

А. Парфенюк¹, О. Стерлікова¹, І. Безноско¹, В. Круть²

¹Інститут агроєкології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна 12, Київ 03143, Україна

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ДСП, Д03680, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ БАКТЕРІАЛЬНОГО ШТАМУ *MICROCOCCUS LUTEUS* ЛБК1 З РОСЛИНАМИ СОРТІВ/ГІБРИДІВ ОГІРКА І ПЕРЦЮ СОЛОДКОГО ТА З ГРИБОМ *FUSARIUM OXYSPORUM* SCELECHT

Наведено результати вивчення впливу бактеріального штаму *Micrococcus luteus* ЛБК1, стимулюючого ріст і розвиток рослин сортів/гібридів огірка та перцю солодкого на інтенсивність спороутворення гриба *Fusarium oxysporum* scelecht – збудника фузаріозної гнилі.

Ключові слова: бактеріальний штам *M. luteus* ЛБК1, сорти/гібриди огірка і перцю солодкого, фітопатогенний гриб *F. oxysporum* scelecht.

Серед асоціативних мікроорганізмів виділено групу ендofітних бактерій, які утворюють стабільні асоціації з рослинами і можуть брати участь у стійкості рослин до шкідливої дії важких металів і радіонуклідів, до інфекційних хвороб, а також здатні покращувати ріст і розвиток рослин. Як свідчить аналіз літератури, ендofітні бактерії *Bacillus licheniformis*, *Methylobacterium mesophilicum* характеризуються високою антигрибною та стимулюючою активністю щодо рослин рису, капусти, кукурудзи, бобових, а її культуральна рідина значно пригнічує ріст фітопатогенних грибів, таких як *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Gibberella zeae*, *Dothiorella gregaria* і *Colletotrichum gossypii* *in vitro* [9, 10].

Різні види ендofітних бактерій контамінують рослинні тканини і можуть брати участь у захисті рослин від захворювань, спричинених патогенними мікроскопічними грибами та бактеріями, а також комахами та нематодами [6].

В аграрному виробництві важливе місце займають овочеві культури, такі як перець солодкий та огірок. Їх високу харчову цінність обумовлює значний вміст фізіологічно активних речовин, вітамінів В₁, В₂, Р, А, РР, Е, цукрів, органічних кислот (лимонна, яблучна і щавлева), ліпідів та сирі клітковини, а також різняться різноманітним складом мінеральних солей [2].

За нинішньої культури землеробства в Україні овочеві культури зазнають негативного впливу як з боку біотичних, так і абіотичних факторів навколишнього середовища. Це пригнічує ріст і розвиток рослин та знижує їх урожайність. Серед низки засобів захисту рослин від впливу зазначених факторів провідне місце займає селекція нових сортів, які характеризуються стійкістю до збудників грибних хвороб, особливо, некротрофного типу живлення. Така стійкість контролюється полігенами і залежить від фізіолого-біохімічного стану рослин. Адже такі гриби в основному належать до напівсапрофітів і уражують переважно ослаблені рослини. Тому сорти, або гібриди культурних рослин, що сприйнятливі до контамінації асоціативними ендofітними бактеріями, які характеризуються стимулюючою активністю щодо рослин априорі, можуть проявляти підвищену стійкість до некротрофних фітопатогенів. Зазначену гіпотезу було покладено в основу наших досліджень.

Матеріали і методи. В лабораторії біоконтролю агроєкоосистем Інституту агроєкології і природокористування із рослин сорту огірка Далекосхідний 27/17 виділено штам ендofітної бактерії *M. luteus* ЛБК1, який був ідентифікований в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України.

Бактеріальний штам вирощували на рідкому поживному середовищі протягом 2-х діб за загальноновизнаною методикою [7]. Бактеріальні клітини осаджували в епіндорфах по 1,5 мл суспензії при 3000 об/хв. Протягом 6 хв, осад ресуспендували в 1 мл стерильної води і за допомогою камери Горяєва-Тома готували суспензію бактеріальних клітин концентрацією 10⁸ кл/мл [1].

© А. Парфенюк, О. Стерлікова, І. Безноско, В. Круть, 2014

Насіння сортів/ гібридів огірка та перцю солодкого стерилізували за стандартною методикою [3], промивали проточною водою протягом 1 год., етиловим спиртом (70 %) 1 хв., соляною кислотою (10 %) 3 хв., гіпохлоридом натрію (50 %) 5 хв. та шестикратно по 20 хв. стерильною дистильованою водою. Насіння в асептичних умовах розкладали в стерильні чашки Петрі, по 100 шт. в кожну, заливали бактеріальною суспензією і витримували протягом 5 хв. В контрольному варіанті використовували стерильну воду. Після цього насіння просушували протягом 30 с на фільтруючому папері і переносили у банки з кришками, що мають отвори для повітря. Дослід закладали у трьох повтореннях. Рослини культивували за температури 24 °С та освітленості 4 тис. люкс до появи проростків.

Для визначення ефективності контамінації інокульовані рослини розтирали у ступці. Отриману суміш розводили стерильною водою та висівали на поживне агарове середовище за відомою методикою [8]. Визначали кількість рослин, з яких виділялись бактеріальні колонії *M. luteus* ЛБК1.

Вплив ендоефітних бактерій на ріст сортів/гібридів огірка та перцю солодкого визначали за морфометричними вимірами довжини рослин, коренів, їх опушки, сухою і сирою масою.

Для визначення впливу бактерії *M. luteus* ЛБК1 на інтенсивність спороношення фітопатогенного гриба *F. oxysporum* проростки досліджуваних рослин контаміновані бактерією інокульовали суспензією конідій гриба в концентрації 1×10^6 шт./мл. Інокульовані рослини витримували в кліматичній камері за температури 22 °С. Ступінь ураження рослин патогеном визначали за відомою методикою [5]. З уражених рослин гриб ізолювали в чисту культуру і культивували на картопляно-глюкозному агарі за загальною визнаною методикою [4]. Інтенсивність спороутворення гриба визначали шляхом підрахунку конідій в камері Горяєва-Тома [1].

Результати та їх обговорення. За результатами дослідження встановлено стимулювання росту і розвитку рослин сортів перцю солодкого Данко, Обрій, Валюша, Надія (табл. 1). В усіх варіантах досліду було відмічено істотний приріст показників за інокуляції штамом *M. luteus* ЛБК1 порівняно із контролем. Суха та сира маси рослин збільшувались в середньому у 2 рази порівняно із контролем. Наприклад, рослини сорту Данко за інокуляції їх ендоефітною бактерією збільшували суху та сирю маси в середньому у 2 рази, а рослини сорту Надія – майже у 1,5 рази.

Таблиця 1

Вплив бактеріального штаму *M. luteus* ЛБК1 на ріст і розвиток рослин перцю солодкого

Сорт		Довжина рослин, см	Довжина кореня, см	Опушка кореня, см	Маса рослин, мг	
					сира	суха
Данко	варіант	2,5±0,05	2,8±0,06	0,09±0,01	304±6,08	48±0,96
	контроль	1,1±0,02	1,3±0,02	0,03±0,006	158±3,16	25±0,50
Обрій	варіант	2,7±0,05	1,5±0,03	0,07±0,01	284±5,68	46±0,92
	контроль	1,0±0,02	0,5±0,01	0,02±0,004	164±3,28	20±0,40
Валюша	варіант	2,1± 0,04	1,2±0,02	0,05±0,01	324±6,48	48±0,96
	контроль	0,9±0,01	0,4±0,008	0,02±0,004	194±3,88	29±0,58
Надія	варіант	2,8±0,06	1,9±0,03	0,06±0,01	344±6,88	56±1,12
	контроль	1,2±0,02	0,8±0,01	0,03±0,006	210±4,20	36±0,72

Штам *M. luteus* ЛБК1 істотно стимулював розвиток морфометричних показників сортів перцю солодкого порівняно із контролем. Так, якщо висота 15-ти добових рослин сортів у контролі становила у середньому 1,1 см, то висота рослин такого ж віку, інокульованих суспензією спор *M. luteus* ЛБК1 сягала 2,5 см. Подібний взаємозв'язок спостерігали за морфометричних вимірів довжини кореня, його опушки на інших тестованих сортах.

Отримані результати досліджень підтверджуються тим, що контамінація рослин сортів перцю солодкого бактеріальним штамом *M. luteus* ЛБК1 була високою і становила на сорті Данко 78 %, Надія 80 %, Обрій 75 % та Валюша 60 %. Це дає можливість припускати значну ефективність дії штаму *M. luteus* ЛБК1 на ріст і розвиток рослин перцю солодкого.

Визначено вплив штаму *M. luteus* ЛБК1 на ріст рослин сортів/гібридів огірка Лінія П-1, СМФ-795 F1, Далекосхідний 27/17 та Сквирський 1/27 П F1 (табл. 2).

Вплив бактеріального штаму *M. luteus* ЛБК1 на ріст і розвиток рослин сортів/гібридів огірка

Сорти/гібриди огірка		Висота рослини, см	Довжина кореня, см	Опушка, см	Сира маса, г	Суха маса, г
Лінія П-1	варіант	6,8±0,1	8,6±0,1	0,5±0,01	4,8±0,09	0,25±0,005
	контроль	4,5±0,09	3,8±0,07	0,1±0,002	2,7±0,05	0,10±0,002
СМФ-795 F1	варіант	5,3±0,1	5,0±0,1	0,3±0,006	3,5±0,07	0,15±0,003
	контроль	4,0±0,08	4,5±0,09	0,3±0,006	2,5±0,05	0,12±0,002
Далекосхідний 27/17	варіант	5,2±0,1	4,6±0,09	0,3±0,006	2,8±0,05	0,13±0,002
	контроль	4,8±0,09	4,3±0,08	0,2±0,004	2,4±0,04	0,10±0,002
Сквирський 1/27 П F1	варіант	5,0±0,1	4,5±0,09	0,2±0,004	3,4±0,06	0,16±0,003
	контроль	4,8±0,09	3,5±0,07	0,2±0,004	3,2±0,06	0,14±0,002

Як свідчать результати досліджень бактеріальна культура *M. luteus* ЛБК1 істотно покращує морфометричні показники рослин огірка порівняно із контролем. Так, якщо висота 10-денних рослин Лінії П1 у контролі становила у середньому 4,5 см, то висота рослин такого ж віку, інокульованих бактеріальною культурою, сягала 6,8 см. Суха маса рослин Лінії П1, збільшувалась на 0,15 г порівняно із контролем, а сира маса – на 2,1 г. Суха маса гібриду Сквирський 1/27 F1 порівняно із контролем зростала лише на 0,2 г, так, як і сира маса. Подібний взаємозв'язок спостерігали за морфометричних вимірів висоти рослин, довжини кореня та його опушки.

Одержані результати досліджень підтверджуються тим, що контамінація рослин сортів/гібридів огірка бактеріальним штамом *M. luteus* ЛБК1 була високою і становила на сорти СМФ-795 F1 – 65 %, Далекосхідний 27/17 – 55 % та Сквирський 1/27 П F1 – 40 %. Найбільшу кількість рослин, контамінованих бактерією, спостерігали на Лінії П-1, де вона становила 70 %.

Одержані дані демонструють позитивний вплив штаму *M. luteus* ЛБК1 на ріст рослин сортів/гібридів огірка. Це свідчить про можливість використання зазначеного штаму для поліпшення росту рослин сортів/гібридів огірка.

В Україні дедалі більше розповсюджуються некротрофні фітопатогенні гриби *F. oxysporum*, які характеризуються широкою спеціалізацією і зберігаються на насінні, рослинних рештках та у ґрунті. Вони уражують широкий спектр овочевих культур і утворюють на їх поверхні численні генерації спор, що здатні мігрувати у просторі та інфікувати культурні рослини в різних сівозмінах. Мікроміцет *F. oxysporum*, паразитує на сортах/гібридах огірка і перцю солодкого та спричинює зів'янення й загибель рослин. Тому вивчали вплив *M. luteus* ЛБК1 на інтенсивність спороутворення *F. oxysporum* на різних сортах перцю солодкого і огірка.

Одержані результати свідчать про істотний вплив *M. luteus* ЛБК1 на спороутворення фітопатогенного гриба *F. oxysporum*. Тестовані сорти перцю солодкого, інокульовані ендofітною бактерією, здатні знижувати інтенсивність спороутворення даного патогену (рис. 1).

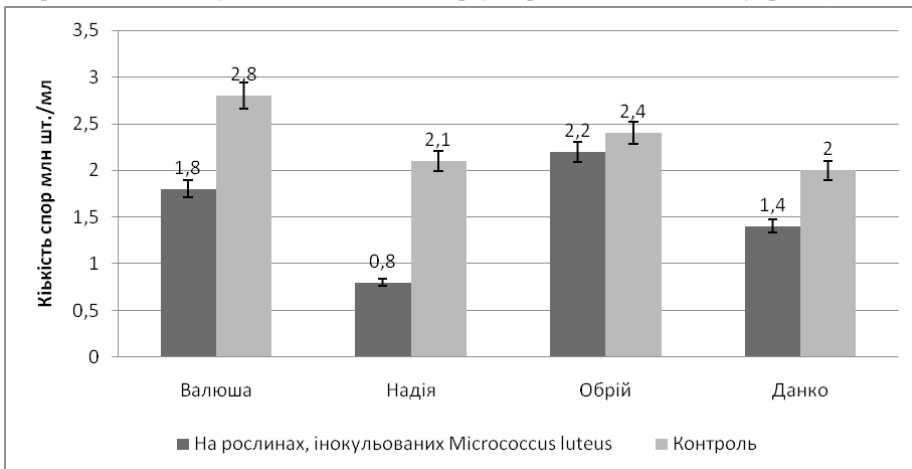


Рис. 1. Вплив ендofітної бактерії *Micrococcus luteus* ЛБК1 на інтенсивність спороутворення *F. oxysporum*

Вивчали вплив бактерії *M. luteus* ЛБК1 на спорування фітопатогенного гриба *F. oxysporum* на різних сортах/гібридах огірка (рис. 2).

На досліджуваних рослинах, контамінованих бактерією *M. luteus* ЛБК1, інтенсивність спорування *F. oxysporum* дещо знижувалась порівняно з контролем.

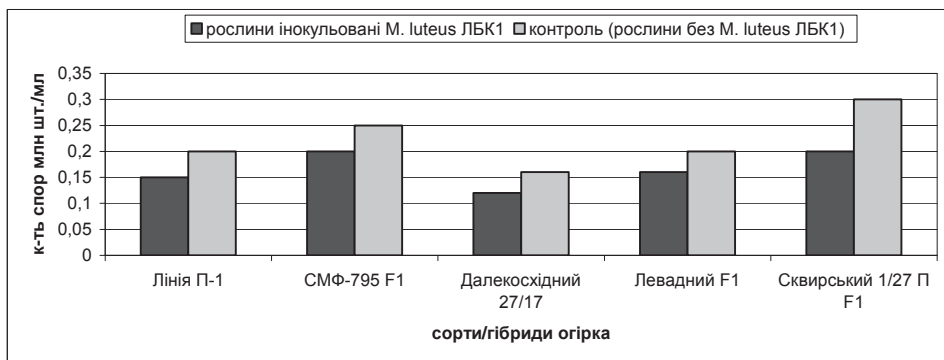


Рис. 2. Вплив ендоефітної бактерії *Micrococcus luteus* ЛБК1 на інтенсивність спорування *F. oxysporum*

Отже, це дає підстави допускати, що бактеріальний штам *M. luteus* ЛБК1 асоційований із рослинами огірка та перцю солодкого може контролювати інтенсивність спорування гриба *F. oxysporum*, що знижує рівень біологічного забруднення агроценозів протягом вегетації рослин.

А. Парфенюк¹, О. Стерликова¹, І. Безноска¹, В. Круть²

¹Інститут агроекології та природопользовання НААН України

²Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА *MICROCOCCUS LUTEUS* ЛБК1 С РАСТЕНИЯМИ СОРТОВ / ГИБРИДОВ ОГУРЦОВ И ПЕРЦА СЛАДКОГО И С ГРИБОМ *FUSARIUM OXYSPORUM* SCELECHT

Резюме

В статье приведены результаты изучения влияния бактериального штамма *M. luteus* ЛБК1, стимулирующего рост и развитие растений сортов / гибридов огурца и перца сладкого на интенсивность спорування гриба *F. oxysporum* Scealect – возбудителя фузариозной гнили.

Ключевые слова: бактериальный штамм *M. luteus* ЛБК1, сорта / гибриды огурца и перца сладкого, фитопатогенный гриб *F. oxysporum* Scealect.

А. Parfenyuk¹, O. Sterlikova¹, I. Beznosko¹, V. Krut²

¹Institute of Agroecology and Natural Management of the NAAS of Ukraine

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

FEATURES OF INTERACTION BACTERIAL STRAINS *MICROCOCCUS LUTEUS* LBK1 FROM PLANTS VARIETIES / HYBRIDS CUCUMBER AND SWEET PEPPER AND WITH FUNGUS *FUSARIUM OXYSPORUM* SCELECHT

Summary

The article presents the results of studying the impact of bacterial strain *M. luteus* LBK1, stimulating the growth and development of plant varieties / hybrids of cucumber and sweet pepper on the intensity of sporulation of the fungus *F. oxysporum* Scealect - fusarirose rot pathogen.

Keywords: bacterial strain *M. luteus* LBK1, varieties / hybrids of cucumber and sweet pepper, pathogenic fungi *F. oxysporum* Scealect.

1. Аникиев В.В., Лукомська К.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии [2-е изд.]. – М.: Просвещение, 1983. – 52 с.
2. Гродзінський А.М. Основи хімічної взаємодії рослин. – К.: Наукова думка, 1973. – 204 с.
3. ДСТУ 4138:2003 Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. – К.: Держстандарт України, 2003. – 224 с.
4. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. [и др.]. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. – К.: Наукова думка, 1982. – 548 с.
5. Трибель С.О., Гетьман М.В., Андрущенко А.В. Методологія оцінювання стійкості сортів пшениці проти шкідників і збудників хвороб. – К.: Колобір, 2010. – 392 с.
6. Chaves N.P., Pocasangre L.E., Elango F. [etc.] Combining endophytic fungi and bacteria for the biocontrol of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne and for effects on plant growth // *Scientia Horticulturae*. – 2009. – V. 122. – Issue 3. – P. 472–478.
7. King E.O., Ward M.K., Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein // *J. Lab. Clin. Med.* – 1954. – V. 44. – P. 301–307.
8. Kovalchuk M.V., Lytvynenko T.L., Kononuchenko O.V. [etc.]. Colonization, capacity and persistence on wheat roots of a biocontrol agent *Pseudomonas* sp. IMBG163 // *Біополімери і клітина*. – 2004. – 20, № 6. – С. 530–534.
9. Lacava P.T., Li W.B., Araújo W.L. [etc.]. Rapid, specific and quantitative assays for the detection of the endophytic bacterium *Methylobacterium mesophilicum* in plants // *Journal of Microbiological Methods*. – 2006. – V. 65. – Issue 3. – P. 535–541.
10. Wang H., Wen K., Zhao X. [etc.]. The inhibitory activity of endophytic *Bacillus* sp. strain CHM1 against plant pathogenic fungi and its plant growth-promoting effect // *Crop Protection*. – V. 28. – Issue 8. – 2009. – P. 634–639.

Отримано 22.05.2013