

УДК 634.75:579.246.4

**Р. М. Пугачев**

к. с.-х. н.

**И. Г. Пугачева**

к. с.-х. н.

**Т. Н. Камедько**

**М. В. Сандалова**

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия», Горки,  
Республика Беларусь

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ СПОРОНОШЕНИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ\***

*Для проведения опытов по оценке особенностей роста и спороношения фитопатогенных грибов на различных питательных средах было взято девять видов фитопатогенных грибов земляники садовой и пять различных питательных сред. Интенсивность спорообразования на каждой из сред учитывалась с помощью камеры Горяева.*

*По результатам опыта для каждого патогена предложены питательные среды, на которых интенсивность спорообразования является максимальной.*

**Ключевые слова:** земляника, патогены, чистая культура, конидии, питательная среда.

#### **Постановка проблемы**

Селекция земляники садовой на устойчивость к болезням – очень долгий и сложный процесс. На достижение конечного результата может уйти 10–15 и более лет [1]. Поэтому селекционеры прибегают к различным способам, позволяющим быстрее достичь необходимой цели. Одним из таких способов является искусственное заражение растений на раннем этапе развития. С его помощью возможно сокращение этого процесса на несколько лет.

При проведении искусственного заражения очень важно иметь необходимое количество инокулюма для получения суспензии спор нужной концентрации. На этом этапе важную роль играет питательная среда, на которой будет размножаться патоген. Неправильный выбор питательной среды может негативно повлиять на рост гриба, интенсивность его спорообразования. Это вызовет необходимость размножать патоген в большом объеме, что также может не дать гарантии качества суспензии.

В Беларуси опыты по выделению, культивированию грибных патогенов земляники не проводились. Это вызвало необходимость изучить и подобрать питательные среды, на которых будут лучше всего спороносить распространенные в республике грибные патогены земляники. Это позволит более эффективно и качественно осуществлять работу по селекции земляники садовой на устойчивость к болезням.

© Р. М. Пугачев, И. Г. Пугачева, Т. Н. Камедько, М. В. Сандалова

\* Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ, проект Б14-120).

### Цель, задачи и методика исследований

Целью исследований являлась оценка влияния различных питательных сред на эффективность спороношения возбудителей грибных болезней земляники садовой.

Объектами исследований служили фитопатогенные грибы, выделенные из пораженных органов земляники. Идентификацию возбудителей болезней проводили на основе характера их проявления на отобранных растениях и органах земляники садовой и морфологических признаков мицелия, конидиеносцев, конидий и спор чистой культуры грибов под микроскопом [2].

На основе метода фитопатологического мониторинга с использованием ДНК-маркеров (Лаборатория генетики и биотехнологии ГНУ "Институт леса НАН Беларуси") дополнительно была проведена идентификация возбудителей болезней, видовую принадлежность которых по морфологическим признакам установить не удалось.

Для оценки особенностей роста и спороношения фитопатогенных грибов на различных питательных средах было взято девять видов, надежно идентифицированных с помощью морфологических признаков и с использованием ДНК-маркеров: №531 – *Verticillium albo-atrum*, №532 – *Verticillium dahliae*, №20 – *Pestalotiopsis theae*, №140 – *Botrytis cinerea*, №533 – *Ramularia tulasnei*, №411 – *Fusarium oxysporum*, №19 – *Colletotrichum acutatum*, №22 – *Gnomoniopsis fructicola*, №26 – *Epicoccum nigrum*.

Изоляты выращивались на 5-и питательных средах:

КГА – на основе картофельно-глюкозного агара;

АЧ – на основе синтетического агара Чапека;

РХ – на отваре растения хозяина (листья земляники садовой);

МПА – на основе мальц-пептонного агара;

СА – на основе сусло-агара.

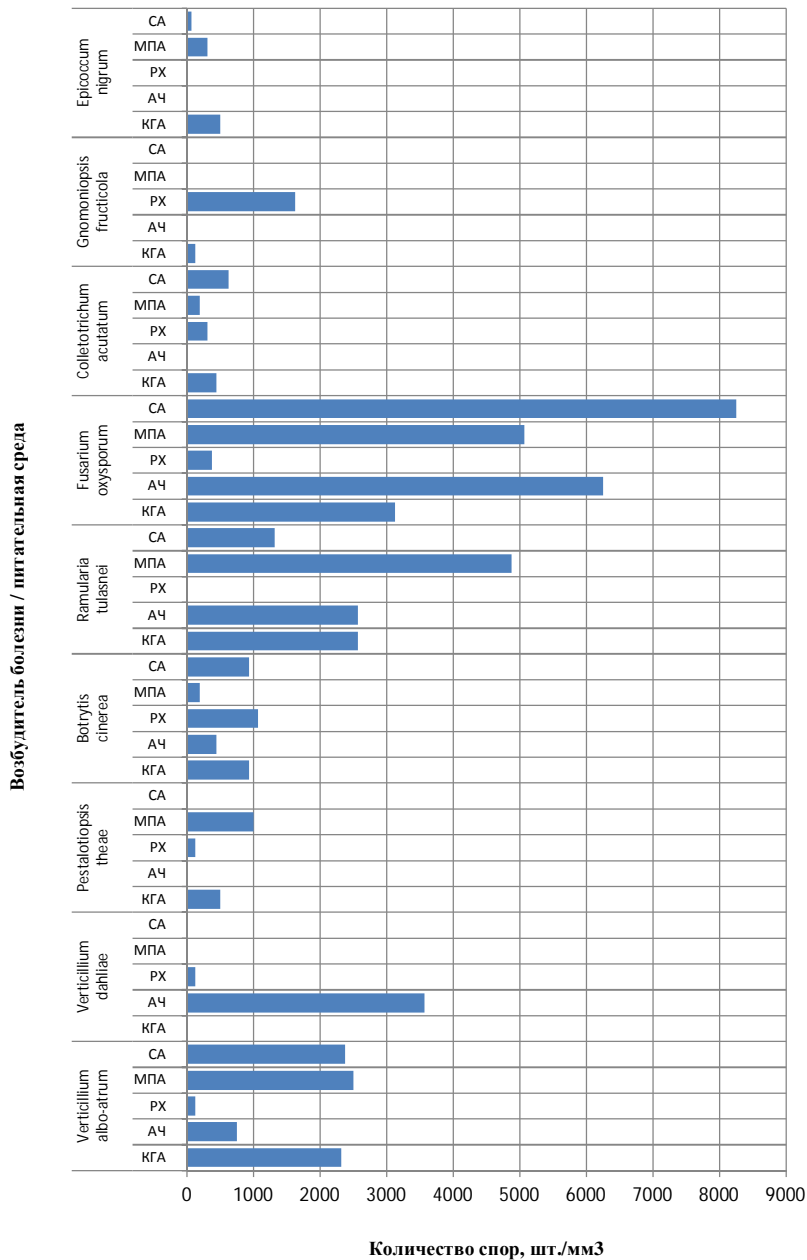
Интенсивность спорообразования (т.е. увеличение числа спор) при росте гриба на плотной среде определяли с помощью камеры Горяева [3].

Счетная камера представляет собой толстое предметное стекло, на котором вышлифована пластинка, поверхность которой на 0,1 мм ниже поверхности всего стекла. На такой пластинке выгравирована система взаимоперпендикулярных линий, расстояние между которыми равно 50 мк. Большие квадраты, образуемые пересечением таких линий, определяют объем камеры в 0,004 мм<sup>3</sup>. Определив количество спор в таком квадрате, находили их количество в 1 мм<sup>3</sup>.

Опытные данные обрабатывались методом дисперсионного анализа с использованием статистического пакета прикладной программы Microsoft Excel и статистического пакета NCSS and PASS 2000 с использованием теста множественного сравнения Данкана (Duncan's multiple comparison test).

### Результаты исследований

По результатам исследований наибольшей интенсивностью спорообразования характеризовался гриб *Fusarium oxysporum*, у которого этот показатель достигал 6,25-8,25 тыс. спор в мм<sup>3</sup> соответственно на картофельно-глюкозном и сусло-агаре (рис. 1).



**Рис. 1. Особенности спороношения возбудителей болезней на различных питательных средах**

Гриб *Verticillium albo-atrum* лучше спороносил на картофельно-глюкозном, мальц-пептонном и сусло-агаре – 2,3–2,5 тыс. спор в мм<sup>3</sup>. Интенсивность спороношения гриба *Verticillium dahliae* наибольшей была на синтетическом агаре Чапека – 3,6 тыс. спор в мм<sup>3</sup>, а у грибов *Pestalotiopsis theae* и *Ramularia tulasnei* на мальц-пептонном агаре – 1,0 и 4,9 тыс. спор в мм<sup>3</sup>, соответственно. Гриб *Gnomoniopsis fructicola* лучше спороносил на среде из отвара растения-хозяина – 1,6 тыс. спор в мм<sup>3</sup>, а гриб *Epicoccum nigrum* на мальц-пептонном и картофельно-глюкозном агаре – 0,3-0,5 тыс. спор в мм<sup>3</sup> соответственно. У гриба *Botrytis cinerea* на всех средах спороношение было относительно одинаковым.

Не отмечено спороношения гриба *Pestalotiopsis theae* на сусло-агаре и синтетическом агаре Чапека, гриба *Verticillium dahliae* – на картофельно-глюкозном агаре, гриба *Ramularia tulasnei* – на среде из отвара растения-хозяина, гриба *Colletotrichum acutatum* – на синтетическом агаре Чапека, гриба *Gnomoniopsis fructicola* – на мальц-пептонном агаре, сусло-агаре и синтетическом агаре Чапека, и гриба *Epicoccum nigrum* – на синтетическом агаре Чапека и на среде из отвара растения-хозяина.

Таким образом, при культивировании изолятов возбудителей грибных болезней земляники садовой, с целью использования их в процессе искусственного заражения, предпочтение следует отдавать следующим питательным средам:

- *Verticillium albo-atrum* – мальц-пептонный агар, картофельно-глюкозный агар;
- *Verticillium dahliae* – синтетический агар Чапека;
- *Pestalotiopsis theae* – мальц-пептонный агар;
- *Botrytis cinerea* – среда из отвара растения-хозяина, картофельно-глюкозный агар, сусло-агар;
- *Gnomoniopsis fructicola* – среда из отвара растения-хозяина;
- *Ramularia tulasnei* – мальц-пептонный агар;
- *Colletotrichum acutatum* – сусло-агар, картофельно-глюкозный агар;
- *Fusarium oxysporum* – сусло-агар, синтетический агар Чапека, мальц-пептонный агар;
- *Epicoccum nigrum* – картофельно-глюкозный агар.

### Литература

1. Общая и частная селекция и сортоведение плодовых и ягодных культур / Г. В. Еремин, А. В. Исачкин, И. В. Казаков [и др.] ; под общ. ред. Г. В. Еремина. – М. : Мир, 2004. – 422 с.
2. Пидопличко Н. М. Грибы-паразиты культурных растений / Н. М. Пидопличко. – К. : Наукова думка, 1977. – Т. 1. – 286 с., 1977.– Т. 2. – 299 с., 1978. – Т. 3. – 230 с.
3. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для студентов 4 курса дневного отделения специальности «G 31 01 01 – Биология» / авт.-сост. В. Д. Поликсенова, А. К. Храмов, С. Г. Пискун. – Мн. : БГУ, 2004. – 36 с.