

К.И. Бендер, С.Л. Фрейдман и др. – Саратов: Изд-во Саратовского университета, 1972. – 381 с.

2. Мазнев Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Мартин, 2004. – 496 с.

3. Талыбов Т.Н., Ибрагимов А.Ш. Таксономический спектр флоры Нахчыванской Автономной Республики. – Нахчыван: Аджеми, 2008. – 364 с. (На азербайджанском языке).

4. Талыбов Т.Н., Ибрагимов А.Ш. Ибрагимов А.М. и др. Лекарственные растения Нахчыванской Автономной Республики. – Нахчыван: Аджеми, 2014. – 432 с. (На азербайджанском языке).

5. Флора Азербайджана. Т. 7. – Баку: Академия Наук Азербайджанской ССР, 1957. – 678 с.

6. Дамиров И.А., Прилипко Л.И., Шукюров Д.З., Керимов Ю.Б. Лекарственные растения Азербайджана. – Баку: Маариф, 1988. – 319 с.

7. Алиева А.М. Таксономический спектр *Boraginaceae* Juss. в Нахчыванской Автономной Республики Азербайджана // Научная дискуссия: инновации в современном мире: XXXII Междунар. заоч. науч.-практ. конф. – М., 2015. – С. 16-21.

8. Полная энциклопедия Народной медицины. Т. 1. Раздел 1. Общие болезни (Авитаминозы-Ящур). Раздел 2. Как вырастить ребенка здоровым / Олма-Пресс. – М.: АНС, 2003. – 752 с.; ил.

9. Полная энциклопедия Народной медицины. Т. 2. Раздел 3-5 / Олма-Пресс. – М.: АНС, 2003. – 800 с.; ил.

10. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / И. Путырский, В. Прохоров. – Минск: Книжный Дом; М.: Махаон, 2000, – 656 с., ил.

References

1. Lekarstvennyye rasteniya v nauchnoy i narodnoy meditsine. Sostaviteli: Volynskiy B.G., Bender K.I., Freydmann S.L. i dr. – Saratov: Izd-vo Saraf. un-ta, 1972. – 381 s.

2. Maznev N.I. Entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy, 3-e izd., ispr. i dop. – M.: Martin, 2004. – 496 s.

3. Talybov T.N., Ibragimov A.Sh. Taksonomicheskii spektr flory Nakhchyvanskoy Avtonomnoy Respubliki. – Nakhchivan: Adzhemi, 2008. – 364 s. (in Azerbaijani language).

4. Talybov T.N., Ibragimov A.Sh. Ibragimov A.M. i dr. Lekarstvennyye rasteniya Nakhchyvanskoy Avtonomnoy Respubliki. – Nakhchivan: Adzhemi, 2014. – 432 s. (in Azerbaijani language).

5. Flora Azerbaydzhana. T. 7. – Baku: Akademiya Nauk Azerbaydzhanskoy SSR, 1957. – 678 s.

6. Damirov I.A., Prilipko L.I., Shukyurov D.Z., Kerimov Yu.B. Lekarstvennyye rasteniya Azerbaydzhana. – Baku: Maarif, 1988. – 319 s.

7. Alieva A.M. Taksonomicheskii spektr *Boraginaceae* Juss. v Nakhchyvanskoy Avtonomnoy Respublike Azerbaydzhana / XXXII Mezhdunarodnaya zaochnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Nauchnaya diskussiya: innovatsii v sovremennom mire». – M., 2015. – S. 16-21

8. Polnaya entsiklopediya Narodnoy meditsiny. T. 1. Razdel 1. Obshchie bolezni (Avitaminozy-Yashchur) Razdel 2. Kak vyrastit rebenka zdorovym. – M., 2003. – 752 s.; il.

9. Polnaya entsiklopediya Narodnoy meditsiny. T. 2, Razdel 3-5. – M., 2003. – 800 s.; il.

10. Universalnaya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy / sost. I. Putyrskiy, V. Prokhorov. – Mn.: Knizhnyy dom; M.: Makhaon, 2000. – 656 s., il.



УДК 635.132:635-2

А.А. Егорова, Л.М. Соколова
A.A. Yegorova, L.M. Sokolova

ПОЛУЧЕНИЕ МОНОСПОРОВОЙ КУЛЬТУРЫ ГРИБОВ *P. FUSARIUM* НА МОРКОВИ СТОЛОВОЙ *DAUCUS CAROTA* L.

OBTAINING MONOSPOROUS CULTURE OF *P. FUSARIUM* FUNGI ON GARDEN CARROTS *DAUCUS CAROTA* L.

Ключевые слова: *Fusarium*, морковь столовая *Daucus carota* L., моноспоровая культура, маточная суспензия, концентрация суспензии.

Keywords: *Fusarium*, garden carrot (*Daucus carota* L.), monosporous culture, foundation suspension, suspension concentration.

Большое распространение получают болезни моркови столовой, вызываемые грибами р. *Fusarium*. Частота их встречаемости составляет 67%. Род *Fusarium* включает в себя ряд видов, являющихся причинами различных заболеваний на ряде сельскохозяйственно значимых культурах, таких как злаковые, овощные и др. Одними из важных в этом плане видов являются *F. oxysporum* (Fo), *F. avenaceum* (Fa) и *F. roae* (Fp). Наиболее распространенные – грибы вида *F. oxysporum*, вызывающие болезни увядания и поражающие сосудистую систему растений. Одним из путей, обеспечивающих целенаправленное ведение селекции на устойчивость, является выделение местных изолятов возбудителей болезней, метод ускоренной оценки на основе определения агрессивности новых штаммов и применение их в селекционной работе. При проведении теоретических исследований или анализе популяций какой-либо географической формы возникает необходимость получения культуры из одной споры – «моноспоровая культура». Цель работы – получение моноспоровой культуры грибов р. *Fusarium* моркови столовой *Daucus carota*. Задачи: подобрать концентрацию суспензии для лучшего роста моноспоры; подобрать оптимальные лабораторные инструменты для нанесения моноспоровой культуры на питательную среду. В результате проведенной работы выявлено, что для получения моноспоровой культуры необходимо использовать двадцатисуточную чистую культуру гриба р. *Fusarium*. Суспензию использовать в концентрации 10^{-3} . На питательную среду наносить суспензию с помощью микродозатора в объеме 50

мкл и распределять по всей поверхности питательной среды шпателем Дригальского.

Diseases of garden carrot caused by *Fusarium* fungi are widespread; their occurrence makes 67%. The genus *Fusarium* includes a number of species that are the causative agents of various diseases in a number of crops as cereals, vegetables, etc. Important species in this regard are *F. oxysporum* (Fo), *F. avenaceum* (Fa) and *F. Poae* (Fp). The most widespread fungi are *F. oxysporum* fungi that cause wilt diseases and affecting the vascular system of plants. One of the ways to ensure targeted selection for resistance is the isolation of local isolates of pathogens, the method of accelerated evaluation based on the definition of aggressiveness of new strains and their use in plant breeding work. When conducting theoretical studies or analyzing populations of any geographical form, it becomes necessary to obtain a culture from one spore – “monosporous culture”. The research goal was to obtain monosporous culture of *Fusarium* fungi of garden carrot (*Daucus carota*). The following research objectives were involved: 1) to choose suspension concentration for better growth of monospore; 2) to choose the optimal laboratory tools for applying monosporous culture to the nutrient medium. It was found that to produce a monosporous culture, it is necessary to use twenty-day pure culture of *Fusarium* fungus. The suspension should be of 10^{-3} concentration. The suspension should be applied onto the nutrient medium with a microdoser in a volume of 50 μ l and distributed over the entire surface of the culture medium with Drigalski spatula.

Егорова Анна Анатольевна, к.с.-х.н., с.н.с. группы иммунитета и селекции пасленовых культур, Всероссийский НИИ овощеводства, Московская обл. E-mail: edvaed@rambler.ru.

Соколова Любовь Михайловна, к.с.-х.н., с.н.с. группы корнеплодных культур, Всероссийский НИИ овощеводства, Московская обл. E-mail: lsokolova74@mail.ru.

Yegorova Anna Anatolyevna, Cand. Agr. Sci., Senior Staff Scientist, Solanaceae Crop Immunity and Breeding Team, All-Russian Research Institute of Vegetable Crop Production, Moscow Region. E-mail: edvaed@rambler.ru.

Sokolova Lyubov Mikhaylovna, Cand. Agr. Sci., Senior Staff Scientist, Root Crop Team, All-Russian Research Institute of Vegetable Crop Production, Moscow Region. E-mail: lsokolova74@mail.ru.

Введение

Большое распространение получают болезни моркови столовой, вызываемые грибами р. *Fusarium*. Частота их встречаемости составляет 67%.

Род *Fusarium* включает в себя ряд видов, являющихся причинами различных заболеваний на ряде сельскохозяйственно значимых культурах, таких как злаковые, овощные и др. Одними из важных в этом плане видов являются *F. oxysporum* (Fo), *F. avenaceum* (Fa) и *F. roae* (Fp). Наиболее распространенные – грибы вида *F. oxysporum*, вызывающие болезни увядания и поражающие сосудистую систему растений [1].

F. avenaceum – широко распространенный вид, который может существовать, в

том числе, как сапрофит. *F. roae* относится к секции *Sporotrichiella* Wollenw [2, 3].

Успех селекционного процесса по признаку болезнеустойчивости в большой мере зависит от эффективности методов оценки и отбора исходного материала [4].

Поражение растений вредными организмами происходит на всех этапах их роста и развития, поэтому важное значение имеет своевременное выявление первых признаков заболевания, их правильная диагностика [5].

Одним из путей, обеспечивающих целенаправленное ведение селекции на устойчивость, является выделение местных изолятов возбудителей болезней, метод ускоренной оценки на основе определения агрессивности новых штаммов и применение их в селекционной работе [6].

При проведении теоретических исследований или анализе популяций какой-либо географической формы возникает необходимость получения культуры из одной споры – «моноспоровая культура».

Цель работы – получение моноспоровой культуры грибов р. *Fusarium* моркови столовой *Daucus carota*.

Задачи:

- 1) подобрать концентрацию суспензии для лучшего роста моноспоры;
- 2) подобрать оптимальные лабораторные инструменты для нанесения моноспоровой культуры на питательную среду.

Материалы и методы

Материалом для выделения моноспоровой культуры являлась двадцатисуточная чистая культура гриба р. *Fusarium*, полученная в результате раскладки листьев, стебля, корнеплода моркови столовой.

Лабораторные исследования проводили в соответствии с Методическими указаниями по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов [7]. Методы экспериментальной микологии [8].

Ход опыта: Перед началом работы подготовили питательную среду, чашки Петри, дистиллированную воду, пробирки Эппендорф, наконечники для микродозаторов. Затем автоклавировали при температуре 121°C в экспозиции 15 минут.

Моноспоровую культуру получали в стерильном помещении в ламинарном боксе. Для получения маточной суспензии

спор в стерильные пробирки Эппендорф микродозатором отмеряли по 1 мл стерильной дистиллированной воды и добавляли мицелий чистой культуры р. *Fusarium* на кончике препаровальной иглы. Пробирку тщательно встряхивали на «Вортексе» (рис. 1).

Полученную маточную суспензию спор микроскопировали (рис. 2). Далее проводили разведение. Для разведения маточного раствора до нужной концентрации в стерильные пробирки Эппендорф отмеряли по 0,9 мл стерильной дистиллированной воды и добавляли по 0,1 мл раствора со спорами из предыдущей пробирки (табл.).

Полученные растворы с разными концентрациями спор вносили в чашку Петри на питательную среду Чапека с добавлением антибиотика «Гентамицин» в концентрации 1 г/л [9] разными способами:

- 1) 50 мкл раствора суспензии распределяли по всей поверхности питательной среды шпателем Дригальского;
- 2) 1 каплю раствора суспензии распределяли по всей поверхности питательной среды шпателем Дригальского;
- 3) 10 обмакиваний бактериальной петлей диаметром 3 мм в растворе распределяли по всей поверхности питательной среды бактериальной петлей (рис. 3).

Учет прорастания спор проводили визуально на 3-и, 6-, 9-е сут. Для подсчета спор использовали микроскоп Биомед-6, тринокуляр и камеру Горяева.

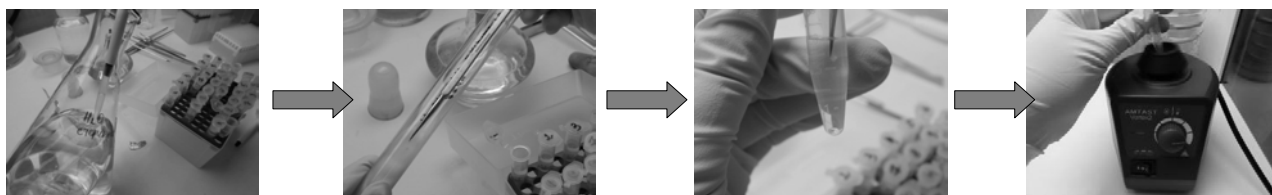


Рис. 1. Получение маточного раствора для моноспоровой культуры

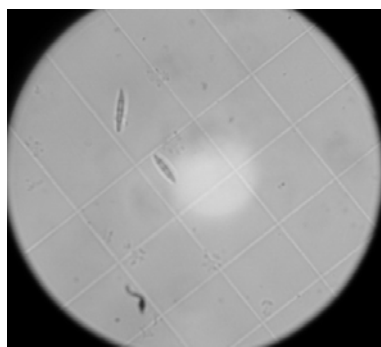


Рис. 2. Микроскопирование маточной суспензии спор гриба р. *Fusarium* по камере Горяева

Разведение маточного раствора

№ пробирки	Кол-во стерильной дистиллированной воды, мл	Количество раствора со спорами, мл	Концентрация суспензии спор
1	1	Мицелий чистой культуры р. <i>Fusarium</i> на кончике иглы	маточный
2	0,9	0,1 мл из пробирки № 1	10
3	0,9	0,1 мл из пробирки № 2	10 ⁻²
4	0,9	0,1 мл из пробирки № 3	10 ⁻³
5	0,9	0,1 мл из пробирки № 4	10 ⁻⁴
6	0,9	0,1 мл из пробирки № 5	10 ⁻⁵
7	0,9	0,1 мл из пробирки № 6	10 ⁻⁶
8	0,9	0,1 мл из пробирки № 7	10 ⁻⁷
9	0,9	0,1 мл из пробирки № 8	10 ⁻⁸
10	0,9	0,1 мл из пробирки № 9	10 ⁻⁹

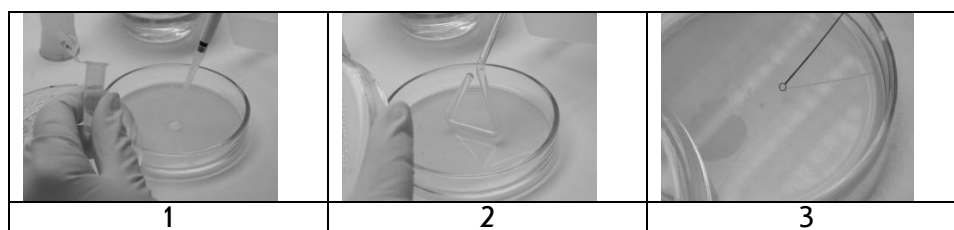


Рис. 3. Способы внесения раствора спор на питательную среду. Чашки Петри с раствором спор помещали в термостат при температуре 25°С

Результаты и обсуждения

В результате проведенных исследований по получению моноклассовой культуры выявлено, что из 10 вариантов разных концентраций суспензии наблюдали рост спор от маточного до варианта разведения в концентрации 10⁻⁴. В вариантах разведения суспензии маточный раствор и вариант разведения в 10 раз обнаружили обильный рост спор. Образование отдельных единичных спор наблюдали в вариантах разведения суспензии в концентрации 10⁻², 10⁻³ и 10⁻⁴.

В дальнейших исследованиях проводили разведение суспензии в концентрации 10⁻², 10⁻³ и 10⁻⁴. Во всех трех вариантах наблюдалось образование моноклассов гриба

р. *Fusarium*, однако в варианте разведения суспензии в концентрации 10⁻³ споры прорастали равномерно и однородно (рис. 4).

Проведенные исследования по способу нанесения суспензии спор на питательную среду Чапека позволили выделить оптимальный способ:

Нанесение с помощью микродозатора 50 мкл и 1 капли раствора и распределение по всей поверхности питательной среды шпателем Дригальского позволило равномерно распределить суспензию. Однако в варианте нанесения 1 капли суспензии было недостаточно для всей поверхности чашки Петри, а нанесение 50 мкл суспензии позволило равномерно распределить по всей поверхности чашки Петри.

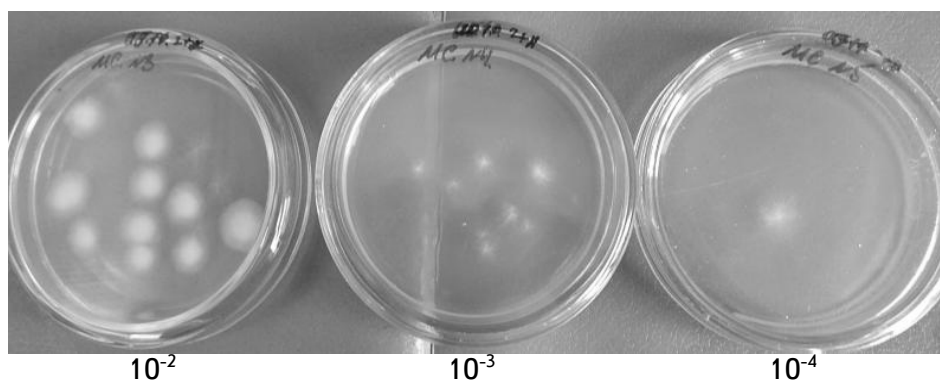


Рис. 4. Образование моноклассов гриба р. *Fusarium* на питательной среде Чапека с различными концентрациями суспензии

В результате нанесения суспензии 10 обмакиванием бактериальной петлей диаметром 3 мм в растворе и распределение по всей поверхности питательной среды бактериальной петлей рост спор был неравномерный и плотный. Отдельного единичного роста спор в этом варианте не наблюдалось.

Заключение

Для получения моноспоровой культуры необходимо использовать двадцатисуточную чистую культуру гриба р. *Fusarium*. Суспензию использовать в концентрации 10^3 . На питательную среду наносить суспензию с помощью микродозатора в объеме 50 мкл и распределять по всей поверхности питательной среды шпателем Дригальского.

Библиографический список

1. Beckman C.H. The Nature of Wilt Disease of Plants. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 1987.
2. Гагкаева Т.А., Гаврилова О.П., Леви́тин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур // Приложение к журналу «Защита и карантин растений». – 2011. – № 5. – 112 с.
3. Семенов А.Н., Дивашук М.Г., Баженов М.С., Карлов Г.И., Леунов В.И., Ховрин А.Н., Егорова А.А., Соколова Л.М., Терешонкова Т.А., Алексеева К.Л., Леунова В.М. Сравнительный анализ полиморфизма микросателлитных маркеров у ряда видов рода *Fusarium* // Известия Тимирязевский сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 1. – С. 40-50.
4. Иванюк В.Т., Нефедова Л.Г., Свиридова А.В. Методы и результаты оценки моркови на устойчивость к сухим гнилям // Бюлл. ВАСХНИЛ. – Л.: ВИР, 1989. – Т. 192. – С. 42-45.
5. Алексеева К.Л., Иванова М.И. Болезни зеленных овощных культур (диагностика, профилактика, защита). – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2015. – 188 с.
6. Леунов В.И., Ховрин А.Н., Терешонкова Т.А., Соколова Л.М., Горшкова Н.С., Алексеева К.Л. Методы ускоренной селекции моркови столовой на комплексную устойчивость к грибным болезням (*Alternaria* и *Fusarium*): методические рекомендации / Отв. за выпуск И.И. Тарасенков. – М.: Россельхозакадемия; ГНУ ВНИИО, 2011. – 61 с.
7. Хохряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов. – Л.: ВИЗР, 1979. – 78 с.
8. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др. Методы экспериментальной

микологии. – Киев: Наукова думка, 1982. – 552 с.

9. Соколова Л.М., Егорова А.А., Терешонкова Т.А., Алексеева К.Л. Ускоренный метод выделения в чистую культуру и характеристика грибов р. *Fusarium*, поражающих морковь столовую // Селекция и семеноводство овощных культур. – 2014. – № 45. – С. 496-501.

References

1. Beckman C.H. The Nature of Wilt Disease of Plants. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 1987.
2. Gagkaeva T.A., Gavrilova O.P., Levitin M.M., Novozhilov K.V. Fuzarioz zernovykh kultur // Prilozhenie k zhurnalu «Zashchita i karantin rasteniy». – 2011. – № 5. – 112 s.
3. Semenov A.N., Divashuk M.G., Bazhenov M.S., Karlov G.I., Leunov V.I., Khovrin A.N., Egorova A.A., Sokolova L.M., Tereshonkova T.A., Alekseeva K.L., Leunova V.M. Sravnitelnyy analiz polimorfizma mikrosatellitnykh markerov u ryada vidov roda *Fusarium* // Izvestiya Timiryazevskiy selskokhozyaystvennoy akademii. – 2016. – № 1. – S. 40-50.
4. Ivanyuk V.T., Nefedova L.G., Sviridova A.V. Metody i rezultaty otsenki morkovi na ustoychivost k sukhim gnilyam // Byull. VASKhNIL. – 1989. – T. 192. – L.: VIR. – S. 42-45.
5. Alekseeva K.L., Ivanova M.I. Bolezni zelenykh ovoshchnykh kultur (diagnostika, profilaktika, zashchita). – M.: FGBNU «Rosinformagrotekh», 2015. – 188 s.
6. Leunov V.I., Khovrin A.N., Tereshonkova T.A., Sokolova L.M., Gorshkova N.S., Alekseeva K.L. Metody uskorennoy selektsii morkovi stolovoy na kompleksnyu ustoychivost k gribnym boleznyam (*Alternaria* i *Fusarium*) / Metodicheskie rekomendatsii / Otv. za vypusk I.I. Tarasenkov. – M.: Rosselkhozakademiya. GNU VNIIO, 2011. – 61 s.
7. Khokhryakov M.K. Metodicheskie ukazaniya po eksperimentalnomu izucheniyu fitopatogennykh gribov. – L.: VIZR, 1979. – 78 s.
8. Dudka I.A., Vasser S.P., Ellanskaya I.A. i dr. Metody eksperimentalnoy mikologii. – Kiev: Naukova dumka, 1982. – 552 s.
9. Sokolova L.M., Egorova A.A., Tereshonkova T.A., Alekseeva K.L. Uskorennyy metod vydeleniya v chistuyu kulturu i kharakteristika gribov r. *Fusarium*, porazhayushchikh morkov stolovuyu // Selektsiya i semenovodstvo ovoshchnykh kultur. – 2014. – № 45. – S. 496-501.