

УДК 632.4.01/.08

ВЛИЯНИЯ КИСЛОТНОСТИ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗОЛЯТОВ *STAGONOSPOROPSIS CHRYSANTHEMI*

Синкевич Ольга Владимировна¹,

Копина Мария Борисовна², Сурина Татьяна Александровна³

¹ кандидат с.-х. наук,

научный сотрудник Всероссийского центра карантина растений ФГБУ «ВНИИКР»

Петрозаводск, 185033, Россия

² кандидат биологических наук,

Начальник научно-методического отдела микологии и гельминтологии

Всероссийского центра карантина растений ФГБУ «ВНИИКР»

³ Начальник научного отдела молекулярно-генетических методов диагностики,

Всероссийского центра карантина растений ФГБУ «ВНИИКР»

INFLUENCE OF ACIDITY NUTRIENT ENVIRON ON CULTURAL CHARACTERISTICS OF *STAGONOSPOROPSIS CHRYSANTHEMI* ISOLATES

Sinkevich O.V.¹, Kopina M.B.², Syrina T.A.³

¹ Candidate of Agricultural Sciences

Researcher, All-Russian Plant Quarantine

² Candidate of Biological Sciences,

Head of the Scientific and Methodological Department of Mycology and

Helminthology All-Russian Plant Quarantine Center

³ Head of the Scientific Department of Molecular Genetic Diagnostic Methods,

All-Russian Plant Quarantine Center

Аннотация. Использование питательной среды (КГА) с разной кислотностью для выращивания *Stagonosporopsis chrysanthemi* повлияло только на скорость роста колонии, кислая среда pH 4,6 сдерживала рост, в то время как при нейтральной реакции скорость роста была выше. При этом на культуральные признаки изолятов кислотность питательной среды влияния не оказала.

Abstract. The use of a nutrient medium (CHA) with different acidity for growing *Stagonosporopsis chrysanthemi* only influenced the growth rate of the colony, the acidic medium pH 4.6 inhibited growth, while in the case of a neutral reaction, the rotational speed was higher. At the same time, the acidity of the medium did not affect the cultural characteristics of the isolates.

Ключевые слова: Карантинный объект, аскохитоз хризантем, культуральный метод, питательная среда

Key words: Quarantine object; *Chrysanthemum ascochitis*; Culture method; Nutrient environ.

Аскохитоз хризантем (гниль лепестков) достаточно распространенное в мире заболевание. Вредоносность инфекции заключается в нарушении ассимиляционных и других физиологических процессов, протекающих в растениях, является одним из проявлений пятнистостей, повреждает все органы растения во всех фазах его развития. При проникновении возбудителя в новый ареал болезнь становится трудноискоренимой и требует больших затрат на ее уничтожение [1-3].

Возбудитель этого заболевания – гриб *Stagonosporopsis chrysanthemi* (F. Stevens) Crous, Vaghefi & P.W.J. Taylor. – включен в Перечень вредителей, болезней растений и сорняков, имеющих карантинное значение для Российской Федерации, а также является карантинным объектом для ЕОКЗР, ЕС и Межафриканского фитосанитарного совета [4,5]. Заболевание распространено на всех континентах кроме Южной Америки [5]. В России на 1 декабря 2021 года установлена карантинная фитосанитарная зона на площади 0,05 га [6] (посадки хризантем на территории Ботанического сада-института Дальневосточного отделения Российской академии наук в г. Владивостоке) [7]. Есть информация об обнаружении *Stagonosporopsis chrysanthemi* на территории Ростовской области и Краснодарского края преимущественно в закрытом грунте, однако существенного ущерба не причиняли [8].

Хозяевами *S. chrysanthemi* являются коммерчески важные сорта хризантемы цветочной *Chrysanthemum × morifolium*. В прошлом род *Chrysanthemum* был разделен на несколько родов, а хризантема, имеющая в цветоводстве важное экономическое значение, была помещена в род *Dendranthema*. Однако в 1999 году

Комиссия по Международному кодексу ботанической номенклатуры восстановила хризантему до рода *Chrysanthemum* [9].

Надежное обнаружение и идентификация *S. chrysanthemi* возможны только с помощью лабораторных исследований, основанных на культуральных и морфологических характеристиках патогена, на его положительной реакции на NaOH (т.е. выработке красного пигмента β) [10,11,12] и молекулярных методах диагностики.

Одним из наиболее доступных методов идентификации *S. chrysanthemi* является культурально-морфологический метод. Для этого кусочки пораженной ткани поверхностно дезинфицируют раствором 96%-го этилового спирта в течение 30 секунд, промывают несколько раз стерильной водой и закладывают во влажную камеру в чашки Петри и на питательную среду (2%-й картофельно-глюкозный агар). Инкубируют в термостате при температуре от 23 до 25 °С в течение от 1 до 5 суток. Появляющийся мицелий отсеивают на свежую среду. Для ускорения формирования плодовых тел выросшую культуру периодически выставляют на дневной свет.

Определение возбудителя проводится в течение 7-14 суток путем анализа культурально-морфологических признаков гриба (характера роста на средах, морфометрических измерений пикнид и конидий) визуальным и микроскопическим методами. При этом в методиках не указана кислотность питательной среды.

Целью данной работы было определение влияния кислотности питательной среды (КГА 2%) на рост и развитие колоний *S. chrysanthemi*.

Для исследования было взято 6 изолятов *S. chrysanthemi* разного географического происхождения из микологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР». Проведен посев на агарозную среду (2 % картофельно-глюкозный агар с кислотностью 4,6; 4,9; 5,5; 5,8; 6,5; 7,0) в трехкратной повторности. Инкубирование проводилось в термостате при температуре 23 °С.

Кислотность питательной среды определяли при помощи базового рН-метра, изменяли кислотность 4 % стерильным раствором лимонной кислоты.

Начало роста колоний было отмечено на 3-й день. На 7 день были определены размеры колоний (таблица 1), а также сделано ее описание [13].

Таблица 1

Размер колонии на питательных средах, мм

Изолят	Кислотность питательной среды рН					
	4,6	4,9	5,5	5,8	6,5	7,0
3.0 <i>Ascochyta chrysanthemi</i>	65	67	71	70	65	71
27.3 <i>Stagonosporopsis chrysanthemi</i>	70	73	75	75	75	75
4.0 <i>Didymella ligulicola</i>	70	72	72	68	72	75
6.0 <i>Ascochyta chrysanthemi</i>	75	75	75	75	78	79
4.1 <i>Didymella ligulicola</i>	72	75	73	76	76	78
4.0 <i>Ascochyta chrysanthemi</i>	68	70	75	75	75	77

Выявлено, что кислотность среды оказывает влияние на скорость роста колонии. Кислая среда рН 4,6 – 4,9 снижает скорость роста, в то время как при нейтральной реакции питательной среды колонии были самыми крупными. Визуальных отличий при использовании слабокислых питательных сред рН 5,5-6,5 выявлено не было.

При визуальной оценке колоний изолятов *S. chrysanthemi* было выявлено, что кислотность среды не влияет на ее морфологические признаки, а является принадлежностью к конкретному штамму.

Так все изоляты *S. chrysanthemi* имели колонию правильной округлой формы, с бархатистой поверхностью. Воздушный мицелий войлочный, от бледно-оливкового до сероватого цвета, субстратный – интенсивно темно – коричневый (рисунок1). При этом хорошо заметно розовое окрашивание среды выделяемым пигментом, которое при обработке NaOH меняет окраску.

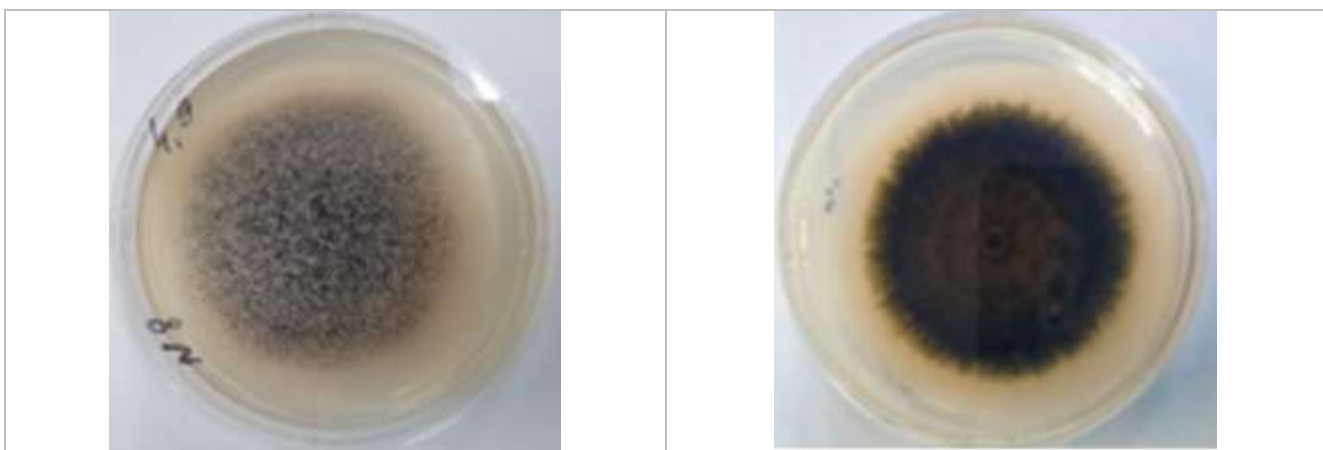


Рисунок 1 – Окраска воздушного и субстратного мицелия изолятов *S. chrysanthemi*
Край колонии у двух изолятов был бахромчатым, а у четырех – ровным (рисунок 2).

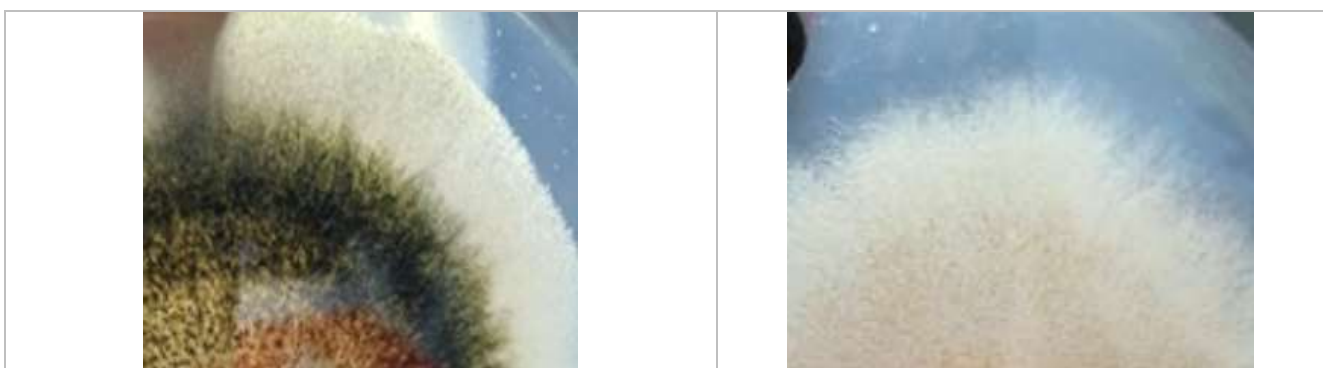


Рисунок 2 – Края колонии изолятов *S. chrysanthemi*

У всех изолятов *S. chrysanthemi* наблюдалась зональность с образованием концентрических колец (рисунок 3). Четко видимые кольца на момент описания прослеживались только у двух.



Рисунок 3 – Концентрические кольца на колонии изолятов *S. Chrysanthemi*

Анализируя полученные данные следует отметить, что при использовании КГА в качестве питательной среды для выращивания чистой культуры *S. chrysanthemi* можно использовать раствор с широким диапазоном кислотности от 4,6 до 7,0. Все культуральные признаки, характерные для конкретного изолята при этом сохраняются. Скорость роста колоний всех изолятов выше при нейтральной реакции питательной среды.

Учитывая высокий полиморфизм изучаемых изолятов можно предположить, что использование только культурального метода при идентификации *S. chrysanthemi* является недостаточным и требуется использования молекулярных методов диагностики патогена.

Литература

- 1 Kenneth F.B., Dimock A.W., Davis L.H Control of Ascochyta ray blight of chrysanthemum // Phytopathology. - 1961. - №51(2). - С. 96-101.
- 2 Schmatz R., Schmatz R., Altmann W. Bekämpfung der Ascochyta-Krankheit der Chrysantheme // Gartenbau (Berlin). - 1986. - №33(10). - С. 315-317.

- 3 Strider D.L. Enfermedades del crisantemo una guia para productores // Revista Chapingo. Serie: Horticultura. - 1994. - №1(1). - С. 131-136.
- 4 EFSA Panel on Plant Health (PLH). Scientific opinion on the risks to plant health posed by *Stagonosporopsis chrysanthemi* (Stevens) Crous, Vaghefi and Taylor [*Didymella ligulicola* (Baker, Dimock and Davis) Arx var. *ligulicola*; syn. *Didymella ligulicola* (Baker, Dimock and Davis) Arx] in the EU territory, with identification and evaluation of risk reduction options EFSA Journal. - 2013. - №11(10). - С. 3376.
- 5 Глобальная база данных <https://gd.eppo.int/taxon/MYCOLG> (дата обращения 12.09.2021)
- 6 Глобальная база данных <https://gd.eppo.int/reporting/article-6941> (дата обращения 12.09.2021)
- 7 Зорина Е.В. Вопросы защиты декоративных культур в открытом и защищенном грунте Ботанического сада-института ДВО РАН // Научное обеспечение устойчивого развития плодового и декоративного садоводства. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 125-летию ВНИИЦиСК и 85-летию Ботанического сада «Дерево Дружбы». - М.: 2019. - С. 154-160.
- 8 Булгаков Т.С Грибные патогены хризантемы садовой (*Chrysanthemum morifolium*) в Ростовской области и Краснодарском крае // Цветоводство: теоретические и практические аспекты. Тезисы Второй Международной научной конференции, 2020. - С. 10.
- 9 Suggested citation: EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). 2013. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Stagonosporopsis chrysanthemi* (Stevens) P.W. Crous, N. Vaghefi and Taylor [*Didymella ligulicola* (Baker, Dimock and Davis) Arx var. *ligulicola*; syn. *Didymella ligulicola* (Baker, Dimock and Davis) Arx] in the EU territory, with identification and evaluation of risk reduction options. – EFSA Journal. – Vol. 11 (10): 3376. – 72 p.
- 10 Van der Aa H., Noordeloos M., Gruyter J. Species concepts in some larger genera of the Coelomycetes // Stud Mycol. 1990. Vol. 32(3). - P. 19.
- 11 СТО ВНИИКР 3.012-2012 Возбудитель аскохитоза хризантем *Didymella ligulicola* (K.F. Baker, Dimock & L.H. Davis) von Arx. Методы выявления и идентификации. М. 2012.
- 12 Vaghefi N., Sarah J. Hay, Frank S., Rebecca N., Marc E. T.r, Paul W.J. Revisiting *Stagonosporopsis* species associated with chrysanthemum and pyrethrum ray blight // Australasian Plant Pathology. - 2016. - №45 (6). С. 561-570.
- 13 Концевая И.И. Микробиология: культивирование и рост бактерий. Практическое руководство для студ. биологич. спец. вузов. - М-во образования РБ, Гомельский гос. Ун-т им. Ф. Скорины: Чернигов: Десна Полиграф, 2017. - 44 с.