

# МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КАГАТНОЙ ГНИЛИ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

А.В. Свиридов, кандидат с.-х. наук, С.С. Зенчик  
Гродненский государственный аграрный университет

(Дата поступления статьи в редакцию 15.02.2012)

Возбудителями кагатной гнили являются грибы *Phoma betae*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium eguisei*, *Verticillium spp.*, *Alternaria tenuis*, *Sclerotinia sclerotiorum*. Для развития патогенов в чистой культуре *P. betae*, *F. eguisei* и *S. sclerotiorum* оптимальной является температура 20°C, а для *F. culmorum*, *Verticillium spp.* и *A. tenuis* - 22°C. Относительная влажность воздуха прямо пропорционально влияет на интенсивность развития мицелия возбудителей кагатной гнили. Грибы *A. tenuis* и *S. sclerotiorum* лучше развиваются при pH=5, а *P. betae*, *F. culmorum*, *F. eguisei* и *Verticillium spp.* - pH=6. Конидии возбудителей кагатной гнили корнеплодов столовой свеклы прорастают интенсивно в капельно-жидкой влаге и наиболее благоприятные условия для этого процесса складываются при температуре окружающей среды +20 - +25°C, для заражения ткани корнеплода столовой свеклы - 18 - 20°C.

## Введение

Кагатная гниль является одной из наиболее распространенных болезней корнеплодов во время их длительного хранения. Разложение или гниение корнеплодов вызывается большим количеством микроорганизмов, в состав которых входит свыше 200 различных видов грибов и 60 видов бактерий. Состав возбудителей кагатной гнили зависит от географического положения района свеклосеяния [1]. По данным З.А. Пожар, 74,9-91,6% патогенной флоры составляют грибы [2]. В конце хранения наблюдается также значительное количество видов и форм вторичной микрофлоры.

В литературе имеются сведения об изучении видового состава возбудителей кагатной гнили на сахарной свекле в условиях Республики Беларусь [3]. На столовой свекле в 2002 г. А.В. Свиридовым и П.В. Баяром было выделено 19 изолятов микроорганизмов с различной степенью патогенности по отношению к корнеплодам столовой свеклы [4]. Однако с изменением технологии возделывания этой культуры, эмиссией сортов зарубежной селекции в нашу страну, изменением природно-климатических условий, интенсивным применением пестицидов происходит постоянное изменение видового состава патогенов, повышение их агрессивности. В связи с этим, нами поставлена задача изучить видовой состав, морфологические и экологические особенности возбудителей кагатной гнили корнеплодов столовой свеклы в условиях Республики Беларусь, что позволит целенаправленно разрабатывать защитные мероприятия против этого заболевания.

## Материал и методика исследований

Исследования проведены на кафедре энтомологии и биологической защиты растений и в аналитической лаборатории УО "ГГАУ" в 2009-2011 гг.

Для выделения чистых культур возбудителей кагатной гнили брали корнеплоды столовой свеклы с признаками заболевания. Поверхность пораженных корнеплодов первоначально промывали в дистиллированной воде, а затем дезинфицировали 90% техническим этиловым спиртом. Продезинфицированные корнеплоды помещали во влажную камеру. При появлении налета здоровой и пораженной тканью корнеплода мицелий высевали на агаризованную картофельную среду.

Видовой состав возбудителей кагатной гнили определяли путем микроскопирования [5]. Для подтверждения видо-

*The clamp rot agents are represented by such fungi as Phoma betae, Fusarium culmorum, Fusarium eguisei, Verticillium spp., Alternaria tenuis, Sclerotinia sclerotiorum. The optimum temperature conditions for clamp rot fungi development into pure crop comprise 20°C - for S. sclerotiorum, P. betae, F. eguisei; 22°C for F. culmorum, Verticillium spp. and A. tenuis. Relative air humidity has a direct effect on the intensity of clamp rot agents development. Thus A. tenuis and S. sclerotiorum develop faster under the pH=5; P. betae, F. culmorum, F. eguisei and Verticillium spp. need the pH=6. Clamp rot agents conidia of red beet roots grow rapidly in the drip-liquid moisture conditions and the most favorable conditions for this process are possible at ambient temperature +20 - +25°C; to infect red root beet tissues - 18 - 20°C.*

вого состава грибов рода *Fusarium* выделенные изоляты были переданы в Берлинский и Боннский университеты. Мы выражаем благодарность госпоже Х. Нюренберг и господину Erich-Christian Oerke за оказанную помощь в подтверждении видового состава выделенных грибов.

Окраску колоний и среды устанавливали по шкале А.С. Бондарцева [6]. Патогенность выделенных видов определяли путем искусственного заражения корнеплодов столовой свеклы сорта Прыгажуна по методике Л.В. Сазоновой и др. с последующей реинокуляцией в чистую культуру [7]. Для определения диаметра мицелия, размера спор, длины ростков проросших конидий использовали компьютерную систему «Биоскан» (Республика Беларусь) на базе микроскопа ЛОМО МИКМЕД-2 и цветной цифровой видеокамеры PHILIPS HIP-7830 под управлением операционной системы Windows.

Изучение морфологических и культуральных особенностей популяции выделенных патогенов осуществляли по общепринятым в фитопатологии методикам [8,9,10,11].

Значение температуры для роста грибов определяли выдерживанием патогенов в камере хладотермостата ХТ - 3/70-1 при температуре от 0 до +35°C. Исследования проводили на 6 возбудителях кагатной гнили в 4-кратной повторности. Диаметр колонии определяли на 5-е сутки [8].

Влияние относительной влажности воздуха на рост вегетативного тела патогенов определяли в атмосфере, создаваемой над водным раствором солей NaCl, KCl, KNO<sub>3</sub> и дистиллированной воды при температуре 22°C [8]. Роль pH среды в развитии гриба выясняли путем добавления к ней расчетных количеств 10% раствора NaOH и 10% раствора HCl [8].

Патогены выращивали на картофельно-глюкозной среде в термостате при температуре 22°C. Для инокуляции корнеплодов спорообразующими грибами использовали 10-12-дневную культуру в момент массового образования спор. Титр рабочей суспензии определяли с помощью камеры Горяева.

Грибом *S. sclerotiorum*, который не образует конидий, заражение ломтиков корнеплодов проводили кусочками мицелия 5x5 мм 10-дневной культуры гриба. Зараженные корнеплоды помещались в стерильные эксикаторы на увлажненную фильтровальную бумагу.

Степень течения инфекционного процесса учитывали на 10 сутки по разработанным нами шкалам (таблица 1, 2) [12].

Таблица 1 - Шкала учета степени поражения ткани корнеплодов грибами *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti* и *Verticillium* spp.

Балл поражения	Симптомы поражения
0	не поражается
1	степень поражения ткани ломтика до 5%
2	степень поражения ткани ломтика от 5,1% до 10%
3	степень поражения ткани ломтика от 10,1% до 15%
4	степень поражения ткани ломтика от 15,1% до 20%
5	степень поражения ткани ломтика от 20,1% и более

Для статистической обработки экспериментальных данных применяли методы дисперсионного и корреляционного анализов с использованием критерия Стьюдента «t» и наименьшей существенной разности «НСР<sub>0,05</sub>» [13,14,15]. Расчеты проводили с использованием ПЭВМ.

#### Результаты исследований и их обсуждение

Из пораженных тканей корнеплодов столовой свеклы выделены следующие грибы: *Phoma betae* Frank, *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc, *Fusarium equiseti* Schlecht, *Verticillium* spp., *Alternaria tenuis* Nees, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary.

В результате проведенных исследований установлено, что возбудители кагатной гнили имеют разный диаметр мицелия и различную окраску колоний. Наибольший диаметр мицелия 1,8 мкм формировали *S. sclerotiorum*, *F. equiseti* и *A. tenuis* (таблица 3).

Гриб *P. betae* на питательной среде образует свинцово-серые колонии. Окраска среды - темно-зеленая. *F. culmorum* формировал колонию малинового цвета и окрашивал среду в красный цвет. *F. equiseti* на питательной среде образует пышный мицелий белого цвета. Среда - желтого цвета. С возрастом культура становится кремового цвета. *A. tenuis* на картофельной среде образует оливково-серые колонии и окрашивает среду в черный цвет. *S. sclerotiorum*

Таблица 2 - Шкала учета степени поражения ткани корнеплодов грибами *Phoma betae*, *Alternaria tenuis* и *Sclerotinia sclerotiorum*

Балл поражения	Симптомы поражения
0	не поражается
1	степень поражения ткани ломтика до 10%
2	степень поражения ткани ломтика от 10,1% до 20%
3	степень поражения ткани ломтика от 20,1% до 30%
4	степень поражения ткани ломтика 30,1% до 40%
5	степень поражения ткани ломтика от 40,1% и более

сформировал колонию мицелия белой окраски с голубовато-зеленой окраской среды.

Важное значение для диагностики вида имеют и такие морфологические особенности, как форма, цвет и размер конидий, наличие у них поперечных и продольных перегородок, способность патогенов формировать хламидоспоры, пикниды, склероции. Так, *P. betae* на поверхности мицелия формирует пикниды размером 257,4 мкм. Они шаровидно-приплюснутые, от светло- до темно-коричневых. В пикнидах образуются овальные или яйцевидные, одноклеточные, бесцветные пикноспоры размером 4,4 x 2,7 мкм.

*F. culmorum* на питательной среде формирует пышный мицелий. На нем образуются короткие бесцветные конидии-еносцы. Макроконидии серповидные размером 12,7 x 2,2 мкм, бесцветные, с 3-5 поперечными перегородками. Микроконидии размером 4,1 x 1,4 мкм, бесцветные, одноклеточные, овальные (таблица 4).

Конидиальное спороношение гриба *Verticillium* spp. представлено мутновато-разветвленными конидиеносцами - одноклеточными, овально-округлой формы бесцветными конидиями, размером 1,7 мкм.

*F. equiseti* на мицелии образует бесцветные конидии. Макроконидии веретеновидно-серповидные размером 9,5 x 1,3 мкм, с 3-5 поперечными перегородками. Микроконидии размером 4,3 x 1,6 мкм, одноклеточные, овальные. *F. equiseti* может формировать большое количество одноклеточных

Таблица 3 - Морфологические особенности возбудителей кагатной гнили

Возбудитель	Диаметр мицелия, мкм	Окраска	
		колонии	среды
<i>P. betae</i>	1,7±0,09	свинцово-серая	темно-зеленая
<i>F. culmorum</i>	1,6±0,07	малиновая	красная
<i>F. equiseti</i>	1,8±0,04	белая	желтая
<i>Verticillium</i> spp.	1,1±0,04	желтоватая	желтая
<i>A. tenuis</i>	1,8±0,08	оливково-серая	черная
<i>S. sclerotiorum</i>	1,8±0,03	белая	голубовато-зеленая

Таблица 4 - Размеры конидий, хламидоспор, пикнид, склероциев возбудителей кагатной гнили

Возбудитель	Конидии, мкм	Хламидоспоры, мкм	Пикниды, мкм	Склероции, мм
<i>Phoma betae</i>	4,4±0,18 x 2,7±0,11	-	257,4±8,91	-
<i>Fusarium culmorum</i>	1,7±0,11	-	-	-
<i>Fusarium equiseti</i>	7,4 ±0,41 x 3,6±0,20	-	-	-
<i>Verticillium</i> spp.	-	-	-	2-4
	Макроконидии, мкм	Микроконидии, мкм	-	-
<i>Alternaria tenuis</i>	12,7±0,37 x 2,2±0,07	4,1±0,12 x 1,4±0,04	-	-
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	9,6±0,32 x 1,3±0,05	4,3±0,13 x 1,6±0,03	4,1±0,14	-

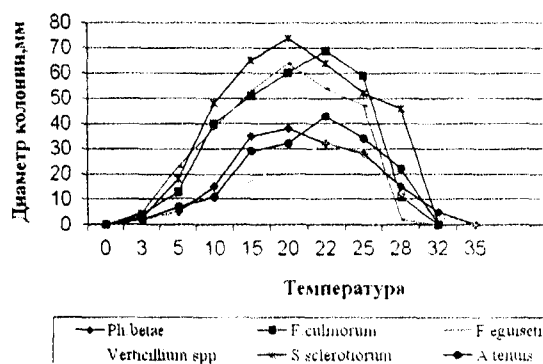


Рисунок 1 - Влияние температуры на рост колоний возбудителей кагатной гнили

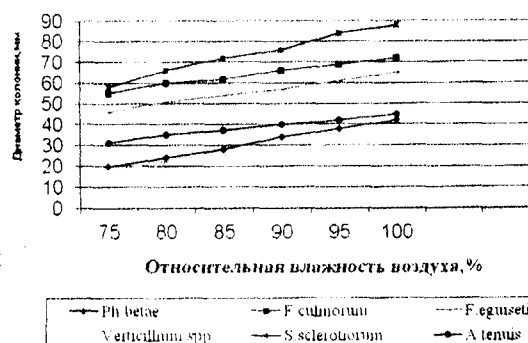


Рисунок 2 - Влияние относительной влажности на рост колоний возбудителей кагатной гнили

точных, коричневых, овально-округлых, гладких хламидоспор размером 4,1 мкм.

Мицелий гриба *A. tenuis* многоклеточный, темного цвета. На нем образуются простые конидиеносцы. Конидии многоклеточные, коричневого цвета, размером 7,4 x 3,6 мкм, обратнобулавовидной формы, с короткой ножкой, имеющие как продольные, так и поперечные перегородки.

*S. sclerotiorum* на поверхности питательной среды образует стелющийся мицелий. На грибнице первоначально закладываются склероции белого цвета размером 2-4 мм с блестящими капельками воды на поверхности. В последствии склероции приобретают черный цвет. Конидиальное спороношение у гриба отсутствует.

Одним из важных факторов, лимитирующих возможность прорастания спор патогенов с последующим заражением корнеплодов, является температура окружающей среды.

В ходе лабораторного опыта была прослежена динамика роста колоний изучаемых патогенов в зависимости от температуры окружающей среды (рисунок 1).

В результате исследований установлено, что развитие патогенов возможно в широких температурных пределах, начиная с 3°C до 32°C. Для грибов *P. betae*, *F. equiseti* и *S. sclerotiorum* температурный оптимум лежит в пределах 20°C, а для *F. culmorum*, *Verticillium spp.* и *A. tenuis* - 22°C.

Другим важным условием, определяющим жизнеспособность возбудителей кагатной гнили, является относительная влажность воздуха.

Нами испытано действие разных уровней относительной влажности воздуха на рост мицелия возбудителей кагатной гнили - от 75 до 100% (рисунок 2).

Выявлено, что интенсивность развития мицелия возбудителей кагатной гнили находится в прямой корреляционной зависимости от относительной влажности воздуха - чем выше относительная влажность воздуха, тем активнее развиваются грибы.

Учитывая то, что часть жизненного цикла возбудителей кагатной гнили корнеплодов столовой свеклы протекает в почве, на развитие патогенов в период вегетации оказывают влияние почвенные условия, в том числе и уровень pH почвенного раствора. Нами изучено влияние различных

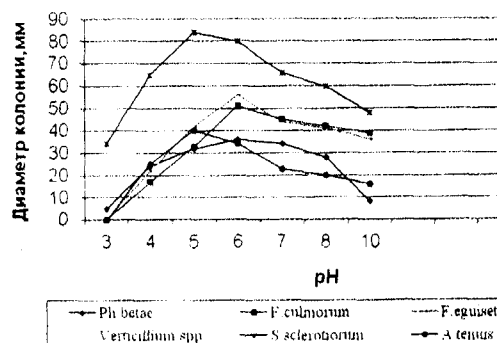


Рисунок 3 - Влияние pH на рост колоний возбудителей кагатной гнили

уровней pH (от 3 до 10) на рост мицелия возбудителей кагатной гнили в чистой культуре (рисунок 3).

Установлено, что наиболее интенсивное развитие мицелия грибов *A. tenuis* и *S. sclerotiorum* наблюдается при pH=5, а *P. betae*, *F. culmorum*, *F. equiseti* и *Verticillium spp.* - при pH=6.

В комплексе факторов, оказывающих влияние на взаимоотношения, складывающиеся между возбудителями кагатной гнили и корнеплодами столовой свеклы, большое значение имеет температура и относительная влажность воздуха. Температура окружающей среды влияет на скорость заражения и развитие болезни, а от влажности зависит сама возможность инфекции корнеплодов. Несмотря на то, что влажность важна лишь при прорастании спор и внедрении патогенов в ткани, роль ее в инфекционном процессе значительна.

Представляло интерес изучить влияние относительной влажности воздуха, капельно-жидкой влаги на прорастание конидий возбудителей кагатной гнили. Результаты исследований представлены в таблице 5.

Из полученных данных видно, что конидии возбудителей кагатной гнили корнеплодов столовой свеклы прорастают наиболее интенсивно в капельно-жидкой влаге, и лишь не-

Таблица 5 - Влияние относительной влажности воздуха и капельно-жидкой влаги на прорастание конидий (в % через 24 часа)

Возбудитель	Относительная влажность воздуха, %						Капельно-жидкая влага
	75	80	85	90	95	100	
	проросших конидий, %						
<i>P. betae</i>	0	0	0	0	0	6	30
<i>F. culmorum</i>	0	0	0	0	0	12	98
<i>A. tenuis</i>	0	0	0	0	0	8	82

Таблица 6 - Влияние температуры на прорастание конидий *P. betae*, *F. culmorum* и *A. tenuis*

Показатель	Температура, °C										
	0	2	5	10	15	20	22	25	30	32	35
<i>P. betae</i>											
1*	0	14	10	8	6	3	4	6	8	12	0
2*	0	4	10	15	21	30	26	24	12	6	0
3*	0	6,9±0,6	15,6±0,5	27,5±1,0	37,7±0,9	51,5±1,1	41,3±1,1	35,1±0,9	16,6±0,6	7,3±0,6	0
<i>F. culmorum</i>											
1*	0	22	18	13	10	6	4	5	8	18	0
2*	0	3	16	34	69	82	96	84	62	4	0
3*	0	8,9±0,7	20,5±0,8	39,8±1,1	83,9±2,3	120,1±1,5	228,3±2,5	201,4±1,7	61,1±1,5	12,1±0,8	0
<i>A. tenuis</i>											
1*	0	18	14	12	8	5	4	5	7	14	0
2*	0	8	24	32	40	48	78	50	35	22	0
3*	0	9,8±0,6	18,3±0,9	28,5±0,9	39,5±1,0	121,2±1,4	184,7±1,8	127,2±1,5	26,9±1,2	11,9±0,7	0

Примечание - 1\* - начало прорастания конидий, часов; 2\* - проросло конидий, %; 3\* - длина ростков, мкм.

значительная их часть - при относительной влажности воздуха 100%.

Изучено также влияние температуры окружающей среды на прорастание конидий *P. betae*, *F. culmorum* и *A. tenuis*. Результаты исследования представлены в таблице 6.

Прорастание конидий и длина ростков *P. betae* зависит от температуры окружающей среды: наиболее благоприятные условия для этого патогена складываются при 20°C. В этом случае прорастает 30% спор, а длина ростков через 24 часа составляет 51,5 мкм.

Установлено, что для прорастания конидий *F. culmorum* оптимальной является температура 22°C. В этом случае отдельные конидии дают росток уже через 4 часа. Прорастает одна, чаще крайняя, или одновременно 2-3 клетки конидии. Каждая из них дает только один бесцветный росток. Через 24 часа при температуре 22°C прорастает 96% конидий, а длина ростков составляет 228,3 мкм (таблица 6).

Конидии гриба *A. tenuis* способны давать росток в пределах температур от 2 до 32°C. Скорость прорастания и длина проросших ростков также зависит от температуры окружающей среды. Оптимум для прорастания конидий *A. tenuis* - 22°C. При такой температуре через 24 часа прорастает 78% спор, а длина ростков составляет 184,7 мкм (таблица 6).

Температура является одним из регулирующих факторов в развитии инфекционного процесса, так как её действие сказывается как на патогене, так и на растении-хозяине и их взаимоотношениях. Она влияет на жизнеспособность конидий, скорость их прорастания, образование ростовых трубок, длину инкубационного периода. Изучено влияние температуры воздуха на интенсивность поражения ткани корнеплодов столовой свеклы (таблица 7).

Выявлено, что низкие положительные температуры (3-5°C), к которым растения столовой свеклы адаптирова-

ны, ингибируют развитие возбудителей кагатной гнили. Оптимальной температурой для заражения корнеплодов является 18-20°C.

#### Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований, считаем целесообразным сделать следующие выводы:

1. Возбудителями кагатной гнили являются грибы *Phoma betae*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium eguisei*, *Verticillium spp.*, *Alternaria tenuis*, *Sclerotinia sclerotiorum*.

2. Для развития грибов в чистой культуре *P. betae*, *F. eguisei* и *S. sclerotiorum* оптимальной является температура 20°C, а для *F. culmorum*, *Verticillium spp.* и *A. tenuis* - 22°C.

3. Интенсивность развития мицелия возбудителей кагатной гнили находится в прямой зависимости от относительной влажности воздуха: чем выше влажность, тем интенсивнее развиваются грибы.

4. Лучшее развитие мицелия патогенов *A. tenuis* и *S. sclerotiorum* наблюдается при pH=5, а *P. betae*, *F. culmorum*, *F. eguisei* и *Verticillium spp.* - при pH=6.

5. Конидии возбудителей кагатной гнили корнеплодов столовой свеклы прорастают интенсивно в капельно-жидкой влаге, и лишь незначительное их количество - при относительной влажности воздуха 100%. Наиболее благоприятные условия для этого процесса складываются при температуре окружающей среды +20 - +25°C.

6. Для заражения ткани корнеплода столовой свеклы оптимальной является температура 18-20°C.

#### Литература

1. Попова, И.В. Болезни сахарной свеклы / И.В. Попова - Москва: Россельхозиздат, 1968. - 80 с.
2. Пожар, З.А. Интегрированная защита сахарной свеклы от вредителей, болезней и сорняков (Рекомендации) / З.А. Пожар. - Москва: Агропромиздат, 1989. - 256 с.

Таблица 7 - Влияние температуры на степень поражения ткани корнеплода столовой свеклы

Температура, °C	Балл поражения ткани корнеплода (на 10-е сутки)					
	<i>P. betae</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. eguisei</i>	<i>Verticillium spp.</i>	<i>A. tenuis</i>	<i>S. sclerotiorum</i>
3	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
10	1,25	1,0	1,0	0,75	1,5	1,75
15	2,25	1,5	1,5	1,75	2,75	2,75
18	3,25	2,0	2,25	2,25	3,25	3,5
20	3,0	2,25	2,25	2,5	3,5	3,0
22	2,75	2,0	1,75	2,0	2,75	2,5
25	1,5	1,25	1,0	1,5	2,0	2,0
28	0,5	0,5	0,5	0,75	1,0	1,0
32	0	0	0	0	0	0

4. Шендрик, Р.Я. Болезни сахарной свёклы в 1999 году / Р.Я. Шендрик, М.А. Дольская // Сахарная свёкла. - 1999. - №4. - С. 20-21.
5. Свиридов, А.В. Видовой состав возбудителей гнилей корнеплодов столовой свёклы / А.В. Свиридов, П.В. Баяр // Наука – производству: материалы 10-й научно-практической конференции. ГГАУ - Гродно, 2002. - С. 157-158.
6. Пидопличко, Н.М. Грибы-паразиты культурных растений Т.1, Т.2, Т.3, / Н.М. Пидопличко // Киев: Наукова думка, 1977.
7. Бондарцев, А.С. Болезни культурных растений и меры борьбы с ними (Поле-огород-сад) / А.С. Бондарцев. - М.-Л.: Издательство с-х и колхозно-кооперативной литературы, 1956. - 59 с.
8. Методические указания по изучению и поддержанию коллекции овощных культур (морковь, сельдерей, петрушка, пастернак, редька и редис) / Л.В. Сазонова [и др.]. - Л., 1981. - 189 с.
9. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов / сост. М.К. Хохряков. - Ленинград, 1969. - 67 с.
10. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений / перевод с нем.: К.В. Полковой, В.А. Шмыгли. - М.: Агропромиздат, 1987. - 224 с.

11. Методы фитопатологии / З. Кирай [и др.]; под общ. ред. М.В. Горленко. - М.: Колос, 1974. - 343 с.
12. Методы экспериментальной микологии: справочник / И.А. Дудка [и др.]. - Киев: Наукова думка, 1982. - 552 с.
13. Зенчик, С. С. Оценка сортов и гибридов столовой свёклы на устойчивость к возбудителям кагатной гнили / С. С. Зенчик, А. В. Свиридов, В.В. Опимах // Земледелие и защита растений. - 2010. - №5. - С. 51-54.
14. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. - М.: Колос, 1979. - 416 с.
15. Практикум по методике опытного дела в защите растений / В.Ф. Пересыпкин [и др.]. - М.: Агропромиздат, 1989. - 175 с.
16. Применение статистических методов в микологических и фитопатологических исследованиях / сост. И.И. Минкевич, Т.М. Хохрякова. - Л.: Колос, ленинградское отделение, 1968. - 50 с.