



УДК 632.4-043.86:633.85

РІСТ ТА РОЗВИТОК ГРИБА *PHOMOPSIS HELIANTHI* M. НА РІЗНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Є. В. СИВОДЕД, провідний спеціаліст, фітопатолог
Херсонська обласна фітосанітарна лабораторія

E-mail: evgeniyasyvoded@gmail.com

М. М. КИРИК, доктор біологічних наук, академік НААН України, професор

О. В. КОЛЕСНІЧЕНКО, доктор біологічних наук, професор

В. І. МЕЛЬНИК, кандидат сільськогосподарських наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

<https://doi.org/10.31548/bio2018.05.006>

Метою дослідження було вивчення впливу живильних середовищ на ріст і розвиток гриба *Phomopsis helianthi*.

Наведено результати вивчення впливу живильних середовищ на ріст і розвиток гриба *Phomopsis helianthi* та формування пікнід. Ріст міцелію патогену відбувався на різних середовищах: картопляно-глюкозному агарі, соняшниковому агарі, вівсяному агарі, середовищі Чапека, морквяному агарі, квасолевому агарі та голодному агарі. Найінтенсивніша динаміка росту колоній гриба *Phomopsis helianthi* відмічена на картопляно-глюкозному агарі, вівсяному агарі та соняшниковому агарі. Діаметр колоній на 11 добу інкубування становив, відповідно, 80,5, 79,0 та 70,75 мм. Тип живильного середовища, що використовували значною мірою вплинув на колір колонії, особливості культури та будову гриба. Живильне середовище впливає на формування морфологічних структур та культуральних ознак гриба *Phomopsis helianthi*, зокрема, формування пікнід.

Найбільш інтенсивно пікніди гриба утворювалися на морквяному агарі: в середньому 12,3 шт./см² площі субстрату. На голодному агарі формування пікнід не відбувалося.

Ключові слова: фомопсис, міцелій, діаметр колоній, швидкість росту, пікніди

Гриб *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvetk., Mihaljс. & M. Petrov (анаморфа – *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvetk., Mihaljс. & M. Petrov) є збудником небезпечної хвороби соняшнику – сірої плямистості стебел, яка в літературі вказується під назвами фомопсис або рак стебел. На європейському континенті захворювання вперше було виявлено в Югославії [9]. В Україні хвороба відмічена у 1986 році [2]. В умовах Франції, як відмічає Carté M. A. [7], вона спричиняє недобір

врожаю до 40 %. Балан Г. О. [1] під час вивчення шкідливості фомопсису в Україні відмітила зниження схожості насіння за умов ння фомопсисом з 95,0 до 57,5 %. Для вивчення різних аспектів екології, біології *Phomopsis helianthi* та напрацювання іноколюму передбачається його культивування *in vitro* на живильному середовищі.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомо, що виділення грибів у чисту культуру та спостереження за ними



in vitro є першим етапом щодо подальших досліджень з вивчення характеру їх росту і розвитку, особливостей морфогенезу, встановлення екологічних особливостей, а саме впливу таких чинників, як температура, вологість, джерела світла, кислотність середовища, радіація та компонентний складу субстрату [11].

Наявність чистих культур уможливило визначення біосинтетичної активності продуктів метаболізму, виявлення ступеня їх паразитизму й стійкості проти фунгіцидів, здійснення популяційних і порівняльних досліджень різних ізолятів і т. і. У природних умовах гриб отримує їжу та енергію з рослин та їх решток. Однак культивування гриба у лабораторних умовах вимагає підбору штучного середовища в залежності від мети досліджень патогену [12]. У наукових публікаціях вказується про вирощування гриба *Phomopsis helianthi* на картопляно-декстрозному агарі та агарі з кукурудзяним борошном [8]. Е. Г. Долженко [3] встановила, що найбільш сприятливими для розвитку міцелію збудника фомопсису є картопляно-сахарозний агар, картопляно-глюкозний агар та сусло-агар. Інші дослідники вважають, що з метою споруляції видів роду *Phomopsis* найкраще підходить середовище Чапека з екстрактом люцерни [10].

У зв'язку з цим актуальним є вивчення інтенсивності процесів росту та розвитку міцелію й мінливості морфолого-культуральних ознак *Phomopsis helianthi* на різних живильних середовищах.

Мета дослідження – вивчити вплив живильних середовищ на ріст і розвиток гриба *Phomopsis helianthi*.

Матеріали і методи дослідження. Ізоляцію гриба *Phomopsis helianthi* у чисту культуру та його ідентифікацію здійснювали за загальноприйнятими методиками [4, 5, 6]. Зокрема, відбирали стебла соняшнику із симптомами фомопсису, нарізали їх на фрагменти 5–10 мм, стерилізували в

96° спирті та розміщували в чашки Петрі на поверхню картопляно-глюкозного середовища. Надалі підготовлений матеріал інкубували в термостаті протягом двох тижнів. Живильні середовища готували за стандартними прописами [5, 6]. В подальших дослідженнях використовували наступні живильні середовища: картопляно-глюкозний агар (КГА), соняшниковий агар (СА), вівсяний агар (ВА), середовище Чапека (Ч), морквяний агар (МА), квасолевий агар (КА), голодний агар (ГА). Для інокуляції субстратів використовували культуру 2-тижневого віку. Міцелій висівали в чашки Петрі в центр поверхні щільного живильного середовища малим шматочком інокулому, розміром близько 5×5 мм, завжди однієї щільності та віку. Дослідження мінливості морфологічних ознак гриба залежно від впливу компонентного складу живильних середовищ вивчали за оптимального температурного режиму (23-25 °С). Діаметр колоній вимірювали щоденно у двох взаємно протилежних напрямках протягом 11 діб. Описування культурально-морфологічних особливостей колоній на різних живильних середовищах проводили на 15 добу культивування. Досліди проводили у чотирикратній повторності.

Результати дослідження та їх обговорення. Одним із найважливіших чинників, який зумовлює ріст і розвиток фітопатогенних організмів, є живлення. Різні джерела живлення різнопланово впливають на життєдіяльність патогенів як у ґрунті і рослинах, так і в чистій культурі. Живлення впливає на зміни розмірів й інтенсивність зростання вегетативного тіла, споруляцію та продукування вторинних метаболітів.

У наших дослідженнях вегетативний ріст гриба *Phomopsis helianthi* відмічено на усіх живильних середовищах картопляно-глюкозному агарі (КГА), соняшковому агарі (СА), вівсяному агарі (ВА),

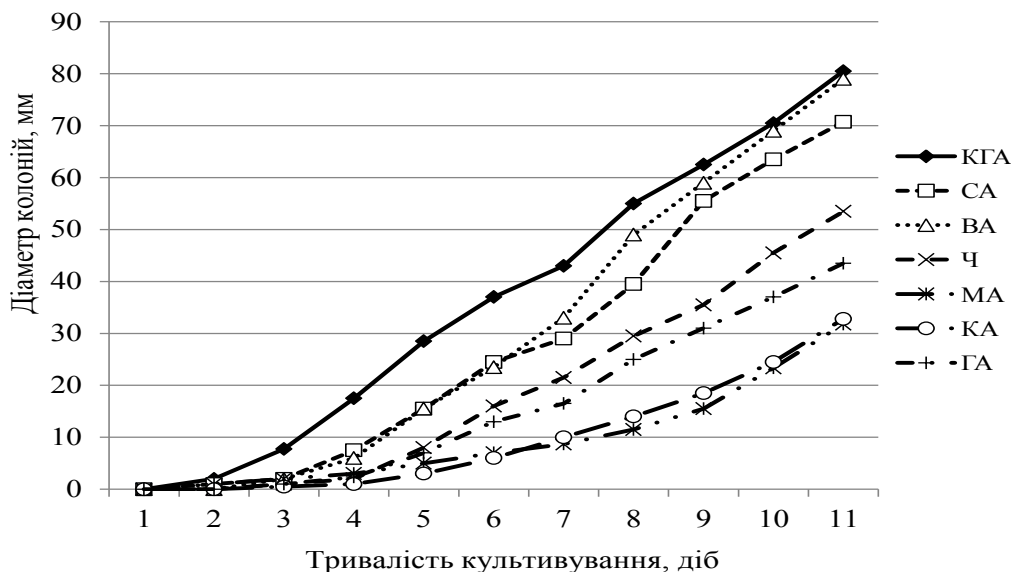


Рис. 1. Динаміка росту гриба *Phomopsis helianthi* на різних живильних середовищах: картопляно-глюкозному агарі (КГА), соняшниковому агарі (СА), вівсяному агарі (ВА), середовищі Чапека (Ч), морквяному агарі (МА), квасолевому агарі (КА), голодному агарі (ГА).

середовищі Чапека (Ч), морквяному агарі (МА), квасолевому агарі (КА), голодному агарі (ГА). Початок росту мікроміцета на відмічених субстратах спостерігався на другу добу культивування (рис. 1).

Найбільш інтенсивне збільшення площі колонії *Phomopsis helianthi* відмічено на картопляно-глюкозному, вівсяному та соняшниковому агарах. Зокрема, на 11 добу інкубування, діаметр колоній патогену становив відповідно 80,5, 79,0 та 70,75 мм. Дещо повільніше гриб зростає на середовищі Чапека та голодному агарі, на яких за вказаний проміжок часу діаметр колоній досягав 53,5 мм та 43,5. Квасолевий та морквяний агари забезпечували найменш інтенсивний ріст *Phomopsis helianthi*. Зокрема, після 11 діб культивування діаметр колоній мікроміцета становив, відповідно, 32,8 та 31,8 мм.

Під час культивування *Phomopsis helianthi* на різних живильних середовищах зафіксовано зміни морфолого-куль-

туральних ознак міцелію гриба, у тому числі його забарвлення та щільність утворення пікнід (табл. 1).

Найбільш інтенсивно даний процес утворення пікнід грибом *Phomopsis helianthi* відбувався на морквяному агарі (рис. 3). На даному живильному середовищі зафіксовано $12,3 \pm 0,54$ шт. / cm^2 (табл. 1, рис. 3). Незначне зниження щільності утворення пікнік спостерігали та картопляно-глюкозному агарі: $10,8 \pm 0,42$ шт. / cm^2 . На інших живильних середовищах даний показник був у діапазоні від $0,3 \pm 0,15$ (квасолевий агар) до $8,3 \pm 0,40$ (вівсяний агар). На голодному агарі формування пікнід не відмічено.

Серед морфолого-культуральних ознак міцелію гриба необхідно відмітити, що картопляно-глюкозний агар забезпечував утворення щільного, повітряного оливкового за кольором міцелію (рис. 2.1). На морквяному середовищі гриб утворював добре розвинений, білий, щільний міцелій (рис. 2.2). На усіх інших досліджуваних субстратах форму-

1. Характеристика колоній гриба *Phomopsis helianthi*, отриманих на різних живильних середовищах

Живильне середовище	Характеристика міцелію	Кількість піквід (шт.), що утворилися на 1 см ² площі субстрату
Картопляно-глюкозний агар	Оливковий, щільний повітряний	10,8±0,42
Соняшниковий агар	Білий, зріджений, субстратний	3,4±0,12
Вівсяний агар	Білий, рідкий, повітряний	8,3±0,40
Середовище Чапека	Білий, пливчастий, повітряний	1,7±0,11
Морквяний агар	Білий, щільний, повітряний	12,3±0,54
Квасолевий агар	Білий, зріджений, повітряний	0,3±0,15
Голодний агар	Білий, зріджений, субстратний	0

вався міцелій білого забарвлення, який відрізнявся між собою за щільністю.

Міцелій на середовищі Чапека був пливчастий та повітряний (рис. 2.6). На вівсяному (рис. 2.4) і квасоловому (рис. 2.5) середовищах міцелій гриба майже безбарвний, що стелився на поверхні суб-

страту, рідкий та повітряний. На соняшковому (рис. 2.3) та голодному агарі формувався рідкий субстратний міцелій.

Необхідно відмітити, що піквіди гриба *Phomopsis helianth* на морквяному агарі мають округлу та овальну форми та частково занурені у субстрат (рис. 3).

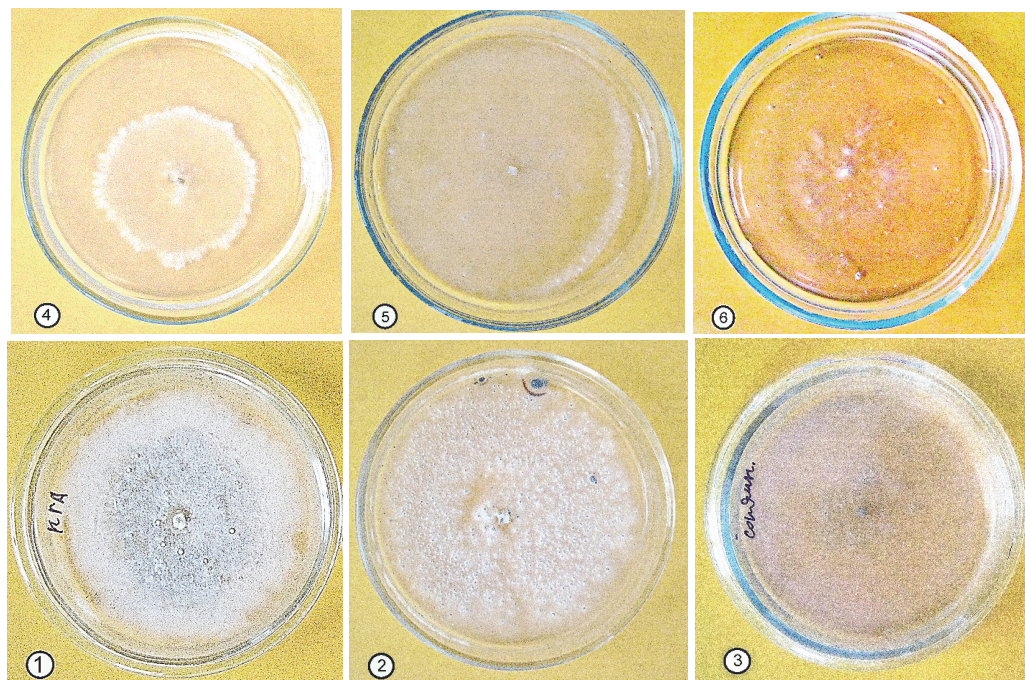


Рис. 2. Утворення міцелію *Phomopsis helianthi* на різних живильних середовищах, де: 1 – картопляно-глюкозний агар; 2 – морквяний агар; 3 – соняшковий агар; 4 – вівсяний агар; 5 – квасолевий агар; 6 – Чапека (15 діб культивування).

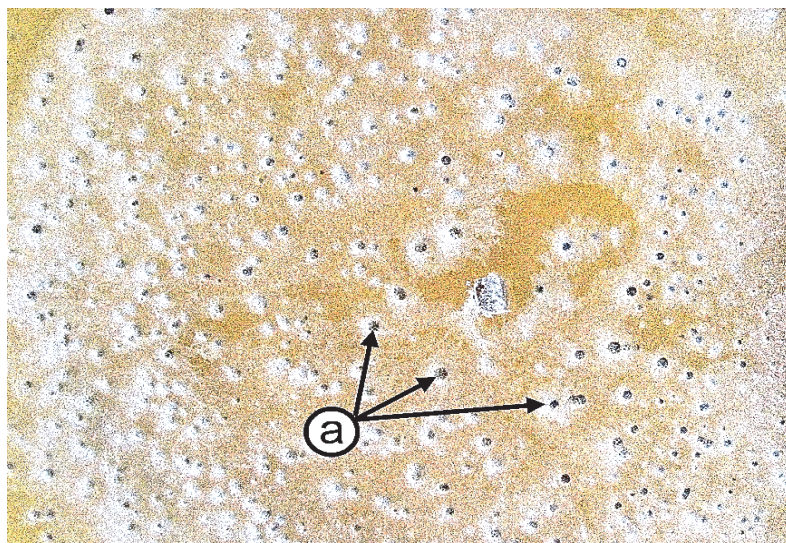


Рис. 3. Загальний вигляд пікнід гриба *Phomopsis helianthi* (а), що сформувалися на морквяному агарі

Висновки і перспективи

Ріст міцелію *Phomopsis helianthi* відбувався на різних середовищах: картопляно-глюкозному агарі, соняшниковому агарі, вівсяному агарі, середовищі Чапека, морквяному агарі, квасолевому агарі та голодному агарі. Найінтенсивніша динаміка збільшення розмірів колоній гриба *Phomopsis helianthi* відмічена на картопляно-глюкозному, вівсяному та соняшниковому агарах, що на 11 добу інкубування дорівнювала, відповідно, 80,5, 79,0 та 70,75 мм. Тип живильного середовища, що використовували, значною мірою вплинув на колір колонії, особливості культури та будову гриба. Живильне середовище впливало на формування морфологічних структур та культуральних ознак гриба *Phomopsis helianthi*, зокрема, формування пікнід.

Найбільш інтенсивно пікніди гриба утворювалися на морквяному агарі: в середньому 12,3 шт./см² площі субстрату. На голодному агарі формування пікнід не відбувалося.

Таким чином, нами встановлено, що ріст і розвиток чистої культури гриба *Phomopsis helianthi* залежить від компонентного складу живильного середовища. Накопичення *in vitro* за короткої проміжок часу міцелію *Phomopsis helianthi* для біохімічних, популяційних і порівняльних досліджень можливо на картопляно-глюкозному, вівсяному та соняшниковому агарах. З метою вивчення морфолого-культуральних ознак міцелію гриба, у тому числі процесів споруляції, потрібно використовувати морквяний агар, де спостерігається найбільш висока інтенсивність утворення пікнід.

Література

1. Балан Г. О. Фомопсис соняшнику та інші найбільш поширені хвороби і шляхи обмеження їх шкодочинності в південному Степу України: Автореф. дис... канд. с.-г. наук: 06.01.11. / Г. О. Балан; Нац. аграр. ун-т. – К., 2003. – 20 с.
2. Богданова В. Н. Вовремя обнаружит фомопсис / В. Н. Богданова, Л. В. Караджова, М. Е. Штейнберг // Сельское хозяйство Молдавии. – 1986. – № 12. – С. 24–25.



3. Долженко Е. Г. Биология гриба *Phomopsis helianthi* и меры борьбы с ним в условиях Краснодарского края : автореферат дис... канд. биол. наук : специальность 06.01.11 / Е. Г. Долженко ; [Куб. гос. аграр. ун-т]. – Краснодар, 2000. 25 с.
4. Методические указания по выявлению фомопсиса (серой пятнистости) подсолнечника / О. В. Скрипка, М. А. Примаковская, В. П. Шинкарев, А. Н. Матвеенко. Москва: Печатный цех Госагропрома СССР, 1988. 20 с.
5. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений / Пер. с нем. К. В. Попковой, В. А. Шмыгли. – М. : Агропромиздат, 1987. 224 с.
6. Методы экспериментальной микологии / [И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская и др.]; Под ред. В. И. Билай. – К. : Наук. думка, 1982. 452 с.
7. Carré M. A. Maladies du tournesol: le choix variétal avant tout / M. A. Carré // Cultivar. 1993. № 332. P. 46–51.
8. Influence of Different Nutrients and Culture Condition on Growth of *Phomopsis helianthi* / Chen Yan, Zhang Xianglin, Wang Chong, Liu bin, Wang Wenzheng // Xinjiang Agricultural Sciences. 2011. Vol. 18, № 11. P. 2054–2060.
9. Mihaljcevic M. Further studies on the sunflower disease caused by *Diaporthe* (*Phomopsis*) *helianthi* and possibilities of breeding for resistance / M. Mihaljcevic, M. Muntanola-Cvetkovic, M. Petrov // Proc. 10th Int. Sunflower Conf., Australia. 1982. P. 157–159.
10. Sporulation conditions of *Phomopsis* in pure culture / Luo Lijuan, Xi Pinggen, Jiang Zide, Qi Peikun // Mycosystema. 2004. Vol. 2. P. 219–225.
11. Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species S. M. Thompson, Y. P. Tan, A. J. Young, S. M. Neate, E. A. B. Aitken, and R. G. Shivas // *Persoonia*. 2011. P. 80–89. doi:10.3767/003158511X617110.
12. Studies on the Cultural and Growth Characteristics of *Alternaria alternata*, *Colletotrichum melongenae* and *Phomopsis vexans* the Causing Fruit Rot of Brinjal / Sanjeev Jakatimath, R. K. Mesta, I. B. Biradar, K. Sadanand, Mushrif and P. S. Ajjappalavar // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017. V. 6. № 6. P. 1062–1069: doi.org/10.20546/ijcmas.2017.606.122

References

1. Balan H. O. (2003) Fomopsys sonyashnyku ta inshi naybil'sh poshyreni khvoroby i shlyakhy obmezhenyia yikh shkodochynnosti v pivdenomu Stepu Ukrainy: Avtoref. dys... kand. s.-h. nauk: 06.01.11 [Fomopsis for sunflower and other most widespread diseases and ways of limiting their harmfulness in the southern steppe of Ukraine]: Author's abstract. Dis ... Cand. s.-g. Sciences: 06.01.11 / G. O. Balan; National agrar un, K., 20 с.
2. Bogdanova V. N., Karadzkhova L. V., Shteinberg M. E. (1986) Vo vremya obnaruzhyt' fomopsys [In time to find phomopsis]. *Agriculture of Moldova*, 12, 24–25.
3. Dolzhenko E. G. (2000) Biologiya griba *Phomopsis helianthi* i mery bor'by s nim v usloviyakh Krasnodarskogo kraia [The biology of fungus *Phomopsis helianthi* and measures to combat it in the conditions of the Krasnodar region]: dissertation dissertation ... Cand. biol. Sciences: specialty 06.01.11; [Cube. state agrar un-t], Krasnodar, 25.
4. Skrypka O. V., Primakovskaya M. A., Shinkarev V. P., Matveenko A. N. (1988) Metodicheskiye ukazaniya po vyavleniyu fomopsysa (seroy pyatnystosti) podsolnechnyka [Methodical instructions on the detection of sunflower phomopsis (gray spotting)]. Moscow, Printing House of the State Agricultural Enterprise of the USSR, 20.
5. Metody opredeleniya bolezney i vreditel'nykh sel'skokhozyaystvennykh rasteniy [Methods of determination of diseases and pests of agricultural plants] (1987), Translation from german K. V. Popkova, V. A. Shmigli. Moscow, Agropromizdat, 224.
6. Dudka I. A., Vasser S. P., Ellanskaya I. A.; Bilay V. I. ed. (1982) Experimental mycologist methods [Metody eksperimentalnoy mikologii]. Kyiv : Nauk. dumka, 452. [in Ukraine]
7. Carré M. A. (1993) Maladies du tournesol: le choix variétal avant tout. *Cultivar*, 332, P. 46–51.
8. Chen Yan, Zhang Xianglin, Wang Chong, Liu bin, Wang (2011) Wenzheng Influence of Different Nutrients and Culture Condition on Growth of *Phomopsis helianthi*. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 18, 11, 2054–2060.



9. Mihaljcevic M., Muntanola-Cvetkovic M., Petrov M. (1982) Further studies on the sunflower disease caused by *Diaporthe* (*Phomopsis*) *helianthi* and possibilities of breeding for resistance. 10th Int. Sunflower Conf., Australia, 157–159.
10. Luo Lijuan, Xi Pinggen, Jiang Zide, Qi Peikun (2004) Sporulation conditions of *Phomopsis* in pure culture. *Mycosystema*, 2, 219–225.
11. Thompson S. M., Tan Y. P., Young A. J., Neate S. M., Aitken E. A. B., and Shivas R. G. (2011) Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species. *Persoonia*, 80–89. doi:10.3767/003158511X617110.
12. Jakatimath Sanjeev, Mesta R. K., Biradar I. B., Sadanand K., Mushrif and Ajjappalavar P. S. (2017) Studies on the Cultural and Growth Characteristics of *Alternaria alternata*, *Colletotrichum melongenae* and *Phomopsis vexans* the Causing Fruit Rot of Brinjal. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 6, 1062–1069: doi.org/10.20546/ijcmas.2017.606.122

SUMMARY

Ye. V. Syvoded, M. M. Kyryk, O. V. Kolesnichenko, V. I. Melnyk . *The growth and development of fungus phomopsis helianthi m. On different nutrient medium. Biological Resources and Nature Managment. 2018. 10, № 5–6. P. 45–51. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.006>*

The aim of the study was to study the effect of nutrient media on the growth and development of the fungus Phomopsis helianthi.

The results of studying the effect of nutrient media on the growth and development of the fungus Phomopsis helianthi and the formation of pycnidia are presented. The growth of the pathogen mycelium took place on various media: potato-glucose agar, sunflower agar, oatmeal agar, Czapek's medium, carrot agar, bean agar, and hungry agar. The intensive growth dynamics of Phomopsis helianth fungal colonies is marked on potato-glucose agar, oat agar and sunflower agar. The diameter of the colonies on the 11th day of incubation

was, respectively, 80.5, 79.0 and 70.75 mm. The type of nutrient medium used significantly influenced the color of the colony, the culture characteristics and the structure of the fungus. Nutrient medium affects the formation of morphological structures and cultural characteristics of the fungus Phomopsis helianthi, in particular, the formation of pycnidia.

The most intense pycnidia of the fungus was formed on carrot agar: an average of 12.3 pieces. / sm² area of the substrate. Pycnidis did not form on hungry agar.

Keywords: *phomopsis, mycelium, colony diameter, growth rate, pycnidia*

АННОТАЦІЯ

Є. В. Сиводед, Н. Н. Кирик, О. В. Колесніченко, В. І. Мельник. *Рост и развитие гриба phomopsis helianthi m. На различных питательных средах. Биоресурсы и природопользование. 2018. 10, № 5–6. С. 45–51. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.006>*

Целью исследования было изучение влияния питательных сред на рост и развитие гриба Phomopsis helianthi.

Приведены результаты изучения влияния питательных сред на рост и развитие гриба Phomopsis helianthi и формирования пикнид. Рост мицелия патогена проходил на различных средах: картофельно-глюкозном агаре, подсолнечном агаре, овсяном агаре, среде Чапека, морковном агаре, фасолевым агаре и голодном агаре. Интенсивная динамика роста колоний гриба Phomopsis helianth отмечена на картофельно-глюкозном агаре, овсяном агаре и подсолнечном агаре. Диаметр колоний на 11 сутки инкубирования

составил соответственно, 80,5, 79,0 и 70,75 мм. Тип питательной среды, использовали в значительной мере повлиял на цвет колонии, особенности культуры и строение гриба. Питательная среда влияет на формирование морфологических структур и культуральных признаков гриба Phomopsis helianthi, в частности, формирование пикнид.

Наиболее интенсивно пикниды гриба образовывались на морковном агаре: в среднем 12,3 шт. / см² площади субстрата. На голодном агаре формирования пикнид не происходило.

Ключевые слова: *фомопсис, мицелий, диаметр колоний, скорость роста, пикниды*