosibirsk State Pedagogical University
630126, Novosibirsk, Vilyuiskaya str., 28

The aim of the study was to develop an approach to the quantitative assessment of interspecific relationships nature in soil micromycetes. The studies were carried out in the northern forest-steppe of West Siberia by conventional and author's methods. It has been established, that during 2020–2022 the phytopathogenic mycocenosis of underground and generative organs of cultivated and wild-growing cereals was characterized by stability: the main phytopathogens were *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem. and *Fusarium* Link. fungi, whose occurrence was close to 100 %. The total number of micromycete species on underground organs was 13, on generative organs – 8. The biological diversity of fungi was maximal in humid conditions, a change in the dominance of the moisture-loving *F. poae* (Peck.) Wollenw. by drought-resistant *F. oxysporum* Schltdl. was revealed. The coefficients of the species composition commonality of *Fusarium* root rot pathogens reflected the degree of the weather factors contrast during vegetation. The succession of *Fusarium* fungi in the system of plant organs according to the phases of vegetation was revealed. The quantitative parameters of their realized ecological niches overlapping were also determined. The study of pairwise interspecific relationships of micromycetes by the method of counter cultures, thanks to the development of a new original scale for the quantitative assessment of the interaction of species, made it possible to identify the most competitive species. Competition was expressed in a decrease in the rate of radial growth of colonies (up to 2.5 times), significant morphological deviations from pure cultures (up to 7 characters out of 10), in the formation of a lysis zone more than 7 mm wide (maximum 12 mm), and also in a change in the intensity of sporulation both in the direction of stimulation (up to a maximum of 20 times) and oppression (up to a maximum of 30 times). Within the studied combinations, competitive relations were identified in 46.4 % of cases, and neutral – in 53.6 %.

Key words: micromycetes, interspecific relations, competition, interspecific relations, biological diversity, generative organ, colonization, underground organ, quantification scale.