

УДК 631.86/87:633.367:632.38

## ПІДВИЩЕННЯ ВІРУСОСТІЙКОСТІ РОСЛИН ЛЮПИНУ ЖОВТОГО ЗА ДІЇ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

О. В. Пиріг

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

*Досліджено вплив мікробних препаратів та фізіологічно активних речовин на репродукування вірусу жовтої мозаїки квасолі в рослинах люпину жовтого. Встановлено, що дія мікробних препаратів на обмеження розвитку вірусної інфекції пояснюється впливом екзогенних фізіологічно активних речовин, які містяться в препаратах та продукуються інтродукованими в агроценоз мікроорганізмами, на формування пулу ендогенних фітогормонів, що сприяє включенню захисних реакцій рослинного організму.*

Ключові слова: люпин жовтий, вірус жовтої мозаїки квасолі, біопрепарати, фізіологічно активні речовини.

Однією з основних перешкод широкого використання люпину у сільськогосподарському виробництві є численні хвороби, зокрема грибні та вірусні. Незважаючи на створення високопродуктивних, стійких до грибних захворювань сортів люпину, розширити площі під люпин жовтий не вдається, зокрема і через значне ураження вірусними хворобами. Найбільш розповсюдженими та економічно важливим є вірус жовтої мозаїки квасолі (*Bean yellow mosaic virus*, ВЖМК) — збудник вузьколистості люпину жовтого. За ураження вірусною вузьколистістю втрати врожаю зерна люпину жовтого сягають 50–90 %. [1–4].

Сьогодні немає надійних засобів боротьби з вірусними інфекціями, що пов'язано з особливостями біології збудників, тому захист люпину жовтого від вірусної вузьколистості носить в основному профілактичний характер [5]. Проте існує багато інформації щодо антивірусних властивостей продуктів метаболізму різних мікроорганізмів [6–10]. Це обумовлює важливість пошуку шляхів підвищення стійкості рослин люпину до ураження ВЖМК. Перспективними у цьому напрямі є біологічні методи активізації фітоімунітету і захисту рослин. Серед них мало дослідженими є мікробні препарати на основі активних селекціонованих штамів

бактерій та мікроміцетів. Біопрепарати містять, окрім мікроорганізмів, здатних оптимізувати процеси живлення рослин, також і біологічно активні речовини, які можуть індукувати стійкість рослин до інфекційних хвороб при стимулюванні захисних реакцій [11].

У зв'язку з цим метою наших досліджень було вивчення впливу мікробних препаратів та фізіологічно активних речовин на інтенсивність репродукування вірусу жовтої мозаїки квасолі в рослинах люпину жовтого.

**Матеріали і методи.** Дію біопрепаратів та різних доз фітогормонів (ауксинів, цитокінінів, гіберелінів) на інтенсивність репродукування ВЖМК в рослинах люпину жовтого сорту Прогресивний проводили в умовах вегетаційного дослідження.

Схема дослідження:

1. Контроль (насіння оброблене водою);
2. Ризобіофіт (*Rhizobium lupini* 367a);
3. Ризогумін (*Rhizobium lupini* 367a та оптимізований для рослин вміст фітогормонів);
4. Хетомік (*Chaetomium cochliodes* 3250);
- 5–7. Ауксини (ІОК) (2–20 мг/л);
- 8–10. Цитокініни (БАП) (0,4–4 мг/л);
- 11–13. Гібереліни (ГК) (2–20 мг/л).

Насіння люпину висівали у стерильний пісок з використанням суміші Прянїшнікова.

Передпосівну обробку біопрепаратами та розчинами фітогормонів проводили за 2 години до посіву. Вологість субстрату впродовж вегетаційного періоду підтримували на рівні 60 % від повної вологоємності. Повторність досліду п'ятиразова.

Накопичення вірусу жовтої мозаїки квасолі проводили з використанням тест-рослин *Vicia faba*, які вирощували в умовах вегетаційних приміщень при 20–25 °С і фотоперіоді 16 годин. Вірусний рослинний матеріал збирали через 2–3 тижні після зараження (період максимального накопичення вірусу). Інокулюм з листків уражених рослин бобів готували з додаванням 0,01 М фосфатного буферного розчину, рН 7,2–7,5. Інфікування рослин люпину жовтого ВЖМК проводили у фазу 3–5 справжніх листків методом механічної інокуляції з попереднім опудрюванням карборундом (500–600 меш) [12; 13].

Визначення концентрації ВЖМК у рослинах люпину жовтого проводили у сендвіч-варіанті твердофазного імуноферментного аналізу (ТІФА) за стандартною методикою [14; 15], результати реєстрували на рідері EL×800 (Biotek, США) при довжині хвилі 492 нм.

Вміст фітогормонів у рослинному матеріалі визначали за допомогою методу кількісної спектроденситометричної тонкошарової хроматографії [16].

Статистичний обрахунок результатів проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу [17].

**Результати та обговорення.** За результатами імуноферментного аналізу встановлено, що в рослинах контрольованого варіанту (уражені рослини без інокуляції) концентрація вірусу була найбільшою і становила 0,300 оптичних одиниць (о. о.), що в 4 рази більше за показники негативного контролю (здорові рослини люпину, без інокуляції) (табл. 1).

Як за використання біопрепаратів, так і розчинів фітогормонів спостерігали зниження концентрації ВЖМК у рослинах. Найменша концентрація по відношенню до контролю була у варіанті з обробкою ауксином у концентрації 10 мг/л і становила 0,201 о. о., що на 0,099 о. о. (33 %) нижче ніж у контролі. Зі збільшенням дози ауксину до 20 мг/л відмічали тенденцію до зміни концентрації вірусу у бік показників контролю — 0,233 о. о.

Таблиця 1. Вплив біопрепаратів та фізіологічно активних речовин на концентрацію ВЖМК у рослинах люпину жовтого

Варіанти досліду	Оптична густина, одиниці
Здорові рослини люпину, без обробки біопрепаратами (негативний контроль)	0,076 ± 0,012
Рослини люпину, уражені ВЖМК, без обробки біопрепаратами (контроль)	0,300 ± 0,004
Ризобофіт	0,261 ± 0,004
Ризогумін	0,220 ± 0,002
Хетомік	0,225 ± 0,002
Ауксини (ІОК) (20 мг/л)	0,233 ± 0,003
– // – (10 мг/л)	0,201 ± 0,002
– // – (2 мг/л)	0,209 ± 0,006
Цитокініни (БАП) (4 мг/л)	0,228 ± 0,005
– // – (1 мг/л)	0,213 ± 0,001
– // – (0,4 мг/л)	0,212 ± 0,002
Гібереліни (ГК) (20 мг/л)	0,215 ± 0,002
– // – (10 мг/л)	0,221 ± 0,001
– // – (2 мг/л)	0,224 ± 0,001

Обробка цитокініном у концентрації від 0,4–1,0 мг/л сприяла зниженню концентрації ВЖМК на 0,086–0,087 о. о. (28,6–29,0 %). Збільшення концентрації фітогормону до 4 мг/л призводило до збільшення концентрації вірусу до 0,228 о. о.

Гіберелін у дозі 20 мг/л дозволив знизити концентрацію вірусу в рослинах люпину на 0,085 о. о. (28,3 %). У той же час, при зменшенні дози рідестимулятора до 10–2 мг/л концентрація ВЖМК зростала до 0,221–0,224 о. о. відповідно.

За дії комплексного препарату Ризогуміну, до складу якого, крім бактеріальної культури, входять фізіологічно активні речовини, зокрема ауксини та цитокініни, також спостерігали зниження концентрації вірусу у рослинах люпину жовтого на 0,080 о. о. (26,6 %).

Препарат Хетомік, біоагент якого є продуцентом фітогормональних речовин (гіберелінів, ауксинів), арахідонової кислоти, яка є біогенним еліситором, що індукує систем-

ну імунну відповідь рослин на дію патогенів, також сприяв зменшенню накопичення ВЖМК в рослинах люпину жовтого на 0,075 о. о. (25,0 %).

Застосування Ризобофіту — препарату, до складу якого входить активний штам бульбочкових бактерій *Rhizobium lupini* 367a, дозволило знизити концентрацію вірусу у рослинах на 0,039 о. о. (13 %), проте ці значення були нижчими за показники варіантів з Ризогуміном та Хетоміком на 13,6 % та 12,0 % відповідно.

Отримані результати є свідченням того, що вміст фізіологічно активних речовин у мікробних препаратах суттєво впливає на рослини, уражені ВЖМК, а саме на зменшення репродукування в них вірусу.

Цікаво, що застосування Ризогуміну та Хетоміка сприяло збільшенню вмісту ендогенних фітогормонів у рослинах люпину жовтого, інфікованих ВЖМК, зокрема зеатину, зеатинрибозиду, індолілоцтової кислоти та гіберелінів. Так, у наших дослідах вміст зеатину у рослинах люпину, уражених вузьколистістю, за обробки Ризогуміном та Хетоміком збільшувався відносно контролю на 49,7 % і 44,1 %, зеатинрибозиду — на 18,9 % і 13,1 %, індолілоцтової кислоти — на 32,4 % і 26,3 % гіберелінів — 34,5 % та 68,5 % відповідно (табл. 2).

Збільшення вмісту в рослинах ендогенних фітогормонів унаслідок передпосівної інокуляції насіння люпину вищезазначеними препаратами значною мірою пояснює покращення багатьох фізіологічних показників уражених рослин та значно вищу врожайність культури по відношенню до контролю, що ми спостерігали у наших попередніх дослідженнях [18–20].

Таблиця 2. Вплив біопрепаратів на вміст ендогенних фітогормонів у рослинах люпину жовтого, ураженого ВЖМК

Фізіологічно активні речовини	Вміст фітогормонів, нг/мл					
	контроль		Ризогумін		Хетомік	
	I	II	I	II	I	II
Зеатин	1003 ± 24,8	813,2 ± 51,3	1345,6 ± 43,0	1217,6 ± 30,8	1093,2 ± 22,7	1172,0 ± 36,2
Зеатинрибозид	1288,0 ± 19,5	1099,6 ± 27,7	1497,2 ± 19,8	1308,0 ± 14,6	1392,0 ± 21,1	1244,0 ± 30,0
Індолілоцтова кислота	430,5 ± 15,3	381,4 ± 25,5	672,2 ± 31,0	505,0 ± 42,1	594,5 ± 28,2	482,0 ± 17,9
Гібереліни	872,0 ± 26,5	712,0 ± 20,3	1195,6 ± 18,5	957,6 ± 30,7	1581,0 ± 88,4	1200,0 ± 60,7

Примітка: I — здорові рослини; II — уражені рослини.

Отже, дія мікробних препаратів на обмеження вірусної інфекції пояснюється впливом екзогенних фізіологічно активних речовин, які містяться в препаратах та продукуються інтродукованими в агроценоз мікроорганізмами, на формування пулу ендогенних фітогормонів, що сприяє включенню захисних реакцій рослинного організму.

1. Порембская Н. Б. Вирусные болезни люпина : автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук / Н. Б. Порембская. — Л., 1965. — 22 с.

2. Jones R. A. C. Yield limiting potential of necrotic and non-necrotic strains of *Bean yellow mosaic virus* in narrow-leaved lupin / R. A. C. Jones, B. A. Coutts, Y. Cheng // Australian Journal of Agricultural Research. — 2003. — № 54. — P. 849–859.

3. Корнейчук Н. С. Грибные болезни люпина / Н. С. Корнейчук. — К. : Колобиг, 2010. — 376 с.

4. Шмидт Э. Вирусные болезни люпина и создание устойчивых форм для селекции / Э. Шмидт, Д. Шпаар // Вестн. с.-х. науки. — М. : Колос, 1981. — № 9. — С. 32–43.

5. Вирусные болезни люпина и меры борьбы с ними / [Амбросов А. Л., Власов Ю. И., Полякова Т. Е., Якушева А. С.]. — Мн. : Ураджай, 1985. — 78 с.

6. Бобырь А. Д. Антивирусные свойства различных культур дрожжей / А. Д. Бобырь // Вирусные болезни сельскохозяйственных культур. — К., 1966. — С. 97–103.

7. Вплив ризобактерій на розвиток інфекції, викликаній вірусом зеленої крапчастої мозаїки огірка на рослинах *Cucumis sativus* / [Харіна А. В., Скрипов В. Г., Будзанівська І. Г. та ін.] // Сільськогосподарська мікробіологія : міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів : ЦНТЕІ, 2007. — Вип. 5. — С. 179–186.

8. Жеребчук Л. К. Влияние гиббереллина на содержание нуклеиновых кислот в листьях здоровых и пораженных X-вирусом растений картофеля / Л. К. Жеребчук, З. М. Олевинської, И. Й. Ромась // *Материалы IV Всесоюзного совещания по вирусным болезням растений.* — К. : Наукова думка, 1974. — С. 159–164.

9. Мусорок Т. И. Влияние кинетина на активность РНКазы и репродукцию ВТМ в листьях табака / Т. И. Мусорок, В. Г. Рейфман, Ю. Н. Журавлев // *Метаболизм больного растения.* — Владивосток, 1976. — С. 120–126.

10. Подавление 1,3;1,6-β-D-глюканом инфекций, вызванных X-вирусом картофеля, в листьях гомфрены и дурмана / Реунов А. В., Лапшина Л. А., Нагорская В. П., Елякова Л. А.] // *Физиол. раст.* — 2000. — № 47(2). — С. 240–243.

11. Loon L. C. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria / L. C. Loon, P. A. Bakker, C. M. Pieterse // *Annu. Rev. Phytopathol.* — 1998. — Vol. 36. — P. 453–483.

12. Yarwood C. E. Mechanical transmission of plant viruses / C. E. Yarwood // *Adv. Virus Res.* — 1957. — Vol. 4. — P. 243–278.

13. Попкова К. В. Практикум по иммунитету растений / К. В. Попкова, З. П. Качалова. — М. : Колос, 1984. — 176 с.

14. Crowther J. R. ELISA. Theory and practice / J. R. Crowther. — N. Y. : Hamana Press, 1995. — 223 p.

15. Wang M. ELISA detection of specific antisera to structural proteins of the virus / M. Wang, D. Gonsalves // *Plant Disease.* — 1990. — Vol. 74, № 2. — P. 154–158.

16. Савинский С. В. Определение зеатина, индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот из одной растительной пробы методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии / С. В. Савинский, И. В. Драговоз, В. К. Педченко // *Физиология и биохимия культурных растений.* — 1991. — Т. 23, № 6. — С. 606–614.

17. Доспехов В. А. Методика полевого опыта с основами статистической обработки результатов исследований / В. А. Доспехов. — М. : Агропромиздат, 1985. — 351 с.

18. Пирог А. В. Действие биопрепаратов на урожайность и качество продукции люпина желтого при вирусном инфицировании / А. В. Пирог // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета.* — Барнаул, 2013. — № 11(109). — С. 18–22.

19. Пиріг О. В. Особливості впливу вірусної інфекції на рослини люпину жовтого за використання мікробних препаратів / О. В. Пиріг, Л. П. Коломієць, В. В. Волкогон // *Вірусологія: минуле, сьогодні, майбутнє : тези доповідей конференції, присвяченої 50-річчю кафедри вірусології (12 квітня 2012 р., м. Київ).* — К. : Київський університет, 2012. — С. 61–62.

20. Пиріг О. В. Вплив мікробних препаратів на формування та функціонування симбіотичної системи люпину жовтого за дії вірусної інфекції / О. В. Пиріг, Л. П. Коломієць, В. В. Волкогон // *Роль науки у підвищенні технологічного рівня і ефективності АПК України : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції (16–18 травня 2012 р., м. Тернопіль).* — Тернопіль : Крок, 2012. — С. 100–101.

## **ПОВЫШЕНИЕ ВИРУСОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЛЮПИНА ЖЁЛТОГО ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

**А. В. Пирог**

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

*Изучено влияние микробных препаратов и физиологически активных веществ на репродукцию вируса жёлтой мозаики фасоли в растениях люпина жёлтого. Установлено, что действие микробных препаратов на ограничение развития вирусной инфекции объясняется влиянием экзогенных*

## **INCREASED VIRAL-RESISTANCE OF YELLOW LUPINE UNDER THE ACTION OF MICROBIAL PREPARATIONS AND PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

**O. V. Pyrih**

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

*The influence of microbial preparations and physiologically active substances on the reproduction bean yellow mosaic virus in yellow lupine plants has been investigated. It was established that the action of microbial preparations on the limitation of the viral infection development is explained by the influence of exo-*

*физиологически активных веществ, содержащихся в препаратах и продуцируемых интродуцированными в агроценоз микроорганизмами, на формирование пула эндогенных фитогормонов, что способствует включению защитных реакций растительного организма.*

Ключевые слова: *люпин жёлтый, вирус жёлтой мозаики фасоли, микробные препараты, физиологически активные вещества.*

*genous physiologically active substances, which are contained in preparations and produced by the microorganisms introduced in agrocenosis, on the forming of endogenous phytohormone pool. Therefore, it optimizes a number of physiological processes of the plants and activates their defence reactions.*

Key words: *yellow lupine, bean yellow mosaic virus, microbial preparations, physiologically active substances.*