



doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2016.11.093>

УДК 661.686:631.544:631.153.7

Член-кореспондент НАН України **Н.В. Заїменко,**
Н.Е. Елланська, Н.П. Дідик, Н.А. Павлюченко,
О.П. Юношева, Б.О. Іваницька, О.В. Закрасов, Н.В. Росіцька

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, Київ

E-mail: zaimenkonv@ukr.net

Вплив анальциму та екзометаболітів гриба *Penicillium roseopurpureum* на стійкість томатів до фузаріозу, мікробіологічні та аделопатичні властивості ґрунту

*Встановлено, що обробка насіння томатів культуральною рідиною *P. roseopurpureum* та внесення наноматеріалу анальциму в ґрунт підвищує стійкість проростків до ураження фітопатогенними мікроміцетами роду *Fusarium*, істотно знижує чисельність ґрунтових мікроміцетів (у тому числі фітопатогенних), покращує аделопатичні та фізико-хімічні властивості ґрунту. Показано посилення захисного ефекту анальциму та культуральної рідини при їх сумісній дії.*

Ключові слова: анальцим, екзометаболіти, фітопатогенні гриби, мікроміцети-антагоністи, *Penicillium roseopurpureum*, *Fusarium*, *Lycopersicon esculentum*, проростки, стійкість.

На сьогодні існує багато чинників, які гальмують розвиток агропромислового комплексу і є причинами падіння урожайності сільськогосподарських культур, зокрема фітопатогенні міцеліальні гриби. У боротьбі з хворобами рослин, з метою оптимізації умов живлення основних сільськогосподарських культур і для підвищення родючості ґрунту та поліпшення його фітосанітарного стану останнім часом все більшої популярності набуває залучення мікроорганізмів, виділених з природних джерел або їх продуктів метаболізму як альтернативи пестицидам. Використання фунгіцидної композиції, що складається з екзометаболітів штаму гриба *Penicillium roseopurpureum* (продуцента курвуларину – потужного мікотоксину з високою антифунгальною активністю) та кремнієвмісного мінералу анальциму (підвищує стійкість рослин до стрес-факторів) є досить перспективним [1, 2].

Анальцим – це суміш мінералів (в основному групи цеолітів), в якій глиниста складова представлена монтморилонітом. У хімічній композиції алюміній повністю заміщений магнієм та рядом інших елементів. Загалом до складу анальциму входить понад 30 біогенних елементів у формі, доступній для рослин, у тому числі кремній (13–15%) [3, 4].

© Н.В. Заїменко, Н.Е. Елланська, Н.П. Дідик, Н.А. Павлюченко, О.П. Юношева,
Б.О. Іваницька, О.В. Закрасов, Н.В. Росіцька, 2016

Мета дослідження — вивчити вплив обробки насіння томатів культуральною рідиною *Penicillium roseopurpureum* та/або внесення в ґрунт наноматеріалу анальциму на стійкість проростків до ураження фітопатогенами роду *Fusarium*, алелопатичні, мікробіологічні та фізико-хімічні властивості ґрунту в лабораторному досліді.

Лабораторний дослід проводили методом ґрунтової культури [5]. Об'єкт дослідження — природний кремнієвмісний мінерал анальцим та культуральна рідина гриба *P. roseopurpureum*. Тест-рослинами слугували томати (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Інфекційний фон створювали, використовуючи фітопатогенні види роду *Fusarium* (суміш *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*).

Насіння рослин замочували в розчині культуральної рідини (КР) *P. roseopurpureum* (1:50) протягом 24 год, контрольні — в стерильній водопровідній воді. Після цього їх (по 20 шт.) висаджували у вегетаційні посудини зі стерилізованим ґрунтом (сірий опідзолений). Після появи двох перших справжніх листків тест-рослини поливали по 15 мл сумішшю культуральних екстрактів грибів роду *Fusarium*. Через 5 діб повторювали інокуляцію. Схема варіантів досліді: 1 — контроль; 2 — обробка насіння КР *P. roseopurpureum*; 3 — внесення в ґрунт анальциму, подрібненого до наночастинок (1:1000 за масою); 4 — обробка насіння КР + анальцим. За два тижні після повторного зараження рослини викопували, визначали кількість рослин з фузаріозною перетяжкою на кореневій шийці, показники росту (висоту, масу наземних частин та коренів), вміст фотосинтетичних пігментів, захисних речовин (флавоноїдів, антоціанів, активність каталази). Фотосинтетичні пігменти екстрагували із сирих листків диметилсульфоксидом. Кількісний вміст визначали спектрофотометрично за [6]. Активність каталази визначали за методом О.Н. Баха та О.І. Опаріна [7]. Флавоноїди екстрагували 70% етанолом, кількісний вміст визначали спектрофотометрично на "Spekol 11" (Carlzeiss/Jena, Німеччина) із застосуванням якісної реакції з хлоридом алюмінію [8, с. 30—35]. Наприкінці досліді проведено мікробіологічний посів, визначали чисельність мікробіотів та бактерій у ґрунті. Алелопатичну активність ґрунту вивчали методами прямого біотестування [9] і біологічних проб (водна витяжка з ґрунту 1,5:1) [10]. Цитостатичну дію гідрофільних речовин ґрунту досліджували з використанням як тест-об'єкта проростків *Cucumis sativus* L. сорту Далекосхідний [11]. У ґрунті визначали вміст фенольних речовин та окисно-відновний потенціал (ОВП) [10]. Кислотність субстратів вимірювали за допомогою приладу HANNA Instruments HI 2211 pH/OPR Metter.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили методами описової статистики та однофакторного дисперсійного аналізу за допомогою програм Statistica 10.0 та Microsoft Office Excel 2007. Дані, наведені в таблицях, — групові зважені середні. Достовірність впливу факторів оцінювали за рівнем значущості (P) та критерієм Фішера (F).

Прямим методом біотестування ґрунту встановлено наявність алелопатично активних речовин із фітотоксичними властивостями за умов зараження мікробіотами роду *Fusarium*, що проявлялося у пригніченні ростових процесів *Lepidium sativum* L. на 65% (ґрунт з *Fusarium* без домішок) та 68% (при внесенні анальциму) відносно контролю (ґрунт без *Fusarium*). Спостерігалось зниження фітотоксичності ґрунту після обробки насіння томатів культуральною рідиною *P. roseopurpureum* як окремо, так і спільно з додаванням анальциму відповідно у 2,7 та 2,4 раза.

Дослідженням алелопатичної активності гідрофільних речовин ґрунту з *Fusarium* визначено фітотоксичність на рівні 51% до контролю (ґрунт без *Fusarium*) відносно *C. sativus*. Внесення анальциму в ґрунт зменшувало її на 27%. Однак найбільший позитивний вплив спо-

стерігався при застосуванні анальциму спільно з культуральною рідиною *P. roseopurpureum*, що стимулювало ріст біотесту на 26% до контролю, а також окремо — останньої (стимулювання на 16% до контролю).

Виявлено цитостатичну дію гідрофільних речовин ґрунту за наявності фітопатогенів, що знижувалася в 1,7 раза при передпосівній обробці насіння вищезгаданою культуральною рідиною. При спільному її використанні з анальцимом проліферація бічних коренів *C. sativus* посилювалася найефективніше (у 2 рази).

Біохімічний стан ґрунту оцінювали за значеннями окисно-відновного потенціалу (ОВП). Найбільше зниження ОВП (в 1,8 раза) відносно контролю (ґрунт без *Fusarium*) відбувалося у ґрунті під дією метаболітів мікроміцетів роду *Fusarium*, що вказує на акумуляцію лабільних органічних сполук, які можуть виявляти алелопатичну дію. При цьому зафіксовано інтенсивно відновний характер процесу, що вважається несприятливим для гуміфікації, а також росту і розвитку рослин. Застосування культуральної рідини *P. roseopurpureum* як окремо, так і спільно з анальцимом підвищувало значення ОВП відповідно в 1,6 та 1,7 раза, внаслідок чого окисно-відновний процес спрямовувався в бік помірно відновного. Спостерігалось також підвищення показників рН середовища на фоні внесення анальциму в 1,5 раза в бік лужної реакції порівняно з контролем.

Однією із характерних особливостей мікроміцетів є здатність синтезувати фітотоксини, тому ми вважали необхідним дослідити вміст фенольних речовин у ґрунті, які, як відомо, можуть виконувати алелопатичну функцію. Концентрація фенольних сполук у ґрунті з *Fusarium* перевищувала контроль (ґрунт без *Fusarium*) у 1,2 раза. При додаванні в ґрунт анальциму, обробці насіння культуральною рідиною, а також спільному їхньому використанні кількість фенольних речовин деякою мірою знижувалася (у 1,1–1,2 раза).

Поліпшення алелопатичних та біохімічних характеристик ґрунту при застосуванні культуральної рідини *P. roseopurpureum* та анальциму за наявності мікроміцетів роду *Fusarium* позначилося на фізіологічних процесах у рослинах томатів.

Проростки томатів, інокульовані сумішшю фітопатогенних грибів роду *Fusarium*, наприкінці досліду мали симптоми ушкодження фузаріозом: фузаріозні перетяжки на кореневих шийках, пригнічені показники росту, вмісту фотосинтетичних пігментів (табл. 1). Вміст захисних біомолекул (флавоноїдів, антоціанів) та активність каталази зростали. Це свідчить про активізацію ферментативних та неферментативних систем антиоксидантного захисту у відповідь на ураження фітопатогенами.

Обробка насіння культуральною рідиною *P. roseopurpureum* та внесення наноматеріалу анальциму в ґрунт сприяли зростанню стійкості проростків томатів до ураження фузаріозом: значно знижувалася кількість рослин з фузаріозною перетяжкою, поліпшувалися параметри росту та життєвого стану. Біохімічні показники стресового стану (вміст антоціанів та активність каталази) наближалися до норми. Вміст флавоноїдів дещо зростав. Флавоноїди відіграють важливу роль у стійкості рослин до патогенних бактерій і грибів: беруть участь у формуванні реакції гіперчутливості, можуть безпосередньо інгібувати ферментні системи, розвиток спор і міцелію, пошкоджувати мембрани патогену [12]. Тому зростання вмісту цих метаболітів у тканинах проростків томатів може бути однією з причин підвищення їх стійкості до фузаріозу.

Ефект від обробки насіння культуральною рідиною *P. roseopurpureum* був значно більший, ніж від внесення анальциму в ґрунт. Так, у першому варіанті чисельність мікроміцетів зменшувалась у 9,6 раза, а бактерій — збільшувалась у 1,8 раза, тоді як у другому — в 1,4 та

Таблиця 1. Вплив обробки насіння культуральною рідиною (КР) *P. roseopurpureum* і внесення в ґрунт наноматеріалу анальциму на стійкість до фузаріозу та життєвий стан проростків томата

Варіант	Висота надземної частини, мм	Кількість рослин з фузаріозною перетяжкою, %	Маса сухої речовини, мг		Вміст фотосинтетичних пігментів, мг/г сирої речовини			Вміст флавоноїдів, % на 1 г сирої маси	Вміст антоціанів, % на 1 г сирої маси	Активність каталази, мкмоль H ₂ O ₂ за 1 хв на 1 г сирої маси листків
			надземна частина	корені	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>	каротиноїди			
<i>Інокуляція фітопатогенами</i>										
Контроль	63,6	12	22,9	15,19	1,2	0,6	0,4	0,48	6,3	11,67
КР <i>P. roseopurpureum</i>	67,7	0	32,6	17,1	2	0,7	0,5	0,52	2,4	8,33
Анальцим	66,7	9	31,2	15,68	1,7	0,8	0,5	0,56	4,7	10
КР + анальцим	72	0	34,0	17,12	2,9	0,7	0,5	0,59	4,5	8,33
<i>Без інокуляції</i>										
Контроль	74,5	—	32,9	18,31	3,3	1,2	0,6	0,14	1,7	4,3
КР <i>P. roseopurpureum</i>	76,1	—	35,2	19,49	3	1	0,5	0,18	1,4	4,2
Анальцим	75,8	—	35,1	19,81	3,3	1,1	0,6	0,18	1,8	4,1
КР + анальцим	77,8	—	38,2	19,99	3,7	1,3	0,6	0,21	1,5	4,7
НІР	0,5	0,4	1,2	1,1	0,4	0,3	0,2	0,3	0,4	0,9

Таблиця 2. Чисельність мікроорганізмів у ґрунті під томатами

Варіант дослідження	Мікроміцети, тис. КУО/г сухого ґрунту	Бактерії, млн КУО/г сухого ґрунту	Варіант дослідження	Мікроміцети, тис. КУО/г сухого ґрунту	Бактерії, млн КУО/г сухого ґрунту
Контроль	9,7 ± 1,1	135,0 ± 16,2	Внесення анальциму Обробка насіння КР <i>P. roseopurpureum</i> + + внесення анальциму	35,2 ± 0,5	43,9 ± 3,8
Контроль з <i>Fusarium</i>	46,1 ± 1,6	33,1 ± 8,1			
Обробка насіння КР <i>P. roseopurpureum</i>	4,8 ± 2,7	60,6 ± 10,3			

1,3 раза відповідно (табл. 2). У разі сумісного застосування культуральної рідини та наноматеріалу анальциму спостерігали потенціювання (посилення ефекту порівняно з дією окремих речовин). Синергічна дія підсилювала гальмівний ефект щодо фузаріуму і становила 64%. Зокрема, у варіанті з обробкою культуральною рідиною та анальцимом не виявлено проростків з фузаріозною перетяжкою, а показники росту наближалися до таких у контролі (без інокуляції).

При відсутності інокуляції фітопатогенами застосування анальциму та культуральної рідини стимулювало накопичення фітомаси надземними частинами та коренями проростків томатів, біосинтез хлорофілу *a* та флавоноїдів у листках. Таке поліпшення життєвого стану та систем антиоксидантного захисту в проростках дослідженими речовинами свідчить про зростання системної стійкості до несприятливих біотичних та абіотичних факторів середовища.

Проведені дослідження підтвердили високий антифунгальний ефект культуральної рідини *P. roseopurpureum* на прикладі фітопатогенних грибів роду *Fusarium* та імуностимулюючі властивості наноматеріалу анальциму. Встановлено явище синергічного посилення ефекту при сумісному застосуванні анальциму та культуральної рідини *P. roseopurpureum* для захисту рослин томатів від ураження фузаріозом.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. *Epstein E.* Silicon in plants: facts vs. concepts // *Silicon in Agriculture* / Eds. L.E. Datnoff, G.H. Snyder, G.H. Korndoorer. — Amsterdam : Elsevier, 2001. — P. 1–16.
2. *Заїменко Н.В., Дідик Н.П., Елланська Н.Е., Павлюченко Н.А., Юношева О.П., Закрасов О.В., Росіцька Н.В.* Перспективи застосування екзометаболітів мікроміцетів та анальциму для захисту рослин капусти від фузаріозу // *Агроекол. журн.* — 2015. — № 3. — С. 87–92.
3. *Галаган Н.П., Богатырев В.М., Иваницкая Б.А., Покровский В.А., Заименко Н.В.* Взаимодействие уксусной и винной кислот с природными минералами // *Химия, физика и технология поверхности.* — 2008. — Вып. 14. — С. 534–540.
4. *Заїменко Н.В., Іваницька Б.О., Довгалюк Н.І., Міськів Н.* Роль кремніємістких мінералів у функціонуванні екосистеми: ґрунт–рослина–ґрунт // *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку.* Т. 1. — Київ: Логос, 2009. — С. 265–271.
5. *Гродзинский А.М., Гродзинский Д. М.* Краткий справочник по физиологии растений. — Киев: Наук. думка, 1973. — 592 с.
6. *Hiscox J. D., Israelstam C. F.* A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration // *Can. J. Bot.* — 1979. — **57**. — P.1332–1334.
7. *Плешков Б.П.* Практикум по биохимии растений. — 3-е изд., доп. и перераб. — Москва: Агропромиздат, 1985. — 255 с.
8. *Фитохимический анализ лекарственного растительного сырья.* Методические указания к лабораторным занятиям / Под. ред. М.Н. Комарова, Л.А. Николаева и др. — Санкт-Петербург: СПХФА, 1998. — 60 с.
9. *Гродзинский А.М., Кострома Е.Ю., Шроль Т.С., Хохлова И.Г.* Прямые методы биотестирования почвы и метаболитов микроорганизмов // *Аллелопатия и продуктивность растений: Сб. науч. тр.* — Киев: Наук. думка, 1990. — С. 121–124.
10. *Гродзинский А.М., Горобец С.А., Крупа Л.И.* Руководство по применению биохимических методов в аллелопатических исследованиях почв. — Киев, 1988. — 18 с.
11. *Ivanov V.B.* Using the roots as test objects for the assessment of biological action of chemical substances // *Rus. J. Plant Physiol.* — 2011. — **58**, No 6. — P. 1082–1089.
12. *Mierziak J., Kostyn K., Kulma A.* Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment // *Molecules.* — 2014. — **19**. — P. 16240–16265.

REFERENCES

1. *Epstein E.* Silicon in Agriculture, Amsterdam: Elsevier, 2001: 1–16.
2. *Zaimenko N.V., Didyk N.P., Ellanska N.E., Pavliuchenko N.A., Yunosheva O.P., Zakrasov O.V., Rositska N.V.* Agroecol. J., 2015, No 3: 87–92 (in Ukrainian).
3. *Galagan N.P., Bogatyrev V.M., Ivanitskaya B.A., Pokrovsky V.A., Zaimenko N.V.* Chemistry, physics and surface technology, 2008, Iss. 14 : 534–540 (in Russian).
4. *Zaimenko N.V., Ivanitskaya B.O., Dovgaliuk N.I., Mis'kiv N.* Plant Physiology: problems and prospects, Vol.1, Kiev: Logos, 2009: 265–271 (in Ukrainian).
5. *Grodzinskiy A.M., Grodzinskiy D.M.* Short Guide to Plant Physiology, Kiev: Naukova Dumka, 1973 (in Russian).
6. *Hiscox J.D., Israelstam C.F.* Can. J. Bot., 1979, **57**: 1332–334.
7. *Pleshkov B.P.* Practical work on plant biochemistry, 3rd ed., ext., Moscow: Agropromizdat, 1985 (in Russian).
8. *Phytochemical analysis of medicinal plants.* Methodical instructions to laboratory work, St.-Petersburg: SPKhFA, 1998 (in Russian).

9. Grodzinskiy A.M., Kostroma E.Ju., Shrol' T.S., Khokhlova I.G. Allelopathy and plant productivity, Kiev: Naukova Dumka, 1990 (in Russian).
10. Grodzinskiy A.M., Gorobets S.A., Krupa L.I. Handbook on application of biochemical methods in allelopathic soil studies. — Kiev, 1988 (in Russian).
11. Ivanov V.B. Rus. J. Plant Physiol., 2011, **58**, No 6: 1082–1089.
12. Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. Molecules, 2014, **19**: 16240–16265.

Надійшло до редакції 20.05.2016

Член-корреспондент НАН України Н.В. Заменко, Н.Э. Элланская, Н.П. Дидык,
Н.А. Павлюченко, Е.П. Юношева, Б.А. Иваницкая, А.В. Закрасов, Н.В. Росицкая
Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины, Киев
E-mail: zaimenkonv@ukr.net

ВЛИЯНИЕ АНАЛЬЦИМА И ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ГРИБА *PENICILLIUM ROSEOPURPUREUM* НА УСТОЙЧИВОСТЬ ТОМАТОВ К ФУЗАРИОЗУ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВЫ

Установлено, что обработка семян томатов культуральной жидкостью *P. roseopurpureum* и внесение наноматериала анальцима в почву повышает устойчивость проростков к поражению фитопатогенными микромицетами рода *Fusarium*, существенно снижает численность почвенных микромицетов (в том числе фитопатогенных), улучшает аллелопатические и физико-химические свойства почвы. Показано усиление защитного эффекта анальцима и культуральной жидкости при их совместном действии.

Ключевые слова: анальцим, экзометаболиты, фитопатогенные грибы, микромицеты-антагонисты, *Penicillium roseopurpureum*, *Fusarium*, *Lycopersicon esculentum*, проростки, устойчивость.

Corresponding Member of the NAS of Ukraine N.V. Zaimenko, N. E. Ellans'ka, N. P. Didyk,
N.A. Pavliuchenko, O.P. Yunosheva, B.O. Ivanyts'ka, O.V. Zakrasov, N.V. Rositska
M.M. Gryshko National Botanic Garden of the NAS of Ukraine, Kiev
E-mail: zaimenkonv@ukr.net

EFFECT OF ANALCITE AND EXOMETABOLITES OF FUNGUS *PENICILLIUM ROSEOPURPUREUM* ON THE RESISTANCE OF TOMATO TO *FUSARIUM* AND ON MICROBIOLOGICAL AND ALLELOPATHIC PROPERTIES OF SOIL

It is found that the treatment of tomato seeds with cultural medium of *P. roseopurpureum* and the application of analcite nanomaterial to soil increase the resistance to infestation by the phytopathogenes of *Fusarium* genus, significantly reduce the number of soil micromicetes (including pathogenes), improve the allelopathic, physical and chemical conditions of soil. The enhancement of the protective effect of analcite and cultural medium at their combined application is shown.

Keywords: analcite, exometabolites, pathogenic fungi, micromycetes antagonists, *Penicillium roseopurpureum*, *Fusarium*, *Lycopersicon esculentum*, seedlings, resistance.