

Научная статья

УДК 633.854.78:632.937

DOI: 10.25230/2412-608X-2024-1-197-108-112

Культуральные признаки и рост на сложных жидких питательных средах перспективного грибного штамма антагониста М-24 *Penicillium* sp. возбудителя фомоза подсолнечника

Евгения Алексеевна Ефимцева
Любовь Васильевна Маслиенко
Любовь Анатольевна Дейнега

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17
biometod@vniimk.ru

Аннотация. В лаборатории биометода агро-технологического отдела ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК разрабатывается микробиологический метод снижения вредоносности фомоза подсолнечника – одной из распространенных болезней во всех регионах возделывания культуры. Для разработки элементов технологического регламента производства микробиопрепарата в препаративной форме смачивающийся порошок при поверхностном культивировании штамма-продуцента изучены культуральные признаки гриба-антагониста возбудителя фомоза подсолнечника М-24 *Penicillium* sp. на трех агаризованных средах и рост штамма на четырех сложных жидких питательных средах. На десятые сутки культивирования при температуре +25 °С сильный рост гриба с обильным конидиальным спороношением и максимальным диаметром колонии отмечен на агаризованной среде Рудакова. Из сложных жидких питательных сред оптимальной установлена также среда Рудакова. Через 10 суток поверхностного культивирования на этой среде сформировалась толстая складчатая мицелиальная пленка с обильным спороношением и максимальной массой сухого мицелия – 1,44 г на 100 мл питательной среды против 0,20–1,39 г на других средах.

Ключевые слова: фомоз подсолнечника, штамм антагонист М-24 *Penicillium* sp., культуральные свойства, жидкие питательные среды,

поверхностное культивирование, смачивающийся порошок

Для цитирования: Ефимцева Е.А., Маслиенко Л.В., Дейнега Л.А. Культуральные признаки и рост на сложных жидких питательных средах перспективного грибного штамма антагониста М-24 *Penicillium* sp. возбудителя фомоза подсолнечника // Масличные культуры. – 2024. – Вып. 1 (197). С. 108–112.

Исследование проведено в рамках гранта РФФИ и администрации Краснодарского края р_Наставник №19-416-235003.

UDC 633.854.78:632.937

Cultural traits and growth of a promising fungal strain M-24 *Penicillium* sp. – an antagonist of phoma pathogen on sunflower on liquid nutrient media

Ефимцева Е.А., junior researcher, post-graduate student
Maslienko L.V., head of the lab., chief researcher, doctor of biology
Deynega L.A., junior researcher, post-graduate student

V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops

17 Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia
biometod@vniimk.ru

Abstract. A microbiological method decreasing harmfulness of Phoma rot on sunflower, which is one of the prevailing disease in all regions of crop cultivation, is developed at the V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops. The cultural traits of antagonist fungus of phoma pathogen on sunflower M-24 *Penicillium* sp. on three agar media and strain growth on four complicated liquid nutrient media were studied at surface cultivation of a strain-producer to develop elements of technological regimen for production of microbiopreparations in a preparative form wettable powder. On the tenth days of cultivation at +25 °С temperature, strong growth of the fungus with abundant conidial sporulation and maximal diameter of a colony was noted on the agar medium by Rudakov. The medium by Rudakov is stated as optimal among complicated liquid nutrient media. In ten days of the surface cultivation, a thick folded mycelial film with an abundant sporulation was formed on this medium as well as maximal weight of a dry mycelium – 1.44 g per 100 ml of nutrient medium vs. 0.20–1.39 g on the other media.

Key words: phoma on sunflower, antagonist strain M-24 *Penicillium* sp., culture qualities, liquid nutrient media, surface cultivation, wettable powder

The research was conducted under financial support of the RFFR and the Government of the Krasnodar region, grant project r_Nastavnik No19-416-235003.

Введение. Гриб *Plenodomus lindquistii* (Frezzi) Gruyter, Aveskamp & Verkley, известен как возбудитель фомоза подсолнечника [1], который при благоприятных условиях может негативно влиять на качественные и количественные показатели семян культуры. При поражении подсолнечника фомозом в корзинках формируются мелкие недоразвитые семена с низкой всхожестью, а общая урожайность в зависимости от количества пораженных растений может снижаться на 25 % и более [2]. В настоящее время эта болезнь по распространению в России и в мире занимает лидирующее положение среди других болезней [3; 4; 5]. В последние годы погодные условия в Краснодарском крае способствовали появлению первоначальных симптомов фомоза на поверхности листьев, черешках и стеблях растений подсолнечника, однако засушливые летние месяцы препятствовали дальнейшему заражению, и развитие болезни не превышало 1–2 баллов [3].

Одним из направлений исследований в лаборатории биометода агротехнологического отдела ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК является разработка микробиологического метода снижения вредоносности фомоза подсолнечника, в ходе которого проведен ступенчатый скрининг штаммов антагонистов из рабочей коллекции лаборатории к возбудителю болезни и выделены наиболее перспективные из них: 11-1 *Vaccillus* sp. и M-24 *Penicillium* sp. Штаммы нефитотоксичны, показали лучший защитный и колонизирующий эффект на жестком фоне искусственного заражения во влажной камере и в грунте [6; 7]. Кроме того, штаммы проявили высокую ростостимулирующую активность по

отношению к культуре подсолнечника [8].

Цель работы – изучение культуральных свойств на агаризированных средах и роста на сложных жидких питательных средах перспективного штамма M-24 *Penicillium* sp. для разработки элементов технологического регламента производства микробиопрепарата в препаративной форме смачивающийся порошок при поверхностном культивировании штамма-продуцента.

Материалы и методы. Культуральные признаки штамма M-24 *Penicillium* sp. изучали в 2020 г. при температуре +25 °С, при культивировании моноконидиальной культуры в течение десяти суток на агаризированных средах в чашках Петри (ЧП): картофельно-сахарозном агаре (КСА) [9], Чапека [10] и Рудакова [11]. Поверхностное культивирование штамма осуществляли на жидких питательных средах при температуре +25 °С в течение десяти суток в колбах Эрленмейера (250 мл) с объемом питательной среды 100 мл, высевая одинаковый агаровый блок с моноконидиальной культуры штамма антагониста. Испытывали жидкие питательные среды: Рудакова, Чапека, Викерхема и № 1, содержащие углеводы и соединения азота, фосфора, калия и магния, а также микроэлементы в разном соотношении.

Учет роста гриба на жидких питательных средах проводили по разработанной нами шкале [7] (рис. 1):

0 – нет роста или только обрастание посевного блока;

1 – рост мицелия отдельными колониями;

2 – мицелиальная плёнка сплошная складчатая толстая;

3 – мицелиальная плёнка сплошная, складчатая, толстая, с частичным оседанием вглубь среды.

По окончании культивирования определяли сухой остаток мицелиальной массы после высушивания при температуре +105 °С до постоянного веса [12]. Повторность в каждом опыте трехкратная.

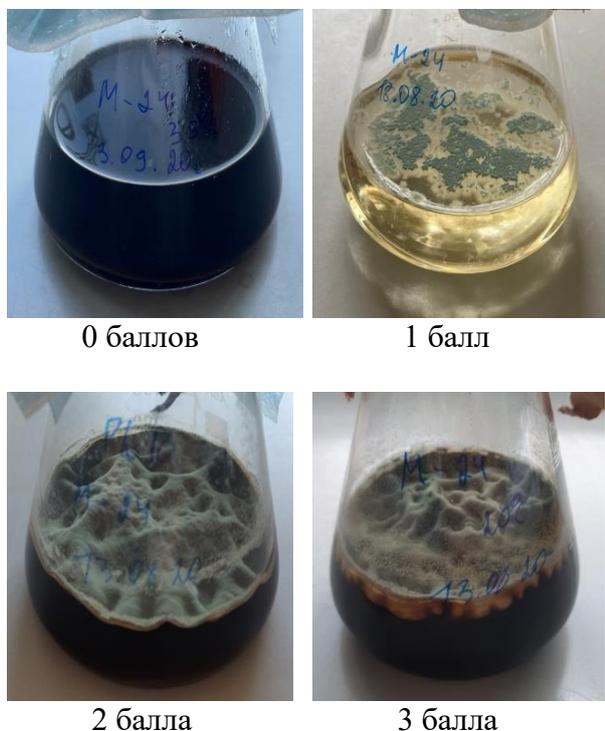


Рисунок 1 – Рост штамма *M-24 Penicillium sp.* на жидких питательных средах в соответствии с разработанной шкалой по баллам (ориг.) (ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2020 г.)

Результаты и обсуждение. Установлено влияние трех агаризированных питательных сред на культуральные признаки штамма *M-24 Penicillium sp.* на десятые сутки культивирования при температуре +25 °С (табл. 1, рис. 2).

Максимальный рост гриба отмечен на среде Рудакова, на которой колонии занимают наибольшую часть поверхности среды в ЧП. Колонии порошистые, с тонкой белой краевой зоной, с четко выраженными радиальными кругами. Цвет с лицевой стороны голубовато-оливковый, с обратной – охряно-желтый. На этой среде установлен максимальный диаметр колонии – 81 × 80 мм. Конициальное спороношение обильное.

Таблица 1

Культуральная характеристика штамма *M-24 Penicillium sp.* на десятые сутки культивирования на агаризированных питательных средах

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2020 г.

Среда	Характеристика колонии			Диаметр колонии, мм	Спороношение
	рост колонии	цвет, со стороны			
		лицевой	обратной		
КСА	Средний, порошистые, с тонкой бело-желтой краевой зоной, четко выражены радиальные круги	Светло-зеленый	Желто-зеленый	66 × 66	Конициальное обильное
Чапека	Слабый, порошистые с широкой белой краевой зоной, с резным краем	Голубой	Зеленый	41 × 43	То же
Рудакова	Сильный, порошистые, с тонкой белой краевой зоной, четко выражены радиальные круги	Голубовато-оливковый	Охряно-желтый	81 × 80	То же

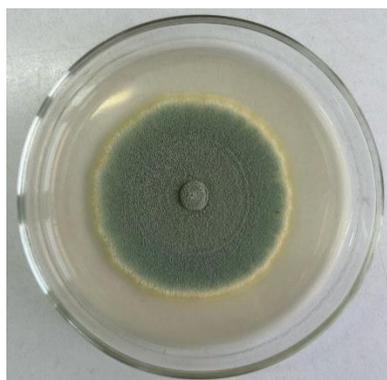
Также обильный рост гриба антагониста отмечен на картофельно-сахарозном агаре: колонии порошистые, с тонкой бело-желтой краевой зоной и четко выраженными радиальными кругами. Цвет с лицевой стороны светло-зеленый, с обратной – желто-зеленый. Диаметр колонии уступал диаметру на среде Рудакова и составил 66 × 66 мм. Конициальное спороношение обильное.

Слабый рост гриба установлен на среде Чапека: колонии порошистые, с более широкой белой краевой зоной, чем на предыдущих двух средах, но в отличие от них – с резным краем и без радиальных кругов. Цвет с лицевой стороны голубой, с обратной – зеленый. Диаметр колонии из трех испытанных сред минимальный – 41 × 43 мм. Конициальное спороношение обильное.

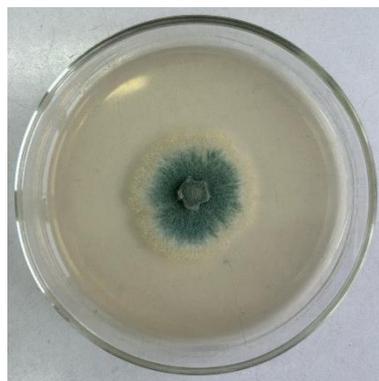
Таким образом, культуральные свойства грибного штамма значительно колебались в зависимости от питательной среды. На всех агаризированных средах наблюдали обильное конициальное спороношение. Сильный рост гриба и максимальный диаметр колоний (81 × 80 мм)

отмечен на среде Рудакова.

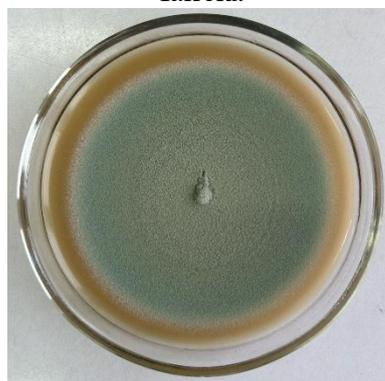
Таблица 2



КСА



Чапека



Рудакова

Рисунок 2 – Колонии штамма М-24 *Penicillium* sp. на агаризированных питательных средах при температуре +25 °С, через 10 суток культивирования (ориг.)

(ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2020 г.)

Определена оптимальная жидкая питательная среда сложного состава для стационарного культивирования штамма М-24 *Penicillium* sp. Испытаны среды Рудакова, Чапека, Викархема и № 1 (табл. 2).

Влияние сложных жидких питательных сред на рост штамма-продуцента микробиопрепарата М-24 *Penicillium* sp. в условиях стационарного культивирования при температуре +25 °С

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2020 г.

Штамм	Рост мицелия, балл/сухая мицелиальная масса, г/100 мл среды			
	сложная питательная среда			
	Чапека	Рудакова	Викархема	№ 1
М-24 <i>Penicillium</i> sp.	1/0,20±0,04	3/1,44±0,04	2/1,39± 0,04	2/1,34±0,02

Установлено, что максимальный рост гриба наблюдался на среде Рудакова, где на десятые сутки стационарного выращивания образовалась сплошная толстая мицелиальная плёнка с обильным спороношением. На средах № 1 и Викархема сформировалась сплошная тонкая мицелиальная плёнка со спороношением, а на среде Чапека – отдельные колонии, которые не срослись между собой и не образовали сплошную мицелиальную плёнку. Масса сухого мицелия через десять суток культивирования была максимальной на среде Рудакова (1,44 г на 100 мл питательной среды против 0,20–1,39 г на других средах).

Заключение. Изучены культуральные свойства перспективного штамма-продуцента микробиопрепарата М-24 *Penicillium* sp. – сильный рост гриба и максимальный диаметр колонии (81 × 80 мм) отмечен на агаризированной среде Рудакова. Для разработки элементов технологии производства микробиопрепарата в препаративной форме смачивающийся порошок при поверхностном культивировании гриба антагониста установлена оптимальная сложная жидкая питательная среда – Рудакова, на которой сформировалась толстая складчатая мицелиальная пленка с обильным спороношением и с максимальной массой сухого мицелия – 1,44 г на 100 мл питательной среды против 0,20–1,39 г на других средах.

Список литературы

1. Index Fungorum Data bases: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=564757> (дата обращения: 14.10.2023).

2. Mirleau-Thebaud V., Scheiner J.D., Dayde J. Influence of soil tillage and *Phoma macdonaldii* on sunflower (*Helianthus annuus* L.) yield and oil quality // *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. – 2011. – 80. – P. 203–210. DOI: 10.32604/phyton.2011.80.203.

3. Саукова С.Л., Антонова Т.С., Арасланова Н.М., Ивевор М.В., Рыженко Е.Н., Борисенко О.М. Влияние климатических условий на поражение фомозом линий подсолнечника // *Аграрный научный журнал*. – 2023. – № 3. – С. 59–64. DOI: 10.28983/asj.y2023i3pp59-64.

4. Выприцкая А.А., Выприцкий А.С., Кузнецов А.А. Видовой состав и вредоносность микобиоты семян подсолнечника в Тамбовской области // *Масличные культуры*. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2010. – Вып. 1 (142–143). – С. 62–67.

5. Децына А.А., Хатянский В.И., Илларионова И.В. [и др.]. Мониторинг болезней на сортах подсолнечника селекции ВНИИМК // *Масличные культуры*. – 2021. – Вып. 1 (185). – С. 67–72.

6. Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х., Даценко Л.А. [и др.]. Первичный скрининг бактериальных штаммов антагонистов из коллекции лаборатории биометода ВНИИМК к возбудителю фомоза подсолнечника (часть 2) // *Масличные культуры*. – 2020. – Вып. 3 (183). – С. 107–113.

7. Maslienko L.V., Voronkova A.Kh., Efimtseva E.A., Datsenko L.A. Conditions for surface cultivation on liquid nutrient media of the producer strain of microbiopreparation M-24 *Penicillium* sp., the antagonist of the sunflower phoma rot pathogen // *IOP Conference series: Earth and Environmental Science*. – 2021. – V. 848. – Art. 12119. DOI: 10.1088/1755-1315/848/1/012119.

8. Маслиенко Л.В., Ефимцева Е.А., Даценко Л.А. Перспективные штаммы антагонисты возбудителя фомоза на подсолнечнике: оценка фитотоксичности и ростостимулирующей активности // *Масличные культуры*. – 2023. – Вып. 2 (194). – С. 101–106.

9. Лысак В.В., Желвакова Р.А., Фомина О.В. *Микробиология. Практикум: пособие*. – Минск: БГУ, 2015. – 115 с.

10. Билай В.И. *Фузариозы*. – Киев: Наукова думка, 1997. – 441 с.

11. Рудаков О.Л. *Микофильные грибы, их биология и практическое значение*. – М.: Наука, 1981. – 160 с.

12. ГОСТ 12041-82 (66). *Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения влажности*. Сб. ГОСТов. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2004. – 9 с.

References

1. Index Fungorum Data Bases: [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=564757> (data obrashcheniya: 14.10.2023).

2. Mirleau-Thebaud V., Scheiner J.D., Dayde J. Influence of soil tillage and *Phoma macdonaldii* on sunflower (*Helianthus annuus* L.) yield and oil quality // *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. – 2011. – 80. – P. 203–210. DOI: 10.32604/phyton.2011.80.203.

2011. – 80. – P. 203–210. DOI: 10.32604/phyton.2011.80.203.

3. Saukova S.L., Antonova T.S., Araslanova N.M., Ivebor M.V., Ryzhenko E.N., Borisenko O.M. Vliyanie klimaticheskikh usloviy na porazhenie fomozom liniy podsolnechnika // *Agramy nauchnyy zhurnal*. – 2023. – № 3. – S. 59–64. DOI: 10.28983/asj.y2023i3pp59-64.

4. Vypritskaya A.A., Vypritskiy A.S., Kuznetsov A.A. Vidovoy sostavi vredonosnost' mikrobioty semyan podsolnechnika v Tambovskoy oblasti // *Maslichnye kul'tury*. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2010. – Vyp. 1 (142–143). – S. 62–67.

5. Detsyna A.A., Khatnyanskiy V.I., Illarionova I.V. [i dr.]. Monitoring bolezney na sortakh podsolnechnika selektsii VNIIMK // *Maslichnye kul'tury*. – 2021. – Vyp. 1 (185). – S. 67–72.

6. Maslienko L.V., Voronkova A.Kh., Datsenko L.A. [i dr.]. Pervichnyy skringing bakterial'nykh shtammov antagunistov iz kolleksii laboratorii biometoda VNIIMK k vozбудителю fomoza podsolnechnika (chast' 2) // *Maslichnye kul'tury*. – 2020. – Vyp. 3 (183). – S. 107–113.

7. Maslienko L.V., Voronkova A.Kh., Efimtseva E.A., Datsenko L.A. Conditions for surface cultivation on liquid nutrient media of the producer strain of microbiopreparation M-24 *Penicillium* sp., the antagonist of the sunflower phoma rot pathogen // *IOP Conference series: Earth and Environmental Science*. – 2021. – V. 848. – Art. 12119. DOI: 10.1088/1755-1315/848/1/012119.

8. Maslienko L.V., Efimtseva E.A., Datsenko L.A. Perspektivnye shtammy antagunisty vozбудitelya fomoza na podsolnechnike: otsenka fitotoksichnosti i rostostimuliruyushchey aktivnosti // *Maslichnye kul'tury*. – 2023. – Vyp. 2 (194). – S. 101–106.

9. Lysak V.V., Zhelvakova R.A., Fomina O.V. *Mikrobiologiya. Praktikum: posobie*. – Minsk: BGU, 2015. – 115 s.

10. Bilyay V.I. *Fuzarii*. – Kiev: Naukova dumka, 1997. – 441 s.

11. Rudakov O.L. *Mikofil'nye griby, ikh biologiya i prakticheskoe znachenie*. – M.: Nauka, 1981. – 160 s.

12. ГОСТ 12041-82 (66). *Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения влажности*. Сб. ГОСТов. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2004. – 9 с.

Сведения об авторах

Е.А. Ефимцева, мл. науч. сотр., аспирант

Л.В. Маслиенко, зав. лаб., гл. науч. сотр., д-р биол. наук

Л.А. Дейнега, мл. науч. сотр., аспирант

Получено/Received

28.01.2024

Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed

04.02.2024

Получено после доработки/Manuscript revised

09.02.2024

Принято/Accepted

13.03.2024

Manuscript on-line

30.05.2024