УДК 632.4.01/.08:575.174.015.3:57.083.182

DOI 10.30679/2219-5335-2020-5-65-306-325

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА РОСТ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* LINK

Астапчук Ирина Леонидовна
канд. биол. наук
научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: irina_astapchuk@mail.ru

Якуба Галина Валентиновна
канд. биол. наук
старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: galyayaku@gmail.com

Марченко Никита Александрович
младший научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: marchekonikita@yandex.ru

Насонов Андрей Иванович
канд. биол. наук
заведующий лабораторией
биотехнологического контроля
фитопатогенов и фитофагов
e-mail: nasoan@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия

С 2013 года в Краснодарском крае грибы рода *Fusarium* Link являются возбудителями гнили сердцевины плодов

UDC 632.4.01/.08:575.174.015.3:57.083.182

DOI 10.30679/2219-5335-2020-5-65-306-325

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF VARIOUS NUTRIENT MEDIA THE GROWTH OF THE GENUS *FUSARIUM* LINK FUNGI

Astapchuk Irina Leonidovna
Cand. Biol. Sci.
Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens
and Phytophages Laboratory
e-mail: irina_astapchuk@mail.ru

Yakuba Galina Valentinovna
Cand. Biol. Sci.
Senior Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens
and Phytophages Laboratory
e-mail: galyayaku@gmail.com

Marchenko Nikita Aleksandrovich
Junior Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens
and Phytophages Laboratory
e-mail: marchekonikita@yandex.ru

Nasonov Andrei Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
Head of the Laboratory
of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
e-mail: nasoan@mail.ru

Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making», Krasnodar, Russia

Since 2013, in the Krasnodar Territory, fungi of the *Fusarium* Link genus have been the causative agents of rotting

яблони, в 2019 году в составе патокомплекса выделено 7 видов этого рода. Для эффективного контроля заболевания, в патогенезе которого участвует большое количество видов, требуется проведение исследований *in vitro*. При этом необходимо добиться быстрого и гарантированного роста каждого из грибов. Известна значительная изменчивость морфологических и культуральных признаков фузариев при их культивировании под влиянием состава питательных сред. В связи с этим подбор для фузариевых грибов-возбудителей гнили сердцевины плодов яблони оптимальных для культивирования питательных сред является актуальным. Исследования выполнены методами лабораторного и сравнительного анализов. Изучали рост трех возбудителей гнили сердцевины плодов яблони рода *Fusarium* Link на 10 питательных средах. Оценивали радиальную скорость роста колонии и морфолого-культуральные признаки. В результате исследований у видов *F. semitectum* (Mart.) Sacc., *F. sporotrichioides* Sherb. и *F. solani* (Mart.) Sacc. установлено варьирование не только скорости роста колоний, но и их культуральных признаков в зависимости от питательной среды. Для культивирования изученных патогенных грибов были выделены морковный и томатный агары, как универсальные среды, на которых рост колонии в наших экспериментах был наиболее интенсивный. Дополнительно для каждого вида грибов предложены питательные среды: для *F. solani* – среда Мурасиге и Скуга; для *F. semitectum* – среда Мурасиге и Скуга и сусло-агар; для *F. sporotrichioides* – среда Ниренберга, картофельно-глюкозный агар и сусло-агар.

Ключевые слова: ЯБЛОНЯ, ГНИЛИ СЕРДЦЕВИНЫ ПЛОДОВ, *FUSARIUM*, ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА

the apple fruits core, in 2019, 7 species of this genus have been identified as part of the pathocomplex. In order to effectively control the disease, in the pathogenesis of which a large number of species are involved, *in vitro* studies are required. It is necessary to achieve fast and guaranteed growth of each of the fungies. Significant variability of morphological and cultural characteristics of Fusaria is known during their cultivation under the influence of the composition of growing medium. In this regard, the selection for *Fusarium* fungi-pathogens of rot of the apple fruits core optimal for the cultivation of growing medium is actual. The studies were carried out by laboratorian and comparative analysis methods. We studied the growth of three pathogens of rotting the apple tree fruits core of the *Fusarium* Link genus in 10 growing medium. The radial colony growth rate and morphological and cultural characters were evaluated. As a result of studies in species *F. semitectum* (Mart.) Sacc., *F. sporotrichioides* Sherb. and *F. solani* (Mart.) Sacc. was found that not only the growth rate of the colonies was varied, but also their cultural characteristics depending on the growing medium. To cultivate the studied pathogenic fungi, carrot and tomato agar were isolated in the our experiments as universal medium on which the colony growth was most intense. Additionally, the growing medium were proposed for each species: for *F. solani* – Murashige and Skoog medium; for *F. semitectum* – medium Murashige and Skoog and wort agar; for *F. sporotrichioides* – Nirenberg medium, potatoes-glucosal agar and wort-agar.

Key words: APPLE-TREE, ROT APPLE CORE, *FUSARIUM*, NUTRIENT MEDIA

Введение. Грибы рода *Fusarium* Link широко распространены в природе и являются возбудителями заболеваний более 200 видов культурных растений, вызывая их увядание и гибель [1]. Микромицеты представлены в виде аскоспор и конидий в воздухе, хламидоспор в почве и перитециев на растительных остатках; встречаются в форме мицелия и спородохиев в жизнеспособных тканях подземных и надземных органов растений [2]. С 2013 года в Краснодарском крае грибы рода *Fusarium* стали вызывать гниль сердцевины плодов яблони. Среди возбудителей данного заболевания – *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. semitectum* Berk. & Ravenel, *F. sporotrichioides* Sherb., *F. proliferatum* (Matsushima), *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht. [3].

Для эффективного контроля заболевания, в патогенезе которого участвует большое количество видов, требуются исследования *in vitro*. В связи с этим необходимо добиться быстрого и гарантированного роста каждого из грибов в лабораторных условиях. Для таких целей, как например, изучение чувствительности к фунгицидам *in vitro*, получение большого количества инокулюма, определение токсичности, вирулентности, создание инфекционных фонов, а также для описания разнообразия морфолого-культуральных признаков и др., необходимо получать чистые культуры. Помимо вспомогательной роли, чистые культуры грибов позволяют выявить ряд признаков, характеризующих сам гриб.

Характер роста гриба на питательных средах может служить надежным указанием на степень его паразитизма. Чем сильнее выражены сапротрофные свойства гриба, тем с большей легкостью и скоростью он развивается и спороносит. И наоборот, чем большим паразитизмом обладает гриб, тем медленнее и труднее он растет на средах, вплоть до полного отсутствия роста при облигатном паразитизме [4].

Наработка инокулюма в лабораторных условиях невозможна без знания морфолого-культуральных особенностей возбудителя, а также подбора

оптимального субстрата для роста и спороношения гриба [5]. Также при использовании определителя грибов важно обращать внимание, на каких средах и при каких условиях роста дано описание морфолого-культуральных признаков. Таким образом, некоторые штаммы патогенов можно выделить в чистую культуру и определить вид на одной питательной среде, а размножить для определенной цели – на другой.

Важным фактором при культивировании патогенов являются питательные среды, состав которых влияет на рост мицелия и продукты метаболизма, на тип и обилие спороношения, форму конидий, образование пигмента, а также на образование вариантов. При культивировании гриба на различных питательных средах изменяется характер роста и окраска мицелия, образование конидий, склероциев и хламидоспор [2]. Как известно, окраска гиф и спороношений грибов рода *Fusarium* на питательной среде является диагностическим признаком, для описания пигментов используются стандартные питательные среды и специальные шкалы цветов [6, 7].

При изучении влияния различных питательных сред на некоторых видах рода *Fusarium* было показано изменение размера конидий и количество спороношения в зависимости от питательной среды. Так овсяный, картофельный, кислый картофельный и фасольный агары, стебли смородины, люпина и ломтики картофеля дали большой процент образования спороношения. Для получения макроконидий и хламидоспор используют гороховую, морковную и картофельную среды. Нужно отметить, что наилучшими средами для образования склероциев являются рис и ломтик картофеля [8]. Морковную среду часто используют для скрещивания изолятов и получения полового спороношения [7].

Также для описания культуральных характеристик грибов рода *Fusarium* используются среды на основе картофельного отвара, на котором образуется обильный пигментированный воздушный мицелий. На среде Чапека и морковном агаре гриб образует хорошо развитый, белый, плотный

мицелий, поднимающийся над субстратом. На агаризированной питательной среде с низким содержанием углеводов (среда Ниренберга) патоген образует стелющийся по поверхности, слаборазвитый, паутинистый, бесцветный мицелий, морфологические особенности которого (размеры, форма конидиеносцев, макро- и микроконидий, а также способы их формирования) легко учитываются *in situ* [9]. На овсяной и гороховой средах мицелий гриба почти бесцветный, стелющийся на поверхности субстрата. На виноградной среде микромицет развивает вакуолизированный мицелий с крупными хламидоспорами [10].

Исследования коллег по изучению культуральных и морфологических особенностей штаммов грибов рода *Fusarium*, выделенных с соцветий и ягод винограда, и подбору оптимальных сред для культивирования показали, что на картофельно-сахарозном агаре (КСА) наблюдался очень быстрый рост колонии, а также у всех изолятов происходило окрашивание среды в малиновый цвет, то есть выделялся пигмент. Было выявлено, что на КСА и картофельно-морковном агаре (КМА) происходит образование большого количества микроконидий. Макроконидии, по сравнению с другими изученными средами, образуются, в первую очередь, на КМА [11], что имеет важное значения для определения вида в короткие сроки.

Результаты изучения влияния различных питательных сред на рост, развитие и патогенность гриба *Fusarium oxysporum* f. vasinfectum [12] показали, что лучший рост мицелия происходил при культивировании гриба в питательной среде, где в качестве источника азота были добавлены KNO_3, $(NH_2)_2$, пептон и NH_4NO_3. В питательной среде с $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)_3PO_4$, NH_4Cl гриб образовывал пушистый, белый, поднимающийся над субстратом мицелий с розоватым оттенком в субстрате. Наиболее благоприятными являлись питательные среды с источниками азота в виде KNO_3, $(NH_2)_2CO$, пептона и NH_4NO_3. Пугачев и др. [13] рекомендуют использовать для культивирования *F. Oxysporum*, выделенный с земляники садовой сусло-агар.

Имеются данные, что на средах, бедных питательными веществами, содержащих слабые растворы глюкозы, азота и минеральных солей, культуры достаточно долго сохраняют свои первоначальные характеристики. В то время как на средах, богатых питательными веществами, например среда Ричардса [14], наоборот, они сильно подвержены вариациям. Некоторые ученые считают, что культивировать фузариумы для определения видов возможно только на средах, бедных азотом и сахаром [15]. Именно такие среды не вызывают изменений в их морфологии при длительном культивировании [16].

Таким образом, анализ литературных источников показал значительную изменчивость морфологических и культуральных признаков при культивировании грибов рода *Fusarium* sp. под влиянием состава питательных сред. В связи с этим подбор для фузариевых грибов-возбудителей гнили сердцевины плодов яблони оптимальных для культивирования питательных сред не только представляет большой интерес для исследования, но и является актуальным.

Цель исследования: изучить влияние различных питательных сред на рост и морфолого-культуральные признаки грибов *F. semitectum, F. sporotrichioides, F. solani,* возбудителей гнили сердцевины плодов яблони и выделить наиболее оптимальные для их культивирования среды.

Объекты и методы исследований. Исследования проведены в 2019-2020 гг. в лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов ФГБНУ СКФНЦСВВ. Работа выполнена по госзаданию № 0498-2019-0002.2 «Получить экспериментальные данные о видовой структуре комплексов микромицетов различных органов растений яблони, выявить экономически значимые виды микопатогенов, в том числе новые, охарактеризовать биотипы выделенных грибов».

Объектами исследований являлись чистые культуры грибов-возбудителей гнили сердцевины плодов *F. semitectum, F. sporotrichioides, F. solani,*

определение видового состава которых проводилось по морфологическим признакам с использованием отечественной и зарубежной определительной литературы [17-19]. Выделение микромицетов осуществлено в полевой сезон 2019 г. с использованием микробиологического метода [20-22]. Для идентификации возбудителей гнили сердцевины плодов из семенной камеры свежих плодов без предварительной поверхностной стерилизации брали части мицелия и наносили его уколом в чашку Петри на картофельно-глюкозный агар (КГА). Изоляты гриба в чистую культуру выделяли с колоний, полученных при инкубировании мицелия на картофельно-глюкозном агаре.

Для изучения влияния различных питательных сред на рост и морфолого-культуральные признаки фузариев производили посев культуры грибов в трехкратной повторности на десять питательных сред: Чапека, Ниренберга, Мурасиге и Скуга, овсяный агар (по Эмерсону), томатный агар, сусло-агар, морковный агар, картофельно-глюкозный агар (КГА), голодный (водный) и мальц-пептонный агары [21, 23-24].

Полученные посевы ставили в термостат и инкубировали при 25 ºС. Учет роста и развития колоний грибов проводился на 3-, 4-, 5- и 7-е сутки после посева, учет степени спороношения – на 5-, 7-, 10-, 14-е сутки. Оценивали следующие показатели: линейный рост колонии, радиальная скорость роста колонии, образование микро- и макроструктур. Культуральные признаки изолятов учитывали на 7-е сутки роста.

Для определения линейного роста измеряли радиус колонии в двух взаимно перпендикулярных направлениях (от места посева до конца зоны роста мицелия). Радиальную скорость роста колонии вычисляли по формуле [20]:

$$Kr = (r - r_0) / t,$$

где Kr – радиальная скорость роста колонии, мм/ч; r – радиус колонии в данный момент времени, мм; r_0 – радиус колонии в начальный момент времени, мм; t – время от момента посева до момента, когда радиус колонии достигнет r, час.

Обсуждение результатов. В ходе опыта в зависимости от питательной среды было отмечено варьирование роста колоний и культуральных признаков трех изученных патогенов. Первые признаки роста колоний грибов *in vitro* на разных питательных средах появились на 2-3-и сутки после посева. Патоген *F. semitectum* образовал воздушный мицелий на всех изученных питательных средах. На 7-е сутки роста максимальный диаметр колоний гриба был зафиксирован на морковном агаре, а минимальный – на КГА. Среди синтетических сред максимальный диаметр микромицет показал на среде Ниренберга (табл. 1). На средах Мурасиге и Скуга, Чапека, КГА, мальц-пептонном и голодном агарах рост колоний был в среднем умеренным на протяжении всего эксперимента.

Таблица 1 – Влияние питательных сред на микро- и макроструктуры *Fusarium semitectum*

Питательные среды	**Диаметр колоний (мм), дни от посева**				**Образование***	
	3	**4**	**5**	**7**	**макроконидии**	**микроконидии**
Картофельно-глюкозный агар	10,4±0,5	15,0±0,0	20,0±0,9	27,5±2,2	+	+
Среда Чапека	17,3±1,1	22,3±2,0	26,8±1,1	32,5±2,2	+	+
Мальц-пептонный агар	9,8±1,5	15,9±1,9	24,0±2,9	39,1±2,5	+	++
Голодный агар	22,5±1,1	24,3±1,9	28,6±8,1	41,1±9,0	-	-
Овасяный агар	17,0±0,8	20,4±2,1	24,7±3,3	42,2±1,0	+	++
Среда Мурасиге и Скуга	29,7±0,5	34,1±1,5	42,3±0,2	49,2±5,6	++	+++
Томатный агар	13,7±8,4	20,1±8,4	40,6±9,0	57,6±9,6	++	+++
Сусло-агар	22,7±0,8	31,8±2,0	40,8±1,1	60,0±2,2	++	+++
Среда Ниренберга	26,6±0,4	35,8±1,8	47,8±1,5	63,5±5,6	+	+
Морковный агар	27,5±3,5	39,3±2,9	51,0±2,7	71,6±5,6	+++	+
Условные обозначения: «-» – нет; «+» – единичные; «++» – мало; «+++» –много; «++++» – очень много; *7-е сутки						

Радиальная скорость роста мицелия *F. semitectum* на 4-е сутки составляла, в зависимости от питательной среды, от 0,04 мм/ч (КГА, голодный, овсяный агары и среда Мурасиге и Скуга) до 0,12 мм/ч (морковный агар). На 5-е сутки минимальная скорость роста была 0,06 мм/ч на среде Мурасиге и Скуга, максимальная – на томатном агаре 0,20 мм/ч; на этой же питательной среде, как и на морковном агаре, была отмечена максимальная радиальная скорость роста на 7-е сутки. Скорость роста патогена на 4-е, 5-е и 7-е стуки на томатном агаре составила 0,06 мм/ч, 0,17 мм/ч, 0,26 мм/ч и на морковном агаре – 0,12 мм/ч, 0,19 мм/ч и 0,26 мм/ч соответственно.

Максимальный рост на всех изученных средах наблюдался на 7-е сутки (рис. 1). В зависимости от питательной среды отмечалось различие в спороношении патогена. Конидиальное спороношение было отмечено на 7-е сутки на всех средах, кроме голодного агара, на котором спороношения не наблюдалось. Большее количество макроконидий было зафиксировано на морковном агаре, наибольшее– на среде Мурасиге и Скуга, сусло – и томатном агарах (см. табл. 1). Хламидоспор гриб не формировал.

Рис. 1. Радиальная скорость роста (Kr) *Fusarium semitectum* на различных питательных средах *in vitro (*7-е сутки)

Состав питательных сред также оказал влияние на культуральное разнообразие *F. semitectum* (рис. 2). Изоляты гриба на различных средах отличались формой, структурой и цветом колоний. На КГА гриб имел винно-розовый мицелий, на сусло-агаре – розово-фиолетовый. На мальц-пептонном агаре и среде Чапека цвет культуры был нежно-розового оттенка, отличался более высоким и пушистым мицелием.

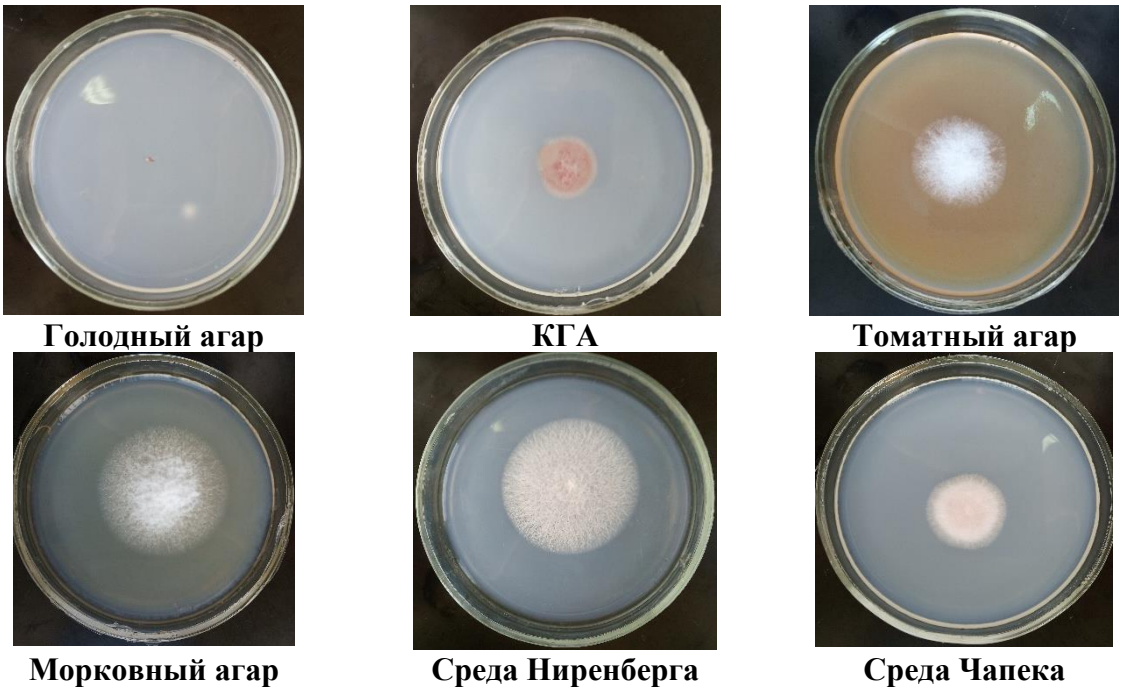

Рис. 2. Влияние различных питательных сред на культуральные признаки *Fusarium semitectum* (5-е сутки)

На томатном агаре и среде Мурасиге и Скуга мицелий имел белоснежный цвет, причем на последней среде гриб имел самый высокий мицелий и был неправильной формы. На морковном агаре и среде Ниренберга мицелий гриба был бело-серого цвета. На голодном агаре сформировались едва различимые тонкие полупрозрачные гифы гриба, которые можно увидеть только с подсветкой.

Таким образом, результаты исследования показали большое разнообразие морфолого-культуральных свойств вида *F. semitectum* на различных

питательных средах. Как оптимальные для культивирования вида выделены среды: морковный и томатный агары, среда Мурасиге и Скуга и сусло-агар.

Патоген *F. sporotrichioides* образовал колонии на всех изученных средах. Наибольший рост мицелия отмечен на естественных питательных средах: на морковном и томатном агарах (табл. 2). Среди синтетических питательных сред максимальный рост патоген показал на средах Ниренберга и Мурасиге и Скуга. На овсяном и сусло-агарах микромицет имел средний рост колоний по сравнению с другими средами. Наименьший диаметр мицелия был на картофельно-глюкозном агаре, среде Чапека и на мальц-пептонном агаре.

Таблица 2 – Влияние питательных сред на микро- и макроструктуры *Fusarium sporotrichioides*

Питательные среды	**Диаметр колоний (мм), дни от посева**				**Образование***	
	3	**4**	**5**	**7**	**макроконидии**	**микроконидии**
Картофельно-глюкозный агар	17,4±3,5	20,0±5,9	25,6±8,7	26,3±5,0	+++	++++
Среда Чапека	19,0±2,5	25,8±3,8	30,3±0,4	36,2±5,6	+	+
Мальц-пептонный агар	14,1±0,5	19,3±0,6	26,3±1,5	38,3±3,4	+	+++
Овасяный агар	19,0±0,3	22,5±0,3	33,0±1,8	49,3±2,2	+	+++
Сусло-агар	18,3±3,1	28,1±4,5	37,1±6,3	51,8±9,7	+	++++
Среда Мурасиге и Скуга	25,2±1,0	30,5±0,6	41,2±0,9	54,2±3,4	++	+
Голодный агар	22,8±2,5	41,1±2,5	41,7±2,1	57,5±3,4	-	-
Среда Ниренберга	26,8±0,7	36,3±3,8	47,3±1,3	63,2±2,0	++++	+
Томатный агар	25,1±1,3	36,3±1,1	49,2±1,1	71,9±1,1	+	++++
Морковный агар	26,5±2,5	35,8±3,8	51,5±4,3	76,6±4,5	+	++++

Условные обозначения: «-» – нет; «+» – единичные; «++» – мало; «+++» – много; «++++» – очень много;
*7-е сутки

Радиальная скорость роста мицелия *F. sporotrichioides* на 4-е сутки составляла в зависимости от питательной среды от 0,03 мм/ч (КГА) до 0,19 мм/ч (голодный агар). На 5-е сутки минимальная скорость роста была 0,07 мм/ч на среде КГА, максимальная – на морковном агаре 0,21 мм/ч, на этой же питательной среде была отмечена максимальная радиальная скорость роста (7-е сутки) (рис. 3). Максимальный рост на всех изученных средах наблюдался на 7-е сутки.

Рис. 3. Радиальная скорость роста (Kr) *Fusarium sporotrichioides* на различных питательных средах *in vitro (*7-е сутки)

На среде Ниренберга, голодном, сусло- и морковном агарах на 7 сутки роста наблюдалось увеличение диаметра культуры в 1,5 раза (рис. 4).

Конидиальное спороношение было отмечено на 7-е сутки на всех средах, кроме голодного агара, на котором кроме мицелия ничего не наблюдалось. Большее количество макроконидий было зафиксировано на КГА и среде Ниренберга, наибольшее их количество – на КГА, сусло-, морковном и томатном агарах (см. табл. 2). Хламидоспоры не образовывались.

На питательных средах, за исключением голодного агара, *F. sporotrichioides* формировал пышный плотный или рыхлый, поднимаю-

щийся над субстратом воздушный мицелий. На голодном агаре сформировались едва различимые тонкие полупрозрачные гифы гриба (рис. 5).

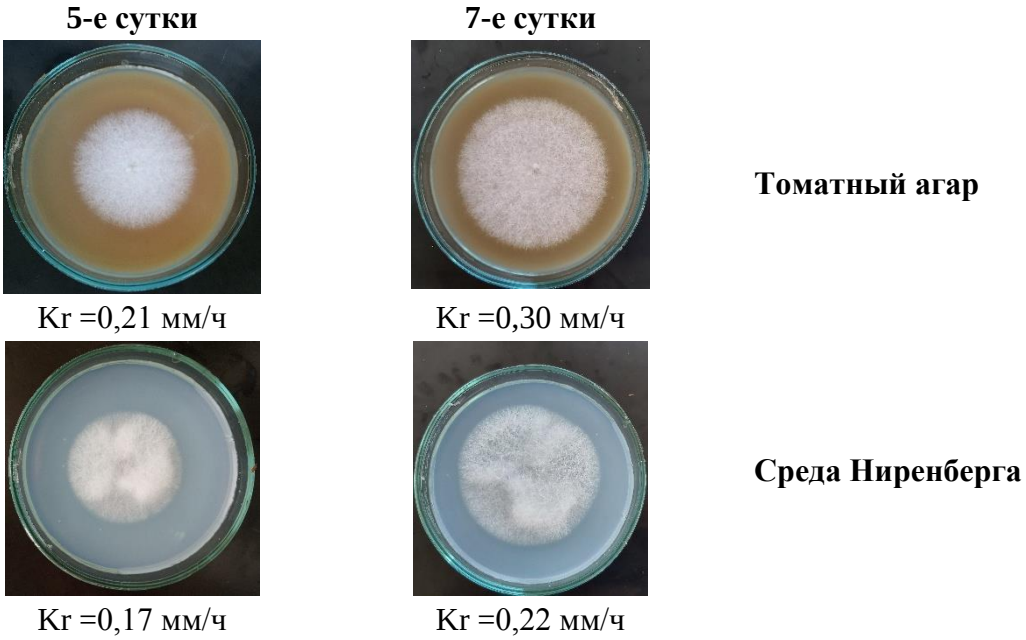

Рис. 4. Изменение радиальной скорости роста (Kr) *Fusarium sporotrichioides* на различных питательных средах, (5-е и 7-е сутки)

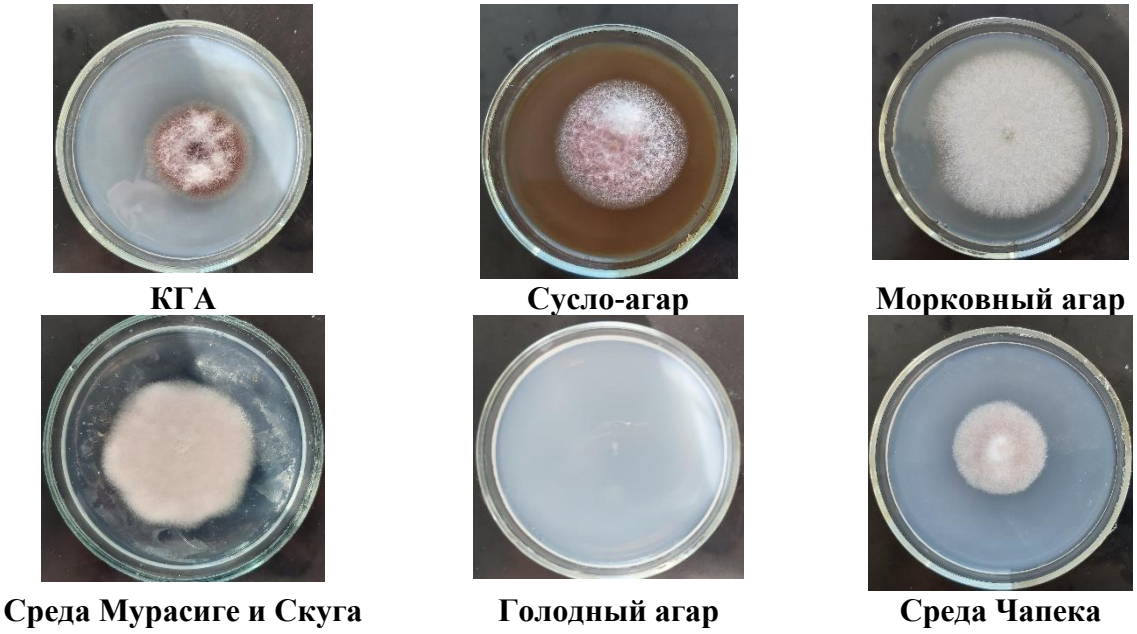

Рис. 5. Влияние различных питательных сред на культуральные признаки *Fusarium sporotrichioides* (7-е сутки)

Существенные отличия имелись и в окраске мицелия, например, на двух средах – овсяном агаре и среде Ниренберга – патоген имел мицелий белого цвета, на морковном – серого, на всех остальных – разные оттенки розового с белыми вкраплениями. Изоляты патогена также имели отличия по структуре мицелия. Форма мицелия на изученных средах была правильной, кроме среды Мурасиге и Скуга и овсяного агара. Таким образом, наиболее оптимальными средами для культивирования вида *F. sporotrichioides,* выделенного из семенной камеры плодов яблони, явились морковный и томатный агары, среда Ниренберга, КГА и сусло-агар.

Патоген *F. solani* образовал воздушный мицелий на всех изученных питательных средах. На 7-е сутки роста максимальный диаметр колоний гриба был зафиксирован на морковном агаре, среди синтетических сред – на среде Мурасиге и Скуга, минимальный – на среде Чапека (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние питательных сред на микро- и макроструктуры *Fusarium solani*

Питательные среды	**Диаметр колоний (мм), дни от посева**				**Образование***	
	3	**4**	**5**	**7**	**макроконидии**	**микроконидии**
Среда Чапека	16,1±0,9	23,6±4,5	24,6±0,9	32,1±2,2	+	+
Мальц-пептонный агар	9,3±1,3	12,1±2,0	18,5±2,5	34,0±3,1	+	+
Картофельно-глюкозный агар	14,6±4,3	18,1±7,2	20,8±1,1	47,1±19,7	+	++
Овасяный агар	17,7±0,5	26,1±1,8	35,0±2,2	50,0±3,5	+	+
Голодный агар	26,6±1,3	40,0±2,9	44,9±6,3	51,6±9,0	-	-
Сусло-агар	18,0±3,8	27,6±2,7	37,5±2,2	55,8±4,5	+	+
Среда Ниренберга	25,3±2,7	34,1±34,1	43,1±3,8	59,5±2,5	++	+
Среда Мурасиге и Скуга	33,5±0,4	42,1±2,7	45,8±10,2	64,1±2,2	+	+++
Томатный агар	23,2±3,1	33,5±4,0	47,5±3,4	65,0±2,2	++	+
Морковный агар	29,8±0,6	43,1±5,2	50±4,5	71,3±2,7	++	+++

Условные обозначения: «-» – нет; «+» – единичные; «++» – мало; «+++» – много; «++++» – очень много;
*7-е сутки

Радиальная скорость роста мицелия *F. solani* на 4-е сутки составляла от 0,03 мм/ч (мальц-пептонный агар) до 0,13 мм/ч (морковный агар). На 5-е сутки минимальная скорость роста была 0,05 мм/ч на среде КГА, максимальная на морковном агаре – 0,16 мм/ч, на этой же питательной среде отмечена максимальная радиальная скорость роста к концу опыта (рис. 6). Максимальный рост на всех изученных средах наблюдался на 7-е сутки. Скорость роста патогена на 4-е, 5-е и 7-е стуки на морковном агаре составила 0,13 мм/ч, 0,16 мм/ч, 0,24 мм/ч и на сусло– агаре – 0,10 мм/ч, 0,16 мм/ч и 0,22 мм/ч.

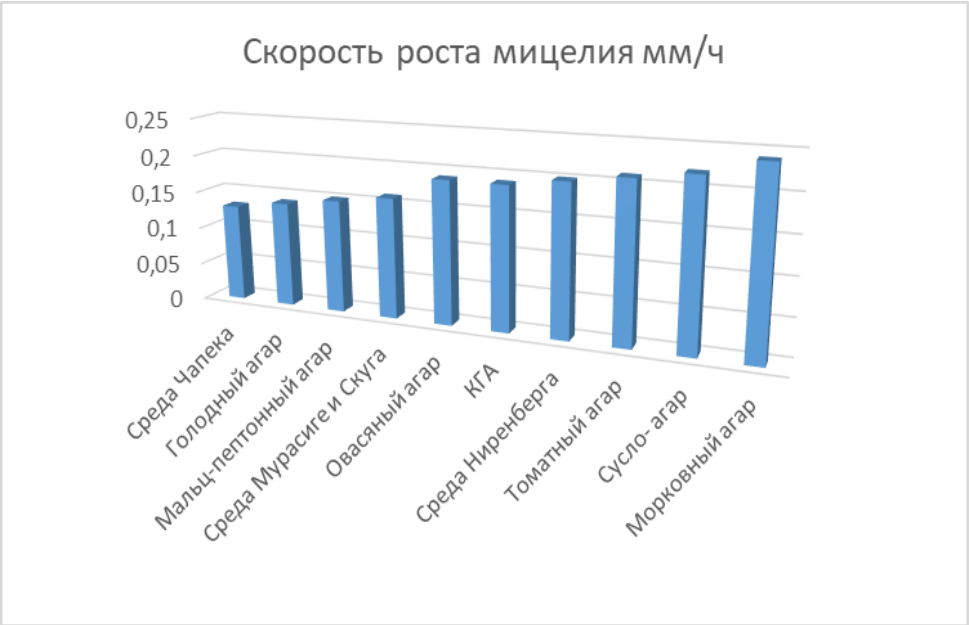

Рис. 6. Радиальная скорость роста (Kr) *Fusarium solani* на различных питательных средах *in vitro* (7-е сутки)

Конидиальное спороношение на средах было отмечено также на 7-е сутки, на голодном агаре кроме мицелия ничего не образовалось, даже после 14-го дня учета. Большее количество макроконидий было зафиксировано на среде Ниренберга, томатном и морковных агарах; больше всего микроконидий – на среде Мурасиге и Скуга и морковном агаре (табл. 3).

Среди проанализированных культуральных признаков у микромицета *F. solani* на разных питательных средах были отмечены различия в высоте, структуре и цвете воздушного мицелия (рис. 7).

Большинство изученных изолятов имели приподнятый профиль с высотой воздушного мицелия более 1 см. Исключение составили изоляты на КГА, где высота колоний не превышала 0,5 см. Следует отметить, что на голодном агаре гифы были прозрачными, тонкими и еле различимыми. Воздушный мицелий патогена на остальных средах был плотный, встречались изоляты с войлочным, паутинистым и ватообразным мицелием. Цвет воздушного мицелия в большинстве случаев являлся гомогенным, однако наблюдались цветовые переходы от бело-розового до темно-винного и серого. Таким образом, гриб *F. solani* также имел широкий диапазон морфолого-культуральных признаков на разных питательных средах.

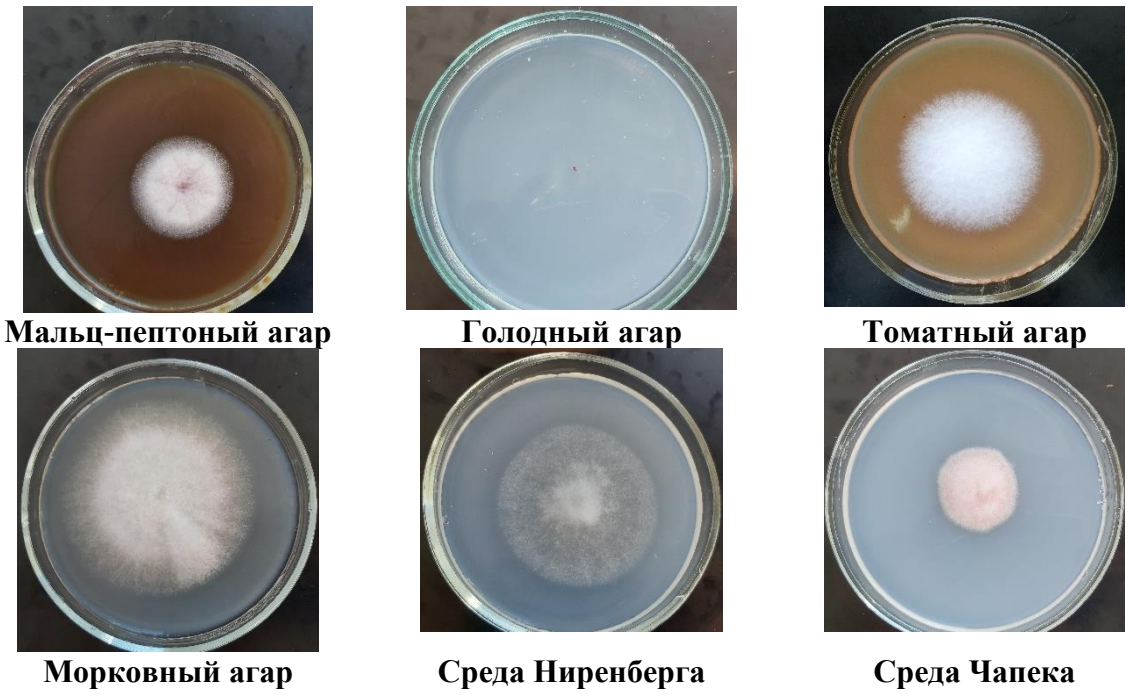

Рис.7. Влияние различных питательных сред на культуральные признаки *Fusarium solani* (7-е сутки)

Исследования показали, что наиболее оптимальными средами для культивирования возбудителя гнили сердцевины плодов яблони гриба *F. solani* были морковный и томатный агары, а также среда Мурасиге и Скуга. В целом, полученные на всех изученных средах морфолого-культуральные

признаки изолятов видов рода *Fusarium* соответствуют описанным в литературе характеристикам для этих таксономических единиц [18-19, 25-27].

Выводы. В результате исследований у возбудителей гнили сердцевины плодов яблони *F. semitectum*, *F. sporotrichioides* и *F. solani* отмечено варьирование не только скорости роста колоний, но и их культуральных признаков в зависимости от питательной среды.

Исследования показали, что для изучения вариативности культуральных признаков *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *F. solani* необходимо использовать среды различного состава.

Сравнительное изучение на десяти питательных средах морфолого-культуральных признаков этих видов позволило выделить наиболее пригодные для их культивирования и идентификации две универсальные среды, а именно, морковный и томатный агары, по следующим критериям: обеспечение максимальной степени спороношения, быстрый рост и развитие мицелия гриба, легкость в приготовлении.

Кроме того, для культивирования каждого из патогенов дополнительно можно рекомендовать следующие питательные среды: для *F. solani* – среда Мурасиге и Скуга, для *F. semitectum* – среда Мурасиге и Скуга и сусло-агар, для *F. sporotrichioides* – среда Ниренберга, КГА и сусло-агар. Рекомендованные синтетические среды могут использоваться для получения большого количества конидий грибов.

Литература

1. Голиков Н.Н. Клещевина, устойчивая к фузариозу // Защита и карантин растений. 2003. № 3. С. 44.
2. Shyder, W.C. Current Status of Taxonomy in Fusarium species and their Perfect stages / Shyder W.C., Toussoun T.A. // Phytopathology, 55, 8. 1965. – p. 883-837.
3. Якуба Г.В., Астапчук И.Л., Насонов А.И. Видовая структура комплекса микромицетов, возбудителей гнили сердцевины плодов яблони Краснодарского края [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2019. № 60(6). С. 148-162. URL: http://journalkubansad.ru/pdf/19/06/15.pdf. DOI: 10.30679/2219-5335-2019-6-60-148-162 (дата обращения: 10.08.2020).

4. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов; под ред. М.К. Хохрякова. Ленинград: ВИЗР, 1974. 69 с.

5. Морфолого-культуральные особенности роста гриба *Pyricularia oryzae* на агаризованных питательных средах / А.С. Рсалиеви [и др.] // Новости науки Казахстана. 2015. № 3 (125). С. 97-110.

6. Бондарцев А.С. Шкала цветов // Пособие для биологов при научных и научно-прикладных исследованиях. М.-Л., 1954. 27 с.

7. Билай В.И., Элланская И.А. Метод микрокультуры для получения типичного конидиеобразования у фузариев // Микология и фитопатология, Том 9, вып. 1, 1975. С. 74-76.

8. Райлло А.И. Грибы рода Фузариум. М.: ГИСХЛ, 1950. 415 с.

9. Gerlach, W. The genus *Fusarium* / W. Gerlach, H. Nirenberg // A pictorial Atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirsch. Berlin-Dachlem, 1982. – 406 p.

10. Гагкаева Т.Ю., Левитин М.М. Современное состояние таксономии грибов комплекса *Gibberella fujikuroi* // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. № 6. С. 3-14.

11. Савчук Н.В., Юрченко Е.Г. Изучение культуральных свойств штаммов гриба рода Fusarium, встречающегося на генеративных органах винограда // Сборник материалов VII-й Международной дистанционной научно-практической конференции молодых ученых. 2017. С. 6-11.

12. Султанова, М.Х. Влияние источников питания на рост, развитие и патогенность гриба *Fusarium oxysporum f. vasinfectum* // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. 2011. Т. 54. № 10. С. 851-855.

13. Особенности роста фитопатогенных грибов земляники садовой на различных питательных средах / Р.М. Пугачев [и др.] // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. № 4. С. 84-90.

14. Young, H.C. Growth of Some Parasitic Fungi in Synthetic Culture Media / H.C. Young, C.W. Bennett // American Journal of Botany, Vol. 9, No. 8. 1922. – pp. 459-469

15. Karnataka, J. Effect of Media on the Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gerberae* and *Fusarium oxysporum* f. sp dianthi Agric. Sci., 21 (2), (303-304). – 2008.

16. Toussoun, T. A. Fusarium: A pictorial guide to the identification of Fusarium species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen (2nd ed.). / T.A. Toussoun, Paul E. Nelson // University Park: Pennsylvania State University Press. 1976.

17. Пидопличко Н.М. Грибы – паразиты культурных растений. Определитель в 3 томах. Киев: Наукова Думка, 1977.

18. Саттон, Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: Пер. с англ. М.: Мир, 2001. 486 с.

19. Шипилова Н.П., Иващенко В.Г. Систематика и диагностика грибов рода *Fusarium* на зерновых культурах. СПб., 2008. 84 с.

20. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г. 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». Минск: БГУ, 2004. 36 с.

21. Практикум по микробиологии: учебное пособие для вузов / Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. [и др.] / Под. ред. А.И. Нетрусова. М.: Academia, 2005. 608 с.

22. Особенности роста мицелия грибов рода Fusarium в условиях *in vitro* / Н.В. Осокина [и др.] // Известия ТСХА. 2015. № 4. С. 26-35.

23. Murashige, T A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T Murashige, F Skoog // Physiol Plant 15(3). 1962. – P. 473-497.

24. Nelson, P.E. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification / P.E. Nelson, T.A. Toussoun, W.F.O. Marasas. – Pennsylvania State University Press, University Park and London, 1983. – 193 p.

25. Nicholson, P. Molecular tools to study epidemiology and toxicology of *Fusarium* head blight of cereals / P. Nicholson, E. Chandler, R.C. Draeger et al. // Eur. J. Plant Pathol. – 2003. – Vol. 109. – P. 691–703. DOI: 10.1023/A:1026026307430

26. Yli-Mattila, T. Molecular and morphological diversity of *Fusarium* species in Finland and northwestern Russia / T. Yli-Mattila, S. Paavanen-Huhtala, P. Parikka et al. // Eur. J. Plant Pathol. – 2004. – Vol. 110. – P. 573–585. DOI: 10.1023/B:EJPP.0000032397.65710.69

27. Поиск антагонистов микромицета *Fusarium sporotrichioides* / И.И. Идилятов [и др.] // Агарное образование и наука // 2017. № 4. С. 11.

References

1. Golikov N.N. Kleshchevina, ustojchivaya k fuzariozu // Zashchita i karantin rastenij. 2003. № 3. S. 44.

2. Shyder, W.C. Current Status of Taxonomy in Fusarium species and their Perfect stages / Shyder W.C., Toussoun T.A. // Phytopathology, 55, 8. 1965. – p. 883-837.

3. YAkuba G.V., Astapchuk I.L., Nasonov A.I. Vidovaya struktura kompleksa mikromicetov, vozbuditelej gnili serdceviny plodov yabloni Krasnodarskogo kraya [Elektronnyj resurs] // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii. 2019. № 60(6). S. 148-162. URL: http://journalkubansad.ru/pdf/19/06/15.pdf. DOI: 10.30679/2219-5335-2019-6-60-148-162 (data obrashcheniya: 10.08.2020).

4. Metodicheskie ukazaniya po eksperimental'nomu izucheniyu fitopatogennyh gribov; pod red. M.K. Hohryakova. Leningrad: VIZR, 1974. 69 s.

5. Morfologo-kul'tural'nye osobennosti rosta griba Pyricularia oryzae na agarizovannyh pitatel'nyh sredah / A.S. Rsalievi [i dr.] // Novosti nauki Kazahstana. 2015. № 3 (125). S. 97-110.

6. Bondarcev A.S. SHkala cvetov // Posobie dlya biologov pri nauchnyh i nauchno-prikladnyh issledovaniyah. M.-L., 1954. 27 s.

7. Bilaj V.I., Ellanskaya I.A. Metod mikrokul'tury dlya polucheniya tipichnogo konidieobrazovaniya u fuzariev // Mikologiya i fitopatologiya, Tom 9, vyp. 1, 1975. S. 74-76.

8. Rajllo A.I. Griby roda Fuzarium. M.: GISKHL, 1950. 415 s.

9. Gerlach, W. The genus Fusarium / W. Gerlach, H. Nirenberg // A pictorial Atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirsch. Berlin-Dachlem, 1982. – 406 p.

10. Gagkaeva T.YU., Levitin M.M. Covremennoe sostoyanie taksonomii gribov kompleksa Gibberella fujikuroi // Mikologiya i fitopatologiya. 2005. T. 39. № 6. S. 3-14.

11. Savchuk N.V., Yurchenko E.G. Izuchenie kul'tural'nyh svojstv shtammov griba roda Fusarium, vstrechayushchegosya na generativnyh organah vinograda // Sbornik materialov VII-j Mezhdunarodnoj distancionnoj nauchno-prakticheskoj konferencii molodyh uchenyh. 2017. S. 6-11.

12. Sultanova, M.H. Vliyanie istochnikov pitaniya na rost, razvitie i patogennost' griba *Fusarium oxysporum f. vasinfectum* // Doklady Akademii nauk Respubliki Tadzhikistan. 2011. T. 54. № 10. S. 851-855.

13. Osobennosti rosta fitopatogennyh gribov zemlyaniki sadovoj na razlichnyh pitatel'nyh sredah / R.M. Pugachev [i dr.] // Vestnik Belorusskoj gosudarstvennoj sel'skohozyajstvennoj akademii. 2015. № 4. S. 84-90.

14. Young, H.C. Growth of Some Parasitic Fungi in Synthetic Culture Media / H. C. Young, C. W. Bennett // American Journal of Botany, Vol. 9, No. 8. 1922. – pp. 459-469

15. Karnataka, J. Effect of Media on the Growth of Fusarium oxysporum f. sp. gerberae and Fusarium oxysporum f. sp dianthi Agric. Sci., 21 (2), (303-304). – 2008.

16. Toussoun, T. A. Fusarium: A pictorial guide to the identification of Fusarium species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen (2nd ed.). / T. A. Toussoun, Paul E. Nelson // University Park: Pennsylvania State University Press. 1976.

17. Pidoplichko N.M. Griby – parazity kul'turnyh rastenij. Opredelitel' v 3 tomah. Kiev: Naukova Dumka, 1977.

18. Satton, D., Fotergill A., Rinal'di M. Opredelitel' patogennyh i uslovno patogennyh gribov: Per. s angl. M.: Mir, 2001. 486 s.

19. Shipilova N.P., Ivashchenko V.G. Sistematika i diagnostika gribov roda *Fusarium* na zernovyh kul'turah. SPb., 2008. 84 s.

20. Poliksenova V.D., Hramcov A.K., Piskun S.G. Metodicheskie ukazaniya k zanyatiyam specpraktikuma po razdelu «Mikologiya. Metody eksperimental'nogo izucheniya mikroskopicheskih gribov» dlya studentov 4 kursa dnevnogo otdeleniya special'nosti «G 31 01 01 – Biologiya». Minsk: BGU, 2004. 36 s.

21. Praktikum po mikrobiologii: uchebnoe posobie dlya vuzov / Netrusov A.I., Egorova M.A., Zaharchuk L.M. [i dr.] / Pod. red. A.I. Netrusova. M.: Academia, 2005.608 s.

22. Osobennosti rosta miceliya gribov roda Fusarium v usloviyah *in vitro* / N.V. Osokina [i dr.] // Izvestiya TSKHA. 2015. № 4. S. 26-35.

23. Murashige, T A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T Murashige, F Skoog // Physiol Plant 15(3). 1962. – P. 473-497.

24. Nelson, P.E. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification / P.E. Nelson, T.A. Toussoun, W.F.O. Marasas. – Pennsylvania State University Press, University Park and London, 1983. – 193 p.

25. Nicholson, P. Molecular tools to study epidemiology and toxicology of Fusarium head blight of cereals / R. Nicholson, E. Chandler, R.C. Draeger et al. // Eur. J. Plant Pathol. – 2003. – Vol. 109. – P. 691–703. DOI: 10.1023/A:1026026307430

26. Yli-Mattila, T. Molecular and morphological diversity of Fusarium species in Finland and northwestern Russia / T. Yli-Mattila, S. Paavanen-Huhtala, R. Parikka et al. // Eur. J. Plant Pathol. – 2004. – Vol. 110. – P. 573–585. DOI: 10.1023/B:EJPP.0000032397.65710.69

27. Poisk antagonistov mikromiceta Fusarium sporotrichioides / I.I. Idilyatov [i dr.] // Agarnoe obrazovanie i nauka // 2017. № 4. S. 11.