

- 10 Zhdokova M.K., Zav'jalov E.V., Tabachishin V.G. Asimetrija v shhitkovanii obyknovennogo (*Natrix natrix*) i vodjanogo (*N. tessellata*) uzhej na territorii Kalmykii // *Zmei Vostochnoj Evropy: Materialy mezhdunarodnoj konferencii*. – Tol'jatti, 2003. — P. 16 – 19.
- 11 Kurtjak F.F., Sinjavskaja I.A. Asimetrija bilateral'nyh meristicheskikh priznakov uzha vodjanogo (*Natrix tessellata* L.) Zakarpatskoj oblasti // *Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo universitetu*. — 2009. — № 1. — P. 57-66.
- 12 Krivoljuckij D.A. Indikacionnaja zoologija // *Priroda*. — 1985. — № 7. — P. 86-92.
- 13 Chubukov Zh. A. Neparametricheskie metody i kriterii mediko-biologicheskoy statistiki: ucheb.-metod. posobie dlja studentov 3 kursa vseh fakul'tetov medicinskih vuzov / Zh. A. Chubukov, T. S. Ugol'nik. — Gomel': GomGMU, 2012. — 16 p.
- 14 Rojtberg E.S. Napravlenaja asimetrija izmenchivosti bilateral'nyh struktur cheshujchatogo pokrova golovy prytkoj i polosatoj jashheric. Fenetika populjacij. — M., 1985. — P. 182-183.
- 15 Rojtberg E.S. Izmenchivost' priznakov cheshujchatogo pokrova prytkoj i polosatoj jashhericy v zone ih simpatrii. — Avtoreferat na soiskanie uch. stepeni kand. biol. nauk. — Leningrad, 1989 g. — 25 p.
- 16 Orlova V. F., Chirikova M. A., Pavlinov I. Ja. Raznocvetnaja jashhurka (*Eremias arguta*) (*Sauria, Lacertidae*) v vostochnoj chasti areala: izmenchivost' i taksonomicheskij status populjacij // *Zoologicheskij zhurnal*. — 2012. — Tom 91. — № 11. — P. 1366-1376.
- 17 Shherbak N. N., Neruchev V. V., Okulova N. M., Orlova F. F. Sistematika, geograficheskaja izmenchivost' i vnutrividovaja struktura // *Raznocvetnaja jashhurka*. — Kiev, 1993. — S. 22-34.
- 18 Chirikova M.A. Izmenchivost' folidoza golovy, preanal'noj oblasti i konechnostej u treh vidov roda *Eremias* (*Reptilia, Lacertidae*) v Kazahstane i prilezhashhih regionah // *Vestnik KazNU im. al'-Farabi. Serija biologicheskaja*. — Almaty, 2007. — № 2 (32). — C. 113-121.

УДК 633.11:632.4:632.911.2

А.С. Рсалиев\*, Н.Т. Амирханова

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,  
Республика Казахстан, Жамбылская область, п.г.т. Гвардейский

\*E-mail: aralbek@mail.ru

**Морфолого-культуральные особенности изолятов возбудителей  
*Septoria nodorum* и *Septoria tritici* в Казахстане**

Изучены морфолого-культуральные особенности изолятов гриба *Septoria spp.*, выделенных из различных сортов пшеницы и регионов Казахстана. В 2012-2013 гг. были получены 41 изолят возбудителей септориоза, из них 23 изолята относятся *S. tritici* и 18 – *S. nodorum*, соответственно. В результате изучения морфолого-культуральных свойств выявлены девять морфотипов *S. tritici* и шесть морфотипов – *S. nodorum*. Все изученные изоляты гриба *Septoria* характеризовались средней спорулирующей способностью. Среди выделенных изолятов гриба *Septoria spp.* в популяциях доминировало 6 видов колоний.

**Ключевые слова:** пшеница, *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, морфотип, изолят.

A.S. Rsaliev, N.T. Amirhanova

**Morphological and cultural characteristics  
of pathogens isolates *Septoria nodorum* and *Septoria tritici* in Kazakhstan**

Studied morphological and cultural characteristics of isolates of the fungus *Septoria spp.* isolated from different wheat varieties and regions of Kazakhstan. In 2012-2013 were obtained 41 isolate pathogens *Septoria*, 23 isolates are *S. tritici* and 18 - *S. nodorum*, respectively. In the study of morphological and cultural properties identified nine morphotypes of *S. tritici* and six morphotypes of *S. nodorum*. All studied isolates of the fungus *Septoria* was characterized by average spirulina ability. Among the selected isolates of the fungus *Septoria spp.* in populations dominated 6 types of colonies.

**Key words:** wheat, *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, morfotype, isolate.

А.С. Рсалиев, Н.Т. Амирханова

**Қазақстандағы *Septoria nodorum* және *Septoria tritici* қоздырушылары изоляттарының  
морфологиялық және культуралдық ерекшеліктері**

Қазақстанның әртүрлі аймақтарынан және бидай сорттарынан алынған *Septoria spp.* саңырауқұлақ изоляттарының морфолого-культуральді ерекшеліктері зерттелген. 2012-2013 жылдары саңырауқұлақ қоздырғышының 41 изоляты бөлініп алынды, оның ішінде 23 изолят *S. tritici* және 18 изолят *S. nodorum* жатады. Зерттеу барысында морфологиялық ерекшеліктеріне сәйкес *S. tritici* тоғыз морфотипі және *S. nodorum* алты морфотипі алынды. Барлық зерттелген *Septoria* саңырауқұлақ изоляттары орташа споралану қабілеттілігімен ерекшеленді. Бөлініп алынған *Septoria spp.* саңырауқұлақ популяциясының ішінде 6 түрлі колония басымдылық көрсетті.

**Түйін сөздер:** бидай, *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, морфотип, изолят.

## Введение

В Казахстане среди болезней зерновых культур септориоз занимает лидирующее положение и занял прочное место в списке экономически важных болезней пшеницы. Потери урожая от септориоза при умеренном развитии 10-15%, а в период эпифитотии могут составлять до 40-50%, и частота таких вспышек последние годы колеблется от 4 до 5 за 10 лет, снижая рентабельность зернового производства [1, 2].

Из рода *Septoria* на пшенице наиболее распространенными являются *Septoria tritici* Rob.ex Desm (сумчатая стадия *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel.) Schroeter) и *Septoria nodorum* (сумчатая стадия *Phaeosphaeria nodorum* (Muller) Hedjaroude), которые относятся классу Deuteromycetes, порядку Sphaeropsidales. Гриб *S. tritici* в основном поражает листья и влагалища, а *S. nodorum* – поражает все органы растения: листья, стебли, колосовые чешуйки, в том числе и семена. Источниками инфекции являются пораженные растения, пожнивные остатки. Виды септориоза поражают посевы пшеницы в различных географических зонах, особенно с умеренным климатом и обильными осадками, которые способствуют на развитие патогена в этапе генеративного развития растений. Погодно-климатические условия Казахстана благоприятствуют развитию и распространению септориоза. По данным отечественных исследователей интенсивное развитие септориоза в последние годы расширилось в северном направлении (Акмолинская и Костанайская область), и сейчас болезнь проявляется более интенсивно в южных регионах страны (Южно-Казахстанская, Жамбылская и Алматинская область) [3, 4]. Вредоносность особенно возрастает при внедрении нулевой и минимальной технологии возделывания зерновых культур.

Одной из причин повсеместного распространения септориоза является отсутствие сортов, устойчивых к заболеванию. Также диагностику болезни и оценку устойчивости в полевых условиях сложно производить, так как внешние признаки сходны с признаками пиренофороза (желтая пятнистость), и можно ошибочно принять за септориоз, т.е. на одних и тех же листьях могут иметься пятна, вызванные и пиренофорой, и септорией. Важным звеном в селекционном процессе является создание искусственных инфекционных фонов, необходимых при оценке сортов на устойчивость. Для обоснования состава инфекционных фонов требуется углубленное

изучение видовой структуры и внутривидового разнообразия популяций патогена, морфолого-культуральные особенности изолятов грибов, а также культивирование монопикнидиальных изолятов возбудителей септориоза, в первую очередь таких, которые могут быть использованы в селекционной работе. В связи с этим целью настоящей работы является изучение морфолого-культуральных особенностей казахстанских изолятов возбудителей *S. tritici* и *S. nodorum*.

## Материалы и методы

В работе использовались инфицированные образцы пшеницы с пикнидами септориоза, собранные во время фитосанитарного мониторинга посевов в Акмолинской, Южно-Казахстанской, Алматинской, Жамбылской областей Казахстана и Чуйской области Кыргызстана в 2010-2013 гг. Лабораторные исследования по выделению и изучению биологических свойств рода *Septoria* проводились по общепринятой методике [5]. Морфологические особенности и видовую принадлежность гриба рода *Septoria spp.* определяли с помощью цифрового микроскопа MC300TS (Австрия), анализ результатов проводили по компьютерной программе Motic Images 2000-1.3.

В качестве питательного субстрата для выделения гриба и изучения морфолого-культуральных признаков использовали картофельно-сахарозный агар (КСА). Исходным материалом для выделения возбудителей служили пораженные части растений (листья, колосковые чешуйки). Посев проводили двумя методами: пикнидой и спорами. По первому методу отдельную пикниду переносили непосредственно на питательную среду, а по второму – споровую суспензию с помощью бактериологической петли высевали штрихом на питательную среду. Засеянные чашки Петри выдерживали двое суток в термостате при температуре 23-25°C. После двухсуточного выдерживания в темноте культуры переносили в климатическую камеру с интенсивностью освещения не менее 10 Лк, при этом температура на их поверхности составляла 18-24°C. Оценка морфолого-культуральных признаков колоний грибов проводили по цвету и топографии воздушного и субстратного мицелиев, спорулирующей активности на 12-14 день роста колоний, а также по пигментации питательной среды и интенсивности строения гриба. Описание культурально-морфологических признаков изолятов проводили на 20-й (*S. nodorum*) и 30-й (*S. tritici*) день (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика колоний изолятов рода *Septoria spp.*

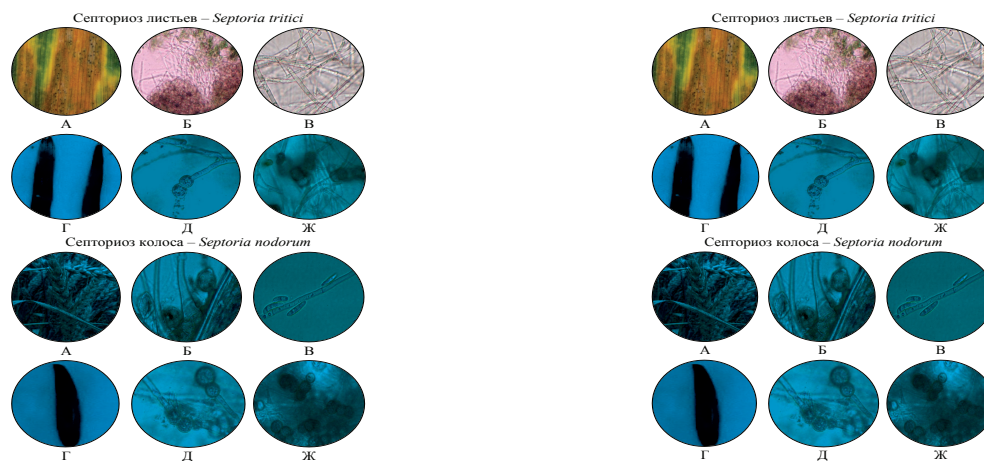
Тип колонии	Морфологический тип	Характеристика морфологического типа
<i>Septoria tritici</i>		
Дрожжеподобный (I)	a	Розовые, поверхность гофрированная
	b	Черные, гофрированные
	c	Черные, гофрированные, с розовой каймой
Смешанный (II)	a	Черные, центр дрожжеподобный, черный; край мицелиальный, черный
	b	Центр дрожжеподобный, розовый; край мицелиальный розовый
	c	Серые или белые; центр дрожжеподобный, розовый
	d	Центр мицелиальный; край дрожжеподобный, гофрированный, черный
	e	То же; край розовый
Мицелиальный (III)	a	Белые или серые
	b	Черные
<i>Septoria nodorum</i>		
Светлый (I)	a	Розовая, гранулированная, мицелий редкий воздушный, пикнид много.
	б	Серая, шерстистая или шерстисто-порошистая, пикнид много.
	в	Белая или светло-серая, ватообразная, поверхность неровная, складчатая или бугристая, пикнид мало или они отсутствуют.
Темный (II)	a	Темно-бурая, гранулированная, мицелий редкий воздушный, пикнид много.
	б	Темно-бурая, шерстистая или шерстисто-порошистая, пикнид много.
	в	Черная или бурая, паутинистая, поверхность гладкая, пикнид мало.
Смешанный (III)	-	Бурая в середине, светлая по периферии, шерстистая, пикнид много.

### Результаты и обсуждение

По данным литературы [6] для культивирования и идентификации изолятов *S. tritici* и *S. nodorum* оптимальной питательной средой является картофельно-сахарозный агар, при этом на этой среде определяется высокая скорость роста гриба, максимальный титр спор и отмечается различная частота встречаемости фенотипов. Опираясь на эти данные культивирование и идентификация возбудителей *S. tritici* и *S. nodorum* проводили на картофельно-сахарозном агаре. Результаты исследований показали, что пикниды *S. tritici* погруженные, темно-коричневые, яйцевидные, крупные 150-300 мкм в диаметре, устье округлое. Пикноспора цилиндрические, прямые или слегка изогнутые, на концах закругленные, бесцветные, с 3-7 перегородками, размером 28-90x1,5-2,5 мкм, при этом пикноспоры выходили из пикнид пучками. А пикниды второго гриба *S. nodorum* коричневые, шаровидные или продолговатые с округлым или овальным отверстием 40–250 мкм в диаметре, стенки тонкие, устье

округлое, окруженное слоем более темных клеток. Пикноспоры бесцветные, с каплями масла, прямые или слегка изогнутые, на концах притупленные, размером 12–35 x 2–4 мкм, с 1...3 перегородками выходили в виде склеенной слизи ленты, которая затем рассыпалась на отдельные пикноспоры. На основе анализа собственных результатов исследований и литературных данных иллюстрирован цикл развития грибов рода *Septoria spp.*, которые представлены на рисунке 1.

Септориальные грибы часто обладают изменчивостью по морфо-культуральным признакам. Однако для иммунологических исследований представляют интерес стабильные изоляты по морфологическому типу. Нами в ходе исследований был получен 41 морфотипный изолят *Septoria*, и из них 23 изолята относятся к *S. tritici* и 18 – *S. nodorum*. В результате выяснено, что среди идентифицированного 41 изолята гриба *Septoria spp.* только 6 видов доминировали по частоте встречаемости в популяциях патогена. Характеристика и частота встречаемости изолятов представлены в таблице 2.



А – пораженный орган пшеницы, Б – выход пикноспор из пикниды, В – мицелий и пикноспора,  
Г – некротичное пятно в проростках, Д – слияние двух клеток (♀, ♂),  
Ж – образование псевдопикниды на КСА (увелечение 40x100)

**Рисунок 1** – Цикл развития грибов *Septoria spp.*

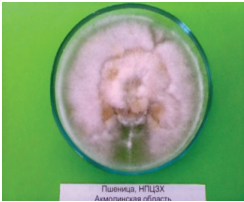


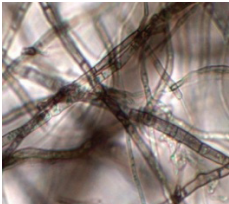

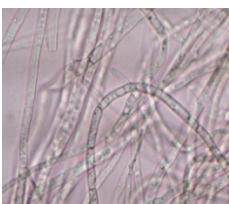

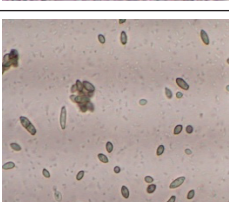


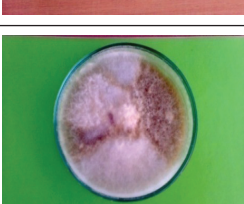
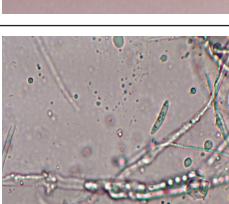
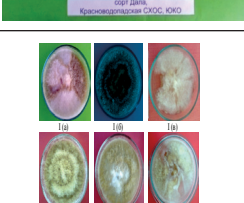

Полученные изоляты *S. tritici* и *S. nodorum* характеризовались средней спорулирующей способностями и медленным ростом. По изучению морфолого-культуральных особенностей изолятов *Septoria spp.* было выявлено девять морфотипов патогена *S. tritici* и шесть морфотипов – *S. nodorum*. Для изолятов возбудителя *S. tritici* характерны дрожжеподобные колонии розоватого и темного цветов, почти полностью состоящие из конидий (мицелий), которые по внешнему виду напоминают колоний бактерий. Позднее некоторые из них становились мицелиальными, а другие оставались дрожжеподобными. При этом менялась окраска колоний, а рост колонии замедлялся. Диаметр дрожжеподобных колоний составил от 10 до 30 мм, а мицелиальных колоний – 25-80 мм, соответственно. В популяциях преобладали медленнорастущие изоляты дрожжеподобного (I) и смешанного (II) типов, а частота встречаемости изолятов составляла от 26,8 до 22,0%. Для них характерны розовая и черная окраски, поверхность гофрированная, неровная, центр и края колонии дрожжеподобные, по краям мицелиальные. Размер колоний на 10-20 сутки увеличивался приблизительно в 4 раза, и в дальнейшем рост колоний значительно замедлялся. На 15-20 сутки культивирования гриба отмечалось формирование псевдопикниды (несодержащие пикноспор). Признаком окончания культивирования считалось появление капелек розового экссудата.

При образовании псевдопикнид колонии гриба приобретали гранулированный вид. Следует отметить, что по мере увеличения количества пересевов в последующих генерациях наблюдалась задержка роста колоний, которые наиболее интенсивно развивались при температуре 23-25°C, что соответствует по литературными данными *Septoria tritici* [7, 8].

У большинства изолятов *S. nodorum* обнаружены колонии с хорошо развитым, порошистым, шерстистым или бархатистым мицелием, с различным количеством пикноспор. Размеры колоний варьировали от 80 до 90 мм в диаметре. В основном преобладали колонии темного (II) и смешанного (III) типов, а частота встречаемости изолятов составляла от 14,6 до 19,5%. Для них характерна 2-3-цветная зональная бурая и темно-бурая окраска, шерстистость, мицелий редкий, воздушный.

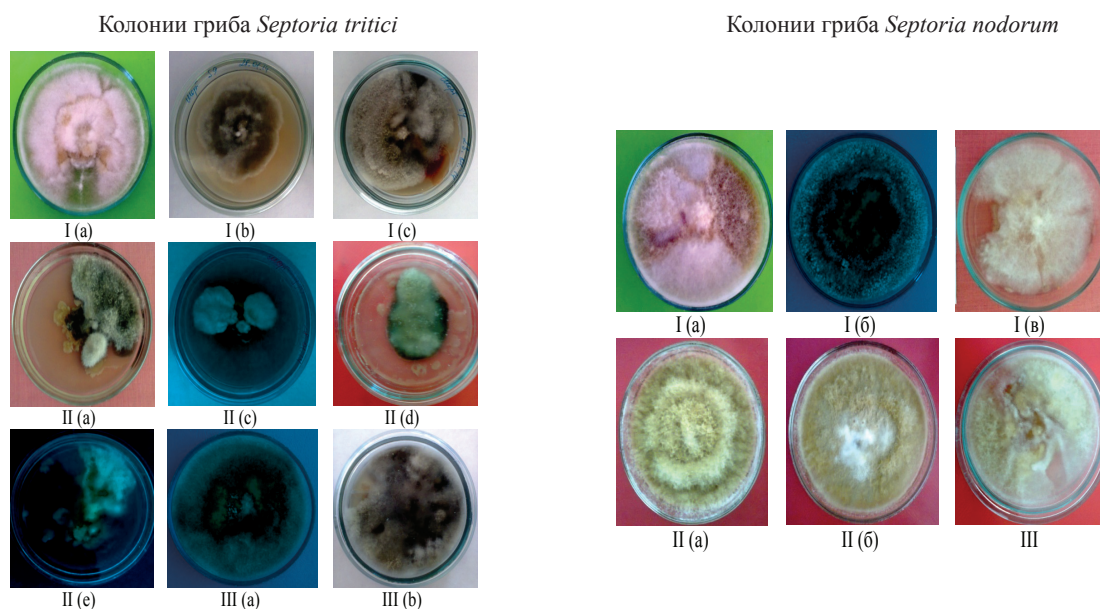
На 10-15 сутки признаком окончания культивирования являлось появление псевдопикниды и колонии гриба приобретали гранулированный вид. Во время культивирования гриб обладал максимальной удельной скоростью роста на 7-е сутки, с 10 по 16 сутки она снижалась, что приводило к уменьшению количества спор. Появление спор отмечалось на 3-5-е сутки роста гриба. Через 20-25 сутки на поверхности колонии появлялись белые стерильные мицелии гриба, что свидетельствует о начале перерастания культуры гриба, и потере способности к спороношению.

Таблица 2 – Характеристика и частота встречаемости изолятов *Septoria spp.*

Вид изолята	Источник инфекции, сорт (регион сбора)	Частота встречаемости, %	Тип колонии	Рост культуры на питательном среде КСА	Фенотипические признаки (увеличение 40x100)
Изолят <i>S. tritici</i>	Акмола 2 (Акмолинская область)	22,0	розовый, поверхность гофрированная, тип I (а)		
Изолят <i>S. tritici</i>	Стекловидная 24 (Южно-Казахстанская область)	26,8	центр дрожжеподобный, черный; край мицелиальный, черный, тип II (а)		
Изолят <i>S. tritici</i>	LG 909 (Жамбылская область)	7,3	колонии мицелиальные, белые, тип III (а)		
Изолят <i>S. nodorum</i>	Богарная 59 (Алматинская область)	14,6	черная или бурая, паутинистая, поверхность гладкая, тип II (в)		
Изолят <i>S. nodorum</i>	Эритроспермум 760 (Чуйская область, Кыргызстан)	5,0	белая, ватообразная, поверхность неровная, бугристая, тип I (в)		
Изолят <i>S. nodorum</i>	Дала (Южно-Казахстанская область)	5,0	розовая, гранулированная мицелий редкий воздушный, тип I (а)		
Изолят <i>S. nodorum</i>	Шортандинская 95 (Акмолинская область)	19,5	бурая в середине, светлая по периферии, шерстистая, пикнид много, тип III		

Таким образом, полученные показатели по скорости роста позволяют отнести данный гриб к числу медленно растущих патогенов. Природные хорошо спорулирующие изоляты *S. nodorum*, как

правило, обладают высокой патогенностью и являются основой для лучшей адаптации патогена к условиям внешней среды и полученные результаты *S. nodorum* соответствуют данными литературы [9].



I, II, III – типы колоний изолятов; а, b, с, е, а, б, в – морфологические типы изолятов

**Рисунок 2** – Различные типы колоний изолятов *Septoria spp.*

## Выводы

В результате исследований были получены разные по морфотипу изоляты *Septoria*, из них 23 изолята относятся к *S. tritici* и 18 – *S. nodorum*, соответственно. Также были изучены их морфолого-культуральные особенности, в результате которых выявлены девять морфо-

типов *S. tritici* и шесть морфотипов – *S. nodorum*. Среди выделенных изолятов гриба *Septoria spp.* только 6 видов колоний преобладали по частоте встречаемости. С использованием выделенных монопикнидиальных изолятов *S. tritici* и *S. nodorum* можно проводить скрининг сортов пшеницы для отбора устойчивых форм к видам септориоза.

## Литература

- 1 Койшибаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы: «Бастау», 2002. – 368 с.
- 2 Койшибаев М. Основные болезни яровой пшеницы, вызываемые грибами из класса Deuteromycetes, в Казахстане // Тезисы докладов: I съезд микологов России. – М., 2002. – 189 с.
- 3 Каримова Л.С., Ремеле В.В. Фитопатогенные микроскопические грибы рода септория на посевах пшеницы в северном Казахстане // Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и аспирантов «Биотехнология XXI века». – Астана, 2013. – С. 51-53.
- 4 Бейшова И., Кожмухаметов А. Диагностика фитопатогенных грибов рода *Septoria* Северного Казахстана // Сборник научных трудов «Проблемы и перспективы развития науки в начале третьего тысячелетия в странах СНГ». – Украина, 2013. – С. 7-9.
- 5 Санин С.С., Неклеса Н.П., Санина А.А., Пахолкова Е.В. Методические рекомендации по созданию инфекционных фондов для иммуногенетических исследований пшеницы. – М., 2008. – С. 37 – 44.

- 6 Склименок Н.А. и др. Морфолого-культуральные особенности роста изолятов гриба *Septoria tritici* Rob. Ex Desm. возбудителя септориоза листьев озимой пшеницы на агаризованных питательных средах // Защита растений: сборник научных трудов. – Белоруссия, 2011. – С 113-119.
- 7 Cordo C.A., Perelló A.E., Alippi H.E., Arriaga H.O. Morphocultural variants of *Septoria tritici* isolates
- 8 Scharen A.L. Biology of the *Septoria/Stagonospora* pathogens: an overview // Proceedings of the International *Septoria* Workshop. – CIMMYT. – Mexico, 1999. – P.19-22.
- 9 Mullaney E.J., Martin J.M., Scharen A.L. Generation Means Analysis to Identify and Partition the Components of Genetic Resistance to *Septoria Nodorum* in Wheat // *Euphytica*. – 1982. – № 31. – P. 539-545.

#### References

- 1 Kojshibaev M. Bolezni zernovykh kul'tur. – Almaty: «Bastau», 2002. – 368 p.
- 2 Kojshybaev M. Osnovnye bolezni jarovoj pshenicy, vyzyvaemye gribami iz klassa Deuteromycetes, v Kazahstane // Tezisy dokladov: I siezd mikologov Rossii. – Moskva, 2002. – 189 p.
- 3 Karimova L.S., Remele V.V. Fitopatogennye mikroskopicheskie griby roda septorija na posevah pshenicy v severnom Kazahstane // Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchenyh i aspirantov «Biotehnologija XXI veka». Sbornik materialov. – Astana, 2013. – P. 51-53.
- 4 Bejshova I., Kozhmuhametov A. Diagnostika fitopatogennyh gribov roda *Septoria* Severnogo Kazahstana // Sbornik nauchnyh trudov «Problemy i perspektivy razvitiya nauki v nachale tret'ego tysjacheletija v stranah SNG». – Ukraina, 2013. – P. 7-9.
- 5 Sanin S.S., Neklesa N.P., Sanina A.A., Paholkova E.V. Metodicheskie rekomendacii po sozdaniju infekcionnyh fonov dlja immunogeneticheskikh issledovanij pshenicy. – Moskva, 2008. – P. 37 – 44.
- 6 Sklimentok N.A. i dr. Morfologo-kul'tural'nye osobennosti rosta izoljatov griba *Septoria tritici* Rob. Ex Desm. vzbuditelja septorioza list'ev ozimoi pshenicy na agarizovannyh pitatel'nyh sredah // Zashhita rastenij. Sbornik nauchnyh trudov. – Belorussija, 2011. – P. 113-119.
- 7 Cordo C.A., Perelló A.E., Alippi H.E., Arriaga H.O. Morphocultural variants of *Septoria tritici* isolates // *Rev. Iberoam. Mico.* –1997. –№14. – P. 168-172.
- 8 Scharen A.L. Biology of the *Septoria/Stagonospora* pathogens: an overview // Proceedings of the International *Septoria* Workshop. – CIMMYT. – Mexico, 1999. – P.19-22.
- 9 Mullaney E.J., Martin J.M., Scharen A.L. Generation Means Analysis to Identify and Partition the Components of Genetic Resistance to *Septoria Nodorum* in Wheat // *Euphytica*. –1982. –№ 31. – P. 539-545.