

УДК 631.466.1:632.4.01/.08

СИНТЕЗ ЕТИЛЕНУ ФІТОПАТОГЕННИМ ГРИБОМ *ACREMONIUM SP. 502*

Г. В. Цехмістер

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14027, Україна; e-mail: ania_tceh@mail.ru

Вивчено здатність фітопатогенного гриба Acremonium sp. 502 продукувати етилен in vitro. Встановлено, що Acremonium sp. 502 здатний до синтезу етилену. Найвищий рівень біосинтезу зафіксовано через 5 тижнів культивування, що співпадає зі строками найвищого рівня синтезу целюлаз, які беруть участь у проникненні гриба в рослину. Висувається припущення, що синтез етилену відіграє певну роль у механізмі патогенезу рослин огірків.

Ключові слова: етилен, фітопатоген, Acremonium.

Представники родини *Cucurbitaceae* є одними з найпоширеніших видів овочевих рослин, які вирощуються на території України. Проблема їх ураження грибами в Україні є мало дослідженою. Поряд із цим, фітопатогенні гриби призводять до значних матеріальних збитків у сільському господарстві. Представники роду *Acremonium* Link, в основному, ведуть сапротрофний спосіб живлення, але за певних умов вони можуть змінювати спеціалізацію і спричиняти захворювання рослин родини *Cucurbitaceae*, проявляючи себе як факультативні паразити. Гриби роду *Acremonium* виділено з хворих рослин динь в Іспанії, Італії та США (штати Каліфорнія і Техас) [13–18; 20]. У 2011 році з рослин огірків, що вирощувались в умовах закритого ґрунту та мали симптоми захворювання, С. П. Надкерничним виділено штам *Acremonium sp. 502*. Нами підтверджено патогенність його щодо рослин огірків сорту Корольок. Виявлено, що він локалізується в кореневій системі, кореневій шийці та гіпокотилі і розвиток захворювання починає проявлятися у фазі справжніх листків [12].

Фітопатогенні мікроорганізми продукують низку вторинних метаболітів, які негативно впливають на ріст та розвиток рослин. Відомо, що здатність синтезувати фітогормони часто відіграє важливу роль у процесі патогенезу і корелює з вірулентністю і спеціалізацією патогена. При облігатному паразитизмі використання патогеном регуляторних систем рослини-хазяїна є важливим факто-

ром сумісництва. Фітогормони виявлені у спорах, культуральній рідині та міцелії багатьох фітопатогенних грибів. Вважається, що інтенсивне продукування гормонів пов'язане зі здійсненням фітопатогенних функцій, таких як некроз тканин та гідроліз їх до простих сполук [2], також відомо, що гіперсинтез фітогормонів розбалансовує гормональну систему рослин і є чинником багатьох захворювань [7]. Визначення здатності грибів продукувати фітогормональні речовини дає можливість визначити механізм їх впливу на рослинний організм. Одним із складових механізмів патогенезу у грибів є продукування етилену [4].

Етилен — природний регулятор росту рослин, один із основних фітогормонів. У рослині він контролює широкий спектр фізіологічних процесів, дозрівання плодів та старіння тканин, проростання насіння, ріст клітин розтягненням, також він бере участь у відповіді рослини на різні стресори. Характерними процесами, які активує етилен, є прискорення старіння листя [9], затримка росту стебла в довжину, його потовщення і горизонтальний ріст [1]. Поряд із цим етилен може знижувати полярний транспорт ауксинів, інгібувати поділ клітин, прискорювати опадання плодів, викликати старіння квітів, затримувати ріст коренів [19]. Відомо, що гриби родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Mucor*, *Saccharomyces* здатні синтезувати етилен [9].

Зважаючи на вищезазначене, метою на-

шої роботи було вивчення здатності *Acremonium sp.* 502 продукувати етилен як один із механізмів впливу на рослини.

Матеріали й методи. Досліджували патогенний штам грибів роду *Acremonium*, виділений із хворих рослин огірків, які вирощувались в умовах закритого ґрунту. Вірулентність штаму попередньо підтверджено на огірках сорту Корольок. Культуру гриба підтримували на скошеному сусло-агарі (4 градуси Балінга). Опис морфолого-культуральних характеристик представлений нами раніше [10].

Для дослідження синтезу етилену *Acremonium sp.* 502 поверхнево культивували у скляних флаконах на синтетичному середовищі Чапека за температури 26–28 °С. У флакони об'ємом 30 мл розливали по 10 мл середовища. Посівний матеріал *Acremonium sp.* 502 отримували шляхом змиву конідій і фрагментів гіфів гриба зі скошеного сусло-агару. Висів проводили суспензією спор ($T = 1 \cdot 10^6$ КУО), у кількості 5 % від об'єму живильного середовища. Вимірювання етилену проводили через кожні 7 діб, упродовж 7 тижнів. При цьому флакони герметично закривали на добу. Склад повітря в газовій фазі аналізували на газовому хроматографі Chrom-4 [4]. Контролем слугував склад повітря у флаконах без інокулюма гриба. Міцелій гриба відділяли через фільтрувальний папір, декілька разів промивали дистильованою водою та висушували до сталої маси за 105 °С. Розрахунок кількості етилену в пробі робили згідно із запропонованою методикою [6].

Як критерій оцінки вірогідності змін, що

спостерігали, розраховували середнє квадратичне відхилення [5].

Результати та їх обговорення. Отримані нами результати підтверджують здатність *Acremonium sp.* 502 продукувати етилен *in vitro*. Кількість синтезованого етилену впродовж 63 діб представлено на рис. 1.

З наведених результатів видно, що *Acremonium sp.* 502 синтезує етилен вже на початку культивування. На 7-у добу його кількість складає $4,89 \pm 0,63$ нмоль за годину / 1 г. Найвищу кількість етилену спостерігали на 35-у добу культивування — $111,78 \pm 13,27$ нмоль за годину / 1 г. За подальшого культивування кількість етилену знижується, що можна пояснити тим, що гриб переходить від стаціонарної фази росту, коли його фізіологічні процеси є найвищими, до фази старіння та відмирання. Вже на 63-ю добу культивування кількість синтезованого етилену зменшувалася до $5,13 \pm 0,74$ нмоль за годину / 1 г за рахунок зниження метаболізму та переходу *Acremonium sp.* 502 до фази виживання.

Відомо, що клітини рослин стають чутливими до етилену тільки на певній стадії розвитку [3]. Нами встановлено, що в умовах вегетаційного дослідження розвиток захворювання починає проявлятися через 5–7 тижнів після появи сходів. Симптоми проявляються в пожовтінні листків з подальшим їх відмиранням [12]. Відомо, що етилен активує і прискорює процес старіння тканин рослин [9]. Тому можна припустити, що біосинтез етилену *Acremonium sp.* 502 відіграє певну роль у розвитку захворювання рослин огірків.

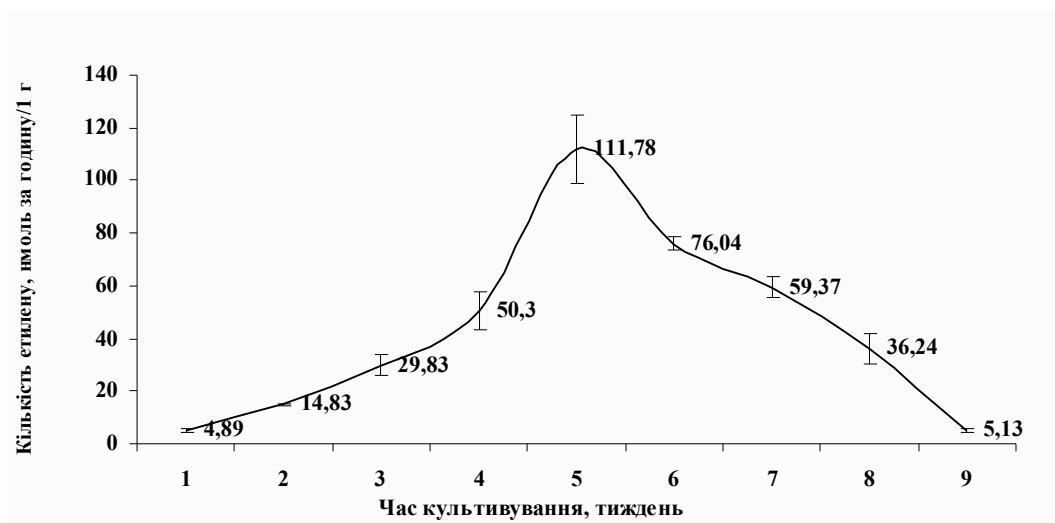


Рис 1. Динаміка синтезу етилену *Acremonium sp.* 502

Також за дії етилену на тканини рослин в них підвищується активність пектинази і целюлази, що призводить до руйнування міжклітинних зв'язків [3]. Раніше нами було встановлено, що *Acremonium* sp. 502 здатний до синтезу ендо-, екзоглюканоли та β -глюкозидази. Найвищу целюлозолітичну активність гриб виявляв через 6 тижнів культивування з показником рН середовища 8,5 [8].

Біологічна роль фітогормональних речовин у культуральній рідині до кінця не встановлена. Можливо, біосинтез фітогормонів забезпечує можливість патогену регулювати взаємовідносини з рослиною-хазяїном [21]. Окремі дослідники вважають, що фітогормони дозволяють патогену змінювати в потрібний бік метаболізм рослини-хазяїна і стимулювати приток поживних речовин до інфікованих тканин. Також існує думка, що за допомогою екзогенних фітогормонів патогени ослаблюють рослину, що полегшує її колонізацію [11].

Отже, нами встановлено, що патогенний для рослин огірків гриб *Acremonium* sp. 502 здатний продукувати етилен. Найвищий рівень біосинтезу зафіксовано через 5 тижнів культивування, що співпадає зі строками найвищого рівня синтезу целюлаз, які беруть участь у проникненні гриба в рослину. Тому можна припустити, що синтез етилену відіграє певну роль у механізмі патогенезу рослин огірків через вплив на активність целюлаз та пришвидщення старіння листя.

1. Биорегуляция микробно-растительных систем : монография / под ред. Г. А. Иутинской, С. П. Пономаренко. — К. : Нічлава, 2010. — 472 с. : ил.

2. Вольнец А. П. Особенности выделения фитогормонов и фенольных соединений в культуральную жидкость грибом *Drechslera teres* ИТО / А. П. Вольнец, А. П. Полякова // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. — 2012. — № 3. — С. 38–43.

3. Генетика развития растений / Л. А. Лутова, Т. А. Ежова, И. Е. Додуева, М. А. Осипова. — СПб. : Из-во Н-Л, 2010. — 432 с.

4. Данкевич Л. А. Синтез патогенными для бобовых культур бактериями рода *Pseudomonas* гормонов, ингибирующих рост и развитие растений / Л. А. Данкевич // Мікробіол. журнал. — 2013. — Т. 75, № 6. — С. 46–50.

5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. — М. : Аг-

ропромиздат, 1985. — 351 с.

6. Экспериментальная грунтово микробиология : монография / [В. В. Волкогон, О. В. Надкернична, Л. М. Токмакова та ін.]. — К. : Аграрна наука, 2010. — 464 с.

7. Копилов С. П. Грунтово гриби як біотичний чинник впливу на рослини / Копилов С. П. // Сільськогосподарська мікробиологія : міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів : ЦНП, 2012. — Вип. 15–16. — С. 7–27.

8. Копилов С. П. Целюлазна активність *Acremonium* sp. 502, виділеного з хворих рослин огірків / С. П. Копилов, Г. В. Цехмістер // Мікробиологія і біотехнологія. — 2015. — № 2. — С. 80–88.

9. Медведев С. С. Физиология растений : учебник. / С. С. Медведев. — СПб. : Изд-во С.-Петербур. Ун-та, 2004. — 336 с.

10. Цехмістер Г. В. Вивчення культурально-морфологічних особливостей фітопатогенного гриба *Acremonium* sp. 502 / Г. В. Цехмістер // Сільськогосподарська мікробиологія : міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів : Сівер-Друк, 2014. — Вип. 20. — С. 49–53.

11. Шутко А. П. Влияние метаболитов гриба *Ophiobolus graminis* Sacc. на посевные качества семян озимой пшеницы / А. П. Шутко, В. М. Передериева // Фундаментальные исследования (сельскохозяйственные науки). — 2012. — № 11. — С. 1432–1436.

12. Цехмістер Г. В. Акремоніозне в'янення огірків / Цехмістер Г. В. // Мікробиологія в сучасному сільськогосподарському виробництві : матеріали ІХ наукової конференції молодих вчених (Чернігів, 26–27 листопада 2013 р.). — Чернігів : ІСМАВ НААН, 2013. — С. 35–37.

13. *Acremonium* hypocotyl rot / W. D. Gubler, T. A. Zitter, D. L. Hopkins, C. E. Thomas // Compendium of cucurbit diseases. Amer. Phytopathol. Soc. — St. Paul, Minn., 1996. — P. 9.

14. *Acremonium* species as the causal agent of muskmelon collapse in Spain / J. Garsia-Jimenez, M. T. Velazquez, C. Jorda and A. Alfaro-Garcia // Plant Dis. — 1994. — Vol. 78. — P. 416–419.

15. Aegerter B. J. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California / B. J. Aegerter, T. R. Gordon, R. M. Davis // Plant Disease. — 2000. — Vol. 84, № 3. — P. 224–230.

16. Bruton B. D. Occurrence of *Acremonium* sp. and *Monosporascus cannonballus* in the major cantaloupe and watermelon growing areas of California / B. D. Bruton, R. M. Davis, T. R. Gordon // Plant Disease. — 1995. — Vol. 79. — P. 754.

17. Disease reaction among selected *Cucurbitaceae* to an *Acremonium cucurbitacearum* isolate from Texas / [B. D. Bruton, T. W. Popham, J. Garcia-Jimenez et al.] // Hortscience. — 2000. — Vol. 35,

№ 4. — P. 677–680.

18. Fungi associated with root rot and collapse of melon in Italy / [G. Chilosi, R. Reda, M. P. Aleandri et al.] // OEPP/EPPO Bulletin. — 2008. — Vol. 38. — P. 147.

19. Johnson P. R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective / P. R. Johnson, J. R. Ecker // Annual Review of

Genetics. — 1998. — Vol. 32. — № 2. — P. 227–254.

20. The taxonomic position of the causal agent of Acremonium collapse. / [J. Armengol, B. D. Bruton, W. Gams et al.] // Mycologia. — 1996. — № 88. — P. 804–808.

21. Tyagi P. D. Some effect of culture filtrates of Bipolaris sp. on wheat roots / P. D. Tyagi // Proc. Indian Acad. Sci. B. — 1963. — № 57. — P. 106–107.

СИНТЕЗ ЭТИЛЕНА ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБОМ ACREMONIUM SP. 502

А. В. Цехмистер

Институт сельскохозяйственной микробиологии
и агропромышленного производства НААН,
г. Чернигов

Изучена способность фитопатогенного гриба Acremonium sp. 502 продуцировать этилен in vitro. Установлено, что Acremonium sp. 502 способен к синтезу этилена. Наивысший уровень биосинтеза зафиксирован через 5 недель культивирования, что совпадает со сроками наивысшего уровня синтеза целлюлаз, принимающих участие в проникновении гриба в растение. Выдвигается предположение, что синтез этилена играет определённую роль в механизме патогенеза растений огурца.

Ключевые слова: этилен, фитопатоген, Acremonium.

SYNTHESIS OF ETHYLENE WITH ACREMONIUM SP. 502 PHYTOPATHOGENIC FUNGI

G. V. Tsehmister

Institute of Agricultural Microbiology and
Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

The ability of Acremonium sp. 502 phytopathogenic fungi to produce ethylene was studied. It was found that Acremonium sp. 502 is able to synthesize ethylene. The highest level of biosynthesis was recorded after 5 weeks of cultivation that coincides with the terms of the highest level of synthesis of cellulases that are involved in the penetration of the fungus into the plant. A suggestion that ethylene synthesis plays a certain role in the mechanism of pathogenesis of cucumbers plants is offered.

Key words: ethylene, phytopathogen, Acremonium.