

on the elements of productivity and yield of the crop. A double treatment of barley at the BBCH 31+ BBCH 39 stages reduces the plant height by 6.5-19.1%, increases the resistance to lodging by 3.2 points and yield by 3.3-7.2 dt/ha. A single treatment of barley at the BBCH 31 stage increases the crop resistance to lodging by 2.2 points and grain yield by 2.1-6.6 dt/ha.

УДК 633.853.494:632.48

## **ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СКОРОСТЬ РОСТА И ИНТЕНСИВНОСТЬ СПОРООБРАЗОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ФОМОЗА РАПСА (*PHOMA LINGAM* (TODE) DESM.)**

**Е.С. Бык, М.Н. Шашко**, научные сотрудники, **Я.Э. Пилюк**, доктор с.-х. наук  
РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»  
(Поступила 25.04.2022 г.)

Рецензент: Ю.А. Сушевич, канд. с.-х. наук

**Аннотация.** В статье изложены результаты исследований по изучению возбудителя рака корневой шейки рапса (*Phoma lingam* Tode. Desm.) в лабораторных условиях с целью определения оптимальных условий культивирования возбудителя фомоза для получения максимально спороносящей культуры, чтобы наработать инокулюм для заражения растений. В результате проведенных исследований было выявлено, что состав искусственной питательной среды оказывает большее влияние на скорость роста и диаметр колонии по сравнению с режимами освещения. Для роста колоний *P. lingam* оптимальными средами являются V-4 и КГА. Для процесса спорообразования патогена определяющим фактором был режим освещения. Эртемные лампы значительно усиливают способность гриба продуцировать споры.

**Введение.** Рапс является одной из наиболее перспективных масличных культур в связи с увеличением потребности Республики Беларусь в растительных маслах и высокобелковых кормах. Кроме того, сорта отечественной селекции являются высокопродуктивными и хорошо приспособлены к умеренному климату Беларуси. В связи с этим объемы производства ежегодно увеличиваются, что приводит к росту поражения посевов болезнями [8, 9].

Одной из наиболее распространенных и вредоносных болезней рапса во всем мире является фомоз (рак корневой шейки и стебля или сухая гниль), возбудителем которого является сумчатый гриб *Leptosphaeria maculans* Ces. & De Not. с пикнидиальной стадией *Phoma lingam* (Tode) Desm. [1, 3]. В данной работе изучали пикнидиальную стадию гриба, поэтому далее по тексту используется последнее из приведенных выше систематических названий.

Паразитирует патоген в течение всего вегетационного периода на семядолях, стеблях, листьях, цветоносах, семенах и корневой системе культурных и дикорастущих растениях семейства *Brassicaceae* [3, 8, 12].

Потери урожая напрямую зависят от технологии возделывания, сорта, погодных условий и других факторов [11]. Сильное инфицирование в осенний период вызывает гибель проростков и изреживание посевов перед уходом в зиму и способствует вымерзанию растений озимого рапса.

Фомоз имеет важное экономическое значение, так как в годы с высоким уровнем развития заболевания вызывает серьезные повреждения растений. Например, в Швейцарии, Англии, Германии, Канаде и Австралии [12] этот показатель достигает даже 70 %, что приводит к снижению урожая на 25 % и более [8, 12]. В последние годы в Республике Беларусь фомоз встречается повсеместно, преимущественно в западной части страны [2]. Потери урожая достигают в среднем 10 %, однако в отдельные годы могут составлять 30–50 % [12]. Возможны прямые потери до 60 % урожая в связи с полеганием, преждевременным созреванием, осыпанием, уменьшением массы 1000 семян, а также снижение качества маслосемян [4, 12]. По данным В. D. L. Fitt et al., недобор урожая данной культуры от фомоза в мире оценивают более чем в 900 млн долларов за вегетационный сезон [13, 14].

Одним из методов борьбы с фомозом является создание и возделывание устойчивых сортов. Для оценки селекционного материала на искусственных инфекционных фонах необходимо наличие высококачественного инокулюма для заражения растений. В связи с этим актуально изучение культуральных характеристик патогена, скорости роста, интенсивности спороношения и условий культивирования.

Целью работы было определить оптимальные условия культивирования (питательные среды и режимы освещения) возбудителя фомоза для получения в кратчайшие сроки максимально спороносящей культуры.

**Методика и условия проведения исследований.** Исследования проводили в 2021-2022 гг. в отделе масличных культур и лаборатории иммунитета РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Инфекционный материал в виде пораженных листьев и стеблей рапса собирали на опытных полях и в производственных посевах. Выделение гриба в чистую культуру проводили по общепринятой методике [6].

Для проведения исследований использовали набор из шести искусственных питательных сред:

**картофельно-глюкозный агар (КГА)** (картофель – 200 г, глюкоза – 20 г, агар – 20 г, дистиллированная вода – 1000 мл) [10];

**дрожжевой агар** (дрожжевой экстракт – 5 г, сахароза – 5 г, агар – 7,5 г, дистиллированная вода – 500 мл) [5];

**среда Чапека** ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1 г,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5 г,  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01 г,  $\text{KCl}$  – 0,5 г,  $\text{NaNO}_3$  – 3,0 г, сахароза – 30 г, агар – 15 г на 1 литр воды) [7];

**модифицированная среда Чапека (ЧЛМ)** ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,5 г,  $\text{MgSO}_4$  – 0,5 г,  $\text{KCl}$  – 0,5 г, мочевины – 1,2 г, лактоза – 20 г, агар – 20 г, дистиллированная вода – 1000 мл) [7];

**среда на основе 4-х натуральных соков (V-4)** (томатный сок – 15 мл, морковный сок – 30 мл, сок из листьев сельдерея – 45 мл, свекольный сок – 60 мл, агар – 20 г, дистиллированная вода – 850 мл) [7];

**рапсовый агар** (семена рапса – 200 г, глюкоза – 20 г, агар – 20 г, дистиллированная вода – 1000 мл воды). Рапсовый агар готовили аналогично КГА, но вместо картофельного отвара использовали отвар семян рапса. Автоклавирование проводили при соответствующих режимах в автоклаве LabTech 5040S.

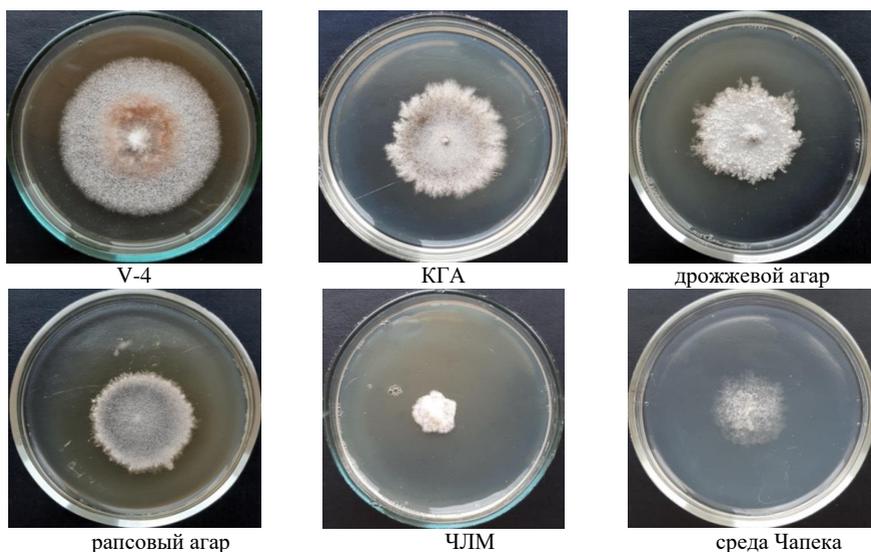
Были использованы все доступные в лабораторных условиях режимы освещения: без освещения, естественное освещение, облучение светодиодными лампами ДДП06-3 × 8-004 УХЛ4 HOME FARM с 12-часовым фотопериодом, круглосуточное облучение эритемными лампами ЛЭ-30. Температуру поддерживали в диапазоне от +22 до +24 °С.

Посев гриба в чашки Петри проводили в один день, используя исходную культуру с одинаковой плотностью инокулюма. Чашки помещали на двое суток в термостат при температуре +24 °С, затем распределяли в заданные условия культивирования.

За культурами вели наблюдения, измеряя диаметр колоний через определенные промежутки времени в 3-кратной повторности.

Интенсивность спорообразования определяли по количеству спор на единицу площади колонии. Для этого высекали 2 блока агаровой культуры определенной площади (0,5 см<sup>2</sup>), измельчали для провокации выхода спор из пикнид, помещали в дистиллированную воду (5 мл), взбалтывали в течение нескольких минут, процеживали через марлю и подсчитывали споры в камере Горяева с использованием микроскопа [6].

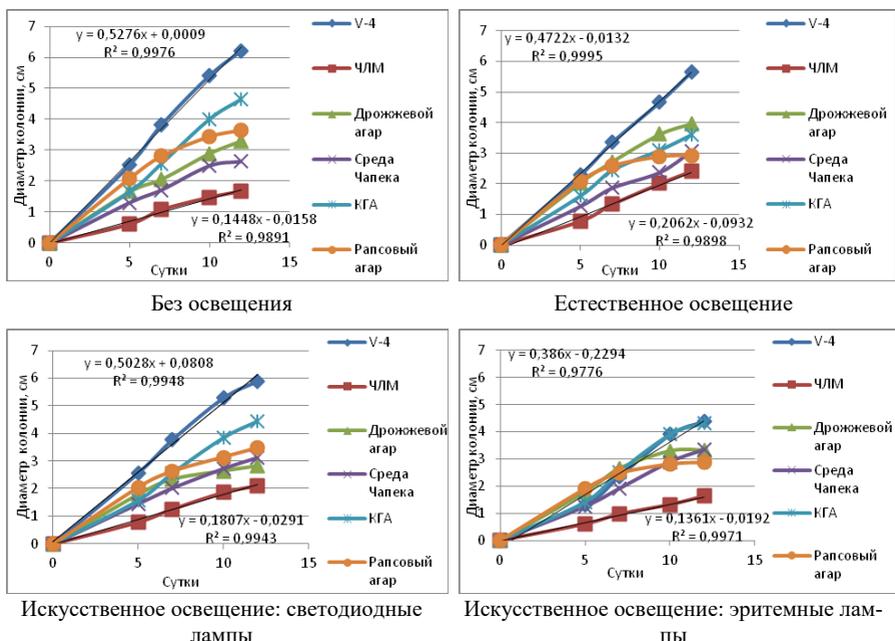
**Результаты исследований и обсуждение.** Наблюдение за ростом чистой культуры гриба *P. lingam* на различных питательных средах показало, что морфология колоний зависит от состава питательного субстрата (рисунок 1).



**Рисунок 1 – Морфология колоний гриба *P. lingam* на различных питательных средах (без освещения)**

Установлено, что на среде V-4 гриб формирует обильный воздушный мицелий белого цвета с розовато-кирпичным оттенком в центральной части правильно округлой колонии, а на средах КГА и дрожжевом агаре мицелий более плотный, белый с коричневым либо серым оттенком, край колонии неровный, лопастный. При культивировании на рапсовой питательной среде колония гриба плотная, войлочная, серого цвета, округлой формы, а на ЧЛМ колония небольшая по диаметру, неправильной формы, выпуклая, мицелий плотный, белый. На среде Чапека мицелий развит слабо, рыхлый, белого цвета, край колонии нечеткий.

Анализ влияния питательного субстрата на линейный рост колоний гриба *P. lingam* при различных режимах освещения показал, что на среде V-4 наблюдался наибольший прирост колоний: 0,39–0,53 см/сут, наименьшим данный показатель был на среде ЧЛМ и составил 0,14–0,21 см/сут. Коэффициент детерминации ( $R^2 = 0,9776–0,9995$ ), отражающий степень влияния сред на рост колоний гриба, представлен на рисунке 2.



**Рисунок 2 – Влияние питательной среды на линейный рост колоний гриба *P. lingam* при различных режимах освещения**

На рисунках 3 и 4 показано влияние питательной среды на линейный рост колоний гриба *P. lingam* независимо от режимов освещения и влияние режимов освещения на линейный рост колоний гриба. Исследованиями выявлено, что именно состав питательной среды оказывает решающее влияние на линейный

рост колоний возбудителя фомоза ( $R^2 = 0,997$ ), а фактор освещения в этот период не имеет принципиального значения.

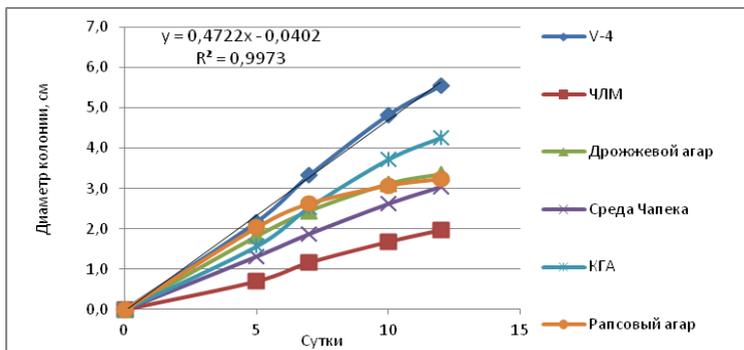


Рисунок 3 – Влияние питательных сред на линейный рост колоний гриба *P. lingam*

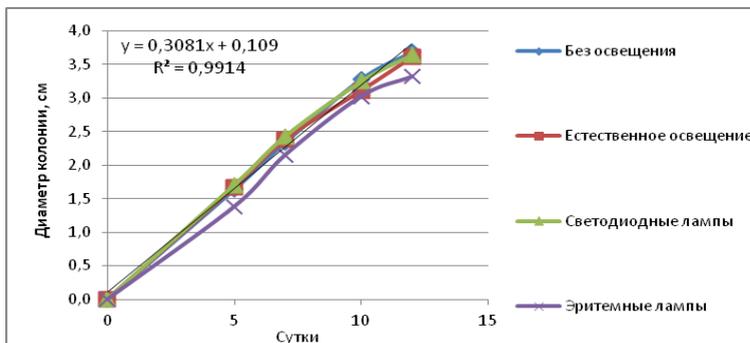


Рисунок 4 – Влияние режимов освещения на линейный рост колоний гриба *P. lingam*

Диаметр колоний *P. lingam* на 12-е сутки культивирования был статистически достоверно максимальным на среде V-4 при всех режимах освещения, за исключением варианта с применением эритемных ламп, и составил 5,7–6,2 см, а в среднем по всем режимам освещения – 5,6 см (таблица 1). На среде ЧЛМ без освещения и при использовании эритемных ламп диаметр колоний был достоверно наименьшим по отношению ко всем остальным вариантам. В результате проведенных исследований выявлено, что для наработки инфекционного материала возбудителя фомоза целесообразно также применять питательную среду КГА, диаметр колоний на которой составлял в среднем 4,3 см и уступал только среде V-4.

Установлено, что состав искусственной питательной среды оказывает определяющее влияние на скорость роста *P. lingam* по сравнению с режимами освещения, при этом оптимальными средами являются V-4 и КГА.

Таблица 1 – Влияние режима освещения и питательной среды на диаметр колонии гриба *P. lingam* (12-е сутки от начала культивирования)

Режим освещения	Диаметр колонии, см ± ДИ					
	V-4	ЧЛМ	дрожжевой агар	среда Чапека	КГА	рапсовый агар
Без освещения	6,2±0,3	1,7±0,2	3,3±0,5	2,6±0,4	4,7±0,1	3,7±0,3
Естественное освещение	5,7±0,5	2,4±0,3	4,0±0,4	3,1±0,3	3,6±0,5	2,9±0,2
Светодиодные лампы	5,9±0,5	2,1±0,1	2,8±0,3	3,1±0,4	4,5±0,2	3,5±0,3
Эритемные лампы	4,4±0,4	1,6±0,4	3,3±0,3	3,3±0,3	4,3±0,2	2,9±0,2

При определении интенсивности спорообразования выявлено, что освещение ближним ультрафиолетовым светом, генерируемым эритемными лампами, значительно усиливает способность гриба продуцировать споры на всех питательных субстратах, за исключением среды Чапека и рапсового агара. Наибольшее их количество, в пересчете на всю площадь колонии, образуется на питательных субстратах V-4 ( $3,3 \times 10^9$ ), КГА ( $5,6 \times 10^8$ ), ЧЛМ ( $3,4 \times 10^8$ ) и дрожжевом агаре ( $2,0 \times 10^8$ ) (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние режима освещения и питательной среды на спорообразование гриба *P. lingam*

Режим освещения	Питательная среда					
	V-4	ЧЛМ	дрожжевой агар	среда Чапека	КГА	рапсовый агар
Интенсивность спорообразования, спор/см <sup>2</sup>						
Без освещения	$2,5 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$	$8,8 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
Естественное освещение	$6,0 \times 10^6$	$6,3 \times 10^5$	$4,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$	$4,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$
Светодиодные лампы	0,0	0,0	$1,3 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	$3,8 \times 10^5$	0,0
Эритемные лампы	$2,2 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	$1,3 \times 10^5$	$3,9 \times 10^7$	$6,3 \times 10^5$
Площадь колонии, см <sup>2</sup>						
Без освещения	30,2	2,3	8,5	5,3	17,3	10,7
Естественное освещение	25,5	4,5	12,6	7,5	10,2	6,6
Светодиодные лампы	27,3	3,5	6,2	7,5	15,9	9,6
Эритемные лампы	15,2	2,0	8,5	8,5	14,5	6,6
Число спор с колонии, шт.						
Без освещения	$7,5 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$7,5 \times 10^6$	$6,6 \times 10^5$	$4,3 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$
Естественное освещение	$1,5 \times 10^8$	$2,8 \times 10^6$	$5,5 \times 10^7$	$9,4 \times 10^5$	$4,4 \times 10^7$	$8,2 \times 10^6$
Светодиодные лампы	0,0	0,0	$7,7 \times 10^5$	$9,4 \times 10^5$	$5,9 \times 10^6$	0,0
Эритемные лампы	$3,3 \times 10^9$	$3,4 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$1,1 \times 10^6$	$5,6 \times 10^8$	$4,1 \times 10^6$

Установлено, что при естественном освещении наибольший выход спор можно получить на питательных средах V-4, дрожжевом агаре и КГА. Использование светодиодных ламп полностью ингибировало процесс спорообразования на трех питательных средах из шести изучаемых. Установлено, что режим

освещения является определяющим фактором для спорообразования у патогена *P. lingam*.

### Выводы

1. При культивировании на искусственных питательных средах различного состава у гриба *P. lingam* выявлен полиморфизм по внешнему виду колоний патогена.

2. Установлено, что именно состав питательной среды оказывает решающее влияние на линейный рост колоний возбудителя фомоза, а лучшими питательными средами являются среды V-4 и КГА.

3. Для процесса спорообразования патогена *P. lingam* режим освещения является определяющим фактором. Максимальный выход спор (до  $3,3 \times 10^9$  спор/на колонию на среде V-4) отмечался при освещении ближним ультрафиолетовым светом, генерируемым эритемными лампами.

### Литература

1. Бочкарева, Э.Б. Перспективный исходный материал озимого рапса для селекции сортов, устойчивых к фомозу / Э.Б. Бочкарева // Масличные культуры : науч.-техн. бюллетень Всероссийского науч.-исслед. института масличных культур. – 2006. – №1 (134). – С. 78-82.

2. Волуевич, Е.А. Генетика устойчивости рапса (*Brassica napus* L.) к фомозу / Е.А. Волуевич // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бiял. навук. – 2017. – № 1. – С. 101–118.

3. Гасич, Е.Л. Фомоз рапса / Е.Л. Гасич // Вестник защиты растений 1. – Санкт-Петербург – Пушкин, 2004. – С. 11–23.

4. Защита рапса / В.П. Федоренко [и др.]. – Защита и карантин растений. – 2008. – №3. – С. 76–83.

5. Койшыбаев, М. Методы создания провокационных и искусственных инфекционных фондов / М. Койшыбаев // Болезни пшеницы / М. Койшыбаев. – Анкара, 2018. – Гл. IV. – С. 309–328.

6. Методы экспериментальной микологии / И.А. Дудка [и др.]. – Киев: Наукова думка, 1982. – 550 с.

7. Михайлова, Л.А. Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis* / Л.А. Михайлова, Е.И. Гульятёва, Н.М. Кокорина // Микология и фитопатология. – 2002. – Т. 36, № 1. – С63-67.

8. Пилюк, Я.Э. Рапс в Беларуси (биология, селекция и технология возделывания) / Я.Э. Пилюк. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 239 с.

9. Привалов, Ф.И. Рапс – основная масличная культура Республики Беларусь / Ф.И. Привалов, Я.Э. Пилюк // Рапс: настоящее и будущее. К 30-летию возделывания рапса в Беларуси : матер. III Межд. науч.-практ. конференции, 15-16 сентября, г. Жодино / РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию». – Минск: ИВЦ Минфина, 2016. – С. 3–12.

10. Радченко, Е.Е. Методы работы с чистыми культурами грибов / Е.Е. Радченко, И.Г. Одицова // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам : метод. пособие / Рос. акад. с.-х. наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т растениеводства ; [Е.Е. Радченко и др.]. – М., 2008. – 417 с.

11. Саскевич, П.А. Эколого-биологическое обоснование защиты ярового рапса от вредителей, болезней и сорной растительности / П.А. Саскевич. – Горки : БГСХА, 2013. – С.17–48.

12. Пауль, Ф.Х. Рапс (Болезни. Вредители. Сорные растения) / Ф.Х. Пауль. – Минск : Дивимедиа, 2010. – С.30-36.

13. World-wide importance of Phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*) / B. D. L. Fitt [et al.] // *European Journal of Plant Pathology*. – 2006. – Vol. 114, no. 1. – P. 3–15.

14. Strategies to prevent spread of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape crops in China: costs and benefits / B. D. L. Fitt [et al.] // *Plant Pathology*. – 2008. – Vol. 57. – P. 652–664.

**EFFECT OF CULTIVATION CONDITIONS ON GROWTH RATE AND SPORE FORMATION RATE OF CAUSAL AGENT OF RAPESEED PHOMOSIS  
*PHOMA LINGAM (TODE) DESM.*  
E.S. Byk, M.N. Shashko, Y.E. Piliuk**

*The research results of studying of a rapeseed root canker pathogen (*Phoma lingam* Tode. Desm.) under laboratory conditions with the purpose of determination of optimum conditions of phomosis pathogen cultivation in order to receive the maximum spore bearing culture to make an inoculum for plants infection are described in the paper. The research revealed that the composition of the artificial growth medium had a greater influence on growth rate and colony diameter than lighting conditions. For *P. lingam* colony growth, V-4 and CGA were optimal media. For the spore formation process of the pathogen, the lighting regime was the determining factor. Sun lamps significantly enhanced the ability of the fungus to produce spores.*

УДК 632.4:633.367(476)

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ АНТРАКНОЗА  
ЛЮПИНА В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ**

**Ю.А. Дашкевич<sup>1</sup>**, научный сотрудник, **Ю.К. Шашко<sup>2</sup>**, доктор с.-х. наук

<sup>1</sup>РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»

<sup>2</sup>РУП «Институт почвоведения и агрохимии»

(Поступила 23.03.2022)

Рецензент: Шор В.Ч., кандидат с.-х. наук

**Аннотация.** В работе представлены результаты исследований по определению оптимальных питательных сред и условий культивирования возбудителя антракноза люпина (*Colletotrichum lupini*). Проведены наблюдения за характером и скоростью роста патогена, прорастанием спор и интенсивностью споруляции. Установлен оптимальный световой режим при культивировании возбудителя. Лабораторным методом определена агрессивность штаммов возбудителя антракноза на сорте люпина узколистного Миртан. Выявлено влияние инфекционного процесса на ростовые характеристики проростков люпина при инокуляции семян в споровой суспензии патогена.

Из всего комплекса болезней, встречающихся на люпине, наибольшую опасность представляет антракноз. Потери урожая в условиях сильной эпифи-