

Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение города
Калининграда средняя общеобразовательная школа № 7

государственное автономное учреждение Калининградской области
дополнительного образования «Калининградский областной детско-
юношеский центр экологии, краеведения и туризма»

Определение зараженности болезнями семян зерновых культур.

Автор: Черняховский Илья Сергеевич,
учащийся 8 «В» класса, МАОУ СОШ №
7 г. Калининграда.

Руководители:

Черняховская Светлана Тихоновна,
учитель биологии МАОУ СОШ № 7 г.
Калининграда; Гореликова Екатерина
Александровна, методист ГАУКОДО
КОДЮЦЭКТ

Научный консультант: Боровцова Елена
Владимировна, ведущий специалист
кафедры ФГБОУ КИПКА

г. Калининград

2020 г.

Содержание

Введение	3 с.
Глава 1. Литературный обзор	4 с.
1.1. История развития фитопатологии	4 с.
1.2. Фитопатогенные грибы	4 с.
1.3. Болезни семян сельскохозяйственных культур, выявляемые при проращивании	6 с.
1.4. Биологический метод	10 с.
Глава 2. Методика исследования	13 с.
Глава 3. Результаты и обсуждения	16 с.
Выводы	17 с.
Заключение	18 с.
Список использованной литературы	19 с.
Приложение 1. Болезни сельскохозяйственных культур (фото)	21 с.
Приложение 2. Методика исследования (фото)	23 с.

Введение

Актуальность. Болезни и вредители сельскохозяйственных культур представляют большую угрозу продовольственной безопасности, а в особенности зерновым культурам.

Площадь пашни в Калининградской области достигает 34050 га. На землях сельскохозяйственного назначения выращиваются разнообразные агрокультуры: пшеница, ячмень, рожь, овес, кукуруза, рапс и другие. В 2019 году был зафиксирован рекордный урожай пшеницы, который превысил 600 000 тонн. Это почти в два раза больше внутреннего потребления области и площади зерновых хранилищ, которые могли бы вместить такое количество зерна.

Однако, экспорт пшеницы оказался ограничен для некоторых партий так, как при получении необходимых фитосанитарных сертификатов возникли вопросы к качеству поставляемой продукции. В зерне были обнаружены семена сорных растений, а также споры фитопатогенных грибов (рода *Fusarium* - Фузариум, рода *Septoria* – Септория, рода *Helminthosporium* – Гельминтоспориум и др.).

Болезнетворные грибы приводят к существенному ухудшению качества зерна. Для того, чтобы снизить эти потери, улучшить фитосанитарную обстановку на посевах сельскохозяйственных культур, необходимо знать симптомы болезни, возбудителей заболевания, особенности их биологии, эффективность различных мероприятий, способствующих снижению вредоносности возбудителей болезней [8].

Для исследования проблемы зараженности семян зерновых культур мы обратились в филиал ФГБУ "Россельхозцентр" по Калининградской области к главному агроному Боровцовой Елене Владимировне. Елена Владимировна предоставила нам семена урожая 2018 г. наиболее зараженные фитопатогенами по результатам фитоэкспертизы, проведенной специалистами ФГБУ "Россельхозцентр" по Калининградской области.

Цель: определение зараженности болезнями семян зерновых культур.

Исходя из цели, были поставлены следующие **задачи:**

1. Ознакомиться по литературным источникам с наиболее опасными заболеваниями семян зерновых культур, причинах возникновения болезней, факторами, способствующими развитию того или иного заболевания, методами защиты растений от болезни; методикой определения зараженности болезнями.
2. Выявление фитопатогенов на семенах зерновых культур;
3. Определить виды болезней и долю зараженности партии пшеницы;
4. Определить виды болезней и долю зараженности партии ячменя;
5. Определить виды болезней и долю зараженности партии овса.

Объект исследования: пшеница, ячмень, овес урожая 2018 г., выращенного на полях Калининградской области.

Предмет исследования: зараженность семян зерновых культур

Для исследования образцов применялся **биологический метод** [11]. Метод применяют для выявления внешней и внутренней зараженности семян болезнями. Он основан на стимуляции развития и роста микроорганизмов в зараженных семенах.

Исследования проходили в период с **февраля по апрель 2020 г.** на базе лаборатории ГАУКОДО КОДЮЦЭКТ.

Глава 1. Литературный обзор.

1.1. История развития фитопатологии.

С болезнями растений люди сталкиваются очень давно.

Вред, причиняемый растениям болезнями, был известен человеку давно. Так, у древних греческих и римских авторов находят разрозненные описания ржавчины, головни, рака деревьев и др. болезней. В начале 18 в. делается попытка классифицировать болезни растений (франц. ботаник Ж. Турнефор). Во 2-й половине XVIII в. многочисленными опытами (А. Т. Болотов в России, А. Тимет во Франции, Ф. Фонтана в Италии, Я. Фабрициус в Дании) была доказана заразность головни, спорыньи, ржавчины и др. болезней [6].

Становлению фитопатологии как науки послужили работы ученых XIX века, Л. Тюлана из Франции и рус. миколога и фитопатолога М. С. Воронина из России. Они доказали, что паразитические грибы являются одной из причин возникновения заболеваний растений. Это послужило началом науке, изучающей болезни растений и методам борьбы с ними - фитопатологии.

Одно из важных исследований М. С. Воронина (1874—1880) изучение цикла развития возбудителя опасной болезни корней капусты «капустной килы» (*Plasmodiophora brassicae* Woron.).

Французские микологи братья Л. Тюлан (1815—1885) и Ч. Тюлан изучали историю развития и строение грибов-мучнисторосяных грибов, спорыньи и др.

При изучении больных растений центр тяжести переносится на паразитический гриб, его строение, биологические особенности и цикл развития, а само больное растение отодвигалось на дальний план. Это паразитарное, или микологическое, направление, несмотря на односторонность в изучении болезней растений, сыграло крупную положительную роль в развитии фитопатологических знаний [1].

1.2. Фитопатогенные грибы.

Грибы составляют большую группу бесхлорофилльных организмов, объединяющих более 100 000 видов. Кроме широко известных видов съедобных и ядовитых шляпочных грибов существует огромное число видов микроскопических грибов. Многие являются возбудителями болезней сельскохозяйственных культур, древесных пород и кустарников. К паразитическим грибам относятся представители классов Оомицеты

(Oomycetes), Аскомицеты (Ascomycetes), Базидиомицеты (Basidiomycetes) и Дейтеромицеты (Deuteromycetes).

Морфологическое строение. Вегетативное тело гриба представлено талломом, или *мицелием*. У низших форм таллом состоит из плазмодиев или отдельных клеток (пример, кила капусты). Более сложноорганизованные формы имеют таллом, состоящий из трубчатых нитей (*гифов*) [1] (рис. 1).

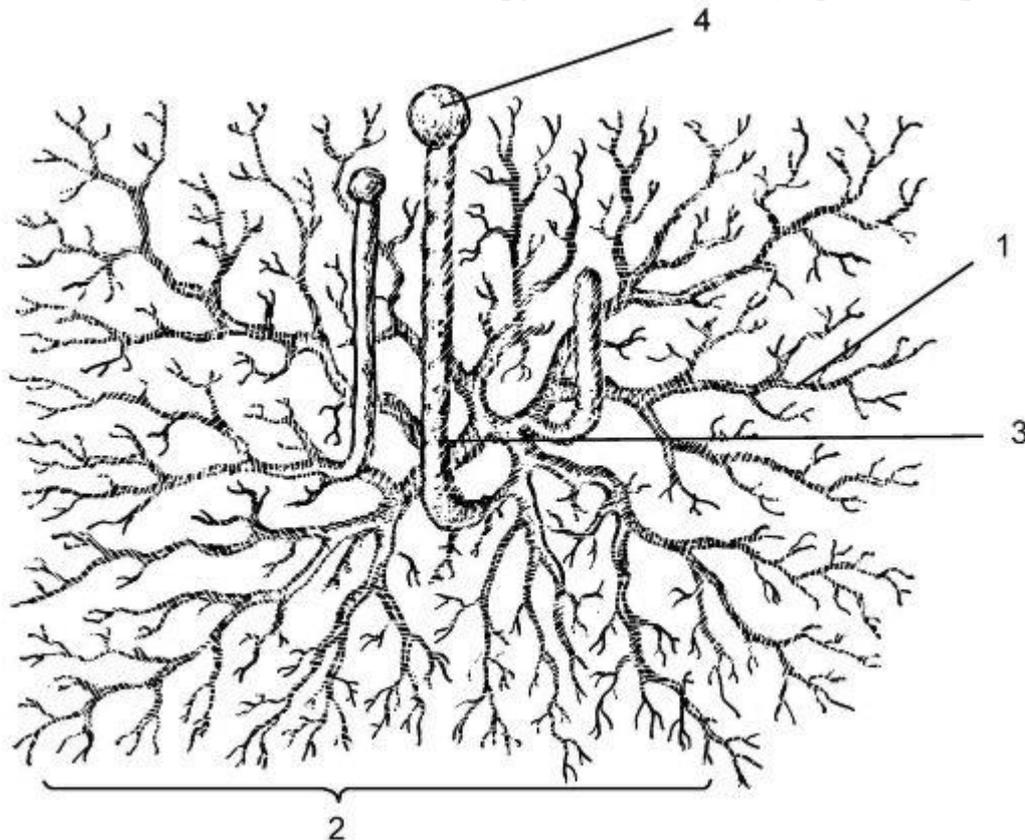


Рис. 1. Строение мукора (*Mucor mucedo*): 1 - гифа; 2 - мицелий; 3 - спорангиеносец; 4 - спорангий со спорами (<https://poznayka.org/s3832t1.html>).

Мицелий фитопатогенных грибов может быть поверхностным (экзогенным), погруженным (эндогенным) или полупогруженным в субстрат. Гифы мицелия могут видоизменяться, приспособившись к разным условиям роста и питания.

Фитопатогенные грибы – это гетеротрофы. Они питаются готовыми органическими веществами, всасывая вещества всей поверхностью гифов.

Клеточная стенка грибов содержит *хитин*, в клетках в процессе жизнедеятельности выделяется *мочевина*, образуется *гликоген* (запас питательных веществ).

Размножение и распространение грибов. Размножение грибов осуществляется вегетативным, бесполом и половым способами. *Вегетативное размножение* осуществляется частями мицелия. *Бесполое размножение* происходит посредством спор (*конидий*). Конидии образуются

на кончиках *гифов* – спороносцев, или *конидиеносцев*. Половое размножение происходит путем слияния ядер и цитоплазмы 2-х клеток (*гамет*) [1].

Фитопатогенные грибы неблагоприятные условия переносят в виде спор. Распространение происходит по ветру, с дождем и помощью животных. Заражение растений происходит через ранки в частях растений или путем растворения клеточной стенки растений грибными ферментами.

1.3. Болезни семян сельскохозяйственных культур, выявляемые при проращивании.

Гельминтоспориоз вызывается грибами рода **Helminthosporium** – **Гельминтоспориум** (класс Аскомицетов) (Приложение 1, рис. 2, 3).

Признаки темно-бурого гельминтоспориоза (корневая гниль), (*Bipolaris sorokiniana* Shoem Syn. *Helminthosporium sativum* Pamm, King, et Bakke.).

Для зараженных семян характерна бурая пигментация различных оттенков, вплоть до коричневого цвета. Семена покрываются густым черным налетом, состоящим из спороношения гриба. Конидиеносцы одиночные или в пучках по 2-3, бурые, длиной 110-150 мкм и шириной 6-8 мкм, обычно с 5-6 перегородками. Конидии веретенообразные, слегка изогнутые, темно-оливковые с 3-10 перегородками, на концах закругленные, длиной 60-120 мкм и шириной 15-20 мкм. [11].

Основную опасность представляют для зерновых и технических культур. Проявляются в виде пятнистостей листьев, потемнения зародыша. Распространяются с семенами и растительными остатками через почву. Основными абиотическими факторами, способствующими распространению фитопатогенных грибов, являются: низкая температура в период прорастания семян, нарушение севооборота, неперегнившие растительные остатки. Мерами противодействия являются - тщательная химическая обработка семян, почвы и подбор сортов. В закрытом грунте встречаются крайне редко, вызывая корневую гниль входов.

Фузариоз. Возбудитель гриба рода **Fusarium** - **Фузариум** (класс Аскомицетов) (Приложение 1, рис. 4, 5).

Признаки фузариоза (*Fusarium* sp.).

При проращивании семян в рулонах развивается очень тонкий, нежный, пушистый быстро разрастающийся мицелий вначале снежно-белого или ярко-малинового с прожилками цвета. Нередко семена окрашиваются в розовый или малиновый цвет и на них проявляются коростинки из спороношения гриба. Грибы этого рода характеризуются образованием микроконидий и макроконидий. Микроконидии одноклеточные, реже с 1-2 перегородками, овальные, яйцевидные. Макроконидии с 3-9 перегородками, разной формы, кривизны, изогнутости и размеров [11].

Фузариоз распространяется на все виды колосовых культур. Грибы могут перезимовывать на растительных остатках, семенах. Споры способны распространяться ветром на достаточно большие расстояния. В последние

десятилетия сильно распространены на территории нашей страны. Их рост сопровождается развитием микотоксинов, опасных для здоровья человека и животных. Причиной возникновения является высокая влажность в период колошения. Меры борьбы сходны с гельминтоспориозом, однако, для предотвращения фузариоза необходимы надлежащие условия хранения семян с влажностью не более 14%.

Источник первичной инфекции – конидии, фрагменты гиф и, при наличии сумчатого спороношения, аскоспоры грибов. Распространение патогенов в новые регионы обитания может происходить вместе с семенами. Большое значение в распространении и сохранении грибов имеют птицы, насекомые и другие членистоногие.

Септориоз вызывается грибами **рода Septoria – Септория** (Приложение 1 рис. 6, 7).

Род *Septoria* – фитопаразитические микомицеты, насчитывает около 1000 видов – возбудителей септориоза различных растений. Грибы этого рода вызывают на пораженных органах пятнистости различные по форме, окраске и величине [3].

Морфология. Конидиальное спороношение шаровидной или грушевидной формы протекает в органах бесполого размножения – *пикнидах*. Пикниды имеют форму кувшина и погружены в субстрат. Пикниды – формируются на живых листьях, семенах [3].

Вызывают болезни растений с симптомами сухих гнилей, пятна покрывают большую часть растения, соцветия становятся бурыми. Основными причинами являются высокая влажность и низкая температура в период развития семян.

Биология. Виды рода *Septoria* характеризуются большой экологической пластичностью и способностью приспосабливаться к разнообразным условиям. Наиболее благоприятными для развития грибов данного рода считаются регионы с умеренным, мягким и влажным климатом [3].

Все виды септории характеризуются определенным ритмом развития и способны вегетировать с ранней весны до поздней осени. Септории, паразитирующие на травах, листьях кустарников и деревьев, начинают и заканчивают жизненный цикл одновременно с растением-хозяином. Самый короткий цикл у видов рода, развивающихся на эфемерах и эфемероидах [3].

Большинство видов рода – мезофиллы, меньшее число – ксерофилы и гигрофилы. Некоторые виды нетребовательны к условиям окружающей среды и развиваются везде, где растет растение-хозяин. В числе видов рода присутствуют как узкоспециализированные, так и широко специализированные виды [3].

Виды рода *Septoria* зимуют на отмерших частях больных растений на почве или в почве на небольшой глубине в форме грибницы, пикнидами, перитециями, иногда в виде склероциев. В течение летнего сезона грибы паразитируют на растениях, образуя одно или несколько поколений пикнид [3].

Распространению грибов способствуют конидии, образующиеся в пикнидах. Конидии разносятся каплями воды, ветром, насекомыми [3].

Распространение. Род *Septoria* – широко распространен по всему земному шару. Виды рода обнаруживают на Крайнем Севере, в знойных пустынях, в горах и на равнинах[5][3].

Меры борьбы: соблюдение севооборота, подбор сортов с большим содержанием питательного вещества и обработка семян.

Альтернариоз. Болезнь вызывается грибами **рода *Alternaria*** (Приложение 1, рис. 9, 10).

*Признаки альтернариоза (*Alternaria* sp.)*

На семенах образуется паутинистый мицелий, придающий семенам темно-серый цвет. Часто на зародышевой части развивается темно-оливковый налет, состоящий из конидиеносцев и конидий. Конидии оливковые или черно-бурые, обратно-булавовидные, в цепочках, с 3-6 поперечными перегородками и с одной или несколькими продольными перегородками, длиной 30-50 мкм и шириной 14-18 мкм, неодинаковой формы, чаще цилиндрические или овальные [11].

которые являются сапрофитами и факультативными паразитами растений. Известно более 50 видов альтернарий, из них 25 имеют экономическую значимость [2].

Мицелий – окрашен в оливковые или оливково-бурые тона. Часто в начале развития – в белый [2].

Конидии – многоклеточные, темноокрашенные с поперечными и продольными перегородками. Форма разнообразна и представлена вариациями яйцевидного типа. Верхний конец обычно вытянут в «носик» различной длины. [2].

Биология. Споры, нередко соединенные в цепочки, обнаруживаются в воздухе повсеместно, в непосредственной близости от растений. Альтернарии всегда обнаруживаются на поверхности семян. При сильном развитии гриба семена теряют всхожесть. Часто присутствие патогена не влияет на дальнейшее развитие растения [2].

Некоторые виды способны сохранять и передавать инфекцию с семенами. В таких случаях поражаются проростки или инфекция сохраняется в области корневой шейки и проявляется в фазу цветения или плодоношения. При неблагоприятных условиях для развития и роста растений альтернариозы проявляются гораздо раньше наступления стадии зрелости растений. Характерно, что у некоторых видов для образования конидиеносцев и формирования конидий требуются различные условия. Влажность и свет в этом случае являются решающими факторами. Альтернариоз способен развиваться эпифитотийно. Интенсивность эпифитотии зависит от продолжительности периодов влажности и сухости [2].

Распространение. Род *Alternaria* – распространен повсеместно. *Вредоносность.* Род *Alternaria* – вызывает заболевания многих важных

сельскохозяйственных культур. Виды рода поражают все органы, на листьях образуются различные пятнистости [2].

Красно-бурая пятнистость. Признаки красно-бурой пятнистости (***Drechslera avenae* Ito**). Спороношение гриба обнаруживается на 4-е сутки инкубации под бинокулярным микроскопом. Конидиеносцы зеленовато-оливковые, с многочисленными перегородками. Длина их 200-400 мкм, ширина - 8-9 мкм. Конидии зеленовато-оливковые с 2-7 перегородками, длиной 55-151 мкм и шириной 13-18 мкм. [11] (Приложение 1, рис. 7, 8).

Морфология. Визуальные симптомы инфекции проявляются на листьях растений в виде небольших густонасыщенных красно-фиолетовых пятен овальной или продолговатой формы. Пятнистость чаще всего ограничена сосудисто-волокнистыми пучками, что приводит к тому, что пятна превращаются в полосы. При высокой активности патогена листья усыхают до образования характерных симптомов. Заражению подвержены метелки и зерновки. В результате воздействия патогена формируются щуплые зерна, а в случае ранних сроков заражения и при высокой интенсивности инфекции образуются стерильные колоски. (Пригге, 2004). Инфицированные зерна, практически неотличимы от здоровых. (Дорофеева Л. Л., 2007) Причина возникновения болезни – жизнедеятельность несовершенного гриба в сумчатой стадии, носящего название *Pyrenophora avenae* (пиренофора овсовая), а в анаморфной – *Drechslera avenae* (Eidam) Scharif. (= *Helminthosporium avenae* Eidam) (Федоров А.А., 1976) [8].

Конидиеносцы имеют цилиндрическую форму, дымчатый окрас. У основания они утолщены. Конидии светло-оливковые, цилиндрические, с гладкой утолщенной оболочкой. В средней части заметно легкое утолщение, а у вершины закругление. Поперечных перегородок от 3 до 8. (Пересыпкин В.Ф., 1989) Конидии развиваются по бокам и у вершин конидиеносцев по типу пороспор. (Федоров А.А., 1976) [8].

Биология. Грибница и конидии сохраняются в зимнее время на зерне и остатках растений. Весной главным источником инфекции является семенной материал, поскольку мицелий патогена в состоянии покоя очень живуч и в растении расположен на внутренней стороне колосовых чешуек и в околоплоднике зерна. Мицелий проникает в прорастающие зерна и в условиях холодной и влажной весны приводит к гибели проростка. Прорастание конидий фиксируется в амплитуде температур от + 5 °С до + 33 С. Оптимальное значение - + 18 С+24 С. При этом влажность должна составлять от 96%. Инкубационный период инфекции в наиболее благоприятных условиях – 5 дней. (Колесникова В.Г., 2014) [8].

Географическое распространение. Красно-бурая пятнистость овса – распространена повсеместно. Наибольший ущерб инфекция наносит в районах с холодными и влажными климатическими условиями. Наибольший ущерб наблюдается в Полесье Украины, на западе Беларуси, в Прибалтике, северо-западных районах России, в земледельческих районах Дальнего Востока. (Колесникова В.Г., 2014) [8].

Вредоносность. Красно-бурая пятнистость овса – одно из распространенных заболеваний овса. Инфекция вызывает изреживание посевов, формирование щуплого зерна и стерильность колоса. Урожай снижается на 10 % и более. Основной ущерб наносит поражение растений в стадии проростка. (Пересыпкин В.Ф., 1989) (Пригге, 2004) [8].

Меры борьбы. Агротехнические: использование улучшенных сортов; соблюдение агротехники и технологии возделывания овса. (Станчева Й., 2003). Химические: протравливание семян [8].

Бактериоз - это болезнь семян, вызываемая различными бактериями. Признаки бактериоза (*Bacillus macerans* Schard.). На проростках (семядолях и корешках), пораженных бактериозом, образуются стекловидные буроватые пятна, ткани ослизняются, буреют и загнивают. На семядолях с краев или посередине наблюдается образование язв различных размеров, часто с темно-красной каймой, уродливость и утолщение корня, задержка в росте, отмирание и окрашивание кончика корня в темно-красный цвет, ложное прорастание (прорастание семядолей без корня).

На непроросших семенах образуется слизь различных оттенков, возникает гниение и размягчение семян [12].

1.4. Биологический метод

Оценка зараженности образца зерна на фильтровальной бумаге. Анализ зерна можно проводить и на фильтровальной бумаге, но показатель зараженности будет более низкий, а видовой состав микофлоры более бедным, чем фактические значения, поскольку будут учтены только грибы, обладающие высокой скоростью роста, обильным воздушным мицелием и/или образующие пигмент. В каждом образце анализируют 100 зерен. Все манипуляции с семенами проводятся в стандартных, по возможности в стерильных, условиях. Используемые сосуды, пинцеты, фильтровальную бумагу стерилизуют, как минимум, кипятком. Проращивание проводят в термостате в темноте при температуре 20–23 °С [5].

Метод «влажной камеры». На дно чашек Петри кладут два слоя фильтровальной бумаги и стерилизуют. Одинаковый объем стерильной воды (можно использовать свежeproкипяченную и остуженную) добавляют в чашки до полного увлажнения фильтровальной бумаги. Стерильные зерна раскладывают на фильтровальную бумагу на одинаковом расстоянии друг от друга, и закрытые чашки Петри инкубируют в течение 7 суток. Воздушный мицелий, образующийся на зерновках, отсеивают для идентификации.

Метод «бумажных рулонов». На месте фильтровальной бумаги размером 20 × 50 см проводят карандашом линию на расстоянии 3–4 см от верхнего края. На смоченную водой до полного увлажнения бумагу по линии раскладывают зерна (25 шт.) зародышем вниз через равные промежутки (1,5 см), накрывают таким же листом бумаги, поверх которого в зоне расположения семян накладывают ленту плотного полиэтилена (пергамента) шириной 5 см. Все

полосы вместе сматывают в нетугие рулоны, помещают в емкости с водой, достигающей до 1/3 высоты рулона, а емкости – в термостат. Для оценки энергии прорастания на 5-е сутки рулон аккуратно разворачивают и подсчитывают процент зерен, давших росток. Затем рулоны возвращают в термостат, и на 10-е сутки анализируют всхожесть, заселенность семян грибными патогенами и их вредоносность по степени поражения проростков. Поражение проростков грибами оценивают по 5-балльной шкале: 0 – здоровые, без налета грибов; 1 – здоровые, присутствует налет грибницы на семенах; 2 – потемнение ткани проростков в виде слабых штрихов и мелких пятен; 3 – проросток слабый, некроз ткани обширный; 4 – в момент прорастания семена погибают и загнивают [5].

Для исследования образцов применялся биологический метод, ГОСТ 12044-93 [10].

Анализ семян.

При проращивании семян во влажной камере заболевания, вызываемые бактериями, выявляют по размягчению и ослизнению тканей семени. Заболевания, вызываемые грибами на проросших и непроросших семенах, проявляются в виде пятен различной формы и окраски, налета грибницы, пикнид, уродливости, деформации или отмирания частей проростков.

Для контроля правильности идентификации патогенов применяют микроскопирование [11].

1. Отбор проб. Из средней пробы, предназначенной для анализа семян на зараженность болезнями, выделяют навеску. Из семян основной культуры отбирают по три или четыре рабочие пробы по 10-100 семян в зависимости от вида анализируемых культур.

2. Подготовка к анализу.

Для проращивания семян применяют стерильные сухие чашки Петри. На дно чашек помещают фильтровальную бумагу в два слоя. С помощью пипетки её увлажняют, приоткрывая при этом с одного края крышку чашки. Увлажнение считают нормальным, если при наклоне чашки с фильтровальной бумаги стекает несколько капель воды. Семена раскладывают на ложе с помощью пинцета на расстоянии 1-2 см друг от друга в зависимости от их размера. Закрытые чашки Петри с заложенными в них семенами помещают в термостат для проращивания.

Термостаты предварительно тщательно моют горячей водой с моющими средствами и дезинфицируют 1%-ным раствором марганцовокислого калия через каждые 10 дней. Перед каждым фитоанализом их дезинфицируют спиртом или бактерицидной лампой в течение 30 мин. Один раз в месяц термостаты дезинфицируют с помощью бактерицидных ламп в течение 8 ч.

Чашки Петри, фильтровальная бумага, пипетки, применяемые для анализа, должны быть стерильными. Стекло, на котором выделяют навески и отсчитывают семена, совки, и другие предметы дезинфицируют спиртом.

3. Проведение анализа.

3.1. Просмотр семян. Просмотр изучаемых культур проводят в сроки, установленные для определения всхожести по ГОСТ 12038, ГОСТ 30556. Виды болезней семян, выявляемые при проращивании во влажной камере, указаны в таблице 1.

Таблица 1. Виды болезней семян, выявляемые при проращивании во влажной камере.

Наименование культуры	Болезни
Пшеница и ячмень	Фузариоз, гельминтоспориозы, альтернариоз, септориоз, плесени
Овес	Фузариоз, красно-бурая пятнистость

3.2. Анализ семян.

3.2.1. Анализ семян пшеницы.

Признаки фузариоза (Fusarium sp.)

При росте семян развивается очень маленький мицелий белого или ярко-розового с прожилками цвета. Нередко семена розовые и на них проявляются коростинки из спороношения гриба.

Признаки гельминтоспориоза (корневая гниль).

Заражению характерна темная окраска различных оттенков. Семена покрываются налетом, состоящим из спороношения гриба.

Признаки септориоза (Septoria sp.)

Признаки инфекции: отдельные коричневые пятна, на семенах появляются мелкие черные бугорки. Иногда отмечается скручивание проростков.

3.2.2. Анализ семян овса

Признаки фузариоза (Fusarium sp.)

При росте семян в развивается очень маленький мицелий белого или ярко-розового с прожилками цвета. Нередко семена розовые и на них проявляются коростинки из спороношения гриба.

Признаки красно-бурой пятнистости.

Конидиеносцы зеленые, семена целиком или частично красноватые, заполненные грибницей. Снаружи характерный красный налет.

3.2.3. Анализ семян ячменя

Признаки фузариоза (Fusarium sp.)

При росте семян в развивается очень маленький мицелий белого или ярко-розового с прожилками цвета. Нередко семена розовые и на них проявляются коростинки из спороношения гриба.

Признаки гельминтоспориоза (корневая гниль).

Заражению характерна темная окраска различных оттенков. Семена покрываются налетом, состоящим из спороношения гриба.

Признаки септориоза (Septoria sp.)

Признаки инфекции: отдельные коричневые пятна, на семенах появляются мелкие черные бугорки. Иногда отмечается скручивание проростков.

6. Обработка результатов

5.1. Данные анализа фиксируют, долю зараженных семян высчитывают по формуле (1)

$$X_4 = \frac{N_1}{n} \cdot 100 \quad (1),$$

где X_4 – зараженность семян;

N_1 - суммарное количество зараженных семян в четырех пробах, шт.;

n - общее количество семян, взятых для анализа, шт.

5.2. Достоверность результатов вычисляют по формуле (2):

$$\chi^2 = 4n[(A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + A_4^2) - (N_1^2 : 4)] : [N_1 \cdot (n - N_1)] \quad (2)$$

где A_1, A_2, A_3, A_4 - количество зараженных семян в каждой из четырех проб;

$$N_1 = A_1 + A_2 + A_3 + A_4 \quad (3)$$

Анализ считают законченным, если χ^2 меньше 16,27. Если χ^2 больше или равен 16,27, то анализ повторяют до получения достоверного результата. Если количество зараженных семян во всех пробах 5 и меньше, проверку достоверности анализа не проводят.

Глава 2. Методика исследования

Для исследования образцов применялся **биологический метод, ГОСТ 12044-93** [11]. Метод применяют для выявления внешней и внутренней зараженности семян болезнями. Он основан на стимуляции развития и роста микроорганизмов в зараженных семенах.

Зараженность семян определяли при проращивании их в чашках Петри на фильтровальной бумаге методом «влажной камеры».

Объект исследования: пшеница, ячмень, овес урожая 2018 г., выращенного на полях Калининградской области.

Предмет исследования: зараженность семян зерновых культур

Исследования проводили в период с февраля по апрель 2020 г. на базе лаборатории ГАУКОДО КОДЮЦЭКТ.

Оборудование и материалы: чашки Петри, пинцеты, пипетки, семена злаковых культур (пшеница, овес, ячмень), термостат для проращивания, микроскопы биологические, иглы препаровальные, предметные стекла, стекла покровные, пинцеты, бумага фильтровальная, спирт этиловый 96%, вода кипяченая комнатной температуры.

Ход работы

1. Отбор проб. Из семян исследуемой культуры было отобрано четыре рабочие пробы для каждой культуры по 10 семян (Приложение 2 рис. 10).

2. Проращивание семян. Чашки Петри (12 штук), а также пинцеты, пипетки были продезинфицированы с помощью этилового спирта (96 %). Далее в чашки была помещена фильтровальная бумага в два слоя. С помощью пипетки было произведено её увлажнение в необходимых объёмах. На влажную фильтровальную бумагу в чашках Петри поместили семена, изучаемых зерновых культур, на расстоянии 1-2 см друг от друга, по 10 штук в каждую из трех чашек Петри. Пробы (12 штук по 10 семян) были подписаны в зависимости от находящихся в них зерновых культурах. Поскольку термостата для проращивания не было, проращивали семена в подвале ГАУКОДО КОДЮЦЭКТ.

3. Просмотр семян. Спустя 7 дней семена просматривали с тремя зерновыми культурами были извлечены из термостата для проведения анализа на обнаружение возможных грибковых заболеваний.

4. Анализ семян пшеницы.

4.1. Зараженность семян. На семенах пшеницы был проведен визуальный анализ с помощью бинокля и микроскопа на выявление трёх грибковых заболеваний: фузариоза, гельминтоспориоза и септориоза. На 4 семенах из 40 был обнаружен характерный для *гельминтоспориоза* черный налет. Наблюдение под микроскопом выявило наличие конидий гельминтоспориоза. На 7 семенах из 40 были обнаружены ярко-розовые прожилки, указывающие на заражение этих семян *фузариозом*. Всего 2 семени из всей пробы пшеницы были поражены тёмно-коричневыми бугорками, характерными для *септориоза*. Количество зараженных семян *альтернариозом* составило 10 шт. из 40.

Результаты анализа и его проверка приведены в таблице 2.

Таблица 2. Анализ семян пшеницы.

Проба	Виды болезней /количество семян, шт.			
	Гельминтоспориоз	Фузариоз	Альтернариоз	Септориоз
A ₁	1	2	3	1
A ₂	1	3	2	0
A ₃	1	1	2	1
A ₄	1	1	3	0
Общее число зараж. семян	4	7	10	2
Доля зараж. семян	10 %	17,5 %	25 %	5 %

По результатам анализа пшеницы выявлено заражением альтернариозом 10 семян, что составило 25 %, фузариозом – 7 семян, что составило 17,5 %, гельминтоспориозом – 4 штуки (10 %), септориозом – 2 семени (5 %). Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 57,5 %.

4.2. Достоверность анализа семян пшеницы.

Достоверность результатов вычисляют по формуле:

$$\chi^2 = 4n[(A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + A_4^2) - (M_1^2 : 4)] : [M_1 \cdot (n - M_1)]$$

$$X^2 = 4 \cdot 40 [(7^2 + 6^2 + 5^2 + 5^2) - (23^2 : 4)] : [23 \cdot (40 - 23)]$$

$$X^2 = 1,12$$

Анализ считают законченным, если X^2 меньше 16,27.

5. Анализ семян ячменя.

5.1. Зараженность семян. На семенах ячменя был проведен визуальный анализ с помощью бинокля и микроскопа на выявление трёх грибковых заболеваний: фузариоза, гельминтоспориоза и септориоза. Одно семя не взошло. На 4 семенах из 40 был выявлен густой черный налет, указывающий на гельминтоспориоз. Наблюдение налета под микроскопом подтвердило наличие конидий гельминтоспориоза. На 9 из 40 семян обнаружен фузариозный бело-розовый налет с микроконидиями. Чёрно-коричневые пятна были обнаружены на 4 семенах из 40 шт., т.е. данные семена заражены септориозом. Количество зараженных семян альтернариозом составило 13 шт. из 40.

Результаты анализа приведены в таблице 3.

Таблица 3. Анализ семян ячменя.

Проба	Виды болезней /количество семян, шт.			
	Гельминтоспориоз	Фузариоз	Альтернариоз	Септориоз
A ₁	1	1	3	2
A ₂	2	2	3	1
A ₃	0	5	4	0
A ₄	1	1	3	1
Общее число зараж. семян	4	9	13	4
Доля зараж. семян	10 %	22,5 %	32,5 %	10%

По результатам анализа ячменя выявлено заражением альтернариозом 13 семян, что составило 32,5 %, фузариозом – 9 семян, что составило 22,5 %, гельминтоспориозом – 4 семени (10 %), септориозом – 4 семени (10 %). Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 70 %.

5.2. Достоверность анализа семян ячменя.

Достоверность результатов вычисляют по формуле:

$$\chi^2 = 4n[(A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + A_4^2) - (M_1^2 : 4)] : [M_1 \cdot (n - M_1)]$$

$$X^2 = 4 \cdot 40 [(7^2 + 7^2 + 9^2 + 6^2) - (29^2 : 4)] : [29 \cdot (40 - 29)]$$

$$X^2 = 2,5 \text{ (Анализ считают законченным, если } X^2 \text{ меньше 16,27).}$$

6. Анализ семян овса.

6.1. Зараженность семян. На семенах данной культуры был проведен визуальный анализ с помощью бинокля и микроскопа на выявление двух грибковых заболеваний: красно-бурой пятнистости и фузариоза. Ярко-розовые прожилки и конидии фузариоза были обнаружены лишь на 5 зернах из 40. При этом 2 из 40 семян были поражены красным пятнистым налетом, указывающим на красно-бурую пятнистость. Результаты анализа и его проверка приведены в таблице 4.

Таблица 4. Анализ семян овса.

Проба	Виды болезней / количество семян, шт.		
	Красно-бурая пятнистость	Альтернариоз	Фузариоз
A ₁	0	2	1
A ₂	2	1	0
A ₃	0	1	0
A ₄	0	1	0
Общее число зараж. семян	2	5	1
Доля зараж. семян	10 %	12,5 %	2,5 %

По результатам анализа овса выявлено заражением альтернариозом 5 семян, что составило 12 %, фузариозом – 1 семя, что составило 2,5 %, красно-бурая пятнистость – 2 семени (10 %). Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 25 %.

3.3.2. Достоверность анализа семян овса.

Достоверность результатов вычисляют по формуле:

$$X^2 = 4n[(A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + A_4^2) - (M_1^2 : 4)] : [M_1 \cdot (n - M_1)]$$

$$X^2 = 4 \cdot 40 [(3^2 + 3^2 + 1^2 + 1^2) - (8^2 : 4)] : [8 \cdot (40 - 8)]$$

$X^2 = 2,5$ Анализ считают законченным, если X^2 меньше 16,27.

Глава 3. Результаты и обсуждения.

1. На семенах зерновых культур урожая 2018 г в ходе исследования выявлены фитопатогены родов *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Septoria*, *Drechslera*, что подтверждает их широкую распространенность на разные виды сельскохозяйственных культур и сохранность спор на зерне в течение 2-х лет.

2. По результатам анализа пшеницы выявлено заражением альтернариозом 10 семян, что составило 25 %, фузариозом – 7 семян, что составило 17,5 %, гельминтоспориозом – 4 штуки (10 %), септориозом – 2

семени (5 %). Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 57,5 %.

Достоверность анализа семян пшеницы – $X^2 = 1,12$

Показатель зараженности фузариозом семян пшеницы самый большой, что свидетельствует о доминирующей роли в распространении на культуре.

3. По результатам **анализа ячменя** выявлено заражением *альтернариозом* 13 семян, что составило 32,5 %, фузариозом – 9 семян, что составило 22,5 %, гельминтоспориозом – 4 семени (10 %), септориозом – 4 семени (10 %). Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 70 %. Достоверность анализа семян пшеницы – $X^2 = 2,5$

Показатель зараженности *альтернариозом* семян ячменя самый высокий, что свидетельствует о распространённости и высокой жизнеспособности на культуре. *Фузариоз* по распространённости занимает второе место. Самый малый показатель зараженности у *септориоза*.

4. По результатам **анализа овса** выявлено заражением *альтернариозом* 5 семян, что составило 12 %, фузариозом – 1 семя, что составило 2,5 %, красно-бурая пятнистость – 2 семени (10 %). Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 25 %.

Достоверность анализа семян пшеницы – $X^2 = 2,5$.

Показатель зараженности фузариозом семян овса высокий, что подтверждает его пластичность и вредоносность в распространении на культуре.

Самая зараженная культура в нашем исследовании – это ячмень. Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 70 %. Меньше всего заражен овес. Общий процент зараженных семян по 4 пробам составил 25 %.

Наиболее агрессивными считаются фузариоз, затем гельминтоспориоз, *альтернариоз*. Если на одном зараженном зерне вырастает несколько грибов, зараженность ставят более агрессивному. Например, на зерне вырос *альтернариоз* и гельминтоспориоз. В документе фитоэкспертизы напишем только гельминтоспориоз.

По результатам проведенного эксперимента установили, что все три партии зерна заражены фитопатогенами, вызывающими болезни зерновых культур.

Выводы

В ходе исследования выявлены фитопатогены родов *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Septoria*, *Drechslera*. Эти грибные организмы вызывают болезни у растений, тем самым снижают урожай.

Самая зараженная культура в нашем исследовании – это ячмень. Меньше всего заражен овес.

Пшеница больше заражена фузариозом, ячмень – *альтернариозом*, овес – *альтернариозом*.

Альтернариоз – это лидер по заражению зерновых культур в исследуемых образцах.

Заключение.

Проблема влияния зараженности культур на количество и качество урожая очень актуальна в современной жизни общества. Из проведенного эксперимента подчеркивается значимость проблемы изучения болезней и проведения фитоэкспертизы.

Фитоэкспертиза семян – неотъемлемая часть современных технологий сельскохозяйственного производства, она позволяет предвидеть возможную поражаемость сельскохозяйственных растений болезнями и тем самым дает шанс сохранить их урожайность и качество собираемой продукции. Только правильная диагностика болезней, знание причин их возникновения и особенностей развития являются основой успешного проведения профилактических и защитных мероприятий.

Список использованной литературы

1. Ахматов А.К., Джалилов Ф.С. Защита растений (справочник) [Электронный ресурс] / Москва, 2002 – режим доступа: <http://tomaty.ch.ru/>;
2. Возбудитель болезней. Род Alternaria [Электронный ресурс] - режим доступа: http://www.pesticidy.ru/pathogens_genus/Alternaria;
3. Возбудитель болезней. Род Septoria [Электронный ресурс] - режим доступа: http://www.pesticidy.ru/pathogens_genus/Septoria
4. Второй этап истории фитопатологии или новый период [Электронный ресурс] / © Зооинженерный факультет МСХА – режим доступа: <https://www.activestudy.info/vtoroj-etap-istorii-fitopatologii-ili-novyj-period>;
5. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР), 2011.
6. Жизнь растений в шести томах. Под редакцией А.А. Федорова. М.: Просвещение, 1976. т 2.
7. Истории развития фитопатологии [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://studfile.net/preview/5246635/page:3/>;
8. Красно-бурая пятнистость овса [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://кссс.ru/handbook/diseases/pyrenophora-avenae-s-ito-kurib>;
9. Левитан М.М. Сельскохозяйственная фитопатология [Электронный ресурс] / Учебное пособие. – М.: Издательство Юрайт, 2017. – 281. – режим доступа: https://studme.org/76934/agropromyshlennost/selskohozyaystvennaya_fitopatologiya
10. Левитин, М. М. Сельскохозяйственная фитопатология + допматериалы в ЭБС : учебное пособие для академического бакалавриата / М. М. Левитин. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 281 с. — (Бакалавр. Академический курс. Модуль). — ISBN 978-5-534-08531-0. — Текст: электронный // ЭБС Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/433071> (дата обращения: 07.04.2020);
11. Левитин М.М., Иващенко В.Г., Шипилова Н.П., Нестеров А.Н., Гагкаева Т.Ю., Поторочина И.Г., Афанасьева О.Б. Возбудители фузариоза колоса зерновых культур и форм проявления болезни на северо-западе России // Микология и фитопатология. — 1994. — Т. 28, № 3. — С. 58—64.;
12. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. ГОСТ 12044-93 [Электронный ресурс] - режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/gost-12044-93>;
13. Соколов М.С. Исследования СКНИИФ по эпифитотиологии фузариоза колоса и фузариотоксигенезу // Тезисы докладов: фузариоз колоса зерновых злаковых культур. — Краснодар, 1992. — С. 4—7;

14. Общая характеристика грибов [Электронный ресурс] - режим доступа: <https://poznayka.org/s3832t1.html>
15. Попкова К.В. Практикум по сельскохозяйственной фитопатологии. - М.: Агропромиздат, 1988;
16. Современная ботаника: В 2-х т. Т.2: Пер. с англ. [Электронный ресурс] / М.: Мир, 1990. - 344 стр., илл. - режим доступа: https://www.studmed.ru/reynv-p-evert-r-aykhorn-s-sovremennaya-botanika-tom-2_2790df5c538.html;
17. Фитопатология. Под редакцией М.В. Горленко. Ленинград, 1980;
18. Шипилова Н.П., Гагкаева Т.Ю. Фузариоз колоса и зерна в Северо-Западном регионе России // Защита растений : Журнал. — 1992. — № 11. — С. 7—8.
19. Яковлев Г.П. Ботаника для учителя. М.: Просвещение, 1997.

Приложение 1. Болезни сельскохозяйственных культур

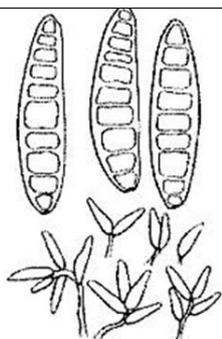


Рис. 2. Темно-бурый гельминтоспориоз (корневая гниль): конидии. Конидии темного цвета прямые или изогнутые с несколькими поперечными перегородками.



Рис. 3. Гельминтоспориоз на зерновке.

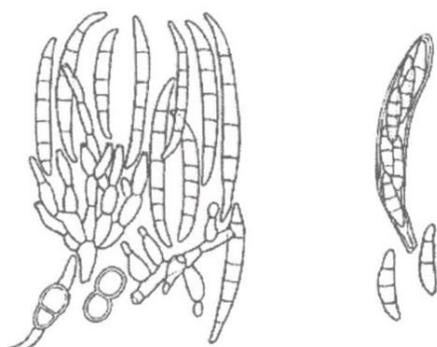


Рис. 4. Фузариоз. Макро и микроконидии. Конидии чаще напоминают форму эллипса, реже шаровидные



Рис. 5. Фузариоз на зерновках пшеницы. Мицелий белый, бело-розовый, малиновый, светло-желтого цвета.

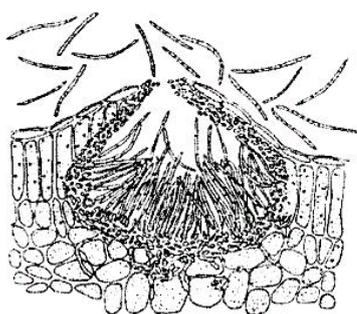


Рис. 6. Септориоз. Пикнида – орган бесполого размножения с пикноспорами (конидееносцы+конидии)



Рис. 7. Септориоз на зерновке пшеницы. На поверхности видна верхняя часть пикниды с выводными отверстиями в виде черных точек. Основная часть пикниды погружена в зерно.

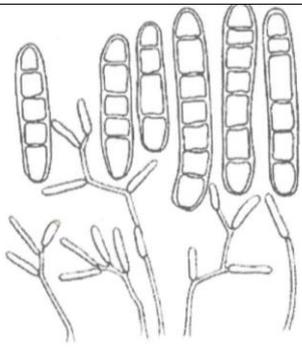


Рис. 7. Красно-бурая пятнистость.
Конидии.



Рис. 8. Drechslera sp - <https://www.flickr.com>

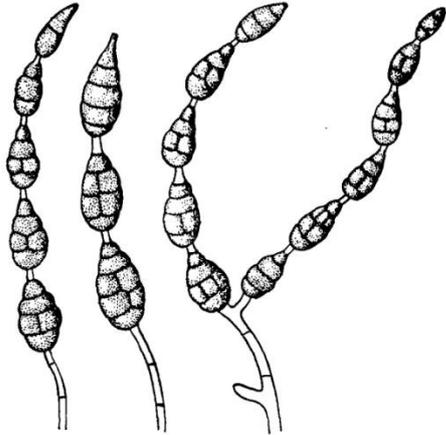


Рис. 9. Alternaria. Конидиеносец с
конидиями -
<https://dic.academic.ru/>

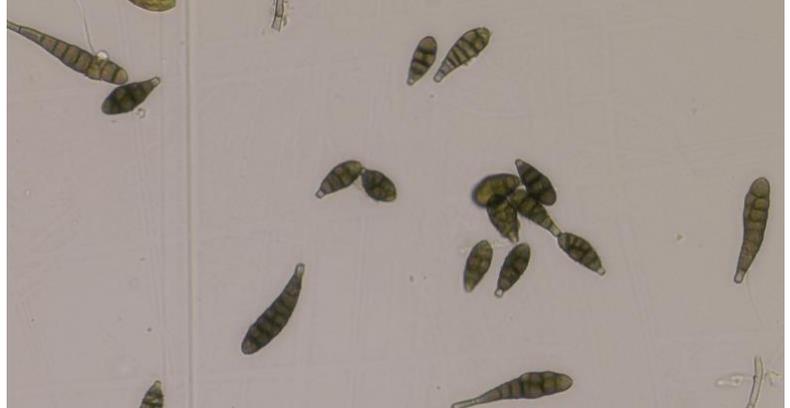


Рис. 10. Альтернариоз (темно-бурая пятнистость):
Конидии Alternaria

Приложение 2. Методика исследования.

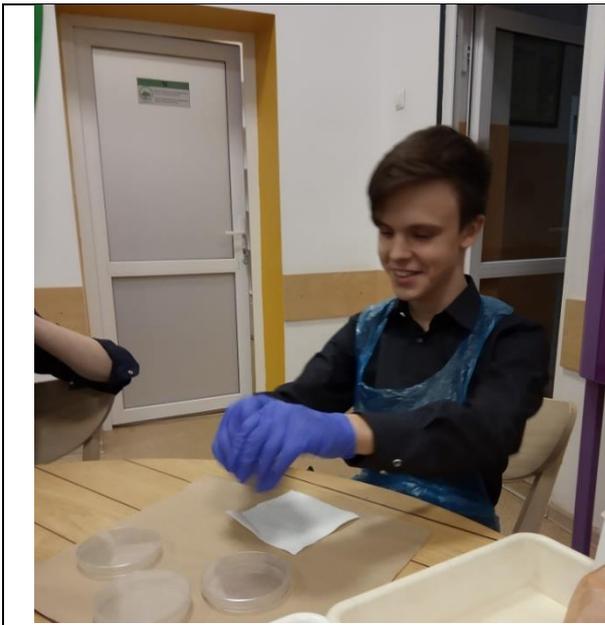


Рис. 10. Отбор проб для анализа. Из семян исследуемой культуры было отобрано 4 рабочие пробы для каждой культуры по 10 семян в каждой пробе.



Рис. 11. Анализ семян

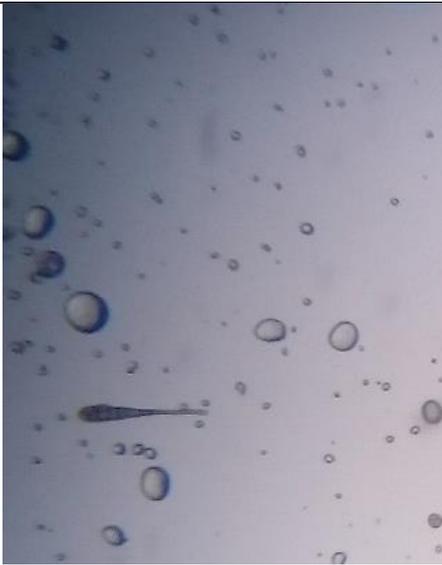


Рис. 12. Конидии альтернариоза



Рис. 13. Альтернариоз ячменя.
Конидиеносцы с конидиями альтернариоз.