

**VILKAVIŠKIO „AUŠROS“ GIMNAZIJA**

**BAKTERIJŲ IR AUGALŲ IŠSKIRTŲ MEDŽIAGŲ POVEIKIS *FUSARIUM*  
GRYBO AUGIMUI**

**Viktorija Staneikaitė,**

**III klasė**

Darbo vadovas biologijos mokytoja metodininkė  
Daiva Paškauskienė

**2018**

## TURINYS

<b>ĮVADAS .....</b>	<b>3</b>
<b>LITERATŪROS APŽVALGA .....</b>	<b>4</b>
<b>DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI .....</b>	<b>5</b>
<b>TYRIMO METODIKA .....</b>	<b>6</b>
<b>DUOMENŲ ANALIZĖ IR REZULTATŲ APTARIMAS .....</b>	<b>10</b>
Antpiluose ir ekstraktuose esančių medžiagų poveikis <i>Fusarium graminearum</i> grybui ir palyginimas su fungicido „Folicur“ kalibracine kreive .....	10
Mikroorganizmo poveikis <i>Fusarium graminearum</i> grybui .....	12
Tiriamų augalų žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikio <i>Fusarium graminearum</i> grybo augimui .....	15
<b>IŠVADOS .....</b>	<b>16</b>
<b>LITERATŪRA .....</b>	<b>17</b>
<b>PRIEDAS .....</b>	<b>18</b>

## ĮVADAS

Varpų fuzariozė - tai liga, sukelta grybo *Fusarium spp.* Ja gali sirgti visi varpiniai javai. Fuzariozės padariniai - pažeista varpos dalis pasidengia šiuo grybeliu, tada dalis varpos lieka tuščia, o pažeisti grūdai pakeičia spalvą (gali pasidaryti nuo rausvos iki baltos spalvos), tampa minkšti ir lengvi. Bet tai dar būtų pakenčiama, jei ne nuodingos medžiagos - mikotoksinai, susidarančios ant grūdų dėl šio grybo. Net maži mikotoksinų kiekiai gali sukelti įvairius negalavimus tiek žmonėms tiek gyvuliams.

Fuzariozės grybelio atsikratyti sunku, nes jis gali peržiemoti ir su daiginimui atidėtais grūdais, ir su dirvoje paliktomis šalutinėmis javų dalimis.

Žinoma, šiai ligai gydyti naudojami tokie fungicidai kaip metkonazolas (juventus), protiokonazolas (input) ir tebukonazolas, bet nutaikyti tinkamą purškimo laiką labai sunku. Fungicidai ne visada pasitvirtina, o didžioji dalis chemikalų neatlieka reikiamą funkciją, o nusėda į žemę, vandenį, per kur patenka į organizmų mitybą. Jau nekalbant apie tai, kad pesticidai daugumą organizmų veikia labai neigiamai. O ką daryti ekologišką ūkį turintiems žmonėms.

Išgirdus, kaip šiais metais tėtis jaudinosi dėl fuzariozės (jo ūkis – ekologinis), man kilo idėja patikrinti, ar fuzariozės grybą gali naikinti įvairių augalų išskirtos medžiagos.

Už patarimus ir pagalbą, nustatant grybelio ir rasto mikroorganizmo rūšis, dėkoju VU JGMC Biochemijos instituto Molekulinės mikrobiologijos ir biotechnologijos skyriaus vyresniajai mokslo darbuotoja Vidai Časaitei.

## LITERATŪROS APŽVALGA

Šios rūšies grybai aptinkami visame pasaulyje. Dažniausiai vadinamas grūdinių kultūrų parazitu, nors yra išskirtas iš 40 rūšių augalų. P. E. Nelson ir kt. (1983) nurodo šių grybų toksiškumą. Žinomiausias šio grybo produkuojamas toksinas yra zearalenonas. Jeigu šio grybo pažeisti grūdai sumalti ir iškepta duona, tai ją suvalgčius žmonės pradžioje ims pykinti, vėliau jie pradės vemti, jiems svaigs ir skaudės galvą, žmogus jausis tartum girtas. Todėl tokia duona vadinama „girta duona“. Gyvulius pašėrus šio grybo pažeistais grūdais, pastebimas gyvulių susijaudinimas, sulėtėja, blogai koordinuojami judesiai, pasireiškia vulvovaginitas - lytinių organų ir makšties uždegimas, sutrinka regėjimas, arkliai tiesiog pasiunta. Šiuo metu žinomi keli šio toksino dariniai ir rastos tokios toksinės medžiagos: zeageninas, aureofusarinas, fusarenonas X, nivalenonas, toksinas T-2, rubrofusarinas, ravenalinas, trichotevinas, fusarinas C, kulmarinas, vomitoksinas, sambukoinas ir kt. (Domsch et al., 1980; Frisvad, 1988; Gravagen et al., 1994). Manoma, kad šios rūšies grybai yra sukėlėjai ligos, kuri pasireiškia išsėtinių kraujo dėmių atsiradimu odoje (Kwon-Chung, Bennett, 1992). (A. Lugauskas, 2002).

Kolonijos auga vešliai, per 5 dienas pasiekia 7,5-9,0 cm skersmenį, pūkų išvaizdos. Micelis susijungęs į gumulėlius, baltai rausvos arba raudonos kraujo spalvos. Makrokonidijos susitelkusios į sporodochijus arba tiesiog išoriniame micelyje. Jos verpstiškos arba pjautuvo formos, elipsiškai išlinkusios, į galus laipsniškai siaurėjančios. Viršutinė ląstelė šiek tiek ilgesnė, prie pagrindo ryškiai matoma kojėlė. Makrokonidijose dažniausiai matyti 3-6 pertvarėlės. Jų masė balkšvai rožinės, su geltonu auksiniu atspalviu arba raudonai purpurinės spalvos. Dydis su trimis pertvarėlėmis 25-66 x 3-6  $\mu\text{m}$ , su 5-35 x 3,2-6  $\mu\text{m}$  su 6- 50-75 x 4-6  $\mu\text{m}$ . Mikrokonidijų nedaug arba jų visai nėra. Chlamidosporos negausios, dažniausiai įsiterpusios į micelį, ovalios, 8-12  $\mu\text{m}$  dydžio, dažniausiai blankiai rudos. Optimali augimo temperatūra - 25<sup>o</sup> C, minimali - 3<sup>o</sup> C, maksimali - 38<sup>o</sup>C (A. Lugauskas, 2002).

## DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

**Darbo tikslas:** nustatyti mikroorganizmo ir mūsų geografinėje zonoje sutinkamų augalų ekstraktų ir antpilų priešgrybinį aktyvumą Fuzariozės grybui (*Fusarium graminearum*) in vitro.

### Darbo uždaviniai:

1. Paruošti karčiojo kiečio (*Artemisia absinthium*), valgomojo svogūno (*Allium cepa*), valgomojo krieno (*Armoracia rusticana*), daržinio poro (*Allium porrum*) lapų spiritinius ekstraktus ir antpilus.
2. Nustatyti Fuzariozės grybo jautrumą ir atsparumą pasirinktų augalų išskiriamoms medžiagoms ir palyginti su paruošta fungicido „Folicur“ kreive.
3. Nustatyti rasto mikroorganizmo rūšį ir jo priešgrybinį poveikį *Fusarium graminearum* grybui.

## TYRIMO METODIKA

Tiriamasis darbas atliekamas Vilkaviškio „Aušros“ gimnazijos biologijos kabinete. DRBC agarą terpės grybui auginti pirkto UAB "Bioeksma", kolonijos augintos termostate, 30° C temperatūroje.

### Darbo eiga:

#### 1. Grybelio kultivavimas:

Ant DRBC agarą terpės uždėjau du 30 minučių vandenyje palaikytus ir du vandenyje nelaikytus *Fusarium* grybo pažeistus grūdus. Mėginį laikiau termostate 30°C temperatūroje 24 val. Išaugusį grybą naudoju tiriamiems mėginiams ruošti.

2. Tiriamo grybelio ir rasto mikroorganizmo genties ir rūšies tyrimas atliktas Vilniaus Universiteto gamtos mokslų fakulteto laboratorijose.

- Tiriamo grybo DNR paruošimas PGR reakcijai:

Gabalėlis grybo micelio buvo įdedamas į mėgintuvėlį su 50 µL fiziologinio tirpalo, sumaišomas sukurinėje kratyklėje ir 10 min pakaitinamas 96 °C temperatūroje.

- Polimerazės grandininė reakcija (PGR).

40 µL reakcijos mišinio sudarė: 2x Maxima Hot Start Green PCR Master Mix, po 1 µL (100 µM koncentracijos) atvirkštinio ir tiesioginio pradmenų, 3 µL DNR ir vanduo.

PGR programa: pradinė denatūracija 95° C – 3 min., 30 kartų ciklas: denatūracija 95° C – 25 s, pradmenų prilydimas 50° C–25 s, DNR sintezė 72° C– 1 min., galutinė DNR sintezė 72° C – 3 min.

Termocikleris: Eppendorf „Mastercycler EP“; pradmenys, naudoti darbe buvo iš : Smit E, Leeflang P, Glandorf B, Dirk van Elsas J, Wernars K. Analysis of Fungal Diversity in the Wheat Rhizosphere by Sequencing of Cloned PCR-Amplified Genes Encoding 18S rRNA and Temperature Gradient Gel Electrophoresis. Applied and Environmental Microbiology. 1999;65(6):2614-2621.

- DNR elektroforezė

DNR elektroforezė buvo atliekama horizontaliame 1,0 % agarozės gelyje TAE buferyje. Elektroforezės gelis buvo dažomas etidžio bromido tirpale ir analizuojamas ultravioletinėje šviesoje. DNR fragmentai buvo lyginami su Gene Ruler™ DNA ladder Mix molekulinį masių standartu.

Elektroforezės 50 x TAE buferis: 121 g Tris-OH, 18,6 g natrio EDTA, 28,6 ml acto rūgšties (99,5%), vandens - iki 500 mL.

Iš gautų rezultatų sprendžiame, kad grybas tikrai priklauso rūšiai *Fusarium graminearum*.

#### 3. Antpilų ir ekstraktų ruošimas:

Antpilams bei ekstraktams paruošti naudoju šviežią augalinę žaliavą: valgomojo svogūno ir daržinio poro laiškus ir džiovintą augalinę žaliavą: karčiojo kiekio ir valgomojo krieno lapus.

Antpilų paruošimas:

17 g šviežios ar 2,5 g džiovintos augalinės žaliavos, užpyliu 100 ml verdančio vandens, uždengiau ir palaikiau 12 val., nukošiau.

Spiritinių ekstraktų paruošimas:

17 g šviežios ar 2,5 g džiovintos augalinės žaliavos, užpyliu 100 ml spirito, valandą laikiau mišinį sandariai, po to 24 valandas palikau išgaruoti spiritui. Gautus skysčius nukošiau.

#### **4. Priešgrybinio aktyvumo tyrimas, sėjant *Fusarium* į Petri lėkštelės vidurį.**

- Tyrimui naudoju mitybines DRBC agarų terpes 90 mm skersmens Petri lėkštelėse. Petri lėkštelėse sužymėjau, užrašydamas naudojamą tiriamąsias medžiagas. Kiekvienai tiriamai medžiagai paruošiau po 2 mėginius.
- Grybelio sėjimas: į sužymėtas Petri lėkštelėse su mitybine terpe sėjau grybelį: iš Petri lėkštelės su užaugusiu grybeliu išpjoviau 0,8x0,8 cm dydžio kvadratėlius ir uždėjau į paruoštą Petri lėkštelių centrą.
- Šulinėlių paruošimas. Terpėse, užsėtose grybeliais, dariau šulinėlius tiriamoms medžiagoms pilti. Šulinėlio tūris 0,085 ml.
- Su kintamo tūrio mikropipete į šulinėlius įpyliu po 0,04 ml paruoštų ekstraktų ir antpilų, Petri lėkštelėse dėjau į termostatą ir laikiau 30°C temperatūroje.
- Po 96 valandų įvertinau tirpaluose esančių medžiagų poveikį tiriamam grybui, matuodama susidariusias inhibicines zonas (mm) sėjimo vietose (inhibicinės zonos skersmenį išmatavau liniuote). Nustačiau, kuriam antpilui ir ekstraktui grybas jautriausias.

#### **5. Priešgrybinio aktyvumo tyrimas, sėjant *Fusarium* per visą Petri lėkštelę:**

- Tyrimui naudoju mitybinę DRBC agarų terpę 90 mm skersmens Petri lėkštelėse. Petri lėkštelėse sužymėjau, užrašydamas naudojamą tiriamąsias medžiagas.
- Grybelio sėjimas: į sužymėtas Petri lėkštelėse su mitybine terpe sėjau grybelį: drėgną vatos gumulėlį užkrėčiau grybeliu patrinant vatą į ankščiau užaugintą grybelį ir vata ištepiau visą agarų terpę.
- Po 96 valandų įvertinau tirpaluose esančių medžiagų poveikį tiriamam grybui, matuodama susidariusias inhibicines zonas sėjimo vietose. Nustačiau, kuriam antpilui ir ekstraktui grybas jautriausias.
- Pastebėjau, kad lėkštelėje atsirado mikroorganizmas, kuris turi įtakos grybelio augimui. Mikroorganizmą naudoju tolesniems tyrimams.

## **6. Fungicido „Folicur“ kalibracinės kreivės ruošimas.**

Paruošiami 5 skirtingų koncentracijų fungicido „Folicur“ tirpalai (12,5%; 25%; 50%; 75 %; 100%).

100 % laikau tirpalą pagamintą pagal naudojimo instrukcijas santykiu 1:200.

75 % stiprumo tirpalui gauti 100% tirpalą skiedžiau distiliuotu vandeniu santykiu 3:1;

50 % stiprumo tirpalui gauti 100% tirpalą skiedžiau distiliuotu vandeniu santykiu 1:1;

25 % stiprumo tirpalui gauti 100% tirpalą skiedžiau distiliuotu vandeniu santykiu 1:3;

12,5 % stiprumo tirpalui gauti 100% tirpalą skiedžiau distiliuotu vandeniu santykiu 1:7.

0 % tirpalui naudoju gryną distiliuotą vandenį.

Paruošti tirpalai pilami į šulinėlius, padarytus 90 mm skersmens Petri lėkštelėse, užsėtose *Fusarium graminearum* mikromicetais ir auginami termostate 30° C temperatūroje 96 val. Po to inhibicinės zonos skersmuo išmatuojamas liniuote. Pagal gautus duomenis braižoma kalibracinė kreivė.

## **7. Rasto mikroorganizmo genties ir rūšies nustatymas.**

Rasto mikroorganizmo gentis ir rūšis buvo nustatyta tais pačiais metodais kaip ir *Fusarium graminearum* grybo. Gauti rezultatai parodė, kad rastas mikroorganizmas yra mieliagrybis *Rhodotorula mucilaginosa*.

## **8. *Rhodotorula mucilaginosa* priešgrybinio aktyvumo tiriamam *Fusarium graminearum* nustatymas.**

- Tyrimui naudoju po 2 mitybines DRBC agarų terpes 90 mm skersmens Petri lėkštelėse ir Triptono sojos agarų terpes 90 mm skersmens Petri lėkštelėse. Dvi skirtingų terpių lėkšteles sužymėjau: vienoje lėkštelės pusėje pažymėdama rastą mikroorganizmą, kitoje palikdama kontrolinį mėginį, kitą lėkštelę dalinau į 3 dalis, žymėdama kontrolinę dalį ir 2 tiriamas dalis.
- Grybelio sėjimas: į sužymėtas Petri lėkšteles su Triptono sojos agarų ir mitybine DRBC agarų terpe sėjau grybelį: iš Petri lėkštelės su užaugusiu grybeliu išpjoviau 0,8x0,8 cm dydžio kvadratėlius ir uždėjau į visų paruoštų Petri lėkštelių centrus.
- Mikroorganizmo sėjimas:
  - a) į pusiau padalintas mitybines DRBC ir Triptono sojos agarų terpių lėkšteles kilpele pilnai užsėjau vieną lėkštelės dalį *Rhodotorula mucilaginosa* grybu, kita dalis - kontrolinis mėginys palyginimui.
  - b) į pusiau padalintas mitybines DRBC ir Triptono sojos agarų terpių lėkšteles jų viename šone kilpele pasėjau *Rhodotorula mucilaginosa* grybą 15 mm skersmens apskritimu, kita dalis - kontrolinis mėginys palyginimui.



- c) į 3 dalis padalintas mitybines DRBC ir Triptono sojos agaro terpių lėkšteles vienoje dalyje užsėjau *Rhodotorula mucilaginosa* grybą 15 mm skersmens apskritimu, kitą dalį pilnai, likusi neužsėta dalis kontrolinis mėginys palyginimui.
- Po 3, 4, 6, 7, ir 8 parų įvertinau grybo *Rhodotorula mucilaginosa* poveikį tiriamam *Fusarium graminearum* grybui, matuodama užaugusio grybo ilgį (mm) sėjimo vietose.

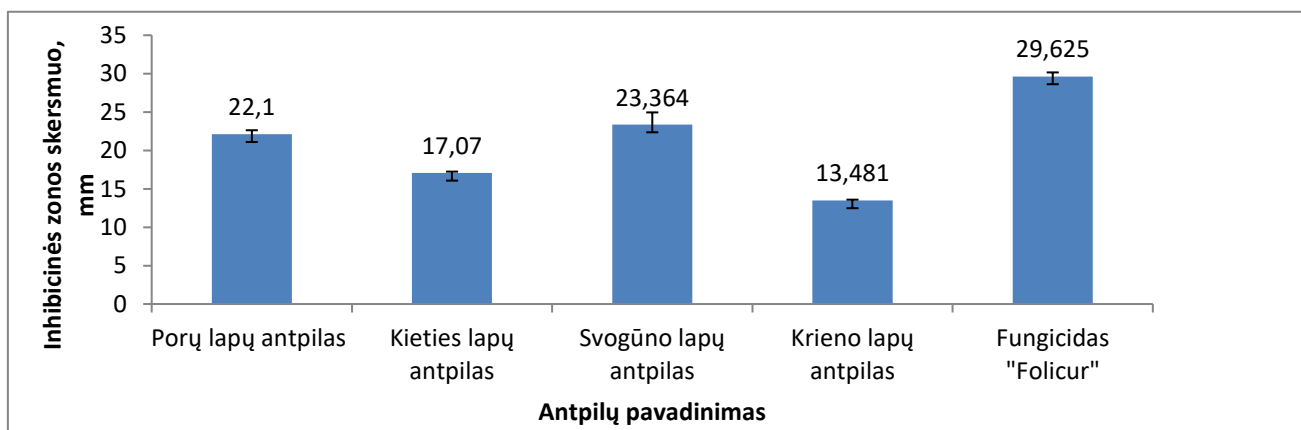
**9. Tiriamų augalų žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikio *Fusarium graminearum* grybo augimui nustatymas.**

- Tyrimui naudoju mitybines DRBC ir Triptono sojos agaro terpes 90 mm skersmens Petri lėkštelėse. Petri lėkšteles sužymėjau, užrašydama naudojamus tiriamuosius augalus.
- Grybelio sėjimas: į sužymėtas Petri lėkšteles sėjau grybelį: iš Petri lėkštelės su užaugusiu grybeliu išpjoviau 0,8x0,8 cm dydžio kvadratėlius ir uždėjau į paruoštą Petri lėkštelių centrus.
- Terpėse, užsėtose *Fusarium graminearum* grybeliu, dėjau susmulkintų tiriamų augalų žaliosios masės. Petri lėkšteles laikiau termostate 30°C temperatūroje.
- Po 96 valandų įvertinau žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikį tiriamam grybui, matuodama užaugusių grybų kolonijų ilgį (mm). Nustačiau, kurio augalo medžiagoms, esančioms žaliojoje masėje, grybas jautriausias.

## DUOMENŲ ANALIZĖ IR REZULTATŲ APTARIMAS

### Antpiluose ir ekstraktuose esančių medžiagų poveikis *Fusarium graminearum* grybui ir palyginimas su fungicido „Folicur“ kalibracine kreive

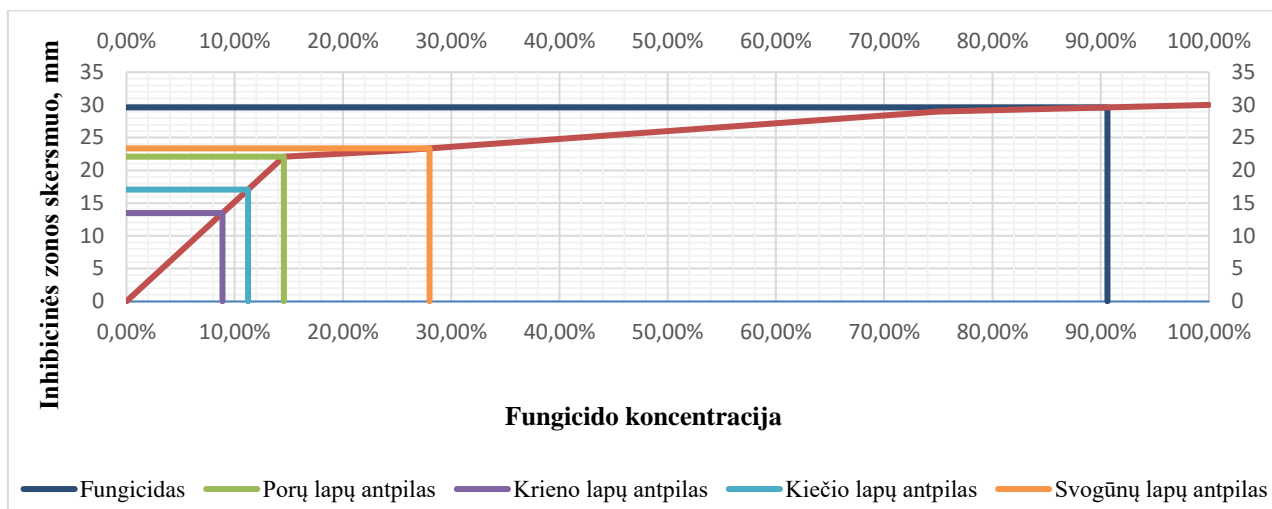
Sėjant grybelį į Petri lėkštelės vidurį, tyrimui naudotuose antpiluose, esančių medžiagų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui skirtingas. Porų ir svogūnų lapų priešgrybinis poveikis stipriausias. Svogūnų lapų antpilo inhibicinės zonos vidutinis skersmuo yra 23,4 mm (1 pav.). Grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms svogūnų lapų antpile, atitinka 28% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą (2 pav.). Porų lapų antpilo inhibicinės zonos vidutinis skersmuo yra 22 mm (1 pav.). Grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms porų lapų antpile, atitinka 26% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą (2 pav.). Silpniausias poveikis krienų lapų antpilo – inhibicinės zonos skersmuo 13,5 mm, o kėčio lapų – 17,7 mm. Grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms kėčio lapų antpile, atitinka 11% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą, o medžiagoms, esančioms krienų lapų antpile, atitinka 9% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą (2 pav.). Fungicido veikame mėginyje inhibicinės zonos skersmuo 29,6 mm tai apie 7 mm (1,26 karto) didesnis nei stipriausiai veikusių tiriamų antpilų tirpalų. Duomenys pateikti 1 paveiksle ir pirmoje lentelėje priede.



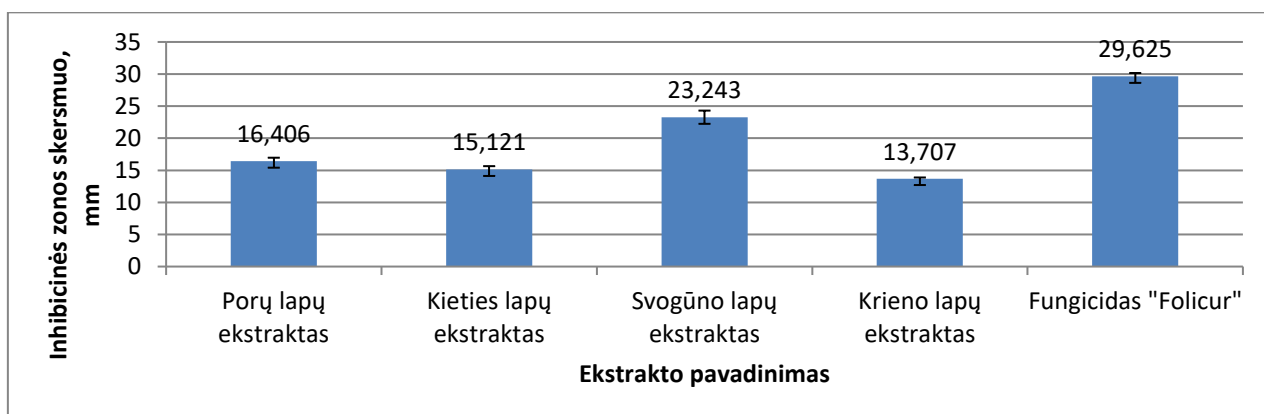
1 pav. Antpiluose esančių medžiagų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui, po 96 val.

Sėjant grybelį į Petri lėkštelės vidurį, tyrimui naudotuose ekstraktuose esančių medžiagų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui skirtingas. Didžiausias svogūnų lapų – inhibicinės zonos skersmuo 23,2 mm, kitų poveikis panašus (3 pav.). Grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms svogūnų lapų ekstrakto, kaip ir svogūno lapų antpile, atitinka 28% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą (4 pav.). Mažiausias krienų lapų – 13,7 mm. Krienų lapų ekstrakto ir antpile esančių medžiagų poveikis vienodas. Grybo *Fusarium*

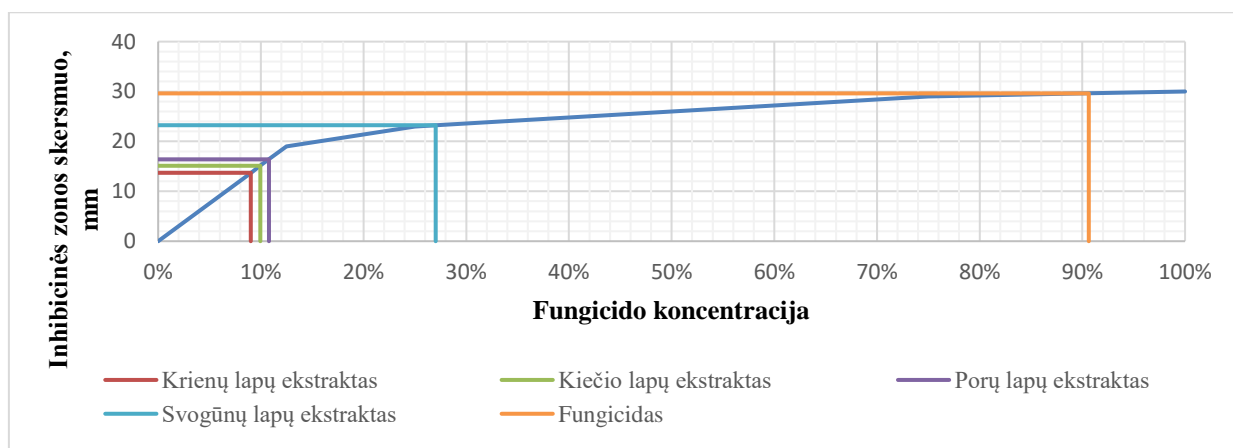
jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms krienų lapų ekstrakto, atitinka 9% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą.



2 pav. Grybo jautrumo ir atsparumo antpiluose esančioms medžiagoms palyginimas su fungicido „Folicur“ kalibracine kreive



3 pav. Ekstraktuose esančių medžiagų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui, po 96 val.



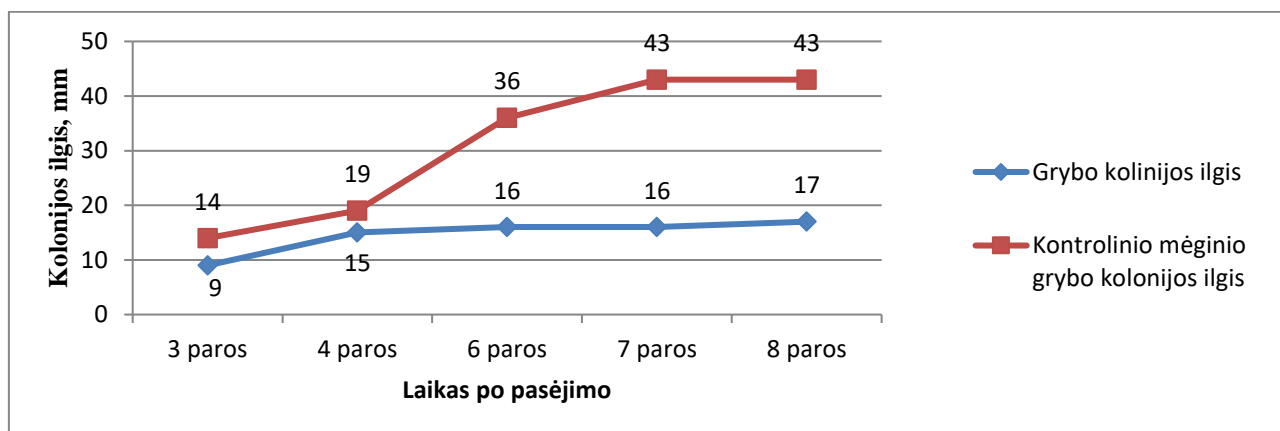
4 pav. Grybo jautrumo ir atsparumo ekstraktuose esančioms medžiagoms palyginimas su fungicido „Folicur“ kalibracine kreive.

Porų ir kiečio lapų ekstraktuose esančių medžiagų poveikis panašus. Inhibicinės zonos skersmuo kiečio lapų 15,1 mm, tai atitinka grybo *Fusarium* jautrumą ir atsparumą 10% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumui, o porų lapų ekstrakto inhibicinės zonos skersmuo 16,4 mm, tai atitinka grybo *Fusarium* jautrumą ir atsparumą 11% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumui. Medžiagų, esančių antpiluose, poveikis *Fusarium graminearum* grybui stipresnis nei medžiagoms ekstraktuose, išskyrus krienų lapų medžiagas, kur poveikis vienodas. Todėl toliau in vivo planuoju dirbti tik su antpilais.

Sėjant grybelį per visą Petri lėkštelę, duomenys tikslūs nesigavo, nes grybas nesudarė ištisinio gazono, augo dalimis, todėl vertinti inhibicines zonas buvo sunku ir rezultatai neatspindi tikros situacijos.

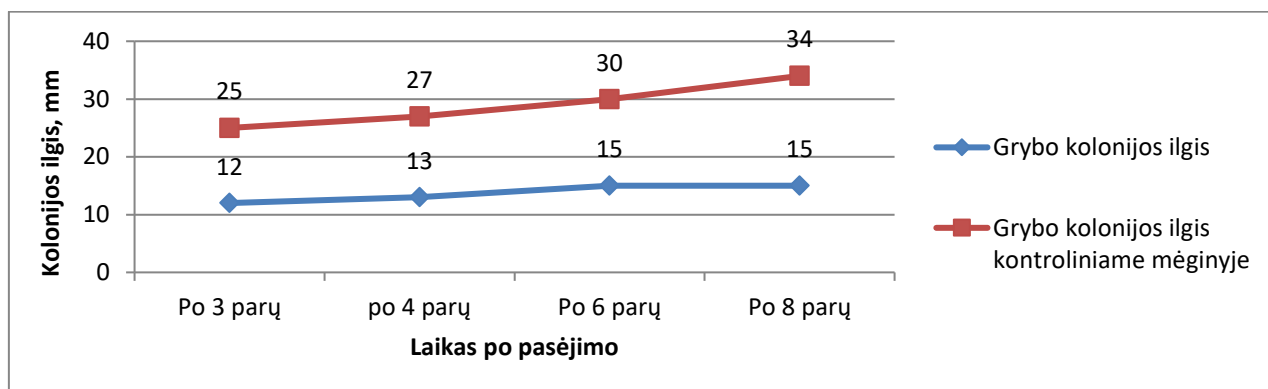
### Mikroorganizmo poveikis *Fusarium graminearum* grybui

Dirbant su *Fusarium graminearum* grybeliu atsitiktinai pastebėta mikroorganizmų kolonija, kuri stabdo šio grybo augimą. Dariau rasto mikroorganizmo tepinėlių, dažiau, mikroskopavau. Matėsi labai stambūs, grandinėlėmis išsidėstę mikroorganizmai. Nustačiau, kad tai eukariotas, vėliau išsiaiškinau, kad tai *Rhodotorula mucilaginosa* grybas. Šio mikroorganizmo poveikį grybui tyrinėjau kultūras sėjant mitybinėje DRBC agarų ir Triptono sojos agarų terpėse, jas dalinant į 2 dalis. Grybas, augdamas mitybinėje DRBC agarų terpėje, kontroliniame mėginyje 8 parų laikotarpyje pasiekė lėkštelės kraštus, siekė 43 mm ilgį, o tiriamasis grybas, priartėjęs prie *Rhodotorula mucilaginosa* grybo kultūros, sustojo augti ir visą tyrimo laiką nekito ir liko 16 mm ilgio. Duomenys pateikti 5 paveikslėlyje ir 3 lentelėje priede.



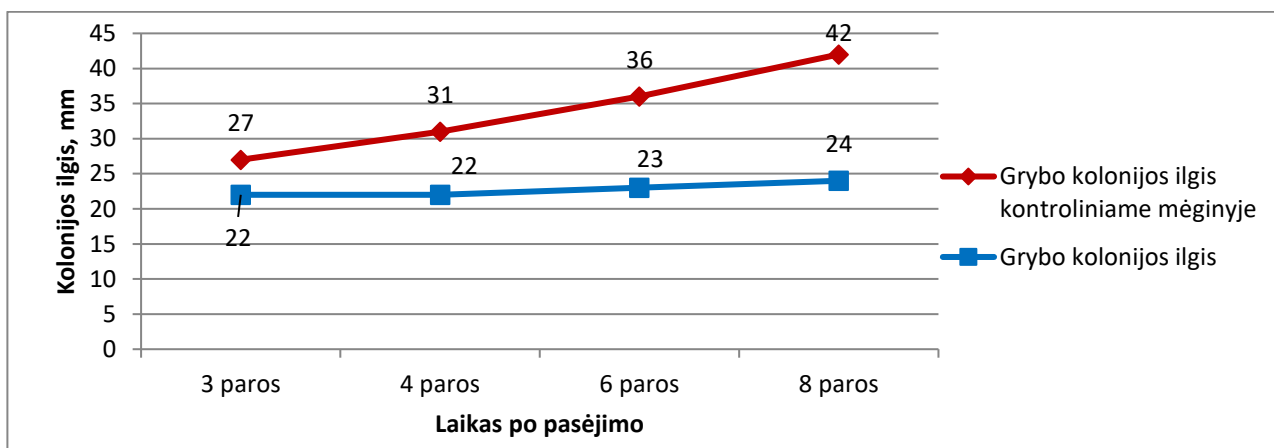
5 pav. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje DRBC agarų terpėje

Grybai lėčiau augo kultivuojami Triptono sojos agaro terpėje. Tiriamojo grybo kolonija taip pat nustojo augti pasiekusi *Rhodotorula mucilaginosa* grybo kultūrą ir siekė 15 mm ilgi. Šį dydį ji pasiekė jau 6 augimo parą, o kontrolinio mėginio grybas per 8 paras pasiekė 34 mm ilgi. Duomenys pateikti 6 paveikslėlyje ir 7 lentelėje priede. *Rhodotorula mucilaginosa* grybas pilnai stabdo *Fusarium graminearum* grybo augimą.



6 pav. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje Triptono sojos agaro terpėje

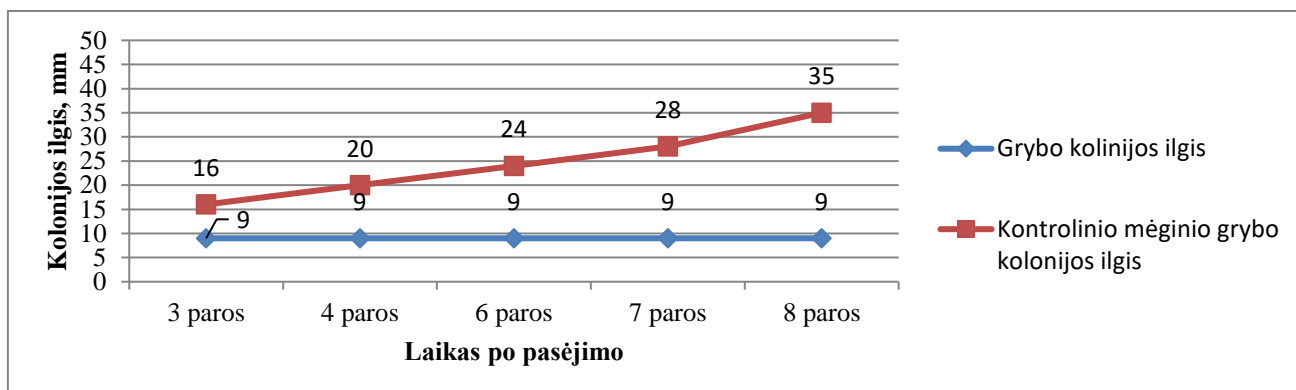
Kai *Rhodotorula mucilaginosa* grybas, pasėtas 15 mm skersmens apskritimu, mitybinėje DRBC agaro terpėje. Tiriamojo *Fusarium graminearum* grybo kolonija nustojo augti priartėjusi prie *Rhodotorula mucilaginosa* grybo kultūros, o grybas kontroliniame mėginyje per 8 paras pasiekė 42 mm ilgi ir dar augo. Duomenys pateikti 7 paveikslėlyje ir 8 lentelėje priede.



7 pav. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje DRBC agaro terpėje

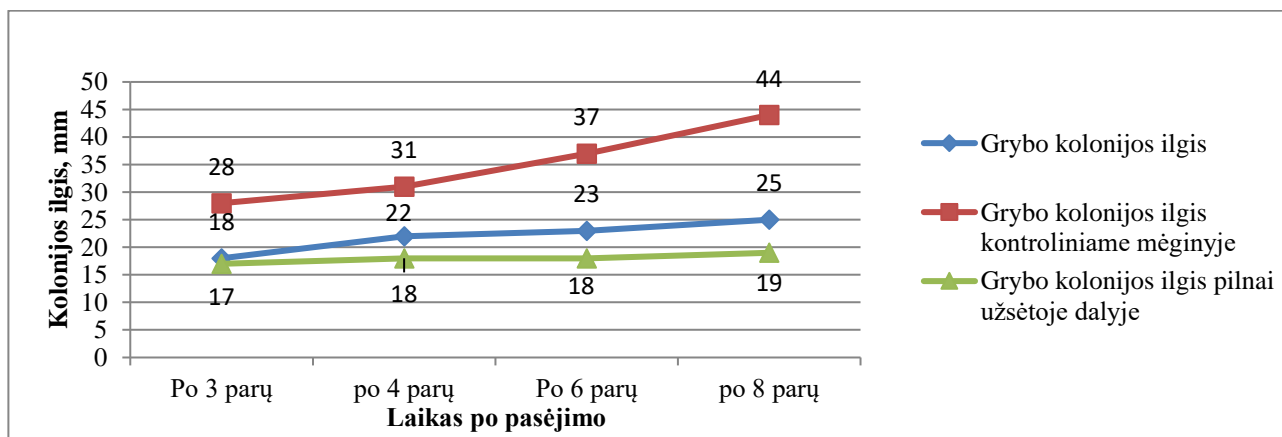
Kai *Rhodotorula mucilaginosa* grybas, pasėtas 15 mm skersmens apskritimu, mitybinėje Triptono sojos agaro terpėje. Tiriamojo *Fusarium graminearum* grybo kolonija taip pat nustojo augti pasiekusi *Rhodotorula mucilaginosa* grybo kultūrą, o grybas kontroliniame mėginyje per 8

paras pasiekė 35 mm ilgį. Duomenys pateikti 8 paveikslėlyje ir 4 lentelėje priede. *Rhodotorula mucilaginosa* grybas stabdo *Fusarium graminearum* grybo augimą.



8 pav. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje Triptono sojos agaro terpėje

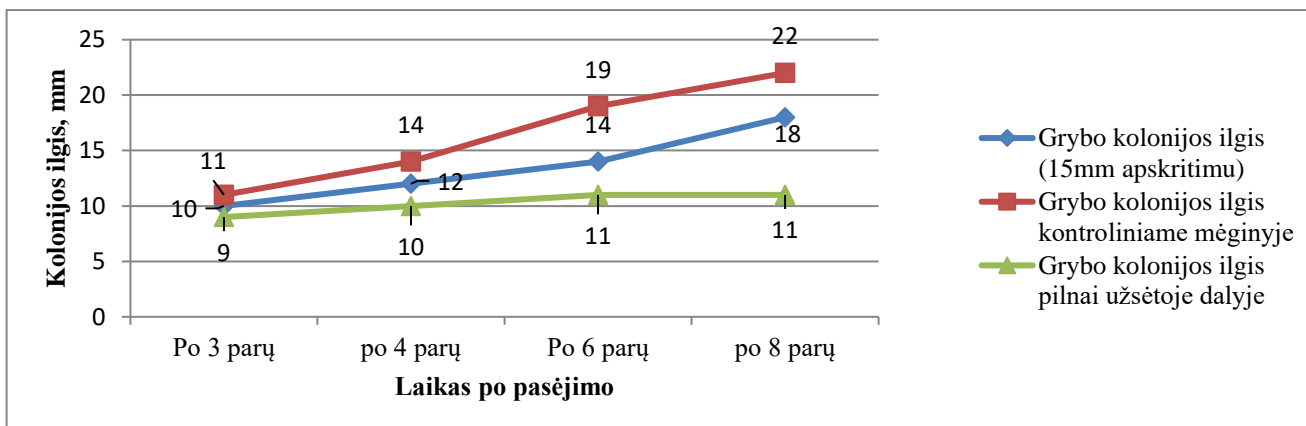
Lėkštelėje, su mitybine DRBC agaro terpe, padalintoje į 3 dalis, *Fusarium graminearum* grybas dalyje su pilnai užsėtu *Rhodotorula mucilaginosa* grybu jį pasiekė jau trečią augimo parą ir nustojo augti. Dalyje su grybu, pasėtu 15 mm skersmens apskritimu, *Fusarium graminearum* 4 - tą augimo parą pasiekė šio grybo kolonijas ir jo augimas sustojo. *Fusarium* grybas buvo 22 mm ilgio. Grybo ilgis kontroliniame mėginyje siekė 31 mm ir augo toliau. Aštuntą dieną jo kolonijų ilgis siekė 44 mm. Duomenys pateikti 9 paveikslėlyje ir 5 lentelėje priede.



9 pav. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje DRBC agaro terpėje, kai mikroorganizmai pasėti lėkštelę dalijant į 3 dalis.

Lėkštelėje, su mitybine Triptono sojos agaro terpe, padalintoje į 3 dalis, *Fusarium graminearum* grybas augo lėčiau ir dalyje su pilnai užsėtu *Rhodotorula mucilaginosa* grybu jį pasiekė šeštą augimo parą ir grybienos ilgis nekito. Kontrolinėje dalyje grybas pasiekė 22 mm ilgį, o tiriamojoje dalyje su grybu, pasėtu 15 mm skersmens apskritimu – 18 mm, nepasiekęs

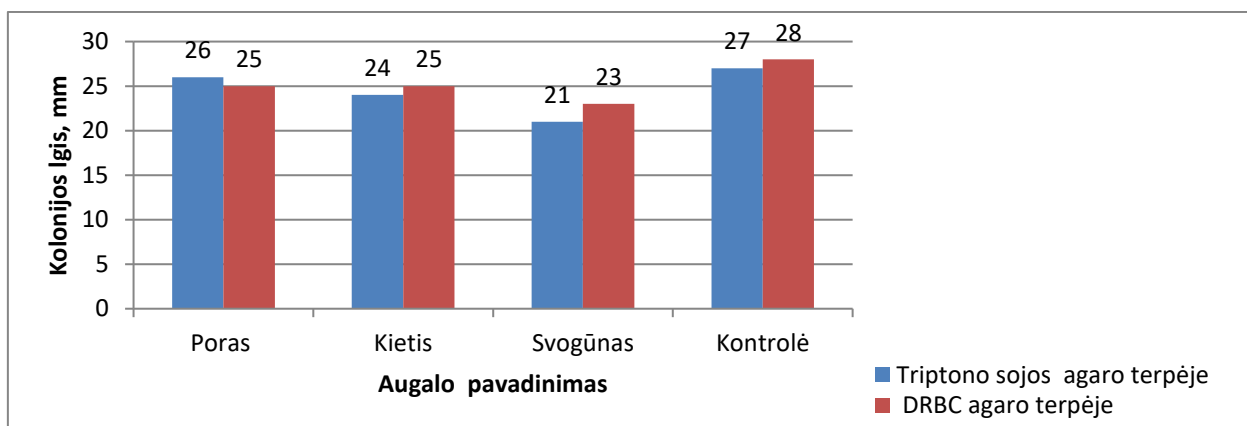
*Rhodotorula mucilaginosa* grybo žiedinės kolonijos. Grybai pradėjo nykti, manau terpėje trūko maisto medžiagų. Duomenys pateikti 10 paveikslėlyje ir 6 lentelėje priede.



10 pav. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje Triptono sojos agarų terpėje, kai mikroorganizmai pasėti lėkštelę dalijant į 3 dalis

### Tiriamų augalų žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikio *Fusarium graminearum* grybo augimui

Tiriamų augalų žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikis *Fusarium graminearum* grybui skirtingas. Stipriausias poveikis stebimas medžiagų, esančių svogūnuose. Grybo kolonijos ilgis 6 mm (Triptono sojos agarų terpė) ir 5 mm (DRBC agarų terpė) trumpesni už grybo kolonijos ilgį kontroliniame mėginyje. Medžiagų, esančių kietis ir poras žaliojoje masėje, poveikis silpnesnis. Duomenys pateikti 11 paveikslėlyje ir 10 lentelėje priede.



11 pav. Tiriamų augalų žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikio *Fusarium graminearum* grybo augimui po 96 val.

## IŠVADOS

1. Porų ir svogūnų lapų antpiluose esančių medžiagų prieš grybinis poveikis stipriausias, grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms svogūnų lapų antpile, atitinka 28 % , o porų - 26% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą.
2. Silpniausias poveikis - krienų lapų, grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms krienų lapų antpile, atitinka 9% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą.
3. Fungicido priešgrybinis poveikis 1,26 karto didesnis nei stipriausiai veikusių tiriamų antpilų.
4. Grybo *Fusarium* jautrumas ir atsparumas medžiagoms, esančioms svogūnų lapų ekstrakte, kaip ir svogūno lapų antpile, atitinka 28% koncentracijos fungicido „Folicur“ tirpalo jautrumą.
5. Antpiluose esančių medžiagų priešgrybinis poveikis stipresnis nei ekstraktuose.
6. Rastas *Rhodotorula mucilaginosa* grybas, kuris visiškai stabdo *Fusarium graminearum* augimą.
7. Svogūno žaliojoje masėje esančių medžiagų neigiamas poveikis *Fusarium graminearum* grybo augimui stipriausias.



## LITERATŪRA

A. Lugauskas ir kt. Patogeniški ir toksiški mikroorganizmai žmogaus aplinkoje, Vilnius, 2002.

[zemdirbyste.lt/javu-ligos-viii-dalis/](http://zemdirbyste.lt/javu-ligos-viii-dalis/)

[www.manoukis.lt/mano-ukis-zurnalas/.../955-varpu-fuzarioze-varpinu-javu-liga](http://www.manoukis.lt/mano-ukis-zurnalas/.../955-varpu-fuzarioze-varpinu-javu-liga)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4174839/>

## PRIEDAS

1 lentelė. Antpiluose esančių medžiagų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui

Medžiagų antpilų pavadinimai	Kiekis, ml	Inhibicinės zonos skersmuo (mm), po 96 val.		
		$\bar{x} \pm Mx$	V%	P%
Porų lapų	0,040	22.121 $\pm$ 0.530	4.795	2.397
Kiečio lapų	0,040	17.707 $\pm$ 0.177	1.997	0.998
Svogūno lapų	0,040	23.364 $\pm$ 1.591	13.619	6.810
Krieno lapų	0,040	13.481 $\pm$ 0.111	2.019	0.824
Fungicidas „FOLICUR“	0,040	29.625 $\pm$ 0.536	5.116	1.809

2 lentelė. Ekstraktuose esančių medžiagų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui

Medžiagų ekstraktų pavadinimai	Kiekis, ml	Inhibicinės zonos skersmuo (mm), po 96 val.		
		$\bar{x} \pm Mx$	V%	P%
Porų lapų	0,040	16.406 $\pm$ 0.556	8.295	3.386
Kiečio lapų	0,040	15.121 $\pm$ 0.530	7.014	3.507
Svogūno lapų	0,040	23.243 $\pm$ 1.061	9.127	4.563
Krieno lapų	0,040	13.707 $\pm$ 0.177	2.579	1.290
Fungicidas „FOLICUR“	0,040	29.625 $\pm$ 0.536	5.116	1.809

3 lentelė. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje DRBC agarų terpėje, kai grybai sėti lėkštelę dalijant pusiau.

Laikas	Po 3 parų	Po 4 parų	Po 6 parų	Po 7 parų	Po 8 parų
Grybo kolonijos ilgis, mm	9	15	16	16	17
Kontrolinio mėginio grybo kolonijos ilgis, mm	14	19	36	43	43

4 lentelė. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui Triptono sojos agarų terpėje, kai *Rhodotorula mucilaginosa* pasėtas 15 mm skersmens apskritimu

Laikas	Po 3 parų	Po 4 parų	Po 6 parų	Po 7 parų	Po 8 parų
Grybo kolonijos ilgis, mm	9	9	9	9	9
Kontrolinio mėginio grybo kolonijos ilgis, mm	16	20	24	28	35

5 lentelė. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje DRBC agarų terpėje, kai mikroorganizmas pasėtas lėkštelę dalijant į 3 dalis

Laikas	Po 3 parų	Po 4 parų	Po 6 parų	Po 8 parų
Grybo kolonijos ilgis, mm	18	22	23	23
Kontrolinio mėginio grybo kolonijos ilgis, mm	28	31	37	44
Grybo kolonijos ilgis pilnai užsėtoje dalyje, mm	17	18	18	19

6 lentelė. Mikroorganizmo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje Triptono sojos agaro terpėje, kai mikroorganizmas pasėtas lėkštelę dalijant į 3 dalis

Laikas	Po 3 parų	Po 4 parų	Po 6 parų	Po 8 parų
Grybo kolonijos ilgis, mm	10	12	14	18
Kontrolinio mėginio grybo kolonijos ilgis, mm	11	14	19	22
Grybo kolonijos ilgis pilnai užsėtoje dalyje, mm	9	10	11	11

7 lentelė. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui mitybinėje Triptono sojos agaro terpėje, kai grybai sėti lėkštelę dalijant pusiau.

Laikas	Po 3 parų	Po 4 parų	Po 6 parų	Po 8 parų
Kontrolinio mėginio grybo kolonijos ilgis, mm	25	27	30	34
Grybo kolonijos ilgis, mm	12	13	15	15

8 lentelė. *Rhodotorula mucilaginosa* grybo poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui DRBC agaro terpėje, kai *Rhodotorula mucilaginosa* pasėtas 15 mm skersmens apskritimu

Laikas	Po 3 parų	Po 4 parų	Po 6 parų	Po 8 parų
Kontrolinio mėginio grybo kolonijos ilgis, mm	27	31	36	42
Grybo kolonijos ilgis, mm	22	23	24	24

9 lentelė. Fungicido „FOLICUR“ skirtingų koncentracijų tirpalų poveikis grybelio *Fusarium graminearum* augimui.

Fungicidas „FOLICUR“ tirpalo koncentracijos	0 %	12,5 %	25 %	50 %	75 %	100 %
Inhibicinės zonos skersmuo, mm	0	19	23	26	29	30

10 lentelė. Tiriamų augalų žaliojoje masėje esančių medžiagų poveikio *Fusarium graminearum* grybo augimui po 96 val.

Tiriamasis augalas	Grybo kolonijos ilgis Triptono sojos agaro terpėje, mm	Grybo kolonijos ilgis DRBCagaro terpėje, mm
Poras	26	25
Kietis	24	25
Svogūnas	21	23
Kontrolinis mėg.	27	28