

ПЕРЕВАГИ ТА НЕДОЛІКИ

двох модифікацій біологічного методу аналізу мікобіоти насіння пшениці

Мета. Визначити найефективнішу модифікацію біологічного методу аналізу мікобіоти насіння пшениці озимої. **Методи.** Лабораторний — аналіз мікобіоти насіння пшениці озимої біологічним методом на КГА та на фільтрувальному папері (волога камера, рулони), визначення грибів на середовищі КГА на основі сучасної ревізії таксонів; аналітичний та математичний — аналіз одержаних результатів та їх статистичне порівняння. **Результати.** За першої фітоекспертизи насіння у 2007 р. одержали значний відсоток зараження грибами (37,6%), що викликало сумніви та привело до наступного напрямку досліджень — порівняння модифікацій біологічного методу. У 2008 р. фітоекспертизу насіння пшениці чотирьох сортів (Дріада, Подолянка, Одеська 267, Писанка) провели на КГА та на паперових рулонах. Статистичне порівняння результатів заселеності грибами всього насіння, визначеної двома модифікаціями грибів, було неістотним. У 2010 р. аналіз насіння трьох сортів (Українка полтавська, Одеська 267, Донська) показав істотну різницю між результатами на різних субстратах. На КГА виділили більшу кількість колоній, ніж на паперових рулонах. За порівняння особливостей зараження окремими родами зробили висновок, що альтернативних та фузарієвих грибів було виділено також більше на агарі. У 2020 р. порівняли результативність аналізу мікофлори насіння на агарі та папері на сорті Богдана з Лісостепу та Полісся і встановили більшу кількість виділення грибних колоній та ширший видовий спектр грибів — на КГА. **Висновки.** Фітоекспертиза насіння пшениці у 2010 р. продемонструвала істотну різницю між кількістю всього зараженого

Т.О. РОЖКОВА,
 кандидат біологічних наук,
 доцент кафедри захисту рослин
 Сумський національний аграрний
 університет, вул. г. Кондратьєва, 160,
 м. Суми, 40021, Україна
 e-mail: rozhkova8@gmail.com

насіння та окремо з фузарієвими й альтернативними грибами на КГА та паперових рулонах. Аналіз мікокомплексу насіння на КГА визначив новий напрям досліджень: від виявлення зараженості насіння до заселення грибами, а потім — до аналізу мікобіоти з визначенням відсотка колоній родів/видів серед всієї кількості грибів. Аналіз мікокомплексу в 2020 р. на агарі та у вологій камері показав кращу результативність першої модифікації біологічного методу. Але вона має недоліки: розростання грибів-забруднювачів, паразитування мікофільних грибів. Аналіз мікобіоти на фільтрувальному папері має швидкий показовий результат, але не демонструє всього спектра грибів. Тому для наукових досліджень краще застосовувати агарові середовища.

біологічний метод; КГА; волога камера; паперові рулони; аналіз мікобіоти; насіння; пшениця озима

Насіння містить усередині різні мікроорганізми, які нині розглядають як мікробіом. Більшість цього мікробного комплексу складають гриби, роль яких ще до кінця не зрозуміла. Відомо, що частина з них є фітопатогенними видами, які зберігаються всередині насіння або на ньому, спричиняючи зараження на перших етапах розвитку рослин, особливо за проростання. Але

більшість грибів є ендofітами, які не мають негативної дії на рослини, а позитивно впливають, продукуючи вторинні метаболіти, підвищуючи посухостійкість та стійкість до патогенів, стимулюючи ріст та розвиток рослин. Ендofітна мікробіота пов'язана з рослиною-господарем упродовж всього її онтогенезу [1–3].

У світі здебільшого вивчають не весь спектр грибів насіння пшениці, а більш поширені чи шкідливі. *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. — є найшкідливішими видами, тому що здатні продукувати мікотоксини. Особливо небезпечними є фузарієві гриби з найширшим спектром вторинних метаболітів, які постійно досліджують за причини їх значної шкідливості щодо рослин, людини та тварин. Вони спричиняють значні економічні втрати, знижуючи кількість та якість продукції забрудненням її мікотоксинами [4]. Альтернативні гриби найпоширеніші у мікокомплексі насіння пшениці. Останніми роками *Alternaria* sp. мають значний відсоток виділення серед грибів насіння у світі: в Україні [5, 6], у країнах Європейського союзу [7, 8], на півночі Африки [9], у Південній Америці [10, 11], Росії [12] та країнах Азії [13, 14].

Менше було досліджень з визначення мікобіоти насіння пшениці за причини складності діагностики всіх видів. З аналізу літературних даних встановили, що у мікобіоті насіння пшениці у XXI ст. у світі було визначено такі роди: *Acremonium* sp., *Alternaria* sp. (*Ulocladium* sp. відносять до *Alternaria* sp.), *Arthrinium* sp., *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., *Cephalosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Cochliobolus* sp.,

Curvularia sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Gliocladium* sp., *Microdochium* sp., *Mortierella* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Pyrenophora* sp., *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia* sp., *Stemphylium* sp., *Trichoderma* sp., *Trichothecium* sp. та *Verticillium* sp.

Нині для аналізу грибного комплексу насіння застосовують біологічний та молекулярні методи. Біологічний метод більш доступний для українських вчених, тому більшість результатів отримана цим методом. Лише фузарієві гриби з насіння пшениці в Україні діагностують за допомогою ПЛР-аналізу [15]. Біологічний метод має дві модифікації: пророщування насіння у вологій камері та на агаровому середовищі. Перед ученим, який починає дослідження, завжди постає питання вибору модифікації. Тому ми їх порівняли для виявлення найпридатнішого для аналізу мікобіоти насіння пшениці.

Мета досліджень — визначити найефективнішу модифікацію біологічного методу аналізу мікобіоти насіння пшениці озимої.

Матеріали та методи. Зразки насіння отримали з різних господарств Сумської області. Сорт Богдана виростили в умовах Лісостепу (Навчально-науковий виробничий комплекс Сумського національного аграрного університету) та умовах Полісся (Шосткінський район). Аналіз мікобіоти насіння провели біологічним методом у двох модифікаціях згідно ДСТУ 4138:2002. Насіння проростили на фільтрувальному папері (рулони та кола у чашках Петрі) та на картопляно-глюкозному агаровому середовищі. Насіння перед розкладанням промоли під струменем холодної води, витримали у 1% розчині марганцевокислого калію 1—2 хв та промоли стерилізованою водою. Чашки та рулони інкубували у термостаті за температури 22—24°C упродовж семи діб. Гриби ідентифікували, користуючись даними з джерел: Т.Ю. Гагкаєва та ін. [16], Т. Watanabe [17], К. Schubert та ін. [18], Р. Zalar та ін. [19], G. Walther G. [20], E.J. Warham та ін. [21].

Результати та обговорення.

Наукові дослідження було розпочато з проведення фітоекспертизи насіння пшениці озимої за діючим стандартом для визначення насінневої інфекції, зупинившись лише на роботі з фітопатогенними видами. Вперше її провели у 2007 р. на КГА, отримавши показники заселеного грибами насіння — 37,6%, як ми на той час вважали. У нас виникли сумніви стосовно обраного методу. Біологічний метод, на нашу думку, дозволяв найефективніше виділяти фітопатогенні види. Він є найпоширенішим для визначення грибної інфекції насіння зернових і дозволяє виявити внутрішню інфекцію. Цей метод базується на стимулюванні розвитку мікроорганізмів, дозволяє встановити вид збудника та ступінь інфікування насіння [22]. Маючи досвід роботи з поживними середовищами та вологими камерами, розуміли особливості досліджень та результативності. Тому перед нами постало завдання визначити найефективнішу модифікацію біологічного методу.

Спочатку провели фітоекспертизу насіння пшениці з чотирьох сортів (Дріада, Подолянка, Одеська 267, Писанка) врожаю 2008 р. двома модифікаціями: на КГА та паперових рулонах. Отримали різні результати ураження грибами окремих сортів. Але підрахунок загальної кількості насіння з грибними коло-

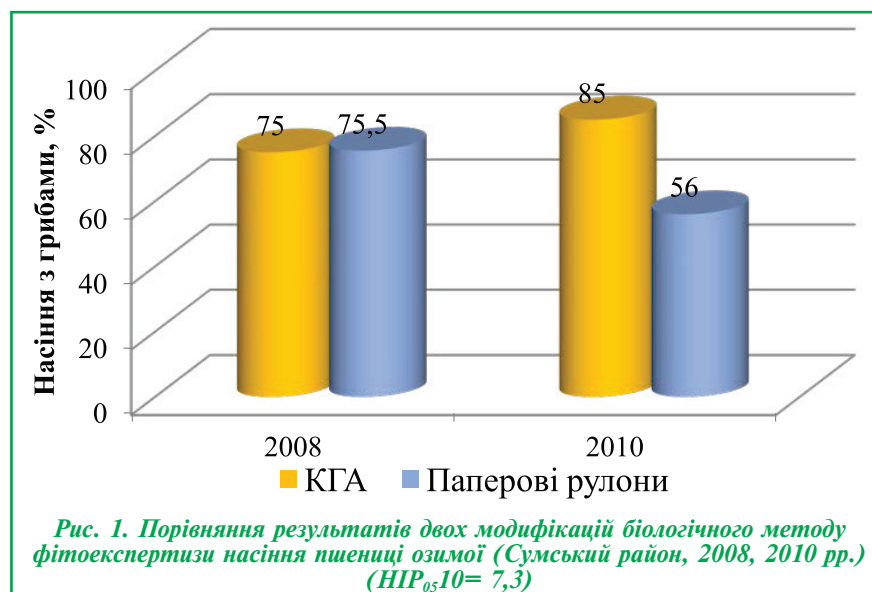
ніями та їх статистичне порівняння продемонструвало відсутність істотної різниці між двома модифікаціями. Вдалося зробити висновки щодо виділення фузарієвих та альтернарієвих грибів: перші краще виділялись на поживному середовищі, другі — на паперових рулонах [23]. У 2010 р. провели фітоекспертизу насіння пшениці у цих двох модифікаціях на трьох сортах (Українка полтавська, Одеська 267, Донська). Відзначили істотну різницю між результатами, отриманими на різних субстратах (рис. 1).

За результатами 2010 р. можна було зробити висновки про більшу результативність фітоекспертизи, проведеної за допомогою поживного середовища КГА, де виявили 85% насіння з грибними колоніями. Окрім кількості насіння з грибами визначили, що ними були види фузарієвих та альтернарієвих грибів.

Вивчення присутності колоній різних видів усередині насіння також показало вищі показники на поживному середовищі (рис. 2).

На середовищі КГА було виділено більше альтернарієвих та фузарієвих грибів, ніж на паперових рулонах, що підтвердило їх статистичне порівняння: $НІР_{05} A = 15,4$; $НІР_{05} F = 3,7$.

Мали змогу порівняти результати фітоекспертизи врожаїв двох років 2008 та 2010 за рахунок аналізу одного сорту Одеська 267 (рис. 3).



У 2008 р. різниця насіння з грибами між двома субстратами становила лише 2%, а у 2010 р. — 14,5% (і виявилась істотною: $НІР_{05} = 7,9$) на користь модифікації з використанням поживного середовища. Також було виділено і більшу кількість окремих родів на КГА ($НІР_{05}F = 5,1$; $НІР_{05}A = 4,8$).

За порівняння двох методів аналізу насіння (blotter method — фільтрувальний папір, agar method) А.А. Mohmed та ін. [24] визначили більшу кількість грибів родів *Aspergillus* та *Penicillium* на агарі, ніж на папері.

За результатами двох років дослідження, особливо за даними останнього року, було прийнято рішення, що для подальшої фітоекспертизи насіння пшениці озимої доцільно застосовувати поживне середовище, яке дозволяло виявити найбільшу кількість насінин, що містили усередині гриби.

Обрана нами модифікація біологічного методу з використанням поживного середовища поступово змінила вектор наших досліджень. На поживному середовищі почали активно виділяти інші гриби, про які ми не мали уяви, вивчивши всю спеціальну літературу з фітопатології. Виявили випадки наявності кількох грибів усередині однієї насінини. Почали визначати не кількість насіння з грибами, а відсоток виділення грибів серед всіх колоній. Тобто поступово з проведення фітоекспертизи перейшли на вивчення мікобіоти насіння пшениці озимої. Маючи багаторічний досвід роботи з різними компонентами мікокомплексу насіння, вирішили ще раз більш детально порівняти різні субстрати для виділення грибних колоній. Також застосували середовище КГА та фільтрувальний папір, але цього разу його кружки розклали у чашки Петрі. Робота з визначення кількості грибних колоній виявилась більш результативною, порівняно з попереднім визначенням заселеного насіння (результати 2008 та 2010 рр.).

Перерахунок колоній, які проросли на поживному середовищі

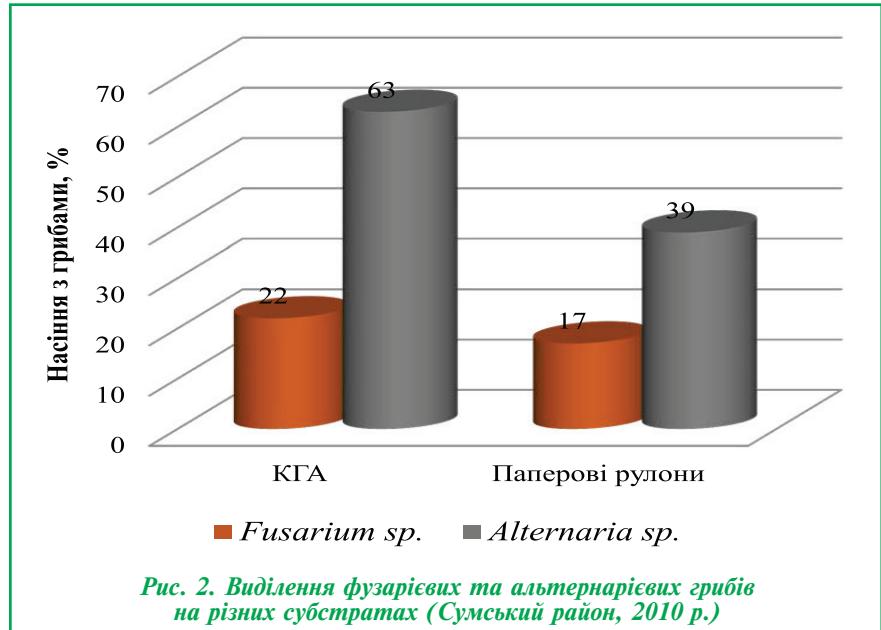


Рис. 2. Виділення фузарієвих та альтернарієвих грибів на різних субстратах (Сумський район, 2010 р.)

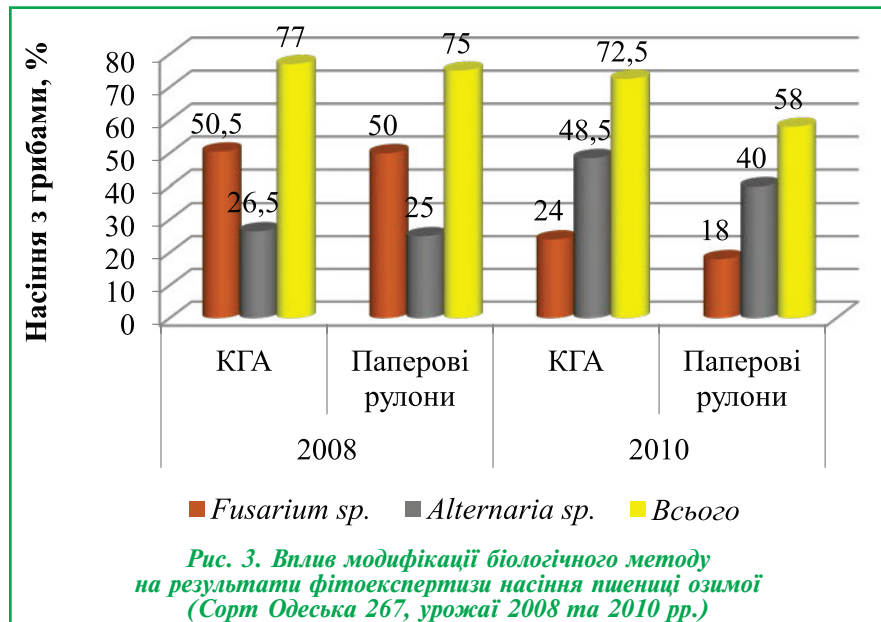


Рис. 3. Вплив модифікації біологічного методу на результати фітоекспертизи насіння пшениці озимої (Сорт Одеська 267, урожаї 2008 та 2010 рр.)

та на фільтрувальному папері, на однакову кількість насінин показав більшу кількість грибів з насіння за виділення першим способом (табл. 1).

Різницю колоній виявили з насіння, вирощеного у різних умовах вирощування культури. На агаровому середовищі з насіння з Лісостепу проросло майже

вдвічі більше грибних колоній, ніж на фільтрувальному папері. Кількість колоній з насіння з Полісся на різних субстратах різнилася менше, ніж у Лісостепу.

Крім того, візуалізація результатів — це важливий фактор, який впливає на подальшу оцінку ураження певної партії насіння. Навіть дослідник може

1. Кількість грибних колоній за аналізу насіння пшениці озимої двома модифікаціями біологічного методу (сорт Богдана, 2020 р.)

Зона вирощування	Кількість колоній на 100 насінин, шт.		НІР ₀₅
	Агарове середовище	Фільтрувальний папір	
Лісостеп	143	79	12,2
Полісся	105	71	11,3

не звернути увагу на насіння, яке добре проросло, але має на своїй поверхні непомітний неозброєним оком наліт. Більше уваги він приділить насінню з рясним розвитком гриба, пропустивши факт ураження насіння. Поза увагою залишаться мікроорганізми, які утворюють малопомітні нальоти, незалежно від їхньої площі (рис. 4).

З рисунка 4 видно, що за використання вологої камери майже половина насіння не має нальотів. На середовищі чітко бачимо проростання темних колоній з кожної насінини. Підрахунок нальотів показав їх більшу кількість на насінні, але мікроскопування довело присутність спороношення на неураженому зовні зерні.

Детальне вивчення кожної насінини за допомогою мікроскопа показало цікаві результати, порівняно з первинним оглядом чашок Петрі (табл. 2).

Вивчення за допомогою мікроскопа нальотів грибів з насіння, розкладеного на фільтрувальний папір, показало, що вони були утворені альтернарієвими грибами. Детальне вивчення нібито «чистого» насіння виявило наявність спороношення, яке складалось з ланцюжків цих гіфоміцетів. Також виявили і кілька нальотів, які склались виключно з міцелію грибів. За допомогою КГА вдалося виділити ширший спектр грибів, ніж за допомогою фільтрувального паперу. Відзначили одночасне проростання кількох колоній з одного насіння. Зазвичай, альтернарієвий гриб міг прорости разом з іншим. Кількість колоній грибів була більшою на агаровому середовищі. Співвідношення грибів у мікофлорі насіння різнилось залежністю від субстрату для аналізу, що було пов'язано з ширшою репрезентативністю грибів на агарі.

Комплекс грибів з насіння, вирощеного в умовах Лісостепу, був різноманітнішим, ніж у зоні Полісся (табл. 3).

Якщо у зоні Полісся відсоток виділення домінуючих альтернарієвих грибів на різних субстра-



Рис. 4. Візуалізація результатів біологічного методу (7-й день) за допомогою різних субстратів (фільтрувальний папір, КГА) (Сорт Богдана, Полісся, 2020 р.)

тах не так сильно різнився, то зразок із Лісостепу показав більшу показову здатність агарового середовища, ніж фільтрувального паперу. Вдалося отримати майже вдвічі більше колоній. На фільтрувальному папері з 79-ти колоній 60,8% були *Alternaria* sp., а на агарі — із 143-х колоній 58,8% виявились альтернарієвими грибами. Також на агарі визначили більшу кількість видів та родів грибів. З однієї насінини пшениці виросло від 1 до 3—4 грибних колоній. Найчастіше спостерігали одночасну появу альтернаріє-

вого гриба, *T. roseum* та невідомого міцелію. Співвідношення грибів у мікофлорі насіння пшениці з зони Лісостепу також визначалось субстратом для виділення грибів, але частка альтернарієвих грибів була майже однаковою.

Проведення порівняння субстрату для виявлення грибів мікофлори після багаторічного досвіду з роботою на середовищі підтвердило правильність обрання цієї модифікації на початку досліджень. На середовищі виділяється ширший спектр грибів, вони краще ростуть, їх можна

2. Вплив субстрату на результати фітоекспертизи насіння пшениці озимої (Сорт Богдана, Полісся, врожай 2020 р.)

Субстрат	Відсоток виділення колоній грибів від їх загальної кількості, %
Фільтрувальний папір	<i>Alternaria</i> sp. — 94,4 Інші види грибів 5,6
Агарове середовище	<i>Alternaria</i> sp. — 73,3 <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud. — 21,0 <i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.: Fr.) Link — 1,9 <i>Mucor mucedo</i> L. — 1,0 Інші види грибів — 2,8

3. Вплив субстрату на результати фітоекспертизи насіння пшениці озимої (Сорт Богдана, Лісостеп, врожай 2020 р.)

Субстрат	Відсоток виділення колоній грибів від їх загальної кількості, %
Фільтрувальний папір	<i>Alternaria</i> sp. — 60,8 <i>Penicillium</i> sp. — 10,6 <i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill. — 8,4 <i>Trichothecium roseum</i> (Pers.) Link — 8,4 Інші види грибів — 11,8
Агарове середовище	<i>Alternaria</i> sp. — 58,8 <i>T. roseum</i> 17,5 <i>Trichoderma</i> sp. — 2,8 <i>Penicillium</i> sp. — 2,1 <i>Harzia acremonioides</i> Les Mucédinées — 2,1 <i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb. — 0,7 Інші види грибів — 13,9

легко взяти для пересіву і подальшого визначення, а також кращий розвиток грибів дозволяє прослідкувати за особливостями розвитку рослин у їх значній присутності. Але впродовж багатьох років досліджень мали певні труднощі з розростанням грибів-забруднювачів (*Neurospora sitophila* Shear, *Mucor mucedo* L. та *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill.).

В Індії за аналізу мікофлори на фільтрувальному папері та на агаровому середовищі з попередньою обробкою насіння пшениці нітратом калію більше видів грибів було виділено першим методом, що пояснили тим, що гриби пригнічувались іншими, які швидко ростуть, та середовище було несприятливим для розвитку певних видів [25].

За нашими спостереженнями застосування фільтрувального паперу має доцільність за вивчення альтернарієвих грибів. Робота з ними на середовищі мала для нас дуже багато проблем за рахунок їх співіснування з іншими грибами, особливо мікофільними. Вони

часто руйнували характерний габітус спороношення альтернарієвих грибів, а також від них було важко позбутись за пересіву в чисту культуру (рис. 5).

Більш детальне вивчення альтернарієвих грибів на фільтрувальному папері показало добрий ріст спороношення, особливо на поверхні самої насінини. Тобто, якщо на меті є лише ідентифікація видів роду *Alternaria* sp., то ефективний варіант їх вирощування з насіння на папері з подальшим пересівом на спеціальні середовища для підтвердження розгалуження спороношення. Попереднє виділення альтернарієвих грибів у вологій камері рекомендував Ф.Б. Ганнібал [12].

На фільтрувальному папері у зразку насіння з Лісостепу ми спостерігали добре розвинуті спороношення з типовими габітусами, характерними для *A. alternata*, *A. tenuissima* та *A. arborescens*. На середовищі часто траплялося співіснування грибів, коли спороношення альтернарії було недорозвинутим. З насіння,

вирощеного в умовах Лісостепу, на фільтрувальному папері часто зустрічали добре сформовані спороношення *A. arborescens*, *A. avenicola* та *A. alternata* (рис. 6). У той час на середовищі виявили наявність лише *A. arborescens*.

Дослідження виконано в рамках бюджетної наукової теми «Фітоекспертиза насінневого матеріалу та продовольчого зерна зернових колосових культур» 0115U001875.

ВИСНОВКИ

На початку досліджень за результатами двох років аналізів (2008 та 2010 рр.) було визначено найоптимальнішу модифікацію фітоекспертизи насіння пшениці за допомогою поживного середовища (КГА), вона дозволила виділити найбільшу кількість насіння з грибними колоніями. Фітоекспертиза насіння пшениці на КГА змінила вектор дослідження: визначення зараженості насіння на заселеність, а потім на аналіз мікобіоти насіння, тобто визначення присутності видів серед всіх грибних колоній. Порівняння різних субстратів для аналізу мікобіоти насіння з різних агрокліматичних зон (Лісостепу та Полісся) у 2020 р. показало меншу кількість виділення колоній та видів грибів на фільтрувальному папері, ніж на агаровому середовищі. Але на фільтрувальному папері краще пророщувати з насіння *Alternaria* sp., адже вони добре спороносять на поверхні насінин, з подальшим пересівом на спеціальні середовища

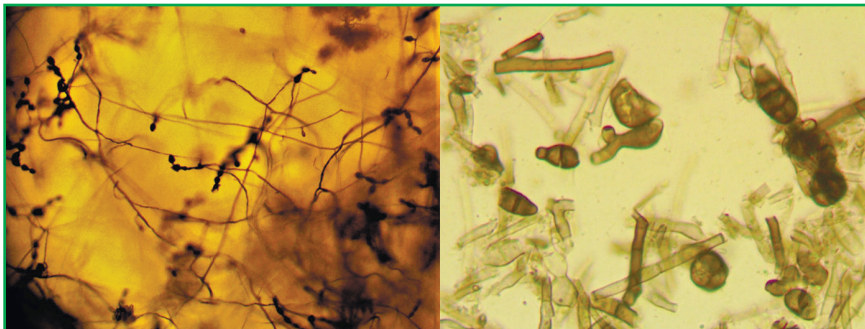


Рис. 5. Руйнування спороношення альтернарієвого гриба мікопаразитом



Рис. 6. Спороношення різних видів грибів з роду *Alternaria* sp. з поверхні насіння на фільтрувальному папері: 1 — *A. avenicola* з Полісся; 2 — *A. tenuissima* з Лісостепу; 3 — *A. arborescens* з Лісостепу

для підтвердження розгалуження спороношення.

Отже, аналіз насіння на агаровому середовищі дозволяє визначити ширший видовий спектр та проростити більшу кількість грибів, але має недоліки: розростання грибів-забруднювачів, паразитування мікофільних грибів. Аналіз мікобіоти на фільтрувальному папері має швидкий показовий результат, але не демонструє всього спектра грибів. Тому для наукових досліджень краще застосовувати агарові середовища.

ЛІТЕРАТУРА

- Hardoim P.R., van Overbeek L.S., Berg G., Pirttila A.M., Compant S., Campisano A., Doring M., Sessitsch A. The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2015. Vol. 79. P. 293—320. doi.org/10.1128/MMBR.00050-14
- Shahzad R., Khan A.L., Bilal S., Asaf S., Lee Y.J. What is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth. *Front. Plant Sci.* 2018. Vol. 9. P. 24. doi.org/10.3389/fpls.2018.00024
- Kuźniar A., Włodarczyk K., Grządziel J., Woźniak M., Furtak K., Galęzka A., Dziadczyk E., Skórzyńska-Polit E., Wolińska A. New insight into the composition of wheat seed microbiota. *International journal of molecular sciences.* 2020. Vol. 21(13). P. 4634. doi.org/10.3390/ijms21134634
- Crous P.W., Lombard L., Sandoval-Denis M., Seifert K.A., Schroers H.J., Chaverri P., Gené J., Guarro J., Hirooka Y., Bensch K., Kema G., Lamprecht S.C., Cai L., Rossman A.Y., Stadler M., Summerbell R.C., Taylor J.W., Ploch S., Visagie C.M., Yilmaz N., ... Thines M. Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in mycology.* 2021. Vol. 98. P. 100116. doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116
- Голосна Л.М. Видовий склад грибів роду *Alternaria* Nees на зерні пшениці озимої. *Карантин і захист рослин.* 2015. № 5. С. 1—3.
- Рожкова Т.О. Вплив генотипу на репрезентативність *Alternaria* sp. усередині насіння пшениці озимої. *Карантин і захист рослин.* 2021. № 3 (266). С. 8—12. doi.org/10.36495/2312-0614.2021.3.8-12
- Mašková Z., Tančinová D., Barboráková Z., Felšöciová S., Čisarová M. Comparison of occurrence and toxigenicity of *Alternaria* spp. isolated from samples of conventional and new cross-bread wheat of Slovak origin. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences.* 2012. Vol. 1. P. 552—562.
- Ramires F.A., Masiello M., Somma S., Viliani A., Susca A., Logrieco A.F., Luz C., Meca G., Moretti A. Phylogeny and mycotoxin characterization of *Alternaria* species isolated from wheat grown in Tuscany, Italy. *Toxins.* 2018. Vol. 10 (11). P. 472. doi.org/10.3390/toxins10110472
- Gargouri-Kammoun L., Bensassi F., Mnari-Hattab M., Rhouma A. Identification of *Alternaria* species recovered from stored durum wheat kernels in Tunisia. *Tunis. J. Plant. Prot.* 2014. Vol. 9. P. 119—129.
- Casa R., Kuhnem P., Bogo A., Belani A., Bolzan J., Souza F., Blum M. Survey, survival and control of *Alternaria alternata* in wheat seeds. *Revista Brasileira de Sementes.* 2011. Vol. 34. P. 358—365. doi.org/10.1590/S0101-31222012000300001
- Ovidio M., Sturm M., Reynoso M., Chulze S., Ramirez M. Toxigenic profile and AFLP variability of *Alternaria alternata* and *Alternaria infectoria* occurring on wheat. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*. 2013. Vol. 44. P. 447—455. doi.org/10.1590/S1517-83822013000200017
- Ганнибал Ф.Б. Изучение факторов, влияющих на развитие альтернариоза зерна у злаков, возделываемых в Европейской части России. *Сельскохозяйственная биология.* 2018. Вып. 53, № 3. С. 605—615. doi.org/10.15389/agrobiology.2018.3.605rus
- Xu W.J., Han X.M., Zhang J., Pan Z., Li F.Q., Zhang L.S. Survey on fungi contamination of wheat harvested in 2015 from Anhui province of China. *Health Sci.* 2016. Vol. 54. P. 92—96.
- Turzhanova A., Khapilina O.N., Tumenbayeva A., Shevtsov V., Raiser O., Kalendar R. Genetic diversity of *Alternaria* species associated with black point in wheat grains. *Peer J.* 2020. Vol. 8: e9097. doi.org/10.7717/peerj.9097
- Швартай В.В., Зозуля О.Л., Михальська Л.М., Санін О.Ю. Фузариоз культурних рослин. Монографія. Київ: Логос, 2016. 164 с.
- Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерно-вых культур. *Защита и карантин растений.* 2011. № 5. С. 70—112.
- Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi. CRS Press LLC.: Boca Raton, FL, USA, 2002. 486 p.
- Schubert K., Groenewald J.Z., Braun U., Dijksterhuis J., Starink M., Hill C.F., Zalar P., de Hoog G.S., Crous P.W. Biodiversity in the Cladosporium herbarum complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for Cladosporium taxonomy and diagnostics. *Studies in Mycology.* 2007. Vol. 58. P. 105—156. doi.org/10.3114/sim.2007.58.05
- Zalar P., Gostincar C., de Hoog G.S., Ursic V., Sudhadham M., Gunde-Cimerman N. Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. *Studies in mycology.* 2008. Vol. 61. P. 21—38. doi.org/10.3114/sim.2008.61.02
- Walther G., Pawłowska J., Alastruey-Izquierdo A., Wrzosek M., Rodriguez-Tudela J.L., Dolatabadi S., Chakrabarti A., de Hoog G.S. DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. *Persoonia.* 2013. Vol. 30. P. 11—47. doi.org/10.3767/003158513X665070
- Warham E.J., Butler L.D., Sutton B.C. Seed testing of maize and wheat. A laboratory guide. CIMMYT, 1997. 182 p.
- Кирик М.М., Піковський М.Й. Патологія насіння сільськогосподарських культур: навчальний посібник для підготовки фахівців ОКР «Магістр» спец. 8.09010501 «Захист рослин» у ВНЗ III-IV рівнів акредитації; за ред. М.М. Кирика. Київ: ЦП «Компринт», 2012. 208 с.
- Рожкова Т.О., Татарінова В.І., Дмитрівська А.О., Хоменко О. Порівняння ефективності методів фітоекспертизи насіння озимої пшениці. *Вісник Сумського національного аграрного університету: науковий журнал. Сер. «Агронія і біологія».* 2010. Вип. 4 (19). С. 56—60.
- Mohmed A.A., Elsiddig M.A., Haroun N.E. Isolation of seed borne pathogens associated with some cereal grains in Khartoum state (Sudan). *International Journal of Scientific and Research Publications.* 2019. Vol. 9 (4). P. 110—113. doi.org/10.29322/IJSRP.9.04.2019.p8818
- Singh J., Srivastava S., Sinha A., Bose B. Studies on seed mycoflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) treated with potassium nitrate and its effect on germination during storage. *Research Journal of Seed Science.* 2011. Vol. 4 (44). P. 148—156. doi.org/10.3923/rjss.2011.148.156

Rozhkova T.

Sumy National Agrarian University,
160, G. Kondratieva str., Sumy,
40021, Ukraine
e-mail: rozhkova8@gmail.com

Advantages and disadvantages of two modifications of the biological method of analysis of wheat seed mycobiota

Goal. To determine the most effective modification of the biological method of analysis of mycobiota of winter wheat seeds. **Methods.** Laboratory analysis of mycobiota of winter wheat seeds by biological method on PGA and on filter paper (wet chamber, rolls), determination of fungi on PGA medium on the basis of modern revision of taxa; analytical and mathematical — analysis of the obtained results and their statistical comparison. **Results.** During the first phytoexpertise of seeds in 2007, a significant percentage of fungal infections was 37.6%, which raised doubts and led to the next area of research — the comparison of modifications of the biological method. In 2008, phytoexpertise of wheat seeds of four varieties (Driada, Podolyanka, Odeska 267, and Pysanka) was carried out on PGA and on paper rolls. Statistical comparison of the results of fungi of all seeds, determined by the two modifications, was insignificant. In 2010, the analysis of seeds on three varieties (Ukrayinka poltav'ska, Odes'ka 267, and Dons'ka) showed a significant difference between the results obtained on different substrates. More colonies were isolated on the PGA than on paper rolls. *Alternaria* and *Fusarium* fungi were isolated more on agar medium than on paper rolls when comparing the characteristics of infection by individual genera. In 2020, we compared the effectiveness of the analysis of seed mycobiota on agar and paper on the variety of Bohdana from the Forest-Steppe and Polissya, finding more isolation of fungal colonies and a wider range of fungi on the PGA. **Conclusions.** Phytoexpertise of wheat seeds in 2010 showed a significant difference between the amount of total infected seeds and separately seeds with *Fusarium* and *Alternaria* fungi on PGA and paper rolls. The analysis of the myco-complex of seeds at the PDA identified a new direction of research: from the detection of seed contamination to the settlement of fungi, and then — to the analysis of mycobota with the determination of the percentage of genera / species among the total amount of fungi. Analysis of the micocomplex in 2020 on agar and in a wet chamber showed best results of the first modification of the biological method. But it has disadvantages: the growth of polluting fungi, parasitizing mycophilous fungi. Analysis of mycobiota on filter paper has a rapid demonstration result, but does not show the full range of fungi. Therefore, it is better to use agar media for research.

biological method; PGA; wet chamber; paper rolls; mycobiota analysis; seed; winter wheat

Надійшла 22.05.2022 р.