

**РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММОВ *FUSARIUM ROAE*
(РЕСК) *WOLLENW.* И *PENICILLIUM FUNICULOSUM* THOM**

Проведено сравнительное изучение ростовых характеристик и особенностей потребления глюкозы штаммами *Fusarium roae* и *Penicillium funiculosum*, выделенными из разных местообитаний. Установлено, что штаммы *F. roae* и *P. funiculosum* различаются по ростовым характеристикам. Удельная скорость роста эндофитного штамма *F. roae* была максимальной ($0,38 \text{ час}^{-1}$), ниже – у фитопатогенного ($0,30 \text{ час}^{-1}$) и наименьшей – у почвенного штамма ($0,18 \text{ час}^{-1}$). В отличие от этого, уровень накопления биомассы был максимальным у почвенного штамма *F. roae* и минимальным – у фитопатогенного, эндофитный штамм занял промежуточное положение. Высокий экономический коэффициент был характерен для штамма из почвы и минимальный для эндофита при среднем уровне биомассы и удельной скорости роста.

В отличие от штаммов *F. roae*, удельная скорость роста почвенного штамма *P. funiculosum* была выше, чем у эндофита ($0,35$ и $0,24 \text{ час}^{-1}$ соответственно). Уровень биомассы эндофитного штамма был достоверно выше, чем у почвенного, а экономический коэффициент выше в 2,3 раза у эндофита по сравнению с почвенным штаммом.

Ключевые слова: *Fusarium roae*, *Penicillium funiculosum*, удельная скорость роста, экономический коэффициент, биомасса, эндофит, фитопатоген, почвенный штамм.

В последние годы значительно возрос интерес к изучению видового состава и физиологических особенностей эндофитных грибов, биологическая роль которых до настоящего времени выяснена недостаточно [20]. В этой группе грибов встречаются представители разных таксонов. Штаммы-эндофиты *Fusarium roae* и *Penicillium funiculosum* с высокой частотой выделялись из разных органов кустарничков порядка Ericales, ряда травянистых и древесных пород, обитающих на загрязненных радионуклидами лесных сфагновых болотах Житомирской и Ровенской областей [7]. Представители этих видов выделяются из различных типов почв и климатических зон, из ризосферы, корней и филлопланы растений [1, 6, 10, 16 – 19, 22]. Они обнаруживаются в семенах многих растений. Штаммы *F. roae* вызывают фузариозы, корневые и стеблевые гнили разных культур [7, 9, 13, 18, 21].

Штаммы *F. roae* и *P. funiculosum* синтезируют широкий спектр биологически активных веществ, однако в литературе представлены единичные работы, посвященные особенностям их трофики [1, 18, 21]. К сожалению, отсутствуют также работы относительно изучения ростовых характеристик штаммов разных трофических групп этих видов как интегрального показателя их общего физиологического состояния.

Целью данного исследования было сравнительное изучение ростовых характеристик и особенностей потребления глюкозы штаммами *F. roae* и *P. funiculosum*, выделенными из разных местообитаний.

Материалы и методы. Объектами исследования были штаммы *F. roae* трех трофических групп: эндофит 50685 (корень клюквы, Житомирская обл., 1999), фитопатоген 50673 (зерно пшеницы, Киевская обл., 2007), почвенный 50661 (лесная почва под липой, Киевская обл., 1999); а также эндофитный 16784 (стебель клюквы, Житомирская обл., 1999) и почвенный 16783 (садовая почва, Херсонская обл., 2000) штаммы *P. funiculosum*. Штаммы поддерживаются в коллекции культур грибов отдела физиологии и систематики микромицетов Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины.

Посевным материалом служила стандартная суспензия (1×10^6 конидий/мл) 10-дневной культуры грибов, которую вносили в количестве 10 % (об./об.) в среду Чапека с 20 г/л глюкозы [12]. Культивирование изученных штаммов грибов проводили в течение 10 суток в колбах Эрленмейера емкостью 0,75 л, содержащих 0,2 л среды, на качалках (232 об/мин, температура $26 - 28^\circ\text{C}$), pH среды 4,7.

Количество образованной биомассы определяли гравиметрически (высушивание до постоянного веса при 70°C), концентрацию глюкозы в среде – модифицированным методом Бертрана [11, 12]. Изменение pH культуральной среды регистрировали на универсальном ионномере ЭВ-74 [12].

© И.Н. Курченко, А.К. Павличенко, Е.М. Юрьева, 2013

Удельную скорость роста (μ) в экспоненциальной фазе, экономический (Y) и метаболический коэффициенты в стационарной фазе рассчитывали в соответствии с общепринятыми формулами [14].

Полученные результаты были обработаны статистически, представлены графически и проанализированы с применением пакета компьютерных программ STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel [8].

Результаты. Изученные штаммы *F. poae* и *P. funiculosum* на питательной среде с глюкозой росли интенсивно и к 4,5–6 суткам достигали стационарной фазы роста (рис. 1, 2). Исключение составлял эндофитный *P. funiculosum* 16783, стационарная фаза у которого достигалась лишь на 7-е сутки культивирования.

Изученные штаммы *F. poae* характеризовались мицелиальным ростом, а удельная скорость роста была максимальной у эндофитного штамма ($0,38 \pm 0,069$), несколько ниже у фитопатогенного ($0,30 \pm 0,022$) и минимальной ($0,18 \pm 0,005$) – у почвенного штамма. Уровень накопленной биомассы в стационарной фазе роста был максимальным у штамма *F. poae*, выделенного из почвы, различие по данному параметру с эндофитным штаммом составляло 27 %. У эндофитного штамма при умеренном уровне биомассы и максимальной удельной скорости роста экономический коэффициент составлял $20,3 \pm 0,71$ и был наименьшим среди исследованных (табл. 1).

Таблица 1

Показатели роста и потребления глюкозы штаммами *F. poae* и *P. funiculosum*

Штамм	Исследованные характеристики					
	Удельная скорость роста μ , час ⁻¹	Продолжительность log фазы, час	Содержание глюкозы на 10 сут, г/л	Метаболический коэффициент	Максимальная биомасса, г/л	Экономический коэффициент Y , %
<i>Fusarium poae</i>						
Фитопатоген 50673	$0,30 \pm 0,022$	до 24	$1,9 \pm 1,2$	$0,034 \pm 0,0006$	$2,66 \pm 0,037$	$24,9 \pm 0,12$
Эндофит 50685	$0,38 \pm 0,069$	до 24	$0,2 \pm 0,09$	$0,033 \pm 0,0014$	$3,97 \pm 0,724$	$20,3 \pm 0,71$
Почвенный 50661	$0,18 \pm 0,005$	до 36	$0,3 \pm 0,22$	$0,020 \pm 0,0012$	$5,43 \pm 1,047$	$31,4 \pm 1,79$
<i>Penicillium funiculosum</i>						
Эндофит 16784	$0,24 \pm 0,070$	до 24	$6,0 \pm 1,75$	$0,010 \pm 0,001$	$5,76 \pm 0,573$	$46,4 \pm 1,13$
Почвенный 16783	$0,35 \pm 0,004$	до 36	$0,1 \pm 0,07$	$0,029 \pm 0,002$	$4,09 \pm 0,092$	$20,5 \pm 0,33$

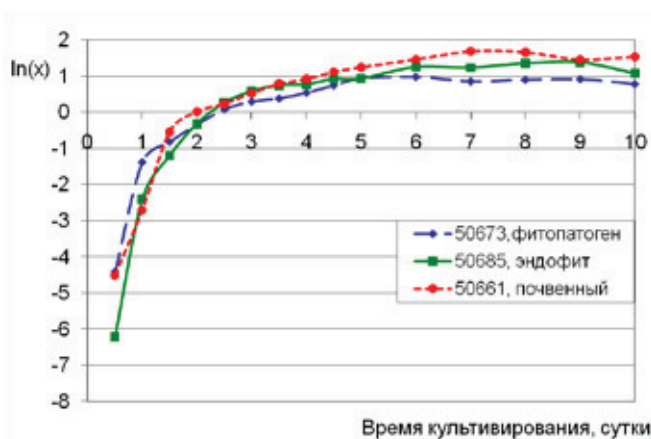


Рис. 1. Кривые роста штаммов *F. poae*, выделенных из разных местообитаний.

Изученные штаммы *P. funiculosum* отличались по характеру роста. Для эндофитного штамма был характерен пеллетный рост, в то время как для почвенного – мицелиальный. Почвенный штамм *P. funiculosum* 16783 характеризовался более высокой удельной скоростью роста по сравнению с эндофитным. При этом уровень биомассы последнего был достоверно выше, чем у почвенного. В то же время экономический коэффициент у эндофита был в 2,3 раза выше по сравнению с почвенным штаммом (табл. 1).

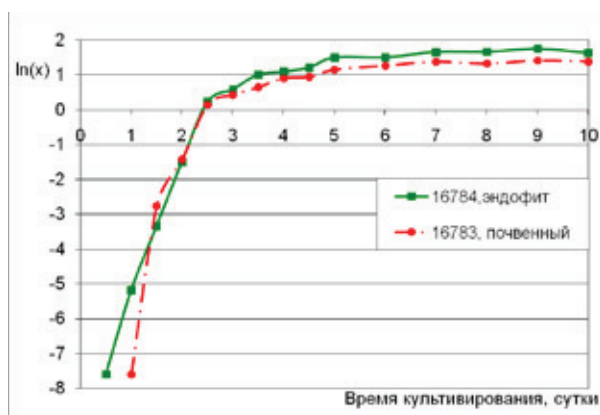


Рис. 2. Кривые роста штаммов *P. funiculosum*, изолированных из почвы и стебля клюквы.

При культивировании почвенного штамма *P. funiculosum* значение pH среды оставалось практически без изменений от исходного 4,7 до 4,6. В то же время эндофитный штамм на 80-й час роста подщелачивал среду до pH 6,92 и образовывал пеллеты диаметром 1 – 2 мм. Дальнейшее культивирование сопровождалось подкислением среды до pH 5,3, что согласуется с данными, полученными ранее для гриба *Thielavia* sp., который характеризовался гифальным ростом при pH 4,0 и пеллетным – при pH 7,0 соответственно [3].

Таким образом, фитопатогенный и эндофитный штаммы *F. roae* характеризовались большой скоростью роста в течение первых суток культивирования, затем следовало резкое ее снижение. При этом при выходе их на стационарную фазу в питательной среде оставалось еще 40–50% глюкозы. После стадии активного роста наступает нехватка некоторых компонентов питания (витамины, микроэлементы, био-, олиго- и полимеры и др.), которые есть в растениях и нет в среде Чапека, что предшествует синтезу вторичных метаболитов из продуктов обмена глюкозы. Почвенный штамм *F. roae* опережает по уровню максимальной биомассы два других штамма, несмотря на более низкую удельную скорость роста (стационарная фаза наступает при содержании глюкозы в культуральной жидкости – 10 % от начального количества).

Фитопатогенный и эндофитный штаммы *F. roae* быстрее и эффективнее утилизируют глюкозу из питательной среды в процессе активного роста. Разница в скорости снижения содержания глюкозы в среде у фитопатогенного и эндофитного штаммов связана с различной скоростью роста и уровнем максимальной биомассы (выше у эндофита). У фитопатогенного и эндофитного штаммов глюкоза больше расходуется на синтез внеклеточных метаболитов, необходимых для существования в растении. Требование к питательным веществам этих штаммов иное – запасание веществ в биомассе не является приоритетным для данных культур. В то же время штамм, изолированный из почвы, медленнее, но устойчивее (длительность лог-фазы 24 час против 12 – у фитопатогена и эндофита) в накоплении биомассы и имеет более высокий экономический коэффициент, т.е. ориентированный на накопление биомассы метаболизм.

Различия в ростовых параметрах почвенного и эндофитного штаммов *P. funiculosum* могут быть связаны с характером их роста – мицелиальным или пеллетным соответственно. Растущий в виде пеллет, эндофит имеет более низкую удельную скорость роста и метаболический коэффициент по сравнению с почвенным штаммом.

Обсуждение. Полученные нами результаты согласуются с данными, полученными для других видов грибов, характеризующихся высокой скоростью роста. Так, при изучении роста *Thielavia* sp. на среде с глюкозой в виде двух морфологических форм (пеллеты и гифы) установлено, что удельная скорость роста не зависит от мицелиальной структуры и составляет в первой экспоненциальной фазе 0,306 для пеллет и 0,349 ч⁻¹ для гиф, а во второй экспоненциальной фазе 0,106 и 0,116 ч⁻¹ соответственно [3]. Величина экономического коэффициента составляла 30,5 ± 1,9 и 43,6 ± 2,5% для пеллет и гиф соответственно. Значения экономического и метаболического коэффициентов свидетельствовали о том, что в метаболизме пеллет *Thielavia* sp. преобладают энергодающие процессы. Для гриба *T. terrestris* показано, что величина экономического коэффициента была выше у гифальной формы, достигая 45,3 ± 5,6% на стадии ветвления мицелия и 53,3 ± 7,8% – на стадии набухания конидий [4].

Более низкая удельная скорость роста у эндофитного штамма *P. funiculosum* (0,25 против 0,35 ч⁻¹) может быть связана с его пеллетным характером роста. В то же время у растущего гифально почвенного штамма экономический коэффициент невысок, а удельная скорость метаболизма глюкозы в 3 раза выше, чем у эндофита, т.е. почвенный штамм метаболически более активен и менее ориентирован на накопление биомассы, чем эндофит. По своим ростовым параметрам почвенный штамм *P. funiculosum* более сходен с эндофитным штаммом *F. poae*.

Для большинства штаммов *F. sporotrichiella* экономические коэффициенты составляли 23–57% [2], а для *Phoma solanicola* 25% [5]. Для видов рода *Penicillium*, которые выращивали в стационарных условиях на среде с 20 г/л глюкозы и экономический коэффициент определялся по углероду, было установлено, что эффективность потребления субстрата для *P. westlingii* варьировала от 14 до 40%, для *P. aurantiogriseum* в среднем составляла 41%, *P. spinulosum* – 38–55% и была значительно ниже для *P. purpurescens* [15].

Таким образом, нами установлено, что штаммы *F. poae* и *P. funiculosum*, выделенные из разных местообитаний, различаются по ростовым характеристикам. Удельная скорость роста эндофитного штамма *F. poae* была максимальной (0,38 ± 0,069 ч⁻¹), ниже – у фитопатогенного (0,30 ± 0,022 ч⁻¹) и наименьшей – у почвенного штамма (0,18 ± 0,005 ч⁻¹). В отличие от этого, уровень накопления биомассы был максимальным у почвенного и минимальным – у фитопатогенного штамма *F. poae*, эндофитный штамм при этом занимает промежуточное положение. Высокий экономический коэффициент был характерен для почвенного штамма и минимальный для штамма-эндофита при среднем уровне биомассы и удельной скорости роста. В отличие от штаммов *F. poae*, удельная скорость роста почвенного штамма *P. funiculosum* была выше, чем у эндофита. Уровень биомассы эндофитного штамма был достоверно выше, чем у почвенного, а экономический коэффициент выше в 2,3 раза у эндофита по сравнению с почвенным штаммом.

I.M. Курченко, А.К. Павличенко, О.М. Юр'єва

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

РОСТОВІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАМІВ *FUSARIUM POAE* (РЕСК) *WOLLENW.* ТА *PENICILLIUM FUNICULOSUM THOM*

Резюме

Проведено порівняльне вивчення ростових характеристик та особливостей засвоєння глюкози штамми *Fusarium poae* і *Penicillium funiculosum*, які були виділені з різних місцевостей. Встановлено, що штамми *F. poae* і *P. funiculosum* відрізняються за ростовими характеристиками. Питома швидкість росту ендоефітного штаму *F. poae* була максимальною (0,38 год⁻¹), нижчою – у фітопатогенного (0,30 год⁻¹) та найменшою – у ґрунтового штаму (0,18 год⁻¹). На противагу цьому, рівень накопичення біомаси був максимальним у ґрунтового штаму *F. poae* і мінімальним – у фітопатогенного, ендоефітного штаму посів проміжне положення. Високий економічний коефіцієнт був характерним для штаму з ґрунту і мінімальним для ендоефіта при середньому рівні біомаси та питомій швидкості росту.

На відміну від штамів *F. poae*, питома швидкість росту ґрунтового штаму *P. funiculosum* була вищою, ніж у ендоефіта (0,35 та 0,24 год⁻¹ відповідно). Рівень біомаси ендоефітного штаму був достовірно вищим, ніж у ґрунтового, а економічний коефіцієнт вищим в 2,3 рази у ендоефіта порівняно з ґрунтовым штамом.

К л ю ч о в і с л о в а: *Fusarium poae*, *Penicillium funiculosum*, питома швидкість росту, економічний коефіцієнт, біомаса, ендоефіт, фітопатоген, ґрунтовий штам.

I.N. Kurchenko, A.K. Pavlychenko, E.M. Yurieva

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

GROWTH CHARACTERISTICS OF *FUSARIUM POAE* (PECK) WOLLENW. AND *PENICILLIUM FUNICULOSUM THOM* STRAINS

S u m m a r y

A comparative study of growth characteristics and peculiarities of glucose utilization by *Fusarium poae* and *Penicillium funiculosum* strains isolated from different habitats was conducted. It was found that *F. poae* and *P. funiculosum* strains differ as to their growth characteristics. Specific growth rate of endophytic strain *F. poae* was maximal (0.38 h⁻¹), lower for plant pathogenic one (0.30 h⁻¹) and the lowest for soil strain (0.18 h⁻¹). In contrast,

the level of biomass accumulation was the highest for soil strain *F. poae* and minimal for plant pathogenic strain, endophytic strain took up an intermediate position. High economic coefficient was characteristic of soil strain and minimal of endophyte at medium biomass level and specific growth rate.

In contrast to the strains of *F. poae*, the specific growth rate of soil strain of *P. funiculosum* was higher than that of endophyte one (0.35 and 0.24 h⁻¹, respectively). Biomass level of endophytic strain was significantly higher than that of the soil strain, and economic coefficient was 2.3 times higher for endophyte in comparison with soil strain.

The paper is presented in Russian.

К е у в о р д с: *Fusarium poae*, *Penicillium funiculosum*, specific growth rate, economic coefficient, biomass, endophyte, plant pathogen, soil strain.

Т х е а у т о р ' с а д р е с с: Kurchenko I.N. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Билай В.И. Фузари. – Киев: Наук. думка, 1977. – 443 с.
2. Брюхина И.П. Влияние различных источников углеродного питания на рост и спорообразование гриба *Fusarium sporotrichiella* // Экспериментальная микология. – Киев: Наук. думка, 1968. – С. 124–131.
3. Громозова Е.Н., Фомина М.А., Блажчук И.С., Подгорский В.С. Физиологические особенности роста различных мицелиальных структур *Thielavia* sp. на среде с глюкозой // Микробиол. журн. – 1989. – **51**, № 1. – С. 43–46.
4. Громозова Е.Н., Шемшур Т.В., Фомина М.А. Формирование мицелиальных структур под действием условий культивирования на разных стадиях развития микромицетов // Микол. и фитопатол. – 1989. – **23**, № 3. – С. 202–205.
5. Дорожкин Н.А., Бельская С.И., Попов Ф.А. Влияние источников углеродного и азотного питания на рост и развитие *Phoma solanicola* Prill. et Del. // Там же. – 1978. – **12**, № 4. – С. 310–314.
6. Жданова Н.Н., Кучма Н.Д., Василевская А.И., Захарченко В.А., Наконечная Л.Т., Артышкова Л.В. Микобиота лесной подстилки Чернобыльской зоны отчуждения и ее влияние на накопление ¹³⁷Cs сеянцами сосны обыкновенной (*Pinus silvestris*) // Там же. – 2005. – **39**, № 1. – С. 18–26.
7. Курченко И.Н., Соколова Е.В., Орлов А.А., Жданова Н.Н. Эндофитные микромицеты высших растений и их экологическая роль в круговороте ¹³⁷Cs в биогеоценозах сфагновых болот Украинского Полесья // Прикладная радиоэкология леса. – Житомир: Полісся, 2007. – С. 359–412.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия / 4-е изд. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
9. Левитин М.М., Иващенко В.Г., Шипилова Н.П., Нестеров А.Н., Гагкаева Т.Ю., Поторочина И.Г., Афанасьева О.Б. Возбудители фузариоза колоса зерновых культур и форм проявления болезни на северо-западе России // Микол. и фитопатол. – 1994. – **28**, № 3. – С. 58–64.
10. Марфенина О. Е. Антропогенная экология почвенных грибов. – М.: Медицина для всех, 2005. – 195 с.
11. Методы биохимического исследования растений / Под ред. Н.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, Ленинградское отделение, 1987. – С. 134–135.
12. Методы экспериментальной микологии: Справочник. – Киев: Наук. Думка, 1982. – 550 с.
13. Микроорганизмы – возбудители болезней растений / Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г., Краев В.Г., Элланская И.А., Зирка Т.И., Мурас В.А./ Под ред. В.И. Билай. – Киев: Наук. Думка, 1988. – 552 с.
14. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1978. – 331 с.
15. Тугай Т.И., Василевская А.И., Артышкова Л.В., Бузарова Е.И., Наконечная Л.Т. Динамика роста и особенности потребления глюкозы некоторыми видами рода *Penicillium*, проявляющими радиоадаптивные свойства // Микол. и фитопатол. – 2010. – **44**, № 5. – С. 452–461.
16. Шеховцев А.Г., Элланская И.А., Диголь Д. Фузари в почвах лесных фитоценозов Украины и некоторых регионов России // Там же. – 1998. – **32**, № 5. – С. 79–84.
17. Dickinson C.H., Boardman F. Physiological studies of some fungi isolated from peat // Trans. Brit. Mycol. Soc. – 1970. – **55**, N 2. – P. 293–305.
18. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of soil fungi / Second edition. – Eching: IHW-Verlag, 2007. – 672 p.
19. Grum-Grzhimaylo O.A., Bilanenko E.N. Microfungal assemblages in decomposing *Sphagnum* spp. from bogs in National Park “Smolenskoye Poozerye” // XV Congress of European Mycologist. – Saint Petersburg, Russia, September 16–21, 2007: Abstracts. – St. Petersburg: TREEART LLC, 2007. – P. 75.
20. Sinclair J.B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi // Plant Disease. – 1991. – **75**, N 3. – P. 220–224.
21. Stenglein S.A. *Fusarium poae*: a pathogen that needs more attention // J. Plant Pathol. – 2009. – **91**, N1. – P. 25–36.
22. Thormann M.N., Currah R.S., Bayley S.E. Microfungi isolated from *Sphagnum fuscum* from a Southern Boreal Bog in Alberta, Canada // The Bryologist. – 2001. – **104**, N 4. – P. 548–559.

Отримано 23.11.2012