

УДК 632.913

ФОМОЗНА ГНИЛЬ (ГАНГРЕНА) КАРТОПЛІ

Мінка Л. В., Бокшан О. Я.

Фомозна гниль (гангрена) картоплі. — Л. В. Мінка, О. Я. Бокшан. — Вивчено морфолого-культуральні особливості *Phoma exigua* var. *exigua* виділеного з патологічного матеріалу картоплі (бульби та бадилля). Встановлено, що гриби *Phoma exigua* sp. добре ростуть і утворюють пікніди на різних штучних поживних середовищах. Найбільш швидкий ріст гриба відмічали на 2% солодовому агарі та КДА (рН 7, +22⁰С). Найбільш придатним для пікнідоутворення є середовище Леоніана (рН 6–8, +22⁰С), де вже на 5–6 день спостерігається утворення пікнід та пікніоспор.

Ключові слова: фомоз, антрахінон морфолого-культуральні властивості, пікніди, пікніоспори.

Адреса: Закарпатський територіальний центр карантину рослин ІЗР НААНУ, вул. Університетська, 21, Ужгород, Україна; e-mail: carantin@carantin.uzhgorod.ua

Gangrene of potato. — L. Minka, O. Bokshan. — Morphological properties of *Phoma exigua* var. *exigua*, isolated from a potato pathological material (tubers and stems), has been investigated. It is established, that fungi *Phoma exigua* sp. well grows and forms pycnidium on various artificial nutrient mediums. The fastest growth of a fungus marked on 2 % malt agar and PDA (pH 7, +20–22⁰ C). The most suitable for pycnidium formation was Leonian's medium (pH 6–8, +20–22⁰ C) where for 5–6 day formation of pycnidium and pycnidiospores was observed.

Key words: phoma, anthraquinone, morphological properties, pycnidium, pycnidiospores.

Address: Transcarpathian territorial centre of plant quarantine IPP UAAS, Uzhgorod, Universytets'ka, 21, Uzhgorod, Ukraine; e-mail: carantin@carantin.uzhgorod.ua

Вступ

Картопля є цінною продовольчою та технічною культурою. Проте, значних збитків картоплярству завдають грибні хвороби картоплі. Серед них і фомозна гниль (гангрена) картоплі, втрати від якої в період зберігання бульб можуть перевищувати 25 %, а при висаджуванні інфікованого посадкового матеріалу – 36,1% [6].

Збудником цієї хвороби є гриб *Phoma exigua* sp. Цей патоген зустрічається у двох варіативних формах - *Phoma exigua* var. *foveata* (Foister) Voerema, (1967) та *Phoma exigua* var. *exigua* Sacc., (1879) і кожна із них здатна викликати фомоз картоплі. Проте гриб *Phoma exigua* var. *foveata* уражує лише картоплю і є більш агресивним, а *Phoma exigua* var. *exigua* характеризується слабкою патогенністю, широко розповсюджений в ґрунті як сапрофіт та має велике коло рослин-господарів [8, 11].

Походить *Ph. exigua* var. *foveata* із Анд [8]. Імовірно, що в 1930 роках, разом з посадковим матеріалом збудник був завезений в Шотландію [9]. Надалі патоген *Ph. exigua* var. *foveata* розширив свій ареал, який на даний час охоплює біля 45 країн Європи, Північної та Південної Америки, Африки та Океанії. На сьогодні, гангрена картоплі присутня у країнах, які знаходяться в безпосередній близькості від кордонів нашої держави: Польщі, Румунії, Угорщині, Чехії, Білорусії, Росії.

Ph. exigua var. *foveata* тривалий час був включений в національні списки карантинних організмів

Європи, в тому числі, і України. У вітчизняних наукових літературних джерелах відомості щодо збудника цієї хвороби обмежені. Існують лише окремі повідомлення про виявлення фомозу на території України і зовсім відсутні дані, яким із варіантів збудника зумовлена хвороба.

За морфологічними та в більшості і культуральними характеристиками обидва варіанти гриба подібні, і відрізняються лише здатністю *Ph. exigua* var. *foveata* продукувати при культивуванні на 2% солодовому агарі пігмент антрахінон [8, 10, 11]. Тому остаточна ідентифікація повинна базуватись на розділенні варіацій грибів за цією ознакою.

Метою наших досліджень було визначити збудника, що викликає фомозну гниль картоплі в умовах Закарпатської області, вивчити його біохімічні та морфолого-культуральні властивості.

Матеріали та методи досліджень

Матеріалом досліджень слугували зразки бульб та бадилля картоплі відібрані в період зберігання та під час вегетації рослин, а також ізоляти гриба *Phoma exigua* sp.

Розділення *Phoma exigua* sp. на варіанти *exigua* та *foveata* проводили на основі вивчення культуральних властивостей гриба на 2% солодовому агарі та за допомогою біохімічного тестування з використанням NaOH-тесту [2, 7, 10]. Для цього, на край колонії 10-ти добової культури гриба, яку культивували на 2% солодовому агарі при температурі +22⁰С додавали краплю

10% NaOH. Патоген *Ph. exigua* var. *foveata* здатний продукувати пігмент антрахінон тому, при застосуванні NaOH-тесту, спостерігається поява фіолетової або вишневої плями, що і свідчить про наявність пігменту.

В разі наявності патогену *Ph. exigua* var. *exigua*, який не утворює пігмент антрахінон, спостерігається зміна кольору від синювато-зеленуватого (через 10 хв.) до коричнево-червонуватого (через 60 хв.), що зумовлено наявністю метаболіту "Е".

Морфолого-культуральні властивості *Phoma exigua* sp. досліджували на різних поживних середовищах: картопляно-декстрозному агарі (КДА), 2% солодовому агарі, середовищі Леоніана, 2% мальтозному агарі, вівсяному агарі, середовищі Чапека, картопляно-декстрозному бульйоні (КДБ) за загальноприйнятими методиками [1, 3, 4, 5]. Для пригнічення росту бактерій, у поживні середовища додавали антибіотик (стрептоміцин) [9].

Для встановлення найбільш оптимальної температури для росту культури *Ph. exigua* sp. на різних середовищах проводили інкубування ізолятів при різних температурах: +6, +10–15, +22, +24°C. Повторність дослідів 3-х кратна.

Обліки проводили щоденно, фіксували початок росту міцелію (доба), тип міцелію (повітряний, субстратний чи занурений) та пікнідоутворення (доба) на кожному із досліджуваних поживних середовищ. Розмір пікнід і пікноспор вимірювались за загальноприйнятою методикою [4].

Результати досліджень та їх обговорення.

В результаті мікологічної експертизи з патологічного матеріалу картоплі (бульби та бадилля) був виділений патогенний гриб *Phoma exigua* sp.

При культивуванні ізолятів *Ph. exigua* sp. на 2 % солодовому агарі протягом перших трьох діб спостерігали утворення сірувато-білого міцелію, що згодом набував темно-коричневого забарвлення. Пікнідоспори у цього виду мали овально-циліндричну форму, що формувались у пікнідах округлої форми, темно-коричневого забарвлення.

В результаті внесення до 10 денної культури 10% натрію їдкою, спостерігали зміну кольору від зеленуватого (через 10 хв.) до червонуватого (через 60 хв.), що зумовлено наявністю метаболіту "Е", що притаманний для патогена *Ph. exigua* var. *exigua*.

При вивченні характеру росту ізолятів *Ph. exigua* var. *exigua* було встановлено, що даний патоген добре росте і утворює пікніди на різних поживних середовищах.

Найбільш швидкий ріст міцелію був відмічений на КДА, 2% мальтозному агарі, 2% солодовому агарі і середовищі Леоніана; помірний – на середовищі Чапека і вівсяному агарі. Пікніди найшвидше утворювались на середовищі Леоніана, де вже на 5–6-ий день їх кількість була значною. Найпізніше пікніди утворювались на середовищі Чапека та вівсяному агарі (табл. 1).

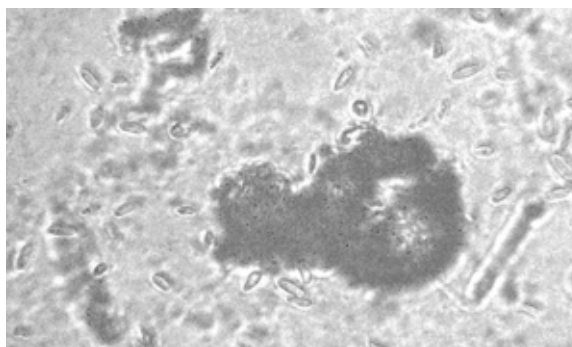
Таблиця 1. Характеристика росту *Phoma exigua* var. *exigua* на поживних середовищах

Поживне середовище	Початок росту міцелію (доба)	Пікнідоутворення (доба)	Характеристика колонії
картопляно-декстрозний агар	3	7–8	Міцелій повстаний, розгалужений, від темно-сірого до брудно-коричневого кольору з світлим краєм
2% мальтозний агар	2–3	7	Міцелій субстратний, темно-сірого кольору, в центрі колонія має темно-оливкове забарвлення, край колонії урізаний
2% солодовий агар	2–3	7	Міцелій добре розвинутий, повстаний, щільний, спочатку сірувато-білого кольору, згодом темнішав та набував темно-коричневого забарвлення
вівсяний агар	5	9	Міцелій пухкий, повзучий, темно-оливкового кольору, в центрі ватоподібний з брудно-сірим відтінком
середовище Леоніана	3–4	5–6	Міцелій розвивався слабо, субстратний, від коричневого до темно-чорного забарвлення
середовище Чапека	4–5	8–9	Міцелій субстратний, добре розвинутий, колонії від темно-сірого до чорного забарвлення, в центрі світло-сірий.
картопляно-декстрозний бульйон	–	10	Утворення пікнід дуже повільне

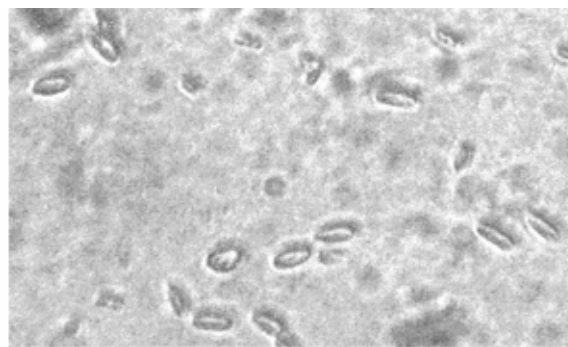
Колір міцелію гриба в перші два дні мав однакове забарвлення (від світло-сірого до темно-сірого) на всіх поживних середовищах. Проте з часом структура колоній та їх колір змінювались. Інтенсивному росту та пікнідоутворенню гриба сприяла наявність в середовищі вуглеводів: мальтози та сахарози. Поряд з тим, було відмічено, що пікніди та пікноспори виділених ізолятів дещо різнились за розмірами та формою при культивуванні на різних поживних середовищах. Пікноспори були безбарвні з однією або дво-

ма крапельками жиру, форма - від овальної до овально-циліндричної, що характерно для виду *Phoma exigua* sp. (рисунок).

Найбільші за розмірами пікніди гриба утворювались на середовищі Леоніана (277,1±4,7 x 271,3±4,0), найменші – на середовищі Чапека (191,5±2,3 x 187,6±2,3). Пікноспори найбільших розмірів (6,01±1,11 x 2,88±0,06) та найменших (94,65±0,08 x 2,37±0,04) відмічалися, відповідно, на цих же середовищах (табл. 2).



А



Б

Рисунок. Вигляд пікніди та пікноспор *Phoma exigua* var. *exigua*: А – пікніда, Б – пікноспори

Таблиця 2. Характеристика пікнід та пікноспор *Phoma exigua* var. *exigua* на поживних середовищах

Поживне середовище	Розмір пікнід, мкм.	Розмір пікноспор, мкм.
картопляно-декстрозний агар	196,7±2,9 x 195,2±2,7	5,16±0,08 x 2,49±0,05
2% мальтозний агар	192,4±3,2 x 191,3±3,5	4,79±0,10 x 2,64±0,04
2% солодовий агар	213,5±1,8 x 213,3±2,0	5,25±0,10 x 2,57±0,09
вівсяний агар	194,4±3,3 x 191,3±3,5	4,97±0,07 x 2,40±0,04
середовище Леоніана	277,1±4,7 x 271,3±4,0	6,01±1,11 x 2,88±0,06
середовище Чапека	191,5±2,3 x 187,6±2,3	4,66±0,08 x 2,38±0,04
картопляно-декстрозний бульйон	223,5±1,8 x 221,3±2,0	5,05±0,07 x 2,49±0,04

Таблиця 3. Вплив температури на початок росту міцелію та пікнідоутворення *Phoma exigua* var. *exigua* на різних поживних середовищах

Поживне середовище	Початок росту міцелію (доба)				Пікнідоутворення (доба)			
	температура °С				температура °С			
	+6	+10–15	+22	+24	+6	+10–15	+22	+24
картопляно-декстрозний агар	–	5–7	3	7	–	10–12	7–8	10–11
2% мальтозний агар	–	5–6	2–3	6	–	10	7	11
2% солодовий агар	–	7–8	2–3	7–8	–	14	7	14
вівсяний агар	–	8–9	6	9	–	15	9–10	15
середовище Леоніана	–	7–8	3–4	9	–	10	5–6	12
середовище Чапека	–	14	4–5	10–11	–	14	8–9	14
картопляно-декстрозний бульйон	–	–	–	–	–	–	10	14

За даними літератури міцелій гриба на штучних поживних середовищах здатний розвиватися в температурних межах від +2 до 24°C [5]. В сховищах, розвиток гриба на бульбах картоплі, відбувається при температурі +5–6°C [8, 11]. За результатами наших досліджень міцелій гриба на штучних поживних середовищах здатний розвиватися в температурних межах від +10 до 24°C. Встановлено, що оптимальною температурою для утворення міцелію гриба на більшості із досліджуваних середовищ, є температура +22°C. При культивуванні гриба за температури +6°C міцелій не утворювався на жодному із досліджуваних середовищ протягом періоду спостережень (21-а доба) (табл. 3).

При вивченні впливу реакції середовища (рН) на ріст патогена було встановлено, що *Ph. exigua* var. *exigua* на штучних поживних середовищах розвивається в діапазоні рН 5–8, оптимальна реакція середовища для розвитку гриба – нейтральна (рН 7), а для утворення пікнід – рН 6–8.

Таким чином, важливим моментом при ідентифікації збудника фомозу картоплі є визначення варіанту *Phoma exigua* sp.. Оскільки більші економічні збитки завдає саме *Ph. exigua* var. *foveata*, виявлення цієї варіації зумовлює необхідність застосування більш радикальних засобів захисту картоплі.

Висновки

1. В результаті мікологічної експертизи з патологічного матеріалу картоплі (бульби та бадилля) був виділений патогенний гриб *Phoma exigua* sp., який ідентифіковано як *Ph. exigua* var. *exigua*.
2. Встановлено, що на різних штучних поживних середовищах, структура, колір та розміри міцелію *Ph. exigua* var. *exigua* відрізняються.
3. Найкращим поживним середовищем для прискореного пікнідоутворення *Ph. exigua* var. *exigua* є середовище Леоніана.
4. Для диференціації варіантів *Phoma exigua* sp. необхідно проводити біохімічне тестування з використанням NaOH-тесту.

1. Кирай З., Климент З., Шоймоши Ф., Вереш М. Методи фитопатологии. // М.: Колос, 1974 – 342 с.

2. Малуго А. А., Коняева Н. М. Сравнительное изучение *Phoma exigua* Desm. var. *exigua* i *Phoma exigua* Desm. var. *foveata*

- (Foister) Boerema, вызывающих пуговичную гниль клубней картофеля в Западной Сибири // Агроэкологические проблемы защиты сельскохозяйственных культур в Сибири и Казахстане. – Новосибирск, 1990. – С. 85–88.
3. *Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів ДСТУ 4180–2003*. – Київ. – Держспоживстандарт України 2003. – С. 5–32.
 4. *Попкова К. В., Шмыгля В. А.* // Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений. Пер. с нем. – М.: Агропромиздат, 1987. – С. 79–130.
 5. *Попов Ф. А.* Изучение фомоза картофеля в условиях Белорусской ССР и меры борьбы с ним: Автореф. дис...канд. с-х наук. – Минск, 1978. – 20 с.
 6. *Родігін В. М., Марютін Ф. М., Устінов І. Д., Сикало О. О., Кравченко Л. І.* Карантинні хвороби рослин. – Харків, 2002. – С. 220–225.
 7. *Alenka Munda.* Izolacija in identifikacija glive *Phoma exigua* var. *foveata* (Foister) Boerema, povzročiteljice gangrene krompirjevih gomoljev. Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin Zreče, 4. – 6. marec 2003. – Str. 444–448.
 8. *Boerema G. H.; van Kesteren H. A.* Mycological diagnostic problems // Bulletin OEPP/EPPO. – 1981. – 11. – P. 113–118.
 9. *Otazu, Boerema, Mooi, Salas.* Possible geographical origin of *Phoma exigua* var. *foveata*, the principal causal organism of potato gangrene. Potato Research 22, 1979. – P. 333–338.
 10. *Phoma exigua* var. *foveata* – inspection and test methods // OEPP/EPPO Quarantine procedures, Bulletin OEPP/EPPO, No. 23. – 1989. – 19. – P. 157–160.
 11. *Smith I. M. McNamara D. G., Scott P. R., Holderness M.* *Phoma exigua* var. *foveata*. Data Sheets on Quarantine Pest. Quarantine Pest for Europe. Second Edition. CABI International @ EPPO. UK. 1425 p. – P. 865–871.

Отримано: 10 червня 2010 р.

Прийнято до друку: 24 червня 2010 р.