

7. Кекало, А.Ю. Защита зерновых культур от болезней / А.Ю. Кекало, В.В. Немченко, Н.Ю. Заргарян, М.Ю. Цыпышева. – Куртамыш: ООО «Куртамышская типография», 2017. – С. 172 (4).

8. Кононова, Т.В. Экономическая и агроэкологическая эффективность средств защиты озимых зерновых культур от болезней / Т.В. Кононова, С.В. Жиленко, А.В. Березнов // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2016. – № 2 (30). – С. 93–98.

9. Сорта, включенные в государственный реестр – основа высоких урожаев: характеристика сортов, включенных в Государственный реестр с 2019 года, часть XIV / ГУ «Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений». – Минск: ИВЦ Минфина, 2019. – С. 254.

10. Организационно-технологические нормативы возделывания зерновых, зернобобовых, крупяных культур : сб. отраслевых регламентов / Нац. акад. наук Беларуси, НПЦ НАН Беларуси по земледелию; рук. разраб. : Ф. И. Привалов [и др.]. – Минск: Беларус. навука, 2012. – С. 79–95.

11. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта с основами статистической обработки результатов исследований // Учебник для студентов высших с.-х. учебных заведений. – Москва: Агропромиздат, 1985. – С. 346.

FORMATION OF WINTER TRITICALE GRAIN YIELD DEPENDING ON THE LEVEL OF FUNGICIDE APPLICATION

V.V. Kot

The paper presents the results of the research on the formation of the yield of winter triticale variety Kovcheg depending on fungicidal plant protection options under the conditions of the central part of Belarus. It was established that the highest grain yield of winter triticale on average over the years of the research was obtained with the protection of the flag leaf with the fungicide Elatus RIA, EC and protection of the ear with Magnello, EC – 84.3 c/ha. The increase to the control variant was 12.4 c/ha due to the formation of the number of grains in the ear and the 1000-grain weight. That technique made it possible to form the maximum number of grains per ear – 40.8 pcs. and the 1000-grain weight – 38.2 g.

УДК 632.48

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ РИЗОКТОНИОЗНОЙ КОРНЕВОЙ И ПРИКОРНЕВОЙ ГНИЛЕЙ RHIZOCTONIA SP. В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Ю.А. Сущевич, М.В. Подорский, кандидаты с.-х. наук,

М.В. Кадырова, научный сотрудник

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»

г. Жодино, Республика Беларусь

(Дата поступления статьи в редакцию 02.05.2024)

Рецензент: Буштевич В.Н., кандидат с.-х. наук

Аннотация. В статье изложены результаты исследований по изучению условий культивирования грибов рода *Rhizoctonia* sp. для наработки инфекции-

онного материала и адаптации методов искусственного заражения растений озимой пшеницы патогеном в лабораторных условиях. Изучены питательные среды и зерновые субстраты с различным составом. В результате проведенных исследований выявлено, что наиболее благоприятной питательной средой для роста грибов рода *Rhizoctonia* sp. является дрожжевой агар. В качестве зернового субстрата для наработки инфекционного материала *Rhizoctonia* sp. рекомендуется использовать зерно проса в чистом виде и смесей, в состав которых входит зерно пшеницы. Для проведения оценки селекционного материала озимой пшеницы к ризоктониозу в лабораторных условиях в качестве субстрата предлагается использовать смесь инфекционного материала и стерильного песка.

Введение

Из возделываемых в Беларуси зерновых культур озимая пшеница является наиболее ценной продовольственной культурой и занимает все более значимое место в обеспечении потребности республики в зерне. Одним из факторов, дестабилизирующих производство зерна, является поражение растений возбудителями болезней, которые являются причиной существенных потерь урожая. В последние годы прослеживается тенденция к насыщению севооборотов зерновыми культурами, в том числе и озимой пшеницей, глубокая вспашка заменяется поверхностной обработкой почвы с недостаточной заделкой пожнивных остатков, часто наблюдаются весенне-летние засухи. Весь этот комплекс неблагоприятных факторов способствует распространению грибных заболеваний. Наряду с листовыми пятнистостями и болезнями колоса все большую вредоносность приобретают корневые и прикорневые гнили различной этиологии. В последнее время отмечается присутствие в посевах озимой пшеницы ризоктониозной корневой и прикорневой гнилей, что связано с климатическими изменениями, в первую очередь – мягкими погодными условиями в период зимовки культуры, а также высоким уровнем насыщения севооборотов зерновыми культурами.

Ризоктониозная корневая и прикорневая гнили (окаймленная глазковая пятнистость) вызываются патогенными грибами рода *Rhizoctonia* – *Rh. solani* J.G. Kühn (телеоморфа *Thanatephorus cucumeris* A.B. Frank Donk) и *Rh. cerealis* E. P. Høeften (телеоморфа *Ceratobasidium cereale* D.I. Murray and Burpee). Заболеванию, распространенному в Европе, Азии, Америке, Африке, Австралии подвержены многие злаковые культуры: пшеница, ячмень, рожь, тритикале, овес, многолетние травы, а также кукуруза [1, 3, 4, 5]. Борьба с ризоктониозом затруднена в связи с особенностями биологии возбудителя, сохранением его в почве и на растительных остатках, широким кругом растений-хозяев [14].

У озимой пшеницы патоген поражает корни и прикорневую часть. Пораженные органы размягчаются, буреют, корни обламываются иглообразно. В нижней части стебля (на 2–3 нижних междоузлиях) образуются глазковидные пятна с резко очерченным темно-коричневым или темно-бурым ободком, в центре кремовой или белесой окраски. Сливаясь, пятна окольцовывают стебель

и придают ему мраморную окраску. Сильное поражение приводит к надламыванию стебля и полеганию растений. Снижение продуктивности выражается в уменьшении числа зерен в колосе, массы тысячи зерен [7, 13]. Потери урожая пшеницы от ризоктониозной корневой гнили в различных регионах мира могут достигать 30–50 % [4].

В последние годы отмечено присутствие ризоктониоза в комплексе возбудителей корневой и прикорневой гнилей озимой пшеницы на территории Беларуси [9].

В связи с этим несомненный интерес и актуальность представляет более подробное изучение особенностей культивирования грибов рода *Rhizoctonia* sp. с целью изучения реакции селекционных образцов на заражение патогеном в лабораторных условиях. Это, в свою очередь, позволит ускорить селекционный процесс на устойчивость озимой пшеницы к ризоктониозной корневой и прикорневой гнилям за счет проведения исследований в зимний период и увеличения количества оцениваемого материала.

Целью нашей работы было подобрать условия культивирования грибов рода *Rhizoctonia* sp. для наработки инфекционного материала и метод искусственного заражения растений озимой пшеницы патогеном в условиях лаборатории.

Материалы и методы

Исследования проводили в 2023–2024 гг. в лаборатории иммунитета РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». Инфекционный материал собирали на опытных полях и в производственных посевах озимой пшеницы. Выделение гриба в чистую культуру проводили по общепринятой методике [10].

При подборе оптимальной питательной среды для культивирования грибов рода *Rhizoctonia* sp. анализировали линейный рост мицелия путем измерения диаметра колоний на следующих средах:

картофельно-глюкозный агар (КГА) (картофель – 200 г, глюкоза – 20 г, агар – 20 г, дистиллированная вода – 1000 мл) [12];

дрожжевой агар (дрожжевой экстракт – 5 г, сахароза – 5 г, агар – 7,5 г, дистиллированная вода – 500 мл) [8];

среда Чапека (KH_2PO_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, KCl – 0,5 г, NaNO_3 – 3,0 г, сахароза – 30 г, агар – 15 г, дистиллированная вода – 1000 мл) [12];

соломенный агар (50 г пшеничной соломы, глюкоза – 20 г, агар – 20 г, дистиллированная вода – 1000 мл) [11].

Посев гриба производили точечно в центр чашки Петри со слоем среды одинаковой толщины, используя исходную культуру с однородной плотностью инокулома. Чашки помещали в термостат при температуре + 24 °С.

Диаметр колоний измеряли в двух взаимно перпендикулярных направлениях в 4-х повторностях на 6 сутки культивирования.

С целью наработки в кратчайшие сроки инфекционного материала оценивали зерновые субстраты следующего состава:

- овес;
- просо + овес;
- просо + овес + пшеница;
- просо;
- просо + пшеница;
- овес + пшеница.

Просеянную садовую почву и промытый речной песок, необходимые для изучения методов заражения проростков озимой пшеницы в лабораторных условиях, предварительно дважды стерилизовали при 120 °С в сушильном шкафу в течение часа [10].

Результаты исследований и обсуждение

Ввиду того, что гриб *Rhizoctonia sp.* характеризуется отсутствием спороношения, оценку влияния состава питательной среды на рост колоний проводили, измеряя диаметр колонии (рисунок 1).

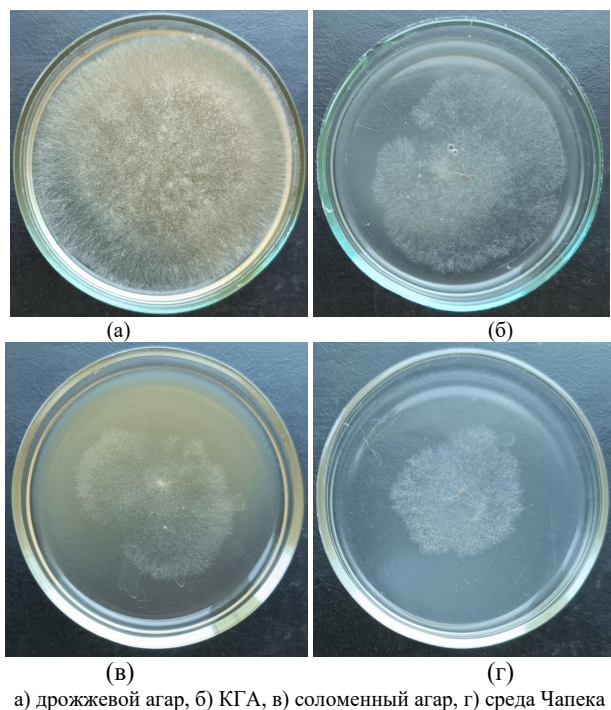


Рисунок 1. Культура гриба *Rhizoctonia sp.* на различных питательных средах

При выращивании на дрожжевом агаре колонии изучаемого гриба занимали всю доступную поверхность питательной среды в чашке Петри на 6-е сутки культивирования, диаметр колонии составил 89,0 мм, площадь – 62,2 см². Диаметр колоний патогена на КГА, соломенном агаре и среде Чапека составлял 64,3, 48,0 и 32,5 мм, площадь – 32,6, 18,1 и 8,3 см² соответственно (таблица 1).

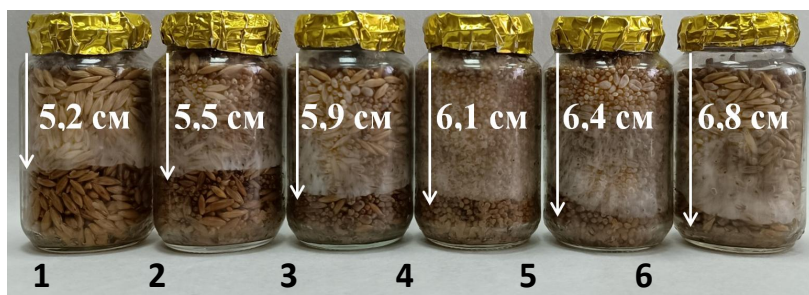
Таблица 1. Влияние состава питательной среды на рост *Rhizoctonia sp.*

Среда	Диаметр колонии, мм	Площадь колонии на 6-е сутки, см ²
Дрожжевой агар	89,0	62,2
КГА	64,3	32,6
Соломенный агар	48,0	18,1
Среда Чапека	32,5	8,3
НСР ₀₅	19,9	

Исходя из полученных данных, оптимальной питательной средой для культивирования патогена является дрожжевой агар, так как диаметр колонии гриба статистически достоверно превышал другие варианты.

При проведении массовой оценки селекционных образцов необходимо наличие большого количества инфекционного материала, наработанного на зерновом субстрате. Для этой цели используют зерно овса, пшеницы, проса и других зерновых культур. Были оценены зерновые субстраты различного состава для наработки инфекционного материала *Rhizoctonia sp.* (рисунок 2). При использовании смеси зерна различных культур брали их в равных по весу количествах.

Установлено, что заполнение сосудов мицелием гриба идет более интенсивно на просяном субстрате и субстратах с добавлением зерна пшеницы.



1 – овес, 2 – просо + овес, 3 – просо + овес + пшеница, 4 – просо, 5 – просо + пшеница, 6 – овес + пшеница

Рисунок 2. Заполнение сосудов с зерновым субстратом грибом *Rhizoctonia sp.*

Важным этапом при оценке селекционного материала к болезням в лабораторных условиях является инокуляция патогеном. Существуют различные спо-

события проведения искусственного заражения растений возбудителями, вызывающими корневую и прикорневую гнили.

Было проведено сравнение нескольких вариантов инокуляции проростков озимой пшеницы грибами рода *Rhizoctonia* sp.:

- агаровый диск с 14-дневной чистой культурой гриба помещали на поверхность стерильной почвы, вокруг раскладывали семена и засыпали почвой слоем 0,5–1,0 см [6];

- измельченный инокулом, наработанный на зерновом субстрате, равномерно вносили в стерильную почву на глубину заделки семян [6];

- измельченный инокулом, наработанный на зерновом субстрате, смешивали со стерильной почвой, раскладывали семена и засыпали почвой [2];

- измельченный инокулом, наработанный на зерновом субстрате, смешивали со стерильным песком, раскладывали семена и засыпали песком [6].

В качестве контрольных использовали варианты с посевом семян в стерильные почву и песок без внесения инфекции.

Инокулом на зерновом субстрате вносили из расчета 17 граммов на 1 кг почвы (песка). Количество инокулюма определили, учитывая агрессивность изолятов гриба и чувствительность к ним тест-набора сортов озимой пшеницы [3, 6].

Семена предварительно дезинфицировали и проращивали. Для этого навеску семян промывали в воде с ПАВ (средство для мытья посуды) в течение 1 мин., затем помещали в 5%-й раствор хлорсодержащего средства «Белизна» на 5 мин и промывали стерильной водой. При использовании этого способа всхожесть семян не снижалась. Затем семена на сутки помещали в стерильные чашки Петри на увлажненную фильтровальную бумагу для проращивания.

Для посева использовали пластиковые сосуды равного объема, почву либо песок в которых равномерно увлажняли одинаковым количеством стерильной воды. После появления всходов сосуды помещали в светоустановку с лампами дневного света.

Согласно литературным источникам, при заражении ризоктонией у растений могут отсутствовать или быть слабо выражены симптомы заболевания. В этом случае оценку устойчивости сортов к ризоктониозу представляется возможным проводить по степени ингибирования роста и развития проростков, зараженных патогеном, по сравнению с контрольным вариантом без заражения [2, 4, 6]. В наших опытах в качестве индикаторных показателей влияния *Rhizoctonia* sp. на растения являются длина первичного корня и ростка на 6-е сутки после посева.

Согласно данным, представленным в таблице 2, все изученные способы инокуляции вызывали снижение ростовых характеристик растений озимой пшеницы. Длина первичного корня составила 11,2–86,4 %, а длина ростка 54,6–93,6 % от контроля. Инокуляция в вариантах 4 и 6, где инфекция путем тщательного перемешивания была равномерно распределена по всему объему субстрата (почвы и песка), привела к статистически достоверному уменьшению

обоих показателей. Использование данных вариантов инокуляции позволит дифференцировать генотипы озимой пшеницы по чувствительности к патогену.

Таблица 2. Влияние способов инокуляции *Rhizoctonia* sp. на ростовые характеристики проростков озимой пшеницы (сорт Вилора)

Вариант	Длина первичного корня		Длина роста	
	см	% к контролю	см	% к контролю
Почва				
Контроль (без заражения)	16,9±2,6	100,0	21,8±1,1	100,0
Агаровый диск с культурой гриба	13,3±0,9*	78,7	20,4±0,9	93,6
Инокулом на глубине заделки семян	14,6±1,9	86,4	13,1±1,9*	60,1
Инокулом смешан с почвой	10,4±1,5*	61,5	11,9±1,9*	54,6
Песок				
Контроль (без заражения)	12,5±1,5	100,0	13,5±1,4	100,0
Инокулом смешан с песком	1,4±0,3*	11,2	7,8±1,0*	57,8

Примечание: * – статистически достоверное отличие по отношению к контролю

Более удобным представляется использование песка, так как в этом случае корни растений легче отмываются от субстрата, что облегчит работу при оценке большого количества селекционного материала.

Выводы

1. Оптимальной питательной средой для роста грибов рода *Rhizoctonia* sp. является дрожжевой агар, так как диаметр колонии на данной среде статистически достоверно превышал другие варианты.

2. Для наработки инфекционного материала *Rhizoctonia* sp. в качестве зернового субстрата предпочтительно использовать зерно проса в чистом виде и смеси с добавлением зерна пшеницы (овес + пшеница, просо + пшеница, просо + овес + пшеница).

3. Для дифференцированной оценки селекционного материала озимой пшеницы к ризоктониозу в лабораторных условиях в качестве субстрата рекомендуется использовать смесь инфекционного материала и стерильного песка из расчета 17 грамм на 1 кг песка.

Литература

1. Kucharska, K. Pathogenicity and Fungicide Sensitivity of *Rhizoctonia solani* and *R. cerealis* Isolates / K. Kucharska, B. Katulski, K. Goriewa, A. Duba, U. Wachowska // *Gesunde Pflanzen*. – 2018. – Vol. 70. – P. 13–19
2. Schneebeilab, K. *Brachypodium distachyon* is a pathosystem model for the study of the wheat disease *rhizoctonia* root rot / K. Schneebeilab, U. Mathesius, M. Watta. – *Plant Pathology*. – 2015. – Vol. 64. – P. 91–100
3. Screening Winter Wheat Genotypes for Resistance Traits against *Rhizoctonia cerealis* and *Rhizoctonia solani* Infection [Electronic resource] / Karol Lisiecki, Grzegorz Lemańczyk, Dariusz Piesik, Chris A. – *Mayhew Agriculture* 2022. – 1981. – Mode of access: <https://doi.org/10.3390/agriculture12121981>. – Date of access: 26.04.2024

4. Susceptibility of Wheat Varieties to Soil-Borne Rhizoctonia Infection [Electronic resource] / Gyula Oros, Zoltán Naár, Donát Magyar. – American Journal of Plant Sciences. – 2013. – Vol. 4. – P. 2240–2258. – Mode of access: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.411277>. – Date of access: 26.04.2024

5. Xiuliang, Zhu. The Wheat Ethylene Response Factor Transcription Factor PATHOGEN-INDUCED ERF1 Mediates Host Responses to Both the Necrotrophic Pathogen Rhizoctonia cerealis and Freezing Stresses / Xiuliang Zhu, Lin Qi, Xin Liu, Shibin Cai, Huijun Xu, Rongfeng Huang, Jiarui Li, Xuening Wei, Zengyan Zhang // Plant Physiology. – 2014. – Vol. 164. – P. 1499–1514

6. Бабаянц, Л. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ : метод. руковод. / Л. Бабаянц [и др.]. – Прага. – 1988. – 322 с.

7. Диагностика основных грибных болезней хлебных злаков: метод. рекомен. / Т.И. Ишкова [и др.]. – 3-е изд., испр. – Санкт-Петербург: ВИЗР. – 2008. – 76 с.

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

9. Крупенько, Н.А. Фитопатологическая ситуация в посевах озимой пшеницы в 2021–2021 гг. и особенности защиты культуры от болезней в Беларуси / Н.А. Крупенько // Защита и карантин растений. – 2022. – № 7. – С. 19–25.

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

11. Подорский, М.В. Желтая пятнистость пшеницы *P. tritici-repentis* / М.В. Подорский [и др.] // Земледелие и селекция в Беларуси: сб. научн. трудов / НПЦ НАН Беларуси по земледелию; под ред. Ф.И. Привалова [и др.]. – Минск: ИВЦ Минфина, 2016. – Вып. 52. – С. 119–124

12. Радченко, Е.Е. Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам : метод. пособие / Е.Е. Радченко [и др.]. – М.: Рос. акад. с.-х. наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т растениеводства. – 2008. – 417 с.

13. Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки [Электронный ресурс] / Симферополь : ИТ «АРИАЛ». – 2022. – Режим доступа: https://conf.niishk.site/data/documents/Materialy-konferencii_2022.pdf?ysclid=lvky4693o2192288983. – Дата доступа: 26.04.2024

14. Тютюрев, С. Л. Краткая характеристика наиболее опасных болезней / С. Л. Тютюрев // Защита и карантин растений: протравливание семян зерновых колосовых культур: приложение. – 2001. – №3. – С. 91(3)–99(11).

SOME METHODOLOGICAL ASPECTS OF CULTIVATION OF RHIZOCTONIA SP. PATHOGEN UNDER LABORATORY CONDITIONS

Y.A. Suschevich, M.V. Podorsky, M.V. Kadyrova

The article presents the results of research on studying the cultivation conditions of fungi of Rhizoctonia sp. genus for the development of infectious material and adaptation of techniques of artificial infection of winter wheat plants with the pathogen under laboratory conditions. Nutrient media and grain substrates with different composition were studied. As a result of the studies it was revealed that the most favourable nutrient medium for the growth of fungi of Rhizoctonia sp. genus is yeast agar. For obtaining a grain substrate for the development of Rhizoctonia sp. infectious material, it is recommended to use pure millet grain and mixtures that include wheat grain. For evaluation of winter wheat breeding material to Rhizoctonia sp. disease under laboratory conditions, it is suggested to use a mixture of infectious material and sterile sand as a substrate.