

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И КАДРОВ

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
ПО УСКОРЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ ЗЕМЛЯНИКИ
САДОВОЙ НА КОМПЛЕКСНУЮ
УСТОЙЧИВОСТЬ К ГРИБНЫМ БОЛЕЗНЯМ**

Для научных работников, преподавателей и студентов

Горки
БГСХА
2019

УДК 634.75:632.4(072)
ББК 42.358я73
М54

*Одобрено Научно-техническим советом УО БГСХА.
Протокол № 2 от 1 февраля 2019 г.*

*Одобрено и рекомендовано
Научно-техническим советом секции растениеводства
Главного управления растениеводства
Министерства сельского хозяйства и продовольствия
Республики Беларусь.
Протокол № 4 от 23 мая 2019 г.*

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук *Т. Н. Камедько*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *Р. М. Пугачёв*;
начальник плодово-ягодного участка
ГСХУ «Горецкая сортоиспытательная станция» *В. А. Камедько*;
аспирант кафедры плодовоовощеводства *М. В. Сандалова*

Рецензент:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
заведующий лабораторией иммунитета
РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»
Ю. К. Шашко

**М54 Методические рекомендации по ускоренной селекции
земляники садовой на комплексную устойчивость к гриб-
ным болезням / Т. Н. Камедько [и др.]. – Горки : БГСХА,
2019. – 63 с.
ISBN 978-985-467-915-0.**

Изложены методы оценки и отбора селекционного материала земляники садовой на устойчивость к грибным болезням в условиях естественного и искусственного инфекционных фонов. Описаны методы выделения патогенов, получения чистых культур грибов, проверки жизнеспособности инфекционного материала. Рекомендации могут использоваться в научно-исследовательских учреждениях при оценке фитопатологического состояния насаждений, в селекционном процессе и как методическое руководство при подготовке специалистов агрономического и биологического профиля.

Для научных работников, преподавателей и студентов.

УДК 634.75:632.4(072)
ББК 42.358я73

ISBN 978-985-467-915-0

© УО «Белорусская государственная
сельскохозяйственная академия», 2019

ВВЕДЕНИЕ

Земляника садовая поражается многими грибными болезнями, по причине которых в отдельные годы урожайность этой культуры может снизиться до 94 % [1–4]. В ходе научных исследований «Видоспецифический состав и патогенность эпифитотийно опасных возбудителей болезней земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) на территории Беларуси», проведенных в Беларуси в 2014–2015 гг. по договору с БРФФИ № Б14-120 от 23.05.2014, самыми распространенными патогенами, которые были выделены из пораженных органов земляники, являлись: *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, *Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov, *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.), *Coniella fragariae* (Oudem.), в меньшей степени *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, *Verticillium dahlia* Kleban и др. [5, 6].

Болезни, которые вызывают эти патогены, условно можно разделить на две группы:

1-я группа – увядания – патогены инфицируют землянику через корневую систему, вызывая увядание растения (*Fusarium oxysporum* Schltdl., *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, *Verticillium dahlia* Kleban, *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds);

2-я группа – пятнистости – патогены заражают землянику через листья и надземные части растения (*Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov, *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.), *Coniella fragariae* (Oudem.), *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds).

Химические методы борьбы с грибными заболеваниями приводят к увеличению пестицидной нагрузки на окружающую среду и развитию резистентных популяций фитопатогенов. Возникновение устойчивых форм затрудняет разработку эффективных мер борьбы с заболеванием, что приводит к значительным экономическим потерям. Следовательно, ведение селекции на комплексную устойчивость к грибным болезням является необходимым и актуальным.

Одним из важнейших этапов селекции на устойчивость к болезням является разработка и усовершенствование методов ускоренного и достоверного отбора гибридных сеянцев. Наиболее эффективно отобрать сеянцы можно при искусственном их заражении патогеном.

Это позволит ускорить процесс внедрения новых устойчивых форм в производство.

В методике не рассматриваются болезни плодов земляники садовой и искусственное их заражение патогенами, так как целью исследований являлась разработка и усовершенствование методов искусственного заражения грибными болезнями растений земляники садовой на ранних этапах их развития (семенной материал и сеянцы в фазах 2–4 настоящих листьев) для отбора устойчивых гибридных форм и эффективного ведения селекции на иммунитет.

1. ГРИБНЫЕ БОЛЕЗНИ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

1.1. Симптомы проявления увяданий

1.1.1. Вертициллезное увядание земляники садовой

Вертициллез на землянике развивается как трахеомикозное увядание и вызывается фитопатогенными грибами *Verticillium dahliae* Kleban, *V. albo-atrum* Reinke et Berthold.

Заражение растений земляники вертициллезом происходит через корневую систему. Гифы гриба могут проникать непосредственно или через трещины и ранения в корнях. Внедрившись в корень, мицелий гриба проникает в проводящую систему растения, где происходит его дальнейшее развитие. Находясь в проводящих сосудах, гриб продуктами своей жизнедеятельности отравляет растение. На поперечном разрезе проводящие сосуды корня бурые. По мере развития заболевания развивается сухая гниль корня. Разрушение проводящих тканей ухудшает поглощение растением воды, что приводит к увяданию. Пораженный куст имеет угнетенный вид. Внешние, старые листья слабеют, подсыхают и становятся красновато-желтыми или темно-коричневыми по краям и между жилками и опадают. Молодых листьев образуется мало, они отстают в росте и могут сворачиваться краями вовнутрь. На черешках иногда появляются коричнево-красные или черные пятна. Растение погибает либо сразу, либо через два-три года (прил. А, рис. 1) [7].

Говорова Г. Ф. сообщает о нескольких типах проявления болезни. На легких песчаных почвах отмечается «молниеносная» форма – растения гибнут за три-четыре дня [1]. На суглинистой и супесчаной почве наблюдается более длительное хроническое течение болезни. В наших исследованиях на инфекционном фоне наблюдали хроническое проявление болезни. Растение отставало в росте, на листьях появлялись хлоротичные пятна. К концу вегетации черешки листьев слегка краснели, сначала погибали нижние, более старые листья, а затем и все растение засыхало.

При видовой идентификации возбудителей вертициллеза земляники было выяснено, что болезнь в основном вызывает грибок *V. dahliae* Kleban, который является полифагом и может поражать около 300 видов различных растений (хмель, люцерну, хлопчатник, картофель, землянику, томаты, перцы, баклажаны, цветную капусту, маслины,

персик, сливу и др.). Следовательно, риск заражения им в почве очень велик. Возбудитель может распространяться на другие участки не только с почвой, но и с зараженной рассадой, а также инструментами и сельскохозяйственной техникой. Одной из очень важных особенностей этого патогена является то, что он способен длительно сохраняться в почве даже в отсутствие растения-хозяина. Поэтому очень важно введение в севооборот культур, устойчивых к вертициллезу (зерновые, сидеральные культуры), или выращивание устойчивых сортов [1, 8].

Гриб *V. albo-atrum* Reinke et Berthold также поражает многие виды культурных растений (картофель, томаты, подсолнечник, табак, бахчевые и плодовые культуры). Известен на 66 видах сорных растений, хотя на их росте и плодоношении существенно не отражается. В почве на растительных остатках может развиваться как сапрофит [1].

Распространяется гриб во время вегетации конидиями. Покоящиеся структуры – дауэрмицелий. В отличие от *V. dahliae*, гриб *V. albo-atrum* предпочитает более пониженные температуры и имеет более северный ареал распространения [1, 8–11].

У пораженных растений развивается в сосудисто-волокнистых пучках (трахеомикоз), вызывая увядание. Симптомы такие же, как и при поражении грибом *V. dahliae* Kleban.

1.1.2. Фузариозное увядание земляники садовой

Фузариозное увядание на землянике может вызвать комплекс видов *Fusarium*, но наиболее часто – *Fusarium oxysporum* Schltdl [1].

В растение гриб проникает через корни, развиваясь, выделяет большое количество токсических веществ, приводящих к отмиранию сосудов [12].

В наших исследованиях болезнь проявлялась на листьях, черешках и на самом кусте в целом. Листья и черешки покрывались некротическими пятнами, бурели. Куст разваливался и увядал. На поперечном срезе больного растения проводящие сосуды были бурыми (прил. А, рис. 2).

По данным ряда авторов, симптомы увядания отмечаются на листьях в виде синевато-хлорозного окрашивания с последующим их побурением и отмиранием. У больных растений гнивает корневая шейка, где выступает беловатый или розовый налет спороношения возбудителя.

Увядание растений чаще замечается с фазы налива и созревания ягод, т. е. в период повышенной потребности растений в воде и питательных веществах. Гибель растения наступает через 1,5 месяца после появления первых признаков [13].

1.1.3. Антракнозное увядание земляники садовой

Антракноз земляники вызывает фитопатогенный гриб *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds [14].

Возбудитель болезни сохраняется в форме покоящегося мицелия или конидий на растительных остатках, в пораженных побегах, тканях растений земляники и сорняках. В летний период на пораженных участках растений образуется конидиальное спороношение, из которого (во влажных условиях) выступают слизистые капельки желто-оранжевого цвета, состоящие из конидий возбудителя. По мере подсыхания оранжево-коричневые споровые массы становятся подобными корке [16–17].

Антракнозом поражаются практически все органы растений земляники (прил. А, рис. 3).

Антракнозная гниль рожков земляники приводит к внезапному увяданию и гибели растений. Рожки в разрезе, в зависимости от степени заболевания, имеют цвет от золотисто-желтого до бурого внутри со светлой окантовкой (зоной) по краю. В усохшей и разложившейся мякоти рожка образуются емкости, так называемые «карманы» отмершей ткани, что также является характерным диагностическим признаком.

В то же время сердцевина рожка может очень напоминать признаки вертициллезного увядания корней. Корни становятся вялыми. Боковые более тонкие корни усыхают. Больные корни по своему виду напоминают «крысиные хвосты», как при поражении *Phytophthora fragariae* [14].

1.1.4. Симптомы проявления пятнистостей

Пятнистости листьев на землянике могут вызывать многие виды грибных патогенов. В ходе исследований из пораженных листьев были выделены и введены в культуру патогены, вызывающие угловатую (*Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov), фомопсиозную (*Boeremia exigua*=*Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.), антракнозную *Colletotrichum*

acutatum J. H. Simmonds пятнистости листьев, а также гриб *Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton с неподтвержденной патогенностью.

При поражении угловатой пятнистостью (*G. fruticola*) на листовой пластинке появляются небольшие пятна красно-фиолетового цвета со светлым центром и темной каймой по краям. Затем эти пятна увеличиваются в размере. Чаще всего пятна расположены по краю листовой пластинки или вдоль средней жилки. В условиях высокой влажности на пятнах появляются коричневые плодовые тела – пикниды. Эта болезнь часто приводит к засыханию листьев.

Поражение листовой пластинки фомопсиозной пятнистостью (*P. exigua*) очень схоже с поражением *G. fruticola*. На листовой пластинке появляются сначала небольшие бурые пятна правильной округлой формы, затем эти пятна увеличиваются в размере, форма становится размытой, без каймы. Чаще пятна расположены по краю листовой пластинки. В условиях высокой влажности на пятнах заметен мицелий гриба [18].

При поражении антракнозом (*C. acutatum*) на усах и в верхней части черешков молодых развернувшихся листьев возникают мелкие, продолговатые, вдавленные, красно-бурые, затем черные язвы. Сливаясь, они окольцовывают орган, вследствие чего листья, розетки или все растение увядают и засыхают. На листовых пластинках наблюдается множество светло-бурых, затем чернеющих пятен диаметром 0,5–2 мм. Сливаясь, они охватывают значительную часть поверхности, лист погибает. Могут возникать V-образные темно-бурые сектора вдоль жилок к краям листьев, сходные с таковыми при поражении фомопсиозной пятнистостью. От пораженных листьев и усов заражаются цветки и плоды. Цветки при этом выглядят обожженными и отмирают. Через тычинки гриб проникает в цветоложе завязи. Чашечки плодов обесцвечиваются [14].

2. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ НА ЕСТЕСТВЕННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ФОНЕ

2.1. Методы оценки степени устойчивости земляники садовой к увяданиям

Обследование по оценке устойчивости к корневым гнилям проводят обычно в периоды явного проявления этих заболеваний (оценку к вертициллезному увяданию проводят в два срока – в середине лета и в конце августа – начале сентября).

Учет степени развития болезни проводят по 5-балльной шкале:

0 – признаки болезни отсутствуют, растения развиваются нормально;

1 – очень слабое поражение: в росте отдельных растений наблюдается отставание или легкое подвядание;

2 – слабое поражение: поражено слабо до 10 % растений. В росте заболевших растений заметно отставание или подвядание;

3 – среднее поражение: поражено в значительной степени до 25 % растений; отмечается явное отставание в росте и подсыхание листьев на периферии кустов или явное увядание с резкой потерей тургора без отставания в росте;

4 – сильное поражение: поражено в сильной степени до 50 % растений; растения с сильным поражением на грани отмирания, побурели, в центре кустов в области сердечка сохранились молодые листочки; остальные растения ослаблены в росте или имеют подвядание;

5 – очень сильное поражение: поражено в сильной степени свыше 50 % растений; растения на грани гибели.

При индивидуальном учете поражения оценивают 100 кустов и определяют состояние надземных частей растений. Вычисляют процент пораженных кустов и степень поражения. Степень поражения определяют по шкале (в баллах):

0 – признаков поражения нет;

1 – увяло 1–10 % листьев;

2 – увяло 11–25 % листьев и усов;

3 – увяло 26–50 % листьев и усов;

4 – увяло более 50 % листьев и усов;

5 – полная гибель куста [19].

При оценке распространённости болезней увядания на участке за основу принимают не средние показатели по всем точкам учета, а оценивают удельный вес площади участка с погибшими и пораженными болезнью растениями.

2.2. Методы оценки степени устойчивости к антракнозу

Антракнозом поражаются все органы растения земляники, поэтому при выборе методики оценки распространённости и развития заболевания необходимо изучить: какие части растения инфицированы патогеном.

При поражении антракнозом корней и корневой шейки оценка на устойчивость ведется по принципу учета поражения корневыми гнилями.

Если у земляники антракноз проявился на листовой пластине, то оценку необходимо проводить по шкале учета листовых болезней.

При учетах гнилей плодов устанавливают распространение болезни и процент пораженных ягод. Во время съема подсчитывается число пораженных ягод и общее число снятых ягод. Потери урожая в результате поражения гнилью выражают в процентах [19].

В период проведения испытания отмечают дату появления первых признаков болезни. Учеты распространённости болезни и степени поражения растений проводят: 1-й учет – во время первого сбора; 2-й и последующие учеты – во время каждого последующего сбора до окончательной уборки урожая.

Для учета поражения ягод просматривают все кусты с ягодами на учетных растениях. Ягода, имеющая поражение, независимо от размера пятна, считается больной. Вычисляют процент пораженных ягод и степень поражения. Степень поражения определяют по шкале (в баллах):

- 0 – признаков поражения нет;
- 1 – поражено до 10 % ягод;
- 2 – поражено 11–25 % ягод;
- 3 – поражено 26–50 % ягод;
- 4 – поражено более 50 % ягод [20].

2.3. Методы оценки степени устойчивости к листовым болезням

Изучение распространенности болезней необходимо осуществлять путем ежегодных обследований в период максимального развития.

Ориентировочно оценку устойчивости к белой пятнистости проводят в июне, бурой пятнистости – в августе, угловой пятнистости – в начале сентября.

Учет распространения и развития болезни осуществляют подсчетом здоровых и зараженных кустов в процентном отношении на 100 растений в каждой точке учёта.

Для учёта распространения и развития болезни на листьях просматривают 100 листьев, расположенных ближе к центру куста. Вычисляют процент пораженных листьев и степень поражения [20].

Расчеты распространенности болезней пятнистостей листьев P (1) и степени их поражения R (2) проводят по следующим формулам:

$$P = \frac{100 \cdot n}{N}, \quad (1)$$

где n – количество пораженных листьев;

N – общее количество листьев в пробе;

$$R = \frac{\sum a \times b}{N} \cdot 100, \quad (2)$$

где $\sum a \times b$ – сумма произведений числа больных растений на соответствующий балл поражения;

Степень поражения определяют по шкале (в баллах):

0 – признаков поражения нет;

1 – слабое поражение: не более 10 мелких пятен для белой и бурой пятнистости; 3 мелких или средних пятна на листе для угловой пятнистости;

2 – среднее поражение: поражено до 25 % поверхности листа, в случае белой и бурой пятнистостей хорошо заметно спороношение;

3 – сильное поражение: крупные пятна, занимающие 26–50 % поверхности листа, спороношение обильное;

4 – очень сильное поражение: крупные сливающиеся пятна, занимающие свыше 50 % поверхности листа, спороношение обильное, лист начинает отмирать или погиб.

3. ПОДГОТОВКА ИНФЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ

3.1. Приготовление питательных сред

По консистенции различают жидкие и плотные (твердые) питательные среды.

Плотные среды используют для выделения грибов из естественных субстратов, получения культур из отдельных спор (моноспоровые изоляты), определения репродуктивной способности и особенностей спорообразования, дифференциации грибов по характеру роста на плотных средах, изучения влияния факторов среды и различных веществ на рост грибов.

Сыпучие среды (зерно, отруби) используют для приготовления большого количества спорового посевного материала.

Жидкие питательные среды применяют для качественного и количественного изучения потребностей грибов в питательных веществах в процессах роста и синтеза метаболитов. В таких средах определяют влияние pH среды, микроэлементов, стимуляторов, ингибиторов и других веществ на биосинтетическую активность гриба [20].

Для выделения грибов, вызывающих корневые гнили из пораженных органов растения, как и для выращивания их в чистых культурах, оптимальными являются твердые питательные среды: картофельно-глюкозный агар, мальц-пептонный агар, синтетический агар Чапека, сусло-агар и др. [5, 6].

Исходя из исследований, проведенных в 2014–2016 гг. [5], патогенный гриб *Verticillium albo-atrum* лучше растет и спороносит на мальц-пептонном и картофельно-глюкозном агаре, *Verticillium dahliae* предпочтительнее инкубировать на синтетическом агаре Чапека, *Fusarium oxysporum* – сусло-агар, синтетический агар Чапека, мальц-пептонный агар, *Colletotrichum acutatum* – сусло-агар, картофельно-глюкозный агар, *Gnomoniopsis fructicola* – среда из отвара растения-хозяина.

Картофельно-глюкозный агар (КГА). Очищенный, вымытый, нарезанный ломтиками картофель в количестве 200 г заливают 1 л воды и кипятят 40 минут. Затем жидкость отфильтровывают, восстанавливают объем до литра, прибавляют 20 г агара и кипятят до его растворения. После растворения агара добавляют к смеси 20 г глюкозы. Для стерилизации среду разливают в колбы, флаконы, пробирки не более чем наполовину. Пробки (ватно-марлевые) закрывают плотной бумагой и

помещают в автоклав. Питательные среды с глюкозой стерилизуют под давлением в 1 атм. в течение 10 мин [20, 21].

Мальц-пептонный агар. В 500 мл воды растворяют 10 г агара. Затем небольшую часть жидкости охлаждают, размешивают в ней 5 г пептона и выливают обратно в колбу, добавляют 10 г мальц-экстракта и всю жидкость нагревают в течение 10 минут. Затем готовую среду стерилизуют в автоклаве 20 минут при температуре 121 °С [22, 23].

Синтетический агар Чапека. В 1 л дистиллированной воды последовательно растворяют 30 г сахарозы, 2 г натрия азотнокислого (NaNO_3), 1 г калия фосфорнокислого однозамещенного (KH_2PO_4), 0,5 г магния сернокислого ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), 0,5 г калия хлористого (KCl), 0,1 г железа сернокислого закисного ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), 20 г агара [22, 23].

Сахарозу можно заменять глюкозой, $\text{NaNO}_3 - \text{NH}_4\text{Cl}$, доводить pH до 6,6 и ниже, употреблять водопроводную воду. Среду разливают в посуду и стерилизуют в автоклаве 30 мин при температуре 117 °С (или 20 мин при 121 °С) [20].

Сусло-агар. Неохмеленное пивное сусло разбавляют водой до 7° по ареометру Баллинга. К разбавленному жидкому суслу добавляют 1,5–2 % агара. Смесь подогревают и в горячем виде разливают в стеклянную посуду, после чего стерилизуют в автоклаве при 0,5–1 атм. в течение 30 минут. В некоторых случаях вместо агара можно добавить 10–12 % желатина. Среда подкисляют стерильной соляной кислотой с последующим определением кислотности потенциометром (pH до 4,5–4,8) [20].

Агаровая среда с отваром или настоями (вытяжками) из растения-хозяина. Готовится из расчета 100 г свежих, или 50 г высушенных растений, или их частей на 1 л воды. Растения измельчают, кипятят 1 ч, восстанавливают первоначальный объем жидкости, фильтруют, после чего используют вместо воды как при изготовлении обычного агара. Настои из тех же веществ готовятся без кипячения, путем выдерживания объектов в воде несколько часов или даже суток, после чего настой сливается, фильтруется и стерилизуется [24].

Можно использовать готовые питательные среды различных производителей. В этом случае приготовление их сводится к растворению в нужном объеме воды, указанном на упаковке, и последующей стерилизации.

3.2. Выделение патогенов из растительного материала и получение чистых культур

Существует два способа выделения возбудителей из пораженных частей растения.

Первым, наиболее простым, способом вызвать спороношение гриба является помещение пораженной части растения во влажную камеру. Для ее изготовления обычно используют стерильные чашки Петри.

Перед закладкой свежесобранный инфицированный материал многократно промывают проточной водой. Пораженные отрезки длиной 1–3 см стерилизуют 96- или 50%-ным спиртом, с последующей многократной промывкой в стерильной воде или простым фламбированием объектов в пламени спиртовки. Отрезки укладывают на кружки стерильной фильтровальной бумаги в чашках Петри так, чтобы они не соприкасались друг с другом, и помещают в термостат при температуре 26 °С. Наблюдение за ростом грибов и их выделение производят через 24–48 ч и в последующие дни инкубирования.

Преимущество данного способа в том, что при достаточном навыке в работе с влажными камерами можно сразу получить чистые культуры грибов без предварительного высева объекта на питательную среду. Однако следует учитывать, что при использовании влажных камер необходимым условием работы является полная стерильность. В противном случае развившиеся колонии посторонних микроорганизмов – бактерий и плесневых грибов – будут искажать результаты исследования. Также метод влажной камеры целесообразно использовать в отношении свежих, недавно собранных образцов, так как со временем патогенные микроорганизмы теряют свою жизнеспособность. Выделение грибов методом влажной камеры используют редко, так как в этом случае высока вероятность начала роста не только выделяемого патогена, но и сторонней инфекции (бактерии, сапрофитные и другие грибы).

Второй способ индуцирования спороношения гриба заключается в помещении пораженной части растения на искусственные питательные среды. К нему прибегают, когда исследование во влажной камере не обеспечивает развития паразитного гриба и его спороношения, а также в случае, когда возникают сомнения с идентификацией фитопатогенного гриба, проверкой его патогенности (Приложение Б, рис. 1) [20, 24].

Способы стерилизации растительного материала и расположение его на питательной среде в стерильной чашке Петри аналогичны тем, что и при работе с влажными камерами.

3.3. Идентификация выделенных культур

Идентификацию выделенных культур проводят путем анализа их культурально-морфологических характеристик с использованием определителей [9].

***Verticillium dahliae* Kleban.**

Морфологическое строение фитопатогена *V. dahliae* на различных питательных средах отличается друг от друга. Так, на картофельно-глюкозном агаре строение колонии бугристое, на синтетическом агаре Чапека – зональное, на агаровой среде с отваром из растения-хозяина – ровное. По характеру края, фактуре и цвету колонии, варианты посева на синтетическом агаре Чапека и на агаровой среде с отваром из растения-хозяина одинаковые, с пушистой фактурой, ровным и белым цветом соответственно. На мальц-пептонном агаре и сусло-агаре патоген растет плохо. На синтетическом агаре Чапека гриб интенсивнее спороносит по сравнению с другими средами [5, 6].

При выращивании на искусственных питательных средах гриб в первые сутки формирует колонии белого цвета, которые затем в результате почкования гиф и образования микросклероциев постепенно темнеют. Мицелий состоит из септированных гиф шириной 2–3 мкм и мутовчато-разветвленных конидиеносцев, имеющих 1–5 мутовок, на которых образуются одноклеточные, округло-яйцевидные конидии, иногда имеющие одну перегородку. Размер конидий варьирует от 4–8 мкм в длину и 2,3–7,5 мкм в ширину (прил. Б, рис. 2).

***Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold.**

Морфологические особенности гриба *V. albo-atrum* на разных питательных средах также различаются в строении, фактуре и цвете колонии. На картофельно-глюкозном агаре и синтетическом агаре Чапека цвет колоний белый, а на мальц-пептонном агаре, сусло-агаре и на агаровой среде с отваром из растения-хозяина преобладает желтый цвет. Фактура колонии на картофельно-глюкозном агаре и на агаровой среде с отваром из растения-хозяина клочковатая, а на синтетическом агаре Чапека и мальц-пептонном агаре мицелий погружен в питательную среду. Вариант посева на сусло-агаре резко отличается от остальных и характеризуется паутинистой фактурой колонии. Строение колонии гриба в большинстве случаев складчатое, за исключением вариантов на синтетическом агаре Чапека и на агаровой среде с отваром из растения-хозяина, где оно ровное и бугристое соответственно. Край колонии гриба во всех вариантах ровный. Гриб *V. albo-atrum* лучше

спороносит на картофельно-глюкозном, мальц-пептонном и сусло-агаре [5, 6].

Мицелий белого цвета, состоит из гиф шириной 2–3 мкм. Конидиеносцы гриба мутовчато-ветвистые. Конидии продолговатые, цилиндрические, одноклеточные, $5\text{--}16 \times 3,7\text{--}5$ мкм, часто с одной перегородкой, бесцветные. Покоящийся мицелий с перегородками вначале бесцветный, потом темно-коричневый (прил. Б, рис. 3).

В агаровой культуре морфология гриба *V. albo-atrum*, также как и у *V. dahliae*, обычно меняется. Отмечается редукция способности образования темноокрашенного покоящегося толстостенного мицелия, происходит образование более тонких и длинных конидиеносцев и исчезновение их характерного темноокрашенного основания.

***Fusarium oxysporum* Schltdl.**

Цвет колонии фитопатогенного гриба *F. oxysporum* на картофельно-глюкозном агаре и на сусло агаре розовый, на синтетическом агаре Чапека белый, на агаровой среде с отваром из растения-хозяина серо-розовый, на мальц-пептонном агаре белый с желтой серединой. Фактура на картофельно-глюкозном и мальц-пептонном агарах бархатистая, на синтетическом агаре Чапека и сусло агаре пушистая, на агаровой среде с отваром из растения-хозяина шерстистая. По строению на всех указанных средах колонии патогена ровные. Край колонии только в варианте с использованием отвара из растения-хозяина ассиметричный с шириной 1 мм, в остальных вариантах он ровный с шириной от 1,5 до 3,5 мм. Макроконидии изогнутые или почти прямые, веретеновидно-серповидные с постепенно сужающейся верхней клеткой и выраженной ножкой или сосочком, имеют несколько перегородок. Размер макроконидий в среднем 15×4 мкм. Микроконидий всегда много. Они округлые, бочонковидные, без перегородок, размерами $4,5 \times 2,2$ мкм. Хламидоспоры одно- или двуклеточные, размерами около $24\text{--}51 \times 15\text{--}18$ мкм (Приложение Б, рис. 4) [5, 6].

***Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds.**

При выращивании на картофельно-глюкозном агаре колонии гриба *Colletotrichum acutatum* серого цвета, на синтетическом агаре Чапека – белые с желтым оттенком, в остальных вариантах цвет колонии гриба белый. Войлочной фактурой характеризуются колонии на картофельно-глюкозном и сусло агаре, ватообразной – на синтетическом агаре Чапека и мальц-пептонном агаре и шерстистой на агаровой среде с отваром из растения-хозяина. Зональное строение колонии в вариантах с использованием картофельно-глюкозного и сусло агара, бугристое –

на агаровой среде с отваром из растения-хозяина и мальц-пептонном агаре и ровное на синтетическом агаре Чапека. Характер края во всех вариантах ровный с шириной 1 мм на мальц-пептонном и сусло агаре и 2 мм на остальных средах.

Мицелий бесцветный, сегментированный, состоит из гиф шириной 3,1–5,1 мкм. Конидии овальные, одноклеточные без перегородок, их размер варьирует от 11–13 мкм в длину и 1,9–4,4 мкм в ширину (прил. Б, рис. 5) [5, 6].

***Gnomoniopsis fruticola* (Arnaud) Sogonov.**

Цвет колонии гриба *G. fruticola* на синтетическом агаре Чапека и на агаровой среде с отваром из растения-хозяина серый, на мальц-пептонном и сусло агарах белый, на картофельно-глюкозном агаре колонии серого цвета с зелеными кругами. На картофельно-глюкозном агаре и синтетическом агаре Чапека колонии гриба характеризуются войлочной фактурой, на агаровой среде с отваром из растения-хозяина и мальц-пептонном агаре – паутинистой и на сусло агаре – пушистой. Во всех вариантах, кроме синтетического агара Чапека, строение колонии зональное, в последнем варианте оно бугристое. Характер края колонии на агаровой среде с отваром из растения-хозяина и на мальц-пептонном агаре ровный с шириной 0 и 2 мм соответственно. На синтетическом агаре Чапека и на сусло агаре край ассиметричный с шириной 0 и 2 мм соответственно. И на картофельно-глюкозном агаре край колонии гриба волнистый с шириной 3 мм.

Мицелий, бесцветный, сегментированный, состоит из гиф шириной 3,1–4,5 мкм. Конидии цилиндрические, прямые с закругленными концами, размер которых в среднем 7–9 мкм в длину и 2–3 мкм в ширину (прил. Б, рис. 6) [5, 6].

***Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.).**

Цвет колонии гриба *Phoma exigua* на картофельно-глюкозном агаре серый. Поверхность колонии зональная, край колонии гриба волнистый, фактура войлочная.

Мицелий бесцветный, слабосегментированный, состоит из гиф шириной более 4 мкм. На твердых питательных средах спороношение отсутствует, либо очень слабое (прил. Б, рис. 7) [18].

3.4. Проверка жизнеспособности и патогенности инфекционного материала

Для успешного заражения растений важное значение имеет жизнеспособность инфекционного материала. Этот показатель оценивают по прорастанию спор (конидий) патогена. Споровую суспензию наносят каплями на предметные стекла и помещают их в чашки Петри для создания условий влажной камеры. Чашки ставят в термостат, где поддерживается температура 26–28 °С. Число проросших спор подсчитывают через 6–8 часов в поле зрения микроскопа при 100× не менее чем в 10 каплях. Проросшими считаются споры, у которых длина ростовых трубок превышает длину спор. Для заражения растений используют инфекционный материал, в котором жизнеспособность спор составляет не менее 80 % (прил. Б, рис. 8, 9) [22].

Одним из наиболее простых и надежных методов оценки патогенности является инокуляция тех органов растения, из которых патоген был выделен.

Патогенные микроорганизмы необходимо размножить на питательной среде (*Verticillium albo-atrum* – мальц-пептонный агар, *V. dahlia*, *Fusarium oxysporum* – синтетический агар Чапека, *Colletotrichum acutatum*, *Gnomoniopsis fructicola*, *Phoma exigua*, *Coniella fragariae*, – картофельно-глюкозный агар) в термостате при температуре 23–25 °С в течение 10–15 суток для использования в качестве инокулюма [6].

Оптимальная концентрация спор в суспензии для заражения земляники:

- *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold и *Verticillium dahlia* Kleb – (5×10^6) кон./мл [25];

- *Fusarium sp.* – (1×10^6) кон./мл [26];

- *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds – (1×10^5) кон./мл [27];

- *Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov, *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.), *Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton – (1×10^5) кон./мл.

При инокуляции земляники для проверки патогенности грибов, вызывающих трахеомикозное увядание (*V. albo-atrum* Reinke et Berthold, *V. dahlia* Kleban, *F. oxysporum* Schltdl., *C. acutatum* J. H. Simmonds), корневую систему растений земляники необходимо отмыть от субстрата, подрезать до длины 6 см и погрузить на 2–3 минуты в споровую суспензию и высадить в горшочки. В контрольном варианте корневая система погружается в воду. После посадки через 4–5 дней учи-

тывается приживаемость, а через 2–3 недели пораженность патогенами [28].

При инокуляции патогенами, поражающими надземные части растения (*Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov, *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.), *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds, *Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton), проводится опрыскивание суспензией спор патогенов молодых растений земляники, которые затем изолируются и выдерживаются под полиэтиленовой пленкой для поддержания высокой влажности в течение 15 дней. В контрольном варианте растения необходимо опрыскивать водой.

В случае получения исходных симптомов из пораженных органов выделяют искомый патоген с целью использования его в опыте по инокуляции растений.

4. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕЯНЦЕВ НА ИСКУССТВЕННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ФОНЕ

Селекция земляники садовой на устойчивость к болезням – очень долгий и сложный процесс. На достижение конечного результата может уйти 10–15 и более лет [29]. Поэтому селекционеры прибегают к различным способам, позволяющим быстрее достичь необходимой цели. Одним из важнейших этапов селекции на устойчивость к болезням является отбор гибридных сеянцев на раннем этапе развития. Наиболее эффективно отобрать селекционный материал можно при искусственном заражении семенного материала и сеянцев в фазу 1–4 настоящих листьев.

4.1. Методика заражения семенного материала

Существует несколько способов заражения семенного материала фитопатогенными грибами (табл. 1) [30].

Таблица 1. Схема искусственного заражения семенного материала земляники садовой патогенными грибами

Объект обработки	Вариант обработки
Контроль (без обработки)	
Почва	Полив почвы споровой суспензией патогена + посев в инфицированную почву
Семена	Опрыскивание споровой суспензией патогена + выдерживание во влажной камере (24 ч) + посев
	Проращивание семян во влажной камере + опрыскивание суспензией спор + посев
	Проращивание семян во влажной камере на инокулюме + посев

Способы приготовления и стерилизации питательной среды, а также подготовка инокулюма к искусственному заражению описывались ранее (см. раздел 3).

Важным условием перед началом эксперимента является стерилизация почвы и посевного материала. Почва стерилизуется путем автоклавирования в течение часа при давлении 1 атм., семена стерилизуются в процессе скарификации концентрированной серной кислотой.

Первый вариант опыта – заражение семян через посев в инфицированную почву. Почву инокулируют путем опрыскивания споровой

суспензией, которая готовится из двухнедельной культуры гриба плотностью, рекомендованной индивидуально для каждого патогена (см. подраздел 3.4) [27, 31, 32]. За два дня до посева субстрат необходимо пролить водой до полного увлажнения. Непосредственно перед посевом субстрат опрыскивают суспензией спор (20 мл суспензии на 0,5 л субстрата) и хорошо перемешивают, чтобы инфекция равномерно распределилась по почве. Затем высевают семена [33].

Второй вариант опыта – заражение семян путем опрыскивания споровой суспензией патогена. Семена земляники, прошедшие предварительную скарификацию концентрированной серной кислотой, распределяют тонким слоем на листе плотной бумаги и опрыскивают суспензией спор до полного увлажнения, затем они выдерживаются в условиях влажной камеры 24 ч, подсушиваются (1 ч) и высеваются [24].

Третий вариант опыта – заражение пророщенных семян споровой суспензией патогена [30]. Семена земляники, прошедшие предварительную скарификацию концентрированной серной кислотой, распределяются тонким слоем в чашках Петри, дно и крышки которых необходимо выстлать смоченной фильтровальной бумагой (влажная камера). Чашки Петри выдерживаются в термостате при температуре 25 °С. По мере подсыхания, бумагу необходимо смачивать стерильной водой. В условиях влажной камеры семена должны находиться не более 7 дней. За это время оболочка семени набухает и растрескивается, в отдельных случаях начинает появляться корешок зародыша семени. На 6–7 день семена опрыскиваются суспензией спор патогена и через 24 ч высеваются.

Четвертый вариант опыта – заражение семян через проращивание их на инокулируе во влажной камере [30]. Семена земляники, прошедшие предварительную скарификацию концентрированной серной кислотой, распределяют тонким слоем в чашках Петри, дно и крышки которых усиланы фильтровальной бумагой. Фильтровальная бумага на дне чашки смачивается суспензией спор патогена (нефильтрованной), бумага на крышке смачивается стерильной водой (влажная камера). Чашки Петри выдерживают в термостате при температуре 25 °С. По мере подсыхания, бумагу смачивают стерильной водой. На 6–7 день семена высеваются.

4.2. Методика искусственного заражения сеянцев

Приготовление и стерилизацию питательной среды, почвы и семян проводится также как и при заражении семенного материала. Опираясь на существующие методики [20, 24, 28, 30, 35], можно выделить несколько способов инокуляции сеянцев.

Таблица 2. Схема искусственного заражения сеянцев земляники садовой патогенными грибами

Объект обработки	Вариант обработки
Контроль (без обработки)	
1. Сеянцы (1–2 настоящих листа)	Опрыскивание споровой суспензией
2. Поврежденная корневая система проростков	Обмакивание корней в споровую суспензию при пикировке
3. Сеянцы (3–4 настоящих листа)	Опрыскивание споровой суспензией

Первый вариант опыта – заражение сеянцев в фазе 1–2 настоящих листа. Сеянцы заражают путем опрыскивания споровой суспензией, которая готовилась из двухнедельной культуры гриба необходимой концентрации [30, 31, 32, 33]. Перед опрыскиванием сеянцы поливают до полного увлажнения субстрата и опрыскивают суспензией спор (20 мл суспензии на 0,5 л субстрата).

Второй вариант опыта – заражение поврежденной корневой системы при пикировке путем обмакивания корней в споровую суспензию патогена. Этот способ актуален для инокуляции почвенными патогенами. Сеянцы земляники в фазе 2–3 настоящих листьев отмывают от субстрата и погружают на 2–3 минуты корнями в споровую суспензию и высаживают в кассеты. В контрольном варианте сеянцы погружают в воду. После пикировки через 4–5 дней учитывается приживаемость, а через 2–3 недели пораженность болезнями [28, 35].

Третий вариант опыта – заражение сеянцев в фазе 3–4 настоящих листьев. Сеянцы инокулируют путем опрыскивания споровой суспензией патогенов также как и в первом варианте [30, 31, 32, 33].

В течение двух недель посевные ящики с зараженными семенами и сеянцами находятся под пленкой для поддержания высокой влажности и предотвращения пересыхания субстрата.

По истечении инкубационного периода фитопатогенных грибов (около 15 дней) проводятся учеты [34].

5. АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ

5.1. Результаты инокуляции семенного материала грибными патогенами, вызывающими увядание земляники садовой

Наиболее опасными грибными болезнями земляники садовой являются заболевания корней и корневой шейки растения, вызываемые группой фитопатогенных грибов *Verticillium dahliae* Kleban, *V. albo-atrum* Reinke et Berthold, *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds и др. Эти грибы поражают даже очень сильные, ничем не ослабленные растения. У зараженных растений урожайность снижается на 40–70 %, выход рассады – на 43–90 %. При возделывании восприимчивых сортов может поразиться до 100 % растений, часто вызывая гибель 5–25 % из них [1, 8].

Важной частью ведения селекции на устойчивость к корневым гнилям является искусственное заражение патогенами на раннем этапе развития растения. Основным способом заражения семян корневыми гнилями является обмакивание корневой системы в суспензию спор патогена при пикировке. Однако пикировка от нескольких сотен до нескольких тысяч семян является трудоемким процессом. В связи с этим одним из направлений исследований явилось выявление наиболее эффективных методов инокуляции семенного материала, для того чтобы как можно раньше провести отбор устойчивых генотипов и облегчить процесс повторного заражения при пикировке семян.

В опыте по оценке эффективности использования различных вариантов искусственного заражения семенного материала земляники садовой объектами исследований служили фитопатогенные грибы, вызывающие трахеомикозное увядание растения – *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, *V. dahliae* Kleban, *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds, и гибридный материал земляники садовой, полученный от свободного опыления восприимчивых и устойчивых сортов (Фестивальная, Золушка (вертициллез); Эльсанта, Зенга Зенгана (фузариоз); Хоней, Кимберли (антракноз)), соответственно. Опыт проводился в 2-кратной повторности, на каждый вариант обработки было использовано по 50 семян каждого сорта. В качестве контроля выступали незараженные семена. Искусственное заражение проводили по вышеуказанной схеме (см. раздел 4).

5.1.1. Сравнительная оценка различных методов искусственного заражения семян земляники вертициллезом

Ранее исследователи считали, что возбудителем вертициллезного увядания является один вид – *V. albo-atrum*. Позднее сообщает о двух видах этого патогена на землянике *V. albo-atrum* и *V. dahliae*. Одни российские исследователи (Наталина, Попова, Константинова) сообщают, что возбудителем вертициллезного вилта земляники является гриб *V. albo-atrum*, другие (Говорова, Говоров) указывают на явное преобладание гриба *V. dahliae* при видовой идентификации возбудителей вертицилlezов земляники. Результаты последних исследований свидетельствуют о том, что виды *V. albo-atrum*, *V. lateritium* и *V. tricorpus* тоже могут вызывать увядание земляники, но их роль значительно меньшая по сравнению с *V. dahliae* [1].

Исходя из этого, в опытах по инокуляции семян земляники вертициллезом использовали два вида патогенов *V. albo-atrum* и *V. dahliae*. Для сравнения заражение проводили суспензией спор отдельно каждого вида патогена и суспензией из смеси двух видов грибов.

5.1.1.1. Искусственное заражение *Verticillium dahliae* Kleban

В первом варианте опыта – заражение семян через посев в инфицированную почву – симптомы болезни наблюдались у 60,9 % сеянцев, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта (Фестивальная), и 34,8 % у сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта (Золушка) (рис. 1).

Используя этот вариант, исходили из того, что *V. dahliae* является почвенным патогеном, инокуляция растений которым происходит через почву. Предполагалось, что когда семена начнут прорастать, инфекция попадет в раскрытые семена и произойдет заражение проростка. В результате, эффективность данного способа инокуляции подтвердилась.

В некоторых случаях патогенные грибы проникают в формирующиеся семена только по сосудистой системе больного растения (внутренняя инфекция) [21, 36]. Во втором варианте опыта – опрыскивание семян споровой суспензией патогена – изучали возможность заражения растения через поверхностную инокуляцию семян.

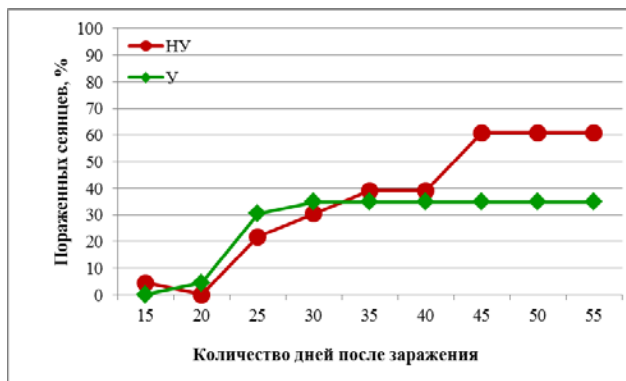


Рис. 1. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян через посев в инфицированную почву: НУ – гибриды неустойчивого сорта Фестивальная; У – гибриды устойчивого сорта Золушка

В результате исследований у семян восприимчивого сорта от вертициллезного увядания выпало 57,1 % растений, у семян устойчивого сорта – 33,3 % (рис. 2).

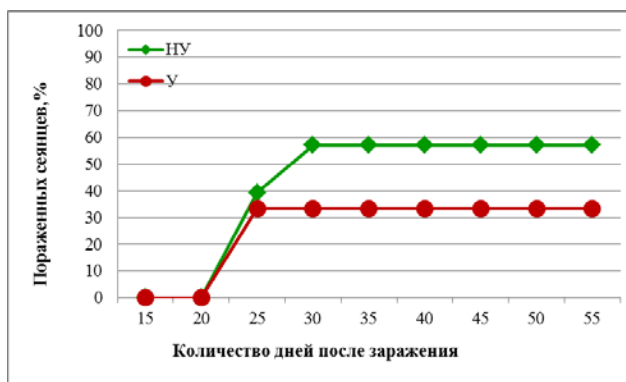


Рис. 2. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян путем опрыскивания споровой суспензией

Исходя из результатов, можно отметить, что заражать растения земляники на раннем этапе развития можно, в том числе и путем инокуляции семян. Это, во-первых, позволяет ускорить селекционный

процесс, направленный на отбор устойчивых форм земляники на стадии проростков, во вторых, этот способ прост в выполнении.

В третьем варианте опыта задачей было облегчить проникновение инфекции через оболочку семян, путем помещения их во влажную камеру, где происходит набухание и растрескивание семян. В результате у сеянцев восприимчивого сорта от вертициллеза вышло 100 % растений, у сеянцев устойчивого сорта – 41,7 % (рис. 3).

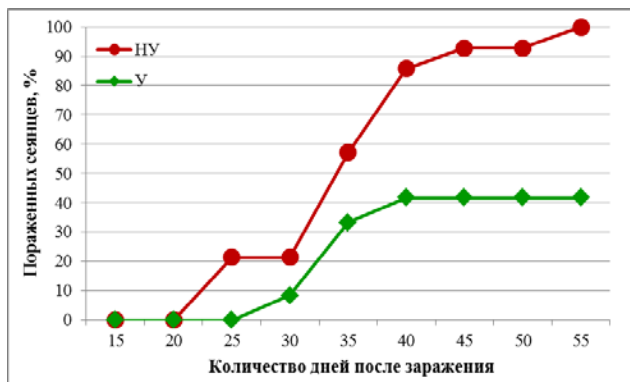


Рис. 3. Уровень поражения гибридных сеянцев земляники садовой при заражении проросших во влажной камере семян путем опрыскивания споровой суспензией

Третий вариант опыта показал свое превосходство над вторым, так как инфекции было легче проникнуть в раскрывшиеся семена и сеянцы от восприимчивого сорта Фестивальная оказались на 100 % заражены. Высокий процент поражения сеянцев устойчивого сорта Золушка объясняется тем, что в опыте использовался гибридный материал, который, вероятно, наполовину перенял признаки восприимчивости материнского сорта (Фестивальная × Зенга Зенгана). Сорт Фестивальная является высоковосприимчивым к вертициллезу, что, возможно, сыграло немалую роль при расщеплении признаков у гибридов.

Четвертый вариант опыта – заражение семян через проращивание их на инокулюме во влажной камере – можно считать аналогичным третьему. Однако если в третьем варианте к моменту опрыскивания оболочка некоторых семян могла не растрескаться и инфекция в какие-то семечки могла не попасть, то в этом случае семена в течение 7 дней были питательной средой для роста патогена, что увеличивает вероятность проникновения гриба в семя. В результате у гибридов от восприимчивого

сорта Фестивальная оказалось 97,4 % растений с признаками болезни, а у гибридов от устойчивого сорта – 10,0 % (рис. 4).



Рис. 4. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных на инокулюме во влажной камере семян

Результаты четвертого варианта опыта подтверждают эффективность инокуляции выдержанных во влажной камере семян. Однако необходимо учитывать, что чем длительнее экспозиция зараженного семенного материала во влажной камере, тем больше вероятность заражения семян вторичной инфекцией (*Penicillium* spp).

Во всех опытах использовался свой контрольный вариант. Их не отображали графически, так как пораженных семян здесь отмечено не было.

5.1.1.2 Искусственное заражение *V. albo-atrum* Reinke et Berthold

В первом варианте опыта – заражение семян через посев в инфицированную почву – симптомы болезни наблюдались у 11,1 % семян, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта Фестивальная и 69,6 % у семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта Золушка (рис. 5).

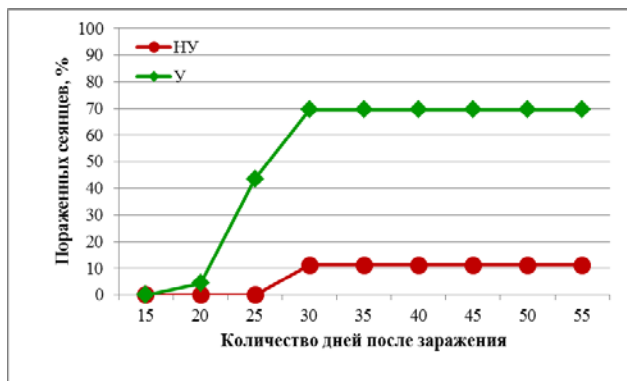


Рис. 5. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян через посев в инфицированную почву

Высокий процент поражения семян от устойчивого сорта Золушка, также как и в опыте по инокуляции грибом *V. dahliae*, можно объяснить использованием в опыте гибридного материала.

Во втором варианте – заражение семян путем опрыскивания споровой суспензией патогена – у семян восприимчивого сорта от вертициллеза вышло 86,7 % растений, у семян устойчивого сорта – 90,5 % (рис. 6).



Рис. 6. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян путем опрыскивания споровой суспензией

В первом и во втором вариантах наблюдалась высокая степень поражения вертициллезным увяданием. Количество пораженных ги-

бридных семян, полученных от свободного опыления восприимчивого и устойчивого сортов было практически одинаковым. Это доказывает высокую степень восприимчивости семян к данному виду патогена – *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold.

В третьем варианте опыта – заражение пророщенных семян во влажной камере споровой суспензией патогена – все гибридные семена восприимчивого сорта были поражены вертициллезом (100 % растений), у семян от устойчивого сорта признаки болезни наблюдались у 25,0 % растений (рис. 7).

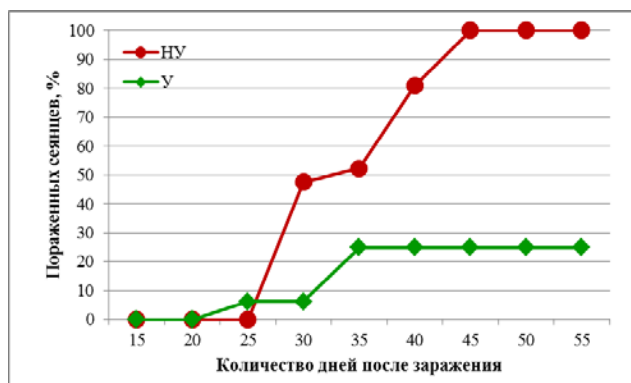


Рис. 7. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных во влажной камере семян путем опрыскивания споровой суспензией

Четвертый вариант – опыта заражение семян через проращивание их на инокулюме во влажной камере – показал, что третий вариант превосходит остальные способы заражения семенного материала. Несмотря на высокий процент пораженных семян в четвертом варианте (89,3 % пораженных гибридов от восприимчивого сорта Фестивальная и 78,1 % гибридов от устойчивого сорта Золушка), при постановке опыта необходимо учитывать высокую вероятность инфицирования семян вторичной инфекцией (*Penicillium*) (рис. 8).

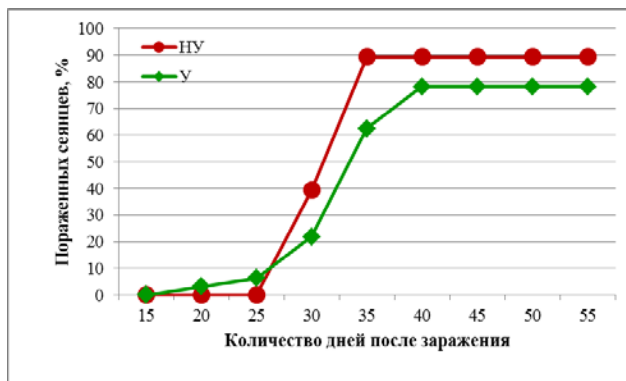


Рис. 8. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных на инокулюме во влажной камере семян

Большое количество пораженных семян в опыте по инокуляции семенного материала грибом *V. albo-atrum* говорит о высокой степени патогенности данного вида. Результаты исследования доказывают, что возбудителем вертициллезного увядания на землянике садовой может быть как вид *V. dahliae* Kleban, так и вид *V. albo-atrum* Reinke et Berthold.

5.1.1.3. Искусственное заражение суспензией спор из смеси патогенов *V. dahlia* и *V. albo-atrum*

Для оценки и отбора устойчивых гибридных семян к двум видам патогенов, семенной материал заражали суспензией спор из смеси двух видов грибов *V. albo-atrum* и *V. dahliae*, используя те же способы инокуляции семян.

При заражении семян через посев в инфицированную почву симптомы болезни у гибридных семян восприимчивого сорта Фестивальная наблюдались у 50,0 % растений, у семян устойчивого сорта от вертициллеза вышло 65,0 % растений (рис. 9).

Во втором варианте опыта от вертициллеза вышло 28,6 % семян восприимчивого сорта и 72,0 % семян устойчивого сорта, что объясняется гибридным происхождением семян (рис. 10).

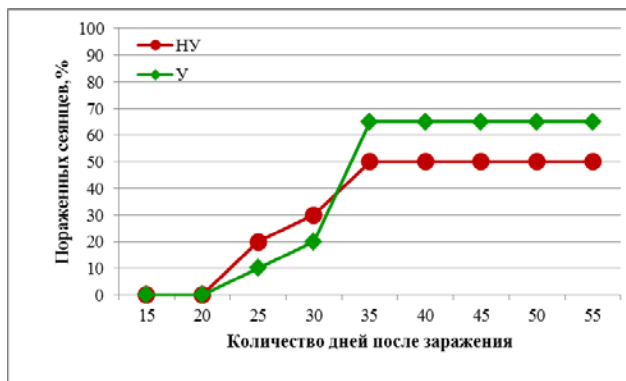


Рис. 9. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян через посев в инфицированную почву



Рис. 10. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян путем опрыскивания споровой суспензией

При заражении пророщенных во влажной камере семян опрыскиванием споровой суспензией патогена у семян восприимчивого сорта симптомы вертициллеза наблюдались у 96,3 % растений, у семян устойчивого сорта признаки болезни наблюдались у 57,9 % растений (рис. 11).

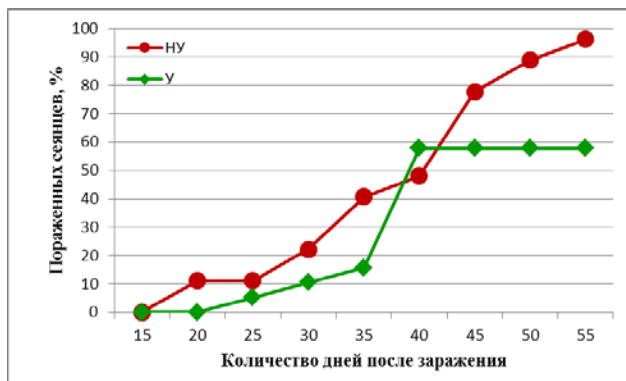


Рис. 11. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных во влажной камере семян путем опрыскивания споровой суспензией

Заражение семян через проращивание их на инокулюме во влажной камере показало высокий положительный результат как для семян восприимчивого сорта, так и для семян устойчивого сорта 71,4 % и 77,5 %, пораженных семян соответственно (рис. 12).

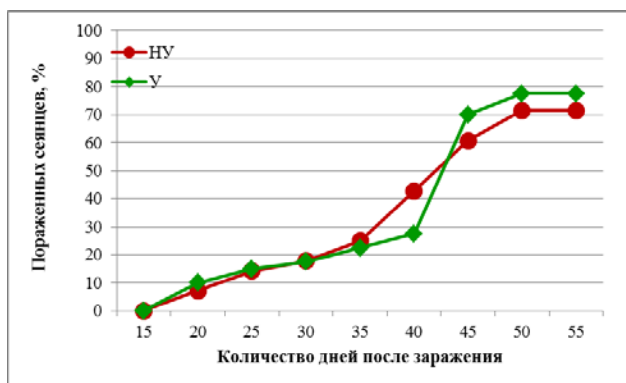


Рис. 12. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных на инокулюме во влажной камере семян

Несмотря на то, что из-за использования в опытах гибридного семенного материала, который дал неоднозначный результат по инокуляции восприимчивых и устойчивых растений, удалось выделить лучший способ заражения семян земляники садовой вертициллезным увяданием для отбора на раннем этапе развития растений (табл. 3).

Таблица 3. Эффективность различных способов заражения вертициллезом семенного материала земляники садовой

Способ заражения	Материнский сорт	Процент сеянцев погибших от повреждений вертициллезом, %		
		<i>V. dahliae</i>	<i>V. albo-atrum</i>	<i>V. dahliae</i> + <i>V. albo-atrum</i>
1. Полив почвы споровой суспензией патогена + посев в инфицированную почву	Фестивальная	60,9	11,1	50,0
	Золушка	34,8	69,6	65,0
2. Опрыскивание семян споровой суспензией + выдерживание во влажной камере (24 ч) + посев	Фестивальная	57,1	86,7	28,6
	Золушка	33,3	90,5	72,0
3. Проращивание семян во влажной камере + опрыскивание суспензией спор + посев	Фестивальная	100,0	100,0	96,3
	Золушка	41,7	25,0	57,9
4. Проращивание семян во влажной камере на инокулюме + посев	Фестивальная	97,4	89,3	71,4
	Золушка	10,0	78,1	77,5

Самым эффективным методом инокуляции семян земляники садовой вертициллезным увяданием оказался – заражение пророщенных во влажной камере семян опрыскиванием споровой суспензией патогена. В этом варианте во всех трех случаях (*V. dahliae*, *V. albo-atrum*, *V. dahliae* + *V. albo-atrum*) от вертициллезного увядания выпало 100, 100, 96,3 % соответственно сеянцев восприимчивого сорта. Близким по значению оказался результат заражения пророщенных семян во влажной камере на инокулюме. Однако этот способ уступает предыдущему из-за сложностей, возникающих при его выполнении.

Первые два варианта (посев в инфицированную почву и опрыскивание семян споровой суспензией патогена) дают хороший положи-

тельный результат, просты в выполнении, однако вероятность попадания инфекции внутрь семян у них меньше чем в 3 и 4 вариантах.

Если сравнивать степень поражения гибридных сеянцев в отдельности каждым видом патогенов и смесью двух патогенов, то можно заметить, что в последнем варианте виды *V. dahliae* и *V. albo-atrum*, вероятно, влияют на развитие друг друга. Процент пораженных сеянцев в этом случае не увеличивается, а находится на среднем уровне. Исходя из этого, можно сделать вывод, что заражать семена необходимо сначала одним видом, а затем проводить повторное заражение сеянцев другим видом патогена.

5.1.2. Сравнительная оценка различных методов искусственного заражения семян земляники фузариозом (*Fusarium oxysporum* Schldl.)

Заражение семян фузариозом проводили по той же схеме, что заражение семян вертициллезным увяданием.

Исходя из того, что источником первичной инфекции фузариоза является почва, в первом варианте опыта семена заражали через посев в инфицированную почву. В результате фузариозом было поражено 95,3 % сеянцев, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта Эльсанта (прил. Г), и 45,5 % гибридных сеянцев устойчивого сорта Зенга Зенгана (рис. 13).

При заражении семян путем опрыскивания споровой суспензией патогена от фузариоза выпало 100 % сеянцев, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта, и 55,6 % гибридных сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта (рис. 14).

Во всех опытах использовался свой контрольный вариант, который не отображали графически, так как пораженных фузариозом сеянцев здесь отмечено не было.

Исходя из результатов, можно отметить, что проводить отбор устойчивых к фузариозу сеянцев на раннем этапе развития, заражая семена путем опрыскивания споровой суспензией патогена, является высокоэффективным методом ведения селекции на устойчивость.



Рис. 13. Уровень поражения фузариозом гибридных семян земляники садовой при заражении семян через посев в инфицированную почву:

НУ – гибриды неустойчивого сорта Эльсанта;

У – гибриды устойчивого сорта Зенга Зенгана

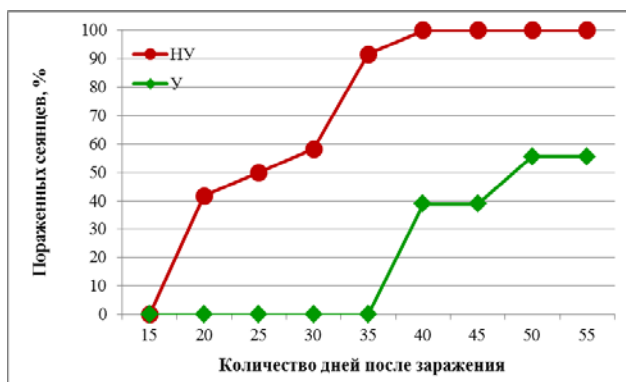


Рис. 14. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян путем опрыскивания споровой суспензией

В третьем варианте все семена от восприимчивого сорта были поражены фузариозом, у семян от устойчивого сорта болезнь проявилась у 33,3 % растений (рис. 15).

В четвертом варианте при заражении семян через проращивание их на инокулюме во влажной камере от фузариоза вышло 100 % гибридных семян, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта, и 57,1 % растений – от свободного опыления устойчивого сорта (рис. 16).

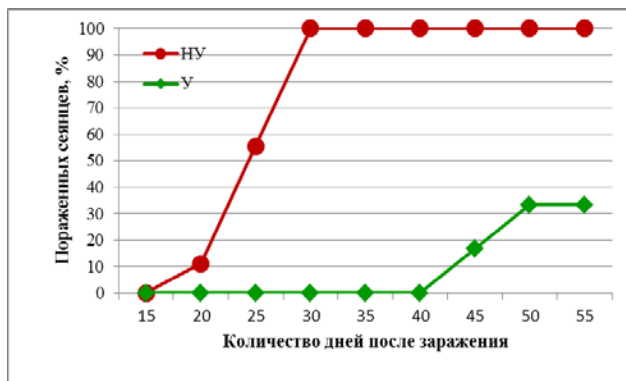


Рис. 15. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных во влажной камере семян путем опрыскивания споровой суспензией

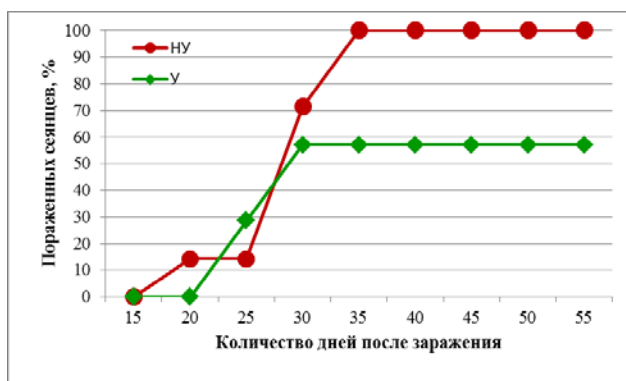


Рис. 16. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных на инокулюме во влажной камере семян

Таким образом, лучшим способом инокуляции семенного материала земляники садовой фитопатогенным грибом *Fusarium oxysporum* Schltdl., вызывающим фузариозное увядания на землянике садовой, является заражение семян путем опрыскивания суспензией спор патогена (табл. 4).

Таблица 4. Эффективность различных способов заражения фузариозом семенного материала земляники садовой

Способ заражения	Материнский сорт	Процент сеянцев, погибших от поврежденных фузариозом, %
1. Полив почвы споровой суспензией патогена + посев в инфицированную почву	Эльсанта	95,3
	Зенга Зенгана	45,5
2. Опрыскивание семян споровой суспензией патогена + выдерживание во влажной камере (24 ч) + посев	Эльсанта	100,0
	Зенга Зенгана	55,6
3. Проращивание семян во влажной камере + опрыскивание суспензией спор + посев	Эльсанта	100,0
	Зенга Зенгана	33,3
4. Проращивание семян во влажной камере на инокулюме + посев	Эльсанта	100,0
	Зенга Зенгана	57,1

Количество пораженных сеянцев во втором, третьем и четвертом вариантах было практически одинаковым. Однако, если сравнивать трудовые затраты на разработку и постановку опытов, то второй вариант значительно превосходит по своей технологичности.

В последних двух вариантах при длительном нахождении семян во влажной камере существует большая вероятность развития посторонних микроорганизмов – бактерий, плесневелых грибов, которые могут повлиять на результаты опыта. Также из-за того, что семена начинают прорасти не одновременно, к моменту высева, многие из них достигают большой длины проростка, что затрудняет их посев.

5.1.3. Сравнительная оценка различных методов искусственного заражения семян земляники антракнозом (*Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds)

Схема заражения семян антракнозом аналогична предыдущим опытам.

Устойчивых к антракнозу сортов нет, по этой причине в опыте по искусственному заражению использовали семена, полученные от свободного опыления выносливого, но нестабильно устойчивого сорта Хоней и восприимчивого сорта Кимберли (прил. Г).

Исходя из того, что гриб *Colletotrichum acutatum* поражает все органы растения земляники, в том числе и корневую систему, что приводит к внезапному увяданию и гибели растений, заражение семян предполагало получение симптомов увядания сеянцев, что позволит на ранних этапах провести селекционный отбор ценных генотипов.

Источником первичной инфекции является мицелий или конидий как на растительных остатках, в пораженных побегах, тканях растений земляники, сорняках, так и в почве. Поэтому первым вариантом заражения семян антракнозом является посев в инфицированную почву.

В результате симптомы болезни наблюдались у 93,8 % сеянцев, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта Кимберли и 62,5 % гибридных сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта Хоней (рис. 17).

Второй вариант – заражение семян опрыскиванием споровой суспензией патогена – оказался эффективнее первого. У сеянцев восприимчивого сорта от антракноза выпало 100 % растений, у сеянцев устойчивого сорта – 25,0 % (рис. 18).

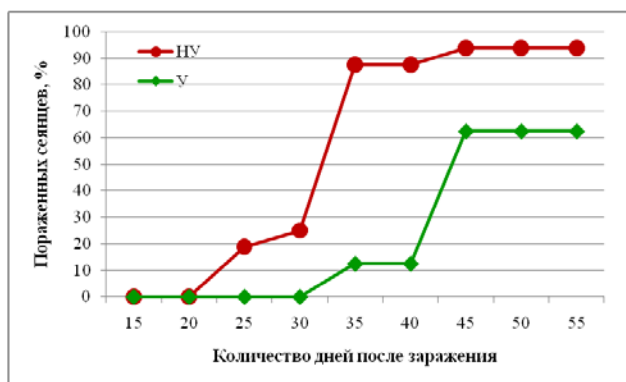


Рис. 17. Уровень поражения антракнозом гибридных сеянцев земляники садовой при заражении семян через посев в инфицированную почву:

НУ – гибриды неустойчивого сорта Кимберли;

У – гибриды устойчивого сорта Хоней

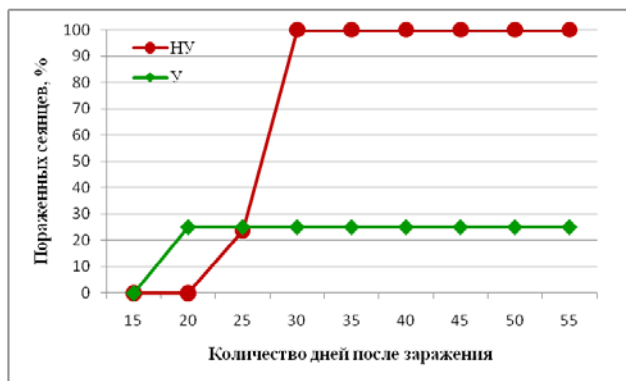


Рис. 18. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении семян путем опрыскивания споровой суспензией

В третьем варианте – заражение пророщенных во влажной камере семян путем опрыскивания их суспензией спор патогена – у семян восприимчивого сорта симптомы болезни наблюдались у 87,5 % растений, у семян устойчивого сорта у 38,9 % растений (рис. 19).

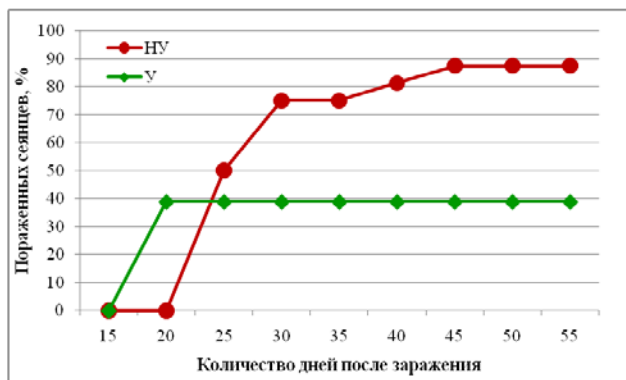


Рис. 19. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных во влажной камере семян путем опрыскивания споровой суспензией

При заражении семян через проращивание их на инокулеуме во влажной камере все гибридные семена восприимчивого были поражены антракнозом (100 %), у семян от устойчивого сорта признаки болезни наблюдались у 33,3 % растений (рис. 20).



Рис. 20. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при заражении пророщенных на инокулюме во влажной камере семян

При сравнении количества пораженных антракнозом семян, полученных от свободного опыления сорта Кимберли, с количеством пораженных семян сорта Хоней можно отметить, что сорт Хоней является ценным источником признаков в селекции земляники на устойчивость к антракнозу.

Если сравнивать различные способы заражения семян антракнозом, то по своей эффективности они оказались относительно равнозначными (табл. 5).

Таблица 5. Эффективность различных способов заражения антракнозом семенного материала земляники садовой

Способ заражения	Материнский сорт	Процент семян, погибших от повреждений антракнозом, %
1. Полив почвы споровой суспензией + посев в инфицированную почву	Кимберли	93,8
	Хоней	62,5
2. Опрыскивание семян споровой суспензией + выдерживание во влажной камере (24 ч) + посев	Кимберли	100,0
	Хоней	25,0
3. Проращивание семян во влажной камере + опрыскивание суспензией спор + посев	Кимберли	87,5
	Хоней	38,9
4. Проращивание семян во влажной камере на инокулюме + посев	Кимберли	100,0
	Хоней	33,3

5.2. Результаты инокуляции гибридных сеянцев грибными патогенами

Для ведения селекции на иммунитет необходимо на раннем этапе развития растения отобрать устойчивые сеянцы, это достигается при помощи искусственного заражения. В предыдущем разделе были представлены результаты заражения семенного материала. Однако патогены с более ослабленными паразитическими свойствами могут не заразить семенной материал. Для этого, кроме инокуляции семян, заражение необходимо проводить и на более поздних стадиях развития (прил. В).

В опыте по инокуляции сеянцев объектами исследований являлись:

- фитопатогенные грибы (*Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, *Verticillium dahliae* Kleban, *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds, *Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton, *Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov, *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.);

- гибридный материал, полученный от свободного опыления устойчивых и восприимчивых сортов к данным видам патогенов (Фестивальная, Золушка, Эльсанта, Зенга Зенгана, Хоней, Кимберли, Дукат, Кама, Росинка, Флорида).

5.2.1. Искусственное заражение методом опрыскивания суспензией спор патогена в фазу 1–2 настоящих листа

Несмотря на то, что патогены, вызывающие трахеомикозное увядание растений (*V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *F. oxysporum*, *C. acutatum*), в первую очередь поражают корневую систему, в следующем опыте изучали возможность проникновения указанных выше грибов в растение через надземную его часть.

Так, при инокуляции сеянцев опрыскиванием суспензией спор патогенных грибов, вызывающих вертициллезное увядание, симптомы болезни наблюдались у 66,7 % сеянцев, полученных от свободного опыления восприимчивого к вертициллезу сорта (Фестивальная), и 28,6 % сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта (Золушка) (рис. 21).

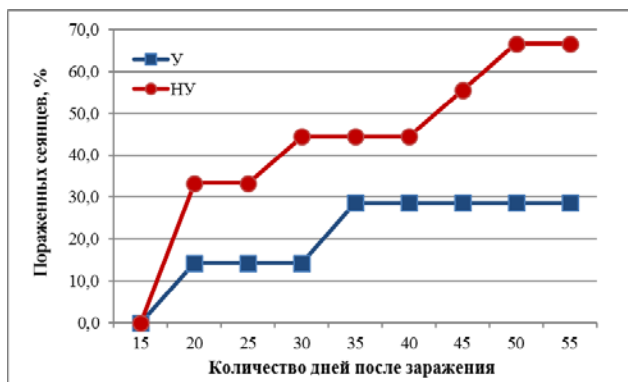


Рис. 21. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой в фазе 1–2 настоящих листа при опрыскивании суспензией спор *V. albo-atrum* и *V. dahlia*

При заражении семян опрыскиванием суспензией спор *Fusarium oxysporum* симптомы болезни наблюдались у 11,1 % семян, полученных от свободного опыления восприимчивого к фузариозу сорта (Эльсанта), и 5,3 % семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта (Зенга Зенгана) (рис. 22).

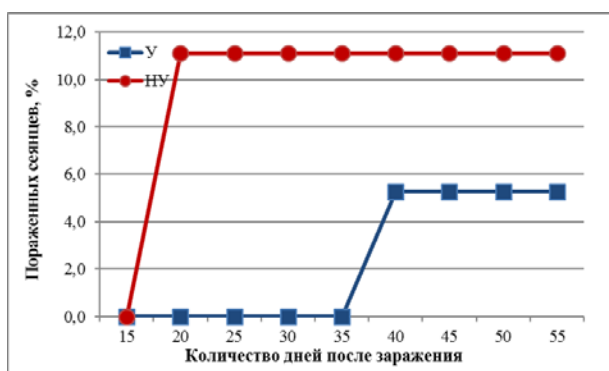


Рис. 22. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой в фазе 1–2 настоящих листа при опрыскивании суспензией спор *F. oxysporum*

В этом варианте семена земляники были поражены в меньшей степени по сравнению с инокуляцией вертициллезным увяданием.

Это доказывает, что у патогенов, вызывающих вертициллез, паразитические свойства развиты сильнее.

При инокуляции семян опрыскиванием суспензией спор *Colletotrichum acutatum* симптомы болезни наблюдались у 37,5 % семян, полученных от свободного опыления восприимчивого к антракнозу сорта (Кимберли), и 32,1 % семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта (Хоней) (рис. 23).

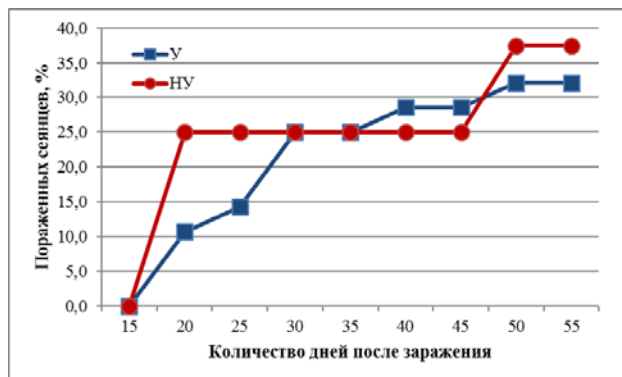


Рис. 23. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой в фазе 1–2 настоящих листа при опрыскивании суспензией спор *C. acutatum*

Если сравнивать паразитические свойства *V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *F. oxysporum*, *C. acutatum*, то последний занимает промежуточное положение, несмотря на то, что поражение антракнозом гибридов устойчивого сорта было самым высоким. Это еще раз доказывает, что устойчивых к антракнозу сортов нет, есть сорта выносливые (табл. 6).

Таблица 6. Эффективность заражения гибридных семян земляники садовой методом опрыскивания суспензией спор в фазу 1–2 настоящих листа

Вид	Материнский сорт	Процент семян, погибших от повреждений болезнью, %
<i>V. albo-atrum</i> + <i>V. dahlia</i>	Золушка	28,6
	Фестивальная	66,7
<i>Fusarium oxysporum</i>	Зенга Зенгана	5,3
	Эльсанта	11,1
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Хоней	32,1
	Кимберли	37,5

В опыте по заражению сеянцев земляники садовой в фазе 1–2 настоящих листа путем опрыскивания суспензией спор патогена объектами исследований также были грибы, вызывающие пятнистости листьев (*Coniella fragariae*, *Gnomoniopsis fructicola*, *Phoma exigua*). Однако они имели невысокое распространение, что вероятнее всего связано со слабым развитием листового аппарата у сеянцев с 2 настоящими листьями. В связи с чем, инокуляцию этими видами проводили повторно в фазе 3–4 настоящих листьев.

5.2.2. Искусственное заражение методом обмакивания корневой системы в суспензию спор патогена при пикировке

Одним из лучших способов заражения земляники патогенами, поражающими корневую систему, считается обмакивание корней в суспензию спор при пикировке, так как пересадка связана с повреждением корневой системы, что облегчает попадание инфекции в проводящую систему растения. В этом опыте объектами служили патогены, вызывающие вертициллезное, фузариозное и антракнозное увядание растения земляники садовой.

5.2.2.1. Искусственное заражение вертициллезом

Чтобы подтвердить вывод, сделанный ранее о том, что при инокуляции болезнью, которая может вызываться несколькими видами патогенов, заражение необходимо проводить в несколько этапов отдельно каждым патогеном. Инокуляцию сеянцев вертициллезным увяданием при пикировке проводили как отдельно каждым видом, так и суспензией из смеси спор двух видов грибов *V. albo-atrum* и *V. dahliae*.

В результате при инокуляции патогеном *V. albo-atrum* у сеянцев восприимчивого сорта от вертициллеза выпало 100 % растений, у сеянцев устойчивого сорта – 50,0 % (рис. 24).

При инокуляции корневой системы земляники патогеном *V. dahliae* у сеянцев восприимчивого сорта от вертициллеза выпало 80,0 % растений, у сеянцев устойчивого сорта – 70,0 % (рис. 25).

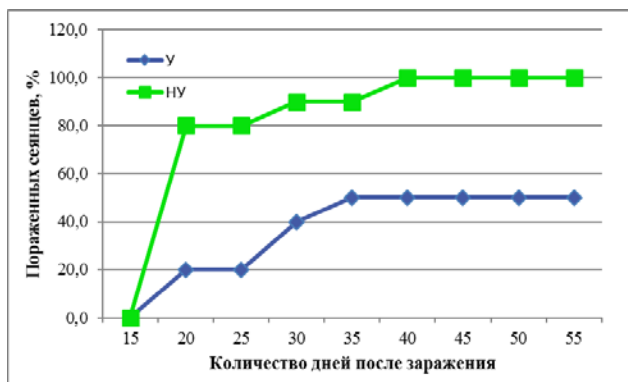


Рис. 24. Уровень поражения вертициллезом гибридных семян земляники садовой при обмакивании корневой системы в суспензию спор *V. albo-atrum*

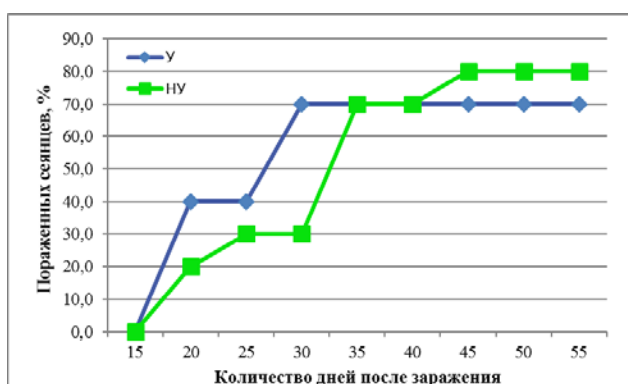


Рис. 25. Уровень поражения вертициллезом гибридных семян земляники садовой при обмакивании корневой системы в суспензию спор *V. dahliae*

Можно заметить, что в первом варианте все гибридные семена, полученные от свободного опыления восприимчивого сорта Фестивальная, были поражены вертициллезным увяданием, тогда как во втором варианте количество пораженных гибридных семян от восприимчивого сорта снизилось на 20 %. Однако поражение гибридных семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта Золушка, во втором варианте увеличилось на 20 %, что вероятнее всего связано с

гибридным происхождением посевного материала, который дает неоднозначный результат.

В результате инокуляции корневой системы земляники садовой при пикировке методом обмакивания в суспензию спор, полученную из смеси патогенов *V. dahliae* и *V. albo-atrum* у семян, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта Фестивальная, от вертициллеза выпало 90,0 % растений, у семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта Золушка, выпало 70,0 % (рис. 26).

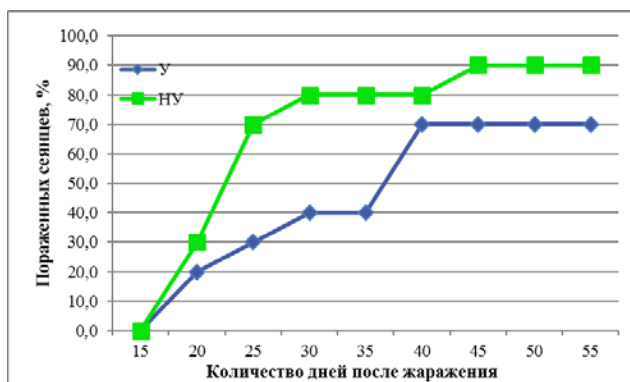


Рис. 26. Уровень поражения вертициллезом гибридных семян земляники садовой при обмакивании корневой системы в суспензию спор из смеси *V. dahliae* и *V. albo-atrum*

Эти результаты еще раз доказывают, что если проводить искусственное заражение суспензией спор из смеси двух патогенов, то вероятно, что грибы будут влиять на развитие друг друга, а процент пораженных семян в этом случае будет не увеличиваться, а находиться на среднем уровне или уменьшаться (табл. 7).

Таблица 7. Эффективность заражения гибридных семян земляники садовой вертициллезом способом обмакивания корневой системы в суспензию спор

Вид	Материнский сорт	Процент семян, погибших от повреждений болезнью, %
<i>Verticillium albo-atrum</i>	Золушка	50
	Фестивальная	100
<i>Verticillium dahliae</i>	Золушка	70
	Фестивальная	80
<i>Verticillium albo-atrum</i> + <i>Verticillium dahliae</i>	Золушка	70
	Фестивальная	90

5.2.2.2. Искусственное заражение фузариозом

При заражении семян земляники садовой путем обмакивания корневой системы в суспензию спор патогена *Fusarium oxysporum* Schltdl. во время пикировки симптомы болезни наблюдались у 22,2 % семян, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта, и 10,5 % семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта (рис. 27).

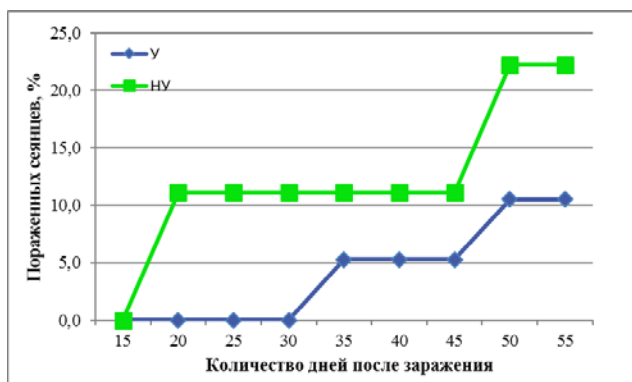


Рис. 27. Уровень поражения фузариозом гибридных семян земляники садовой при обмакивании корневой системы в суспензию спор *F. oxysporum*

Исходя из полученных результатов, видно, что фитопатогенный гриб *F. oxysporum* обладает более слабыми паразитическими свойствами по сравнению с патогенами вызывающими вертициллезное увядание земляники садовой.

В каждом варианте опыта использовался свой контрольный вариант, который не отображали графически, так как пораженных растений там не было.

5.2.2.3. Искусственное заражение антракнозом

В результате искусственного заражения семян земляники садовой путем обмакивания корневой системы в суспензию спор патогена *Colletotrichum acutatum* во время пикировки симптомы болезни наблюдались у 33,3 % семян, полученных от свободного опыления

восприимчивого сорта Кимберли, и 32,1 % сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта Хоней (рис. 28).

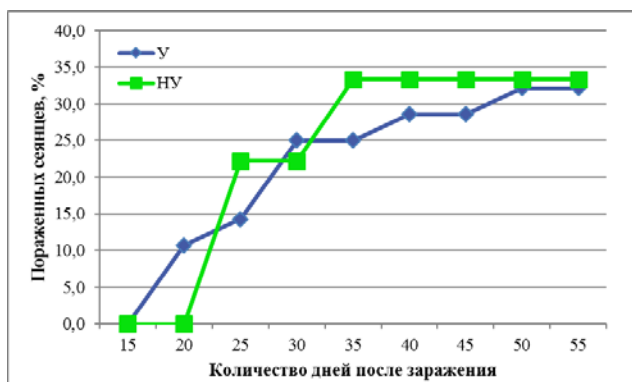


Рис. 28. Уровень поражения антракнозом гибридных сеянцев земляники садовой при обмакивании корневой системы в суспензию спор *C. acutatum*

В каждом варианте опыта, где объектами исследований являлись патогены, поражающие сосудистую систему растения (*V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *F. oxysporum*, *C. acutatum*), прослеживалось сильное паразитическое воздействие на сеянцы земляники патогенов, вызывающих вертициллезное увядание (табл. 8).

Таблица 8. Эффективность заражения гибридных сеянцев земляники садовой методом обмакивания корневой системы в суспензию спор

Вид	Материнский сорт	Процент сеянцев, погибших от повреждений болезнью, %
<i>V. albo-atrum</i> , <i>V. dahlia</i>	Золушка	70,0
	Фестивальная	90,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	Зенга Зенгана	10,5
	Эльсанта	22,2
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Хоней	32,1
	Кимберли	33,3

На второй позиции по паразитическим свойствам был патоген *C. acutatum*, вызывающий антракноз земляники, наименьшее отрицательное влияние на развитие растений оказывал грибок *F. oxysporum*, вызывающий фузариоз земляники садовой.

5.2.3. Искусственное заражение методом опрыскивания суспензией спор патогена в фазу 3–4 настоящих листа

В естественных условиях источником заражения пятнистостями листьев являются конидии патогена, которые разносятся ветром, дождем, насекомыми, легко прорастают и заражают здоровые листья земляники, проникая в их ткани через устьица или путем пробурывания эпидермы [1, 9]. На этом свойстве конидии основан способ искусственного заражения путем опрыскивания суспензией спор патогена.

В опыте по инокуляции сеянцев путем опрыскивания суспензией спор в фазу 3–4 настоящих листьев объектами исследований являлись патогенные грибы, вызывающие пятнистости листьев земляники садовой (*Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton, *Gnomoniopsis fructicola* (Arnaud) Sogonov, *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.) и гибридный материал, полученный от свободного опыления устойчивых и восприимчивых сортов к данным видам патогенов (Дукат, Кама, Росинка, Флорида, Кимберли, Зенга Зенгана).

В результате заражения *C. fragariae* в течение двух месяцев болезнь не проявилась. Вероятно, это связано с тем, что этот вид является ягодным патогеном. В ходе научно-исследовательской работы «Видоспецифический состав и патогенность эпифитотийно опасных возбудителей болезней земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) на территории Беларуси» договор с БРФФИ № Б14-120 от 23.05.2014 г., вид *Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton выделяли как с листьев, так и с ягод. По результатам их исследований [18] в опыте по проверке штаммов на патогенность, где исследователи инфицировали листья земляники, вид *C. fragariae* оказался возбудителем с неподтвержденной патогенностью.

При заражении сеянцев земляники садовой путем опрыскивания суспензией спор патогена *Gnomoniopsis fructicola*, симптомы болезни наблюдались на всех сеянцах, полученных от свободного опыления, как восприимчивого, так и устойчивого сортов (рис. 29). Во всех вариантах опыта был свой контрольный вариант без обработки, признаков заболевания на котором не наблюдалось.

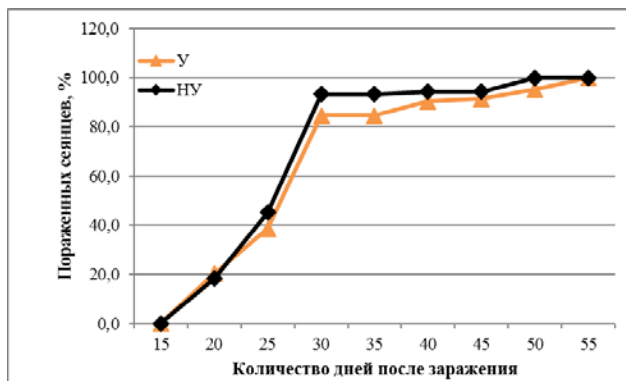


Рис. 29. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при опрыскивании суспензией спор *G. fructicola*

По краям или вдоль центральной жилки листа появлялись бурые сухие пятна. На черешках темные пятна как бы окольцовывали, передавливали черешок, что приводило к высыханию листа. Небольшое количество пораженных семян было высажено в открытый грунт для изучения развития болезни в естественных условиях (прил. В, рис. 3, 4).

В результате инокуляции семян путем опрыскивания суспензией спор патогена *Phoma exigua* симптомы болезни наблюдались у 28,1 % семян, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта Зенга Зенгана и 20,0 % гибридных семян, полученных от свободного опыления устойчивого сорта Кимберли (рис. 30).

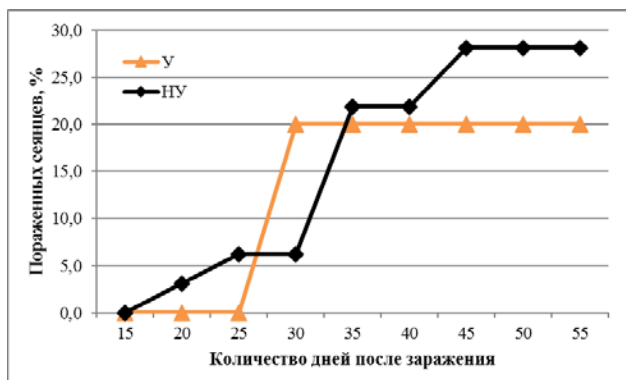


Рис. 30. Уровень поражения гибридных семян земляники садовой при опрыскивании суспензией спор *Ph. exigua*

При поражении грибом на листовой пластинке появлялись сухие бурые пятна, в основном вдоль центральной жилки листа, похожие как при повреждении видом *G. fructicola*. Пятно распространялось по всей поверхности листовой пластины, что в конечном итоге приводило к высыханию листа (прил. В, рис. 5, 6).

Большое количество пораженных сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта, вероятно, связано, как оговаривалось выше, с их гибридным происхождением (табл. 9).

Таблица 9. Эффективность заражения гибридных сеянцев земляники садовой методом опрыскивания суспензией спор в фазу 3–4 настоящих листа

Вид	Материнский сорт	Процент пораженных сеянцев, %
<i>Coniella fragariae</i>	Дукат	–
	Кама	–
<i>Gnomoniopsis fructicola</i>	Росинка	100
	Флорида	100
<i>Phoma exigua</i>	Кимберли	20,0
	Зенга Зенгана	28,1

Отобранный гибридный материал высажен в открытый грунт для дальнейшей их оценки на комплекс хозяйственно ценных признаков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При инокуляции семенного материала уже на стадии проростков можно отобрать устойчивые генотипы и облегчить процесс повторного заражения в фазу образования настоящих листьев.

Наиболее эффективным способом инокуляции семян земляники садовой вертициллезом является заражение пророщенных во влажной камере семян путем опрыскивания их споровой суспензией патогена. В этом варианте во всех трех случаях (*V.dahliae*, *V. albo-atrum*, *V. dahliae* + *V.°albo-atrum*) от вертициллезного увядания выпало 100,0, 100,0, 96,3 % сеянцев соответственно, полученных от свободного опыления восприимчивого сорта, и 41,7, 25,0, 57,9 % сеянцев, полученных от свободного опыления устойчивого сорта.

Лучшим способом инокуляции семенного материала земляники садовой фитопатогенным грибом *Fusarium oxysporum* Schltdl., вызывающим фузариозное увядание растений, является заражение семян путем опрыскивания суспензией спор патогена. Симптомы болезни проявились у 100 % сеянцев, полученных от свободного опыления восприимчивого и 55,6 % сеянцев от устойчивого сорта. Близким по эффективности оказался способ заражения пророщенных семян во влажной камере на инокулюме (100 % пораженных сеянцев от восприимчивого сорта и 57,1 % пораженных сеянцев от устойчивого сорта). Однако этот способ уступает по причине своей низкой технологичности.

При инокуляции семенного материала земляники садовой фитопатогенным грибом *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, вызывающим антракноз, наиболее эффективным является посев в инфицированную почву и заражение семян путем опрыскивания суспензией спор патогена. Преимущество этих методов инокуляции семян в простоте их выполнения и в эффективности использования (93,8 и 62,5 % пораженных сеянцев от восприимчивого и устойчивого сортов в первом варианте; 100 и 25 % пораженных антракнозом сеянцев во втором варианте соответственно).

Проводить искусственное заражение болезнью, которая может вызываться несколькими видами патогенов, необходимо в несколько этапов отдельно каждым патогеном. Если при инокуляции использовать суспензию спор из смеси патогенов, они могут влиять на развитие друг друга, что может исказить результаты опыта.

2. Опыт по искусственному заражению гибридных сеянцев методом опрыскивания в фазу 1–2 настоящих листа показал, что инокуля-

цию почвенными патогенами можно проводить и через надземную систему растения. Сильные паразитические свойства были отмечены у грибов, вызывающих вертициллезное увядание на растениях (66,7 % пораженных семян восприимчивого сорта и 28,6 % семян устойчивого сорта). На второй позиции патоген *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds (37,5 % пораженных семян восприимчивого сорта и 32,1 % семян устойчивого сорта). Слабые паразитические свойства наблюдались у патогена *Fusarium oxysporum* Schltdl. (11,1 % пораженных семян восприимчивого сорта и 5,3 % семян устойчивого сорта.)

Инокуляцию семян патогенами, вызывающими пятнистости листьев (*Coniella fragariae*, *Gnomoniopsis fruticola*, *Phoma exigua*), необходимо проводить на более поздней стадии развития растения, так как слабое развитие листового аппарата у семян с 2 настоящими листьями препятствует развитию болезни.

В опыте по искусственному заражению семян путем обмакивания корневой системы в суспензию спор при пикировке наблюдалось сильное поражение семян вертициллезным увяданием (90 % пораженных гибридных семян восприимчивого сорта и 70 % гибридных семян устойчивого сорта), поражение антракнозом было на среднем уровне (32,1 % пораженных семян восприимчивого сорта и 33,3 % семян устойчивого сорта). Поражение гибридных семян фузариозом находилось на уровне 22,2 % восприимчивого сорта и 10,5 % устойчивого сорта.

При инокуляции семян путем опрыскивания суспензией спор в фазу 3–4 настоящих листьев патогенами, вызывающими пятнистости, сильные паразитические свойства были отмечены у *Gnomoniopsis fruticola* (Arnaud) Sogonov. Болезнь распространилась на все семена, полученные от свободного опыления как восприимчивого, так и устойчивого сорта. Патогеном *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc.) было поражено 28,1 % семян восприимчивого сорта и 20 % семян устойчивого сорта.

В результате заражения патогеном *Coniella fragariae* (Oudem.) B. Sutton в течение двух месяцев болезнь не проявилась. Что вызывает необходимость дальнейшего изучения паразитических свойств данного вида.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А



Рис. 1. Растение земляники садовой с симптомами вертициллезного увядания



Рис. 2. Растение земляники садовой с симптомами фузариозного увядания

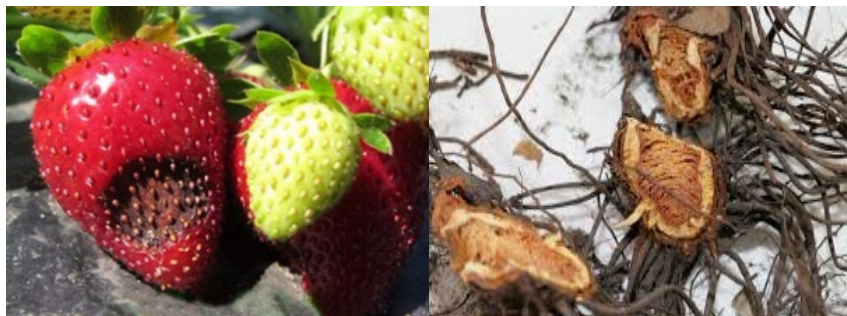


Рис. 3. Растение земляники садовой с симптомами антракноза

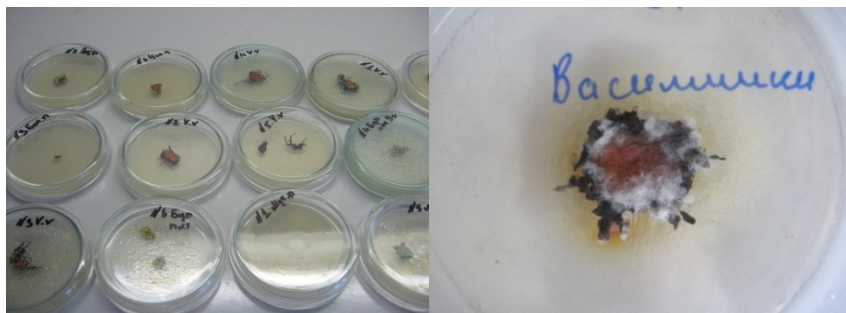


Рис. 1. Выделение фитопатогенных грибов из пораженных частей растения земляники

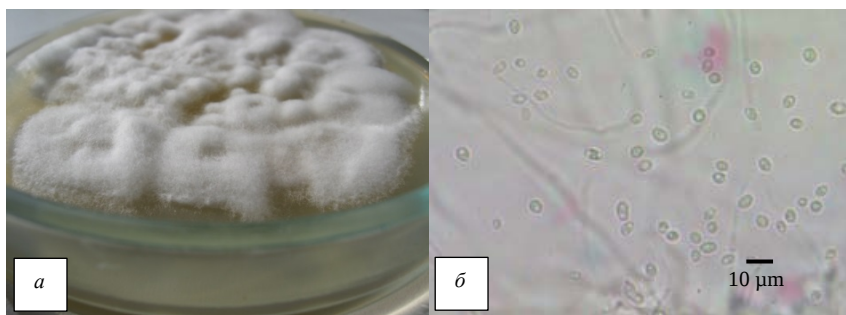


Рис. 2. Гриб *V. dahliae* Kleban на картофельно-глюкозном агаре
а – внешний вид колонии; б – мицелий и конидии гриба

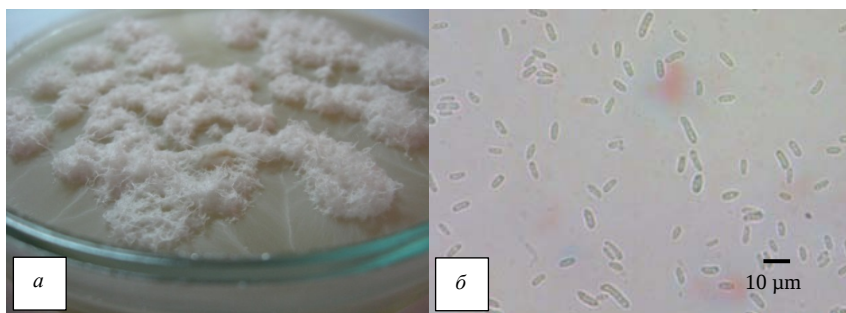


Рис. 3. Гриб *V. albo-atrum* Reinke et Berthold на картофельно-глюкозном агаре
а – внешний вид колонии; б – конидии гриба

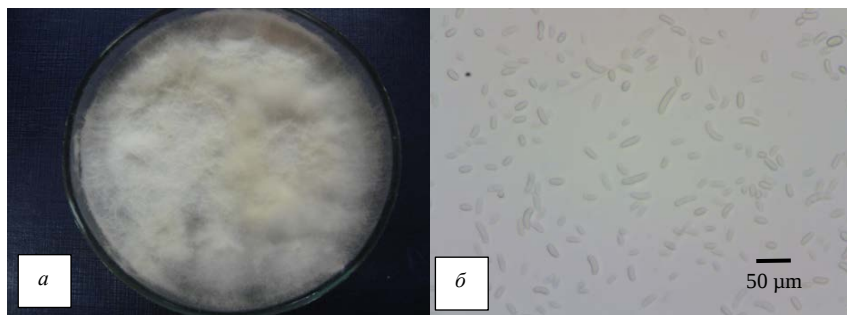


Рис. 4. Гриб *Fusarium oxysporum* Schldt. на синтетическом агаре Чапека
 а – внешний вид колонии; б – конидии гриба

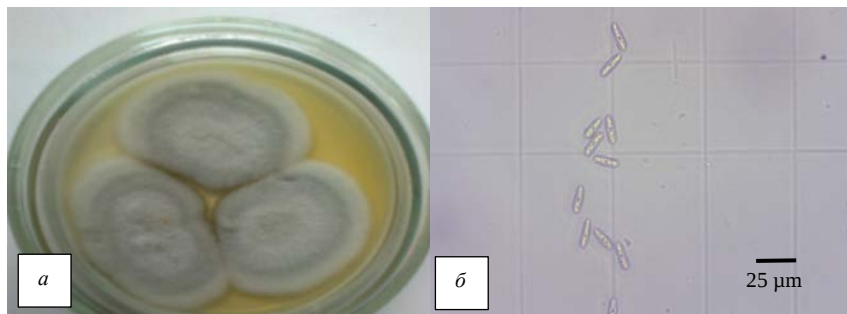


Рис. 5. Гриб *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds на картофельно-глюкозном агаре
 а – внешний вид колонии; б – конидии гриба

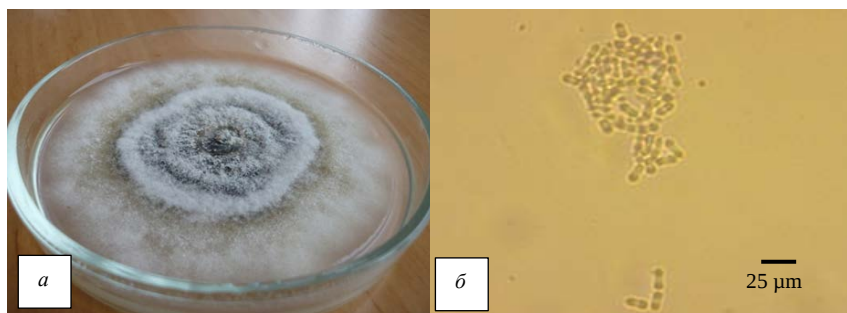


Рис. 6. Гриб *Gnomoniopsis fructicola* (Amaud) Sogonov на картофельно-глюкозном агаре
 а – внешний вид колонии; б – конидии гриба



Рис. 7. Гриб *Phoma exigua* (Schulzer & Sacc) на картофельно-глюкозном агаре



Рис. 8. Прорастание конидий грибов *Verticillium dahliae* и *V. albo-atrum*

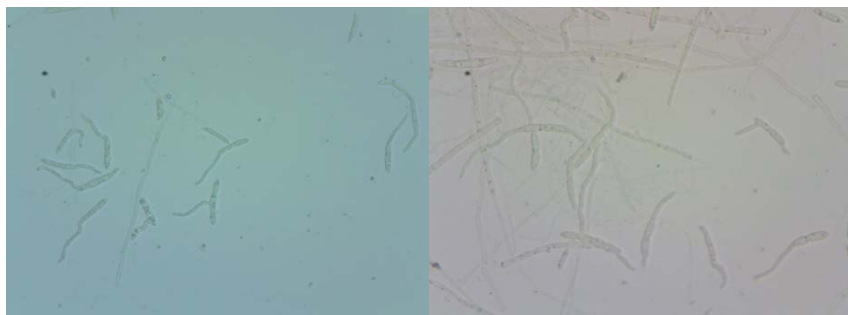


Рис. 9. Прорастание конидий грибов *Fusarium equiseti* и *Fusarium oxysporum*



Рис. 1. Искусственное заражение фузариозом при пикировке: а – зараженный сеянец; б – контроль

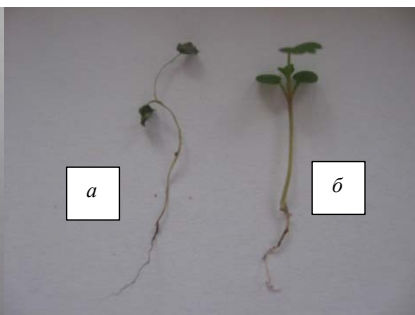


Рис. 2. Пораженный вертициллезом (а) и здоровый (б) сеянцы земляники садовой



Рис. 3. Искусственное заражение угловатой пятнистостью



Рис. 4. Пораженная листовая пластинка патогеном *Gnomoniopsis fruticicola*



Рис. 5. Пораженная листовая пластинка патогеном *Phoma exigua*

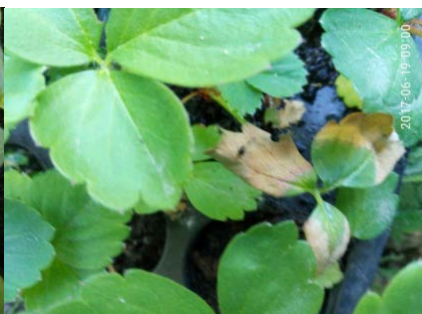


Рис. 6. Отмирание листа в результате воздействия патогена *Phoma exigua*

Происхождение сортов земляники садовой и краткая их характеристика [1,901]

Сорт	Происхождение	Учреждение-оригинатор	Характеристика
Фестивальная	Обильная × Премьер	Павловская опытная станция	Среднеустойчив к серой гнили и клещу. В сильной степени поражается мучнистой росой, вертициллезом, фитофторозом
Золушка	Фестивальная × Зенга Зенгана	ВСТИСП	Устойчив к мучнистой росе, вертициллезу, поражается серой гнилью
Эльсанта (Elsanta)	Горелла × Холидей	– // –	В малой степени поражается серой гнилью, устойчив к пятнистостям листьев, поражается мучнистой росой, чувствителен к болезням корневой системы
Зенга Зенгана (Senga Sengana)	Сеянец Марки × Зигер	Германия	Устойчив к вертициллезному, фузариозному и фитофторозному увяданиям. Поражается серой и кожистой гнилями, пятнистостями листьев и клещом
Хоней (Honeoye)	Вибрант × Холидей (Holiday)	США	Восприимчив к мучнистой росе, вертициллезу, устойчив к серой гнили, болезням листьев, терпим к антракнозу
Кимберли (Kimberly)	Горелла (Gorella) × Чендлер	Голландия	Высоко устойчив к вертициллезному увяданию и мучнистой росе, восприимчив к антракнозу
Кама (Kama)	Senga Sengana × Cavalier	Польша	Восприимчив к пятнистостям листьев
Дукат (Dukat)	Korolowa 100 × Gorella	Польша	Устойчив к пятнистостям листьев
Флорида (Florida)	Не установленно	США	Устойчив к грибным заболеваниям
Росинка*	(Кокинская ранняя × Сюрприз олимпиаде) × (Фестивальная ромашка × Сюрприз олимпиаде)	Кокинский опорный пункт ВСТИСП, Россия	Устойчив к комплексу грибных болезней

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Говорова, Г. Ф. Земляника: прошлое, настоящее, будущее / Г. Ф. Говорова, Д. Н. Говоров. – М.: ФГНУ «Росинформагоротех», 2004. – 348 с.
2. Гришанович, А. К. Болезни земляники в условиях БССР и меры борьбы с ними: автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук: 06.540 – фитопатология / А. К. Гришанович; МСХ БССР, Белорус. НИИ земледелия. – Минск: [б. и.], 1971. – 22 с. – Библиогр.: С. 22 (9 назв.). – Б. ц.
3. Натальина О. Б. Болезни ягодников / О. Б. Натальина. – М.: Изд-во с.-х. лит., журн. и плакатов, 1963. – 272 с.
4. Методические указания по борьбе с гнилями ягод земляники / составители О. З. Метлицкий, И. А. Ундрицова, Н. А. Холод. – М.: ВСТИСП, 2003. – 73 с.
5. Пугачев, Р. М. Морфологические особенности фитопатогенных грибов земляники садовой при культивировании на питательных средах [Текст] / Р. М. Пугачев, И. Г. Пугачева, В. Н. Купцов, Т. Н. Камедько // Земледелие и защита растений = Agriculture and Plant Protection : научно-практический журнал. – 2015. – № 6(103). – С. 30–33.
6. Пугачев, Р. М. Эффективность спороношения фитопатогенных грибов земляники садовой при культивировании на питательных средах / Р. М. Пугачев, И. Г. Пугачева, Т. Н. Камедько, М. В. Сандалова // Інноваційний розвиток АПК України: проблеми та їх вирішення : матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті декана агро-номічного факультету М. Ф. Рибак (м. Житомир, 19–20 листоп. 2015 р.). – Житомир: ЖНАЕУ, 2015. – С. 187–188.
7. Методика оценки гибридных сеянцев земляники садовой на устойчивость к вертициллезному увяданию // Т. Н. Камедько, Р. М. Пугачев. – Горки: БГСХА, 2017. – 34 с.
8. Meszka, B. Болезни корневой системы на плантациях земляники / B. Meszka, A. Bielenin // Owoco, warzywa, kwiaty. – Skierniewice. – 2005. – № 11. – С. 36–38.
9. Пидопличко, Н. М. Грибы-паразиты культурных растений: определитель: в 3 т. / Н. М. Пидопличко; Акад. наук Укр. ССР; Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного. – Киев: Наукова думка, 1977. – Т. 1: Грибы совершенные. – 296 с.; Пидопличко, Н. М. Грибы-паразиты культурных растений / Н. М. Пидопличко; Акад. наук Укр. ССР; Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного. – Киев: Наукова думка, 1977. – Т. 2: Грибы несовершенные. – 300 с.; Пидопличко, Н. М. Грибы-паразиты культурных растений / Н. М. Пидопличко; Акад. наук Укр. ССР; Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного. – Киев: Наукова думка, 1978. – Т. 3: Пикнидиальные грибы. – 231 с.
10. Пересыпкин, В. Ф. Сельскохозяйственная фитопатология / В. Ф. Пересыпкин. – М.: Колос, 1974. – 560 с.
11. Литвинов, М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов / М. А. Литвинов – Л.: Наука, 1967. – 303 с.
12. Говорова, Г. В. Грибные болезни земляники: монография / Г. В. Говорова, Д. Н. Говоров – М.: ВСТИСП, 2010. – С. 84–88.
13. Камедько, Т. Н. Селекция земляники садовой на устойчивость к фузариозу // Технологические аспекты возделывания сельскохозяйственных культур: сборник статей по материалам XII Междунар. науч.-практ. конф. – Горки: БГСХА, 2018. – С. 91–95.
14. Скрипка, О. В. Антракноз *Colletotrichum acutatum* Simmonds – опасное заболевание земляники / О. В. Скрипка, И. П. Дудченко, М. Б. Копина, С. В. Никифоров // Карантин растений наука и практика. – 2014. – 4/10. – С. 28–30.

15. Guerber, J. C. Characterization of *Glomerella acutata*, the teleomorph of *Colletotrichum acutatum* / J.C. Guerber, J.C. Correll // Mycologia. – 2001. – №93(1). – P. 216–229.
16. Quarantine pests for Europe (1997) Data sheets on quarantine pests *Colletotrichum acutatum*. CABI EPPO, 691–697.
17. Phillip, S. Wharton (2004) The biology of *Colletotrichum acutatum* / S. Wharton Phillip, Javier Diéguez-Urbeondo // Anales del Jardín Botánico de Madrid. – 2004. – 61, 1, – P. 3–22. www.rjb.csic.es.
18. Атлас грибных болезней земляники садовой / Р. М. Пугачёв [и др.]. – Горки : БГСХА, 2017. – 54 с.
19. Методические рекомендации по проведению экспедиционного обследования насаждений земляники садовой / Р. М. Пугачёв [и др.]. – Горки: БГСХА, 2017. – 34 с.
20. 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» / В. Д. Поликсенова, А. К. Храмов, С. Г. Пискун. – Минск: БГУ, 2004. – 36 с.
21. Наумова, Н. А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию / Н. А. Наумова. – Л.: Колос, 1970. – 208 с.
22. Методы ускоренной селекции моркови столовой на комплексную устойчивость к грибным болезням: метод. указ. / ВНИИО; сост. В. И. Леунов, [и др.] – М., 2011. – 56 с.
23. Наумов, Н. А. Методы микологических и фитопатологических исследований / Н. А. Наумов. – М.-Л.: Сельхозгиз, 1937. – 272 с.
24. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов / ВИЗР; ред. М. К. Хохряков. – Пушкин: ВИЗР, 1974. – 69 с.
25. Говоров, Д. Н. Совершенствование защиты земляники от вертициллезного увядания: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 06.01.11 / Д. Н. Говоров; Моск. с.-х. акад. – М., 2000. – 16 с.
26. Demire Durak E. Pathogenicity of Fusarium Species Isolated from Strawberry Plants in Erzurum Province/ E. Demire Durak, E. Demirci // Bitki Koruma Bülteni. – 2014. – № 54(3). – P. 247–253.
27. Namai, K. Resistance to anthracnose is decreased by tissue culture but increased with longer acclimation in the resistant strawberry cultivar // K. Namai, Y. Matsushima, M. Morishima, M. Amagai, T. Natsuaki // Journal of General Plant Pathology. – 2013. – № 79(6). – P. 402–411.
28. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / ВНИИСПК; под общ. ред. Е. Н. Седова и Т. П. Огольцовой. – Орел: ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
29. Общая и частная селекция и сортоведение плодовых и ягодных культур / Г. В. Еремин [и др.]; под ред. Г. В. Еремина. – М.: Мир, 2004. – 422 с.
30. James B. Sinclair, Onkar Dev Dhingra. Basic Plant Pathology Methods / CRC Press 1995 – 448 Pages .
31. Chandler, K. C. Resistance of selected strawberry cultivars to Anthracnose fruit rot and Botrytis fruit rot / K.C. Chandler, C.J. Mertely, N. Peres // Acta Horticulturae. – 2006. – №708. – P. 123–126.
32. Masny, A. Field performance of selected strawberry genotypes collected at the Research Institute of Pomology and Floriculture (RIPF), Skierniewice, Poland / A. Masny, E. Zurawicz // Acta Horticulturae. – 2004. – № 649. – P. 147–150.
33. Koike, T. S. Recent developments on strawberry plant collapse problems in California caused by *Fusarium* and *Macrophomina* / T. S. Koike, R. T. Gordon, O. Daugovich,

H. Ajwa, M. Bolda, K. Subbarao // International Journal of Fruit Science. – 2013. – № 13. – P. 76–83.

34. Żebrowska, J. I. Efficacy of resistance selection to *Verticillium wilt* in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) tissue cultur / J. I. Żebrowska // Acta agrobotanica / Soc. botanicorum poloniae. –Lublin.–2011.–№ 64 (3).–P. 3–11.

35. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур / ВНИИС им. И. В. Мичурина; под ред. Г. А. Лобанова: ВНИИС, 1980. – 531 с.

36. Шток, Д. А. О зараженности семян хлопчатника *Gossypium Hirsutum* грибом *Verticillium dahliae* Kleb / Д. А. Шток // Микология и фитопатология. – 1974.– 8,4.– С. 374–375.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ГРИБНЫЕ БОЛЕЗНИ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ.....	5
1.1. Симптомы проявления увяданий	5
1.1.1. Вертициллезное увядание земляники садовой.....	5
1.1.2. Фузариозное увядание земляники садовой	6
1.1.3. Антракнозное увядание земляники садовой	7
1.1.4. Симптомы проявления пятнистостей.....	7
2. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ НА ЕСТЕСТВЕННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ФОНЕ.....	9
2.1. Методы оценки степени устойчивости земляники садовой к увяданиям	9
2.2. Методы оценки степени устойчивости к антракнозу	10
2.3. Методы оценки степени устойчивости к листовым болезням.....	11
3. ПОДГОТОВКА ИНФЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ	12
3.1. Приготовление питательных сред.....	12
3.2. Выделение патогенов из растительного материала и получение чистых культур .	14
3.3. Идентификация выделенных культур.....	15
3.4. Проверка жизнеспособности и патогенности инфекционного материала	18
4. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕЯНЦЕВ НА ИСКУССТВЕННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ФОНЕ	20
4.1. Методика заражения семенного материала.....	20
4.2. Методика искусственного заражения сеянцев	22
5. АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ.....	23
5.1. Результаты инокуляции семенного материала грибными патогенами, вызывающими увядание земляники садовой	23
5.1.1. Сравнительная оценка различных методов искусственного заражения семян земляники вертициллезом	24
5.1.1.1. Искусственное заражение <i>Verticillium dahliae</i> Kleban.....	24
5.1.1.2. Искусственное заражение <i>V. albo-atrum</i> Reinke et Berthold.....	27
5.1.1.3. Искусственное заражение суспензией спор из смеси патогенов <i>V. dahlia</i> и <i>V. albo-atrum</i>	30
5.1.2. Сравнительная оценка различных методов искусственного заражения семян земляники фузариозом (<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.)	34
5.1.3. Сравнительная оценка различных методов искусственного заражения семян земляники антракнозом (<i>Colletotrichum acutatum</i> J. H. Simmonds).....	37
5.2. Результаты инокуляции гибридных сеянцев грибными патогенами.....	41
5.2.1. Искусственное заражение методом опрыскивания суспензией спор патогена в фазу 1–2 настоящих листа	41
5.2.2. Искусственное заражение методом обмакивания корневой системы в суспензию спор патогена при пикировке	44
5.2.2.1. Искусственное заражение вертициллезом	44
5.2.2.2. Искусственное заражение фузариозом.....	47
5.2.2.3. Искусственное заражение антракнозом	47
5.2.3. Искусственное заражение методом опрыскивания суспензией спор патогена в фазу 3–4 настоящих листа.....	49
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	52
ПРИЛОЖЕНИЯ	54
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	60

Научное издание

Камедько Татьяна Николаевна
Пугачёв Роман Михайлович
Камедько Владимир Александрович и др.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УСКОРЕННОЙ
СЕЛЕКЦИИ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ НА КОМПЛЕКСНУЮ
УСТОЙЧИВОСТЬ К ГРИБНЫМ БОЛЕЗНЯМ

Редактор *Е. П. Савчиц*
Технический редактор *Н. Л. Якубовская*

Подписано в печать 09.07.2019. Формат 60×84 ¹/₁₆. Бумага офсетная.
Ризография. Гарнитура «Таймс». Уел. печ. л. 3,72. Уч.-изд. л. 2,59.
Тираж 40 экз. Заказ .

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия».
Свидетельство о ГРИИРПИ № 1/52 от 09.10.2013.
Ул. Мичурина, 13, 213407, г. Горки.

Отпечатано в УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия».
Ул. Мичурина, 5, 213407, г. Горки.