

ХВОРОБИ НАСІННЯ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР ТА ГРИБ *GONATOBOTRYS* ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ АГЕНТ БІОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ

Бовсуновська А.М.

Національний університет біоресурсів і природокористування України
(Київ)

Науковий керівник – Крючкова Л.О., доктор біологічних наук,
професор кафедри фітопатології імені академіка В. Ф. Пересипкіна
Національного університету біоресурсів і природокористування України

В період вегетації рослини зернових культур схильні до заселення мікроскопічними грибами, як патогенними, так і асоціативними, які прямо чи опосередковано впливають на урожай зерна та його якість. Багато мікроміцетів, які заселяють зерно, не лише не проявляють згубного впливу на врожай, а тим чи іншим чином забезпечують його захист від ураження фітопатогенами. Серед таких грибів особливої уваги заслуговують види роду *Gonatobotrys*, представник яких, вид *G. simplex*, за даними ряду дослідників, паразитує на фітопатогенних грибах роду *Alternaria*, отримуючи від них поживні речовини для підтримки своєї життєдіяльності (Warley&Barnet, 1963, Hoch, 1977). За даними (Coh&Vujanovich, 2010, Harveson&Kimbrough, 2002), спектр антипатогенної активності грибів роду *Gonatobotrys* може бути ширший, що особливо важливо для видів *Fusarium*, які при ураженні зерна не лише знижують його якість, але і забруднюють його мікотоксинами, роблячи непридатним для харчових та кормових цілей. Тому існує необхідність у комплексності досліджень як фітопатогенів зерна, так і їх потенційних агентів біоконтролю, розробці методів їх ізоляції та культивування, вивченні їх взаємовідношень в умовах *in vitro* та *in vivo*, що може стати основою для розробки технологій отримання та використання біологічних фунгіцидів на основі гриба *Gonatobotrys*.

Метою даної роботи було дослідження насіння зернових культур на ураженість фітопатогенною мікобіотою, виявлення серед супутньої мікобіоти грибів – потенційних агентів біологічного захисту зернових культур від хвороб, та розробка методів їх культивування в умовах *in vitro*.

Дослідження проводилися шляхом постановки польових та лабораторних дослідів. Зразки зерна різних культур: пшениці, ячменю, вівса та кукурудзи, відбиралися в полі у фазі повної стиглості перед збиранням врожаю.

Мікологічний аналіз зерна проводили за загальноприйнятими методиками [1]. Зокрема, методом «вологої камери» визначали ураженість зерна патогенними грибами. Родову і видову належність встановлювали за результатами мікроскопічного аналізу спороношення грибів.

Із насіння ізолювати *Fusarium* spp. пересівали в пробірки на картопляно-глюкозний агар (КГА), де їх і зберігали. Для визначення видової належності кожен ізолят висівали у чашки Петрі на поживні середовища – КГА та SNA

(селективне середовище Ніренберг [6]). На КГА визначали культуральні характеристики ізоляту – структуру, колір та швидкість росту колоній. На середовищі SNA спостерігали за спороношенням ізолятів і саме за морфологією мікро- і макроконідій, фіалід, за утворенням (чи відсутністю) хламідоспор і визначали вид за описами, представленими в роботах Kwasna et al. [4], Nelson et al. [5], Gerlach&Nirenberg [6] and Windels [9].

Всі виділені нами ізоляти *Fusarium* spp. належали до 6 видів: *F. graminearum*, *F. poae*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. avenaceum*, *F. chlamydosporum* (рис. 1). Найбільш поширеним був вид *F. graminearum*. Всього його кількість в порівнянні з іншими видами становила 45%, при цьому найбільше поширення виявлено на пшениці.

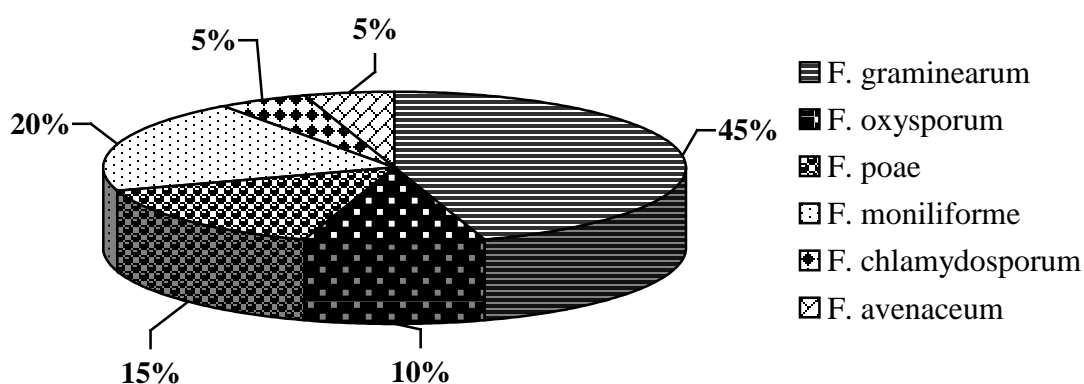


Рис. 1. Співвідношення видів *Fusarium* на насінні зернових культур, %

Серед інших фітопатогенних грибів найчастіше виділявся збудник «чорного зародку» насіння зернових культур – гриб *Alternaria* sp. (табл. 1).

Таблиця 1 – Ураження насіння зернових культур фітопатогенними грибами, %

Гриб	Культура			
	Пшениця	Ячмінь	Овес	Кукурудза
<i>Alternaria</i> sp.	68,0	99,0	99,0	0
<i>Penicillium</i> sp.	14,0	36,0	43,0	100,0
<i>Fusarium</i> sp.	8,0	53,0	19,0	99,0
<i>Periconia</i> sp.	49,0	2,0	0	0
<i>Bipolaris</i> sp.	1,0	0	2,0	0

На насінні зернових культур, уражених грибом *Alternaria* sp., виявлено гриб-гіперпаразит *Gonatobotrys* spp. Ідентифікацію гриба *Gonatobotrys* проводили за описами, представленими в роботах Whaley&Barnett [8], Vakili [7], Рудакова [2]. Гриб має прямі септовані гіфи, на цих гіфах є так звані набряки, які розміщені по всій довжині гіфи. Безбарвні одноклітинні спори

(конідії) несуться в округлих гронах навколо кожного набряку. Конідії даного гриба яйцеподібної форми. Паразитує на інших грибах за допомогою невеликих присоскоподібних структур, так званих контактних клітин. Поширений на мертвих або відмираючих частинах рослин, особливо тих, що ще не впали на землю [2].

Такі біотрофні контактні аскоміцети, як *Gonatobotrys* spp., не здатні рости на звичайних поживних середовищах, а лише у присутності хазяїна, як у природних умовах, так і в лабораторних. Для їх розвитку необхідні вітаміни і ростовий фактор мікотрофеїн, що міститься в міцелії багатьох грибів. В лабораторних умовах нам вдалося успішно вирощувати даний грибок на колоніях *Alternaria* sp.

Дослідження впливу гриба *Gonatobotrys* sp. на ріст гриба-хазяїна *Alternaria* sp. проводили наступним чином. Частинки міцелію гриба *Alternaria* sp., уражені *Gonatobotrys* sp. на поверхні насінини, пересівали на КГА в чашки Петрі і вирощували протягом певного часу. Як контроль нами використовувалися пересаджені з насіння ячменю частинки міцелію *Alternaria* sp., неуряжені паразитом. Ці частинки переносились в інші чашки Петрі, на попередньо розлите поживне середовище (КГА). Чашки підписували, вказуючи, де знаходиться чиста культура, а де заражена грибом, обгортали спеціальною плівкою (Parafilm) для запобігання втрати вологи та контамінації культури. Чашки поміщали в термостат і в подальшому вели спостереження за ростом колоній грибів. Постійна температура, яка підтримувалася в термостаті, становила +23⁰С. Через декілька днів візуально оглядали утворені колонії та визначали їх стан, а також вели спостереження під мікроскопом (при збільшенні в 40 і 300 разів) за взаємовідношенням між грибами.

При огляді колоній *Alternaria* sp. було одразу помітно, що вони досить пригнічені, повільніше ростуть при ураженні *Gonatobotrys* sp., та утворюють набагато менше міцелію. При огляді під мікроскопом спостерігали масове спороношення гіперпаразита, при цьому сам грибок *Alternaria* sp. майже взагалі не спороносив. При великому збільшенні мікроскопу (x300) також спостерігали негативну дію паразита на гриба-хазяїна. Ланцюжки конідій *Alternaria* sp. були значно коротшими від тих, що утворювалися без присутності *Gonatobotrys* sp. Самі конідії розвивалися та дозрівали значно довше.

На основі отриманих результатів досліджень встановлено, що даний грибок може розглядатися як потенційний агент біологічного захисту зернових культур від хвороб насіння. Його перевагами є високі антагоністичні властивості щодо гриба *Alternaria* sp. – збудника «чорного зародка» насіння, технологічність, що доведено нами при культивуванні його на поживному середовищі спільно з грибом-хазяїном. Крім того, даний грибок є автохтонним організмом, що сприятиме його швидкій адаптації при застосуванні в польових умовах.

Список використаних джерел:

1. Наумова Н. А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию: Москва: Сельхозгиз, 1951. 139 с.
2. Рудаков О. Л. Микофильные грибы, их биология и практическое значение: Москва: Наука, 1981. 160 с.
3. *Fusarium* species in wheat grains in the Ukraine / Kryuchkova L., and others. Genet, 2002. P.177–184.
4. Mycota. Tom XXII / Kwaśna H., Chelkovski J., Zajkowski P. Grzyby. 1991. 138 p.
5. Nelson P. E., Toussoun T. A., Marasas W.F.O. *Fusarium* species. Pennsylvania: University Park, 1983. P.5–18.
6. Nirenberg H., Wolfgang G. The Genus *Fusarium* – a Pictorial Atlas: Berlin, 1982. 406 p.
7. Vakili N. G. *Gonatobotrys simplex* and its teleomorph, *Melanospora damnosa*. Mycological Research, 1989. P.67–74
8. Whaley J. W., Barnett H. I. Parasitism and nutrition of *Gonatobotrys simplex*, Mycology, 1963. P.199–210.
9. Windels C. E. *Fusarium*. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi: USA, APS Press, 1994. P.115–128.