

ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ШТАМІВ БАКТЕРІЙ-АНТАГОНІСТІВ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРОМІЦЕТІВ

Шерстобєва О.В., Чайковська В.В., Чабанюк Я.В.

Інститут агроєкології УААН,
вул. Метрологічна, 12, м. Київ, 03143, Україна
E-mail: ovsher@ukr.net

*Виділено нові штами бактерій роду *Pseudomonas* з антифунгальними властивостями, які не володіють бактеріостатичною дією щодо виробничих штамів азотфіксувальних, фосфатмобілізувальних бактерій, продуцентів речовин фітогормональної дії, що дозволить використовувати їх при комплексній інокуляції.*

Ключові слова: бактерії-антагоністи, фітопатогени, ідентифікація, біопрепарати.

Сільськогосподарська мікробіологія пропонує сучасні екологічно безпечні технології для вирішення проблем поліпшення кореневого живлення рослин і якості продукції рослинництва при збереженні та примноженні природної родючості ґрунтів, адже розмаїття ґрунтових мікроорганізмів дозволяє відібрати з високопродуктивних природних біогеоценозів штами азотфіксувальних, фосфатмобілізувальних мікроорганізмів, продуцентів речовин фітогормональної і антибіотичної дії, які не вимогливі до умов існування та мають високу швидкість росту, за рахунок чого, вони можуть бути конкурентоздатними у біоценозах ґрунту [2].

Відомо, що мікроміцети є найпоширенішими збудниками хвороб культурних рослин і причиною зниження їх урожайності. На даний час для захисту від фітопатогенів в основному використовують хімічні фунгіциди, які забруднюють навколишнє середовище та сільськогосподарську продукцію [4].

Отже, пошук високоактивних мікроорганізмів як потенційних біоагентів препаратів захисної дії для застосування в екологічно безпечних агротехнологіях є пріоритетним завданням сучасної сільськогосподарської мікробіології.

Матеріали і методи. Виділення бактерій-антагоністів з ризосфери рослин та визначення їх антифунгальної активності

проводили за методом Н.С. Єгорова [3] з ґрунту стаціонарного досліду Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла УААН. Тест-об'єктами були фітопатогенні мікроміцети: *Bipolaris sorokiniana* Subram, *Trichotecium roseum* Fr., *Fusarium avenaceum* Sacc.

Морфологію бактеріальних клітин вивчали в однодобовій культурі за допомогою фазово-контрастного пристрою мікроскопу LABOVAL 4 фірми Carl Zeiss Jena.

Культуральні і фізіолого-біохімічні властивості виділених штамів бактерій вивчали за методами, які наведені у практикумах [1, 3]. Ідентифікували штами бактерій за Bergey [5].

Результати та їх обговорення. Зі зразків ґрунту виділено більше ста ізолятів, але лише 15 штамів бактерій виявляли антагонізм щодо фітопатогенних грибів. Найвищим рівнем пригнічення росту мікроміцетів відрізнялися штами 118 та 432. Ці штами було виділено із ризосфери не уражених кореневими гнилями рослин пшениці озимої, які росли серед уражених рослин на ділянках контрольного варіанту, де насіння перед сівбою не обробляли, і рослини вирощували без внесення добрив.

Дослідження антагоністичної дії бактерій щодо тест-культур фітопатогенних грибів виявило, що штам 118 найбільше пригнічував розвиток *Trichotecium roseum* Fr. Подальше спостереження показало, що культура антагоніста починає рости по штриху фітопатогена, тобто антагоніст використовує його біомасу як поживний субстрат. Зона лізису міцелію *Fusarium avenaceum* Sacc., *Bipolaris sorokiniana* Subram відповідно становила $1,5 \pm 0,4$ см та $2,2 \pm 0,6$ см (табл. 1). Бактеріальний штам 432 повністю пригнічував ріст тест-культури фітопатогенів.

Таблиця 1. Антифунгальна активність нових штамів бактерій 118 та 432 щодо фітопатогенних мікроміцетів

Тест – культура	Зона пригнічення росту тест – культур, мм	
	шт. 118	шт. 432
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	22 – 28	відсутність росту
<i>Fusarium avenaceum</i>	15 – 19	– « –
<i>Trichotecium roseum</i>	відсутність росту	– « –

За морфологічними ознаками штами бактерій 118 і 432 схожі. Штам 118 утворює безкольорові, прозорі, округлі, випуклі і

блискучі колонії, з рівним краєм, до 3 мм у діаметрі. Колонії штаму 432 коричнюватого кольору, округлі, непрозорі, плоскі, з хвилястим краєм, до 2 мм у діаметрі.

Мікроскопічні спостереження культур у фазу експоненціального росту виявили, що клітини обох штамів – дрібні рухливі палички. Не утворюють спор, облігатні аероби. Фарбування за Грамом дає негативну реакцію. Утворюють кислоту з глюкози і не ростуть за низьких значень рН середовища (штам 432 – нижче 5,0; штам 118 – нижче 5,5). Утворюють полігідроксибутират. Є типовими мезофілами. Не засвоюють молекулярного азоту, не гідролізують желатину і крохмаль. Проявляють характерне відношення до певних антибіотиків (табл. 2).

Таблиця 2. Морфологічні, основні фізіолого-біохімічні та культуральні властивості штамів бактерій 118 і 432

Ознака	Штам 432	Штам 118
Форма клітин	паличка	паличка
Розміри клітин, мкм	0,5-0,9×2,7-3,6	0,7-1,0×3,5-5,2
Фарбування по Граму	–	–
Утворення пігменту	коричнюватий	–
Спороутворення	–	–
Рухомість	+	+
Можливість росту за температури, °С	5-32	5-30
Можливість росту, рН	5,0-9,5	5,5-11,5
Відношення до кисню	аероб	аероб
Утворення кислоти з глюкози	+	+
Фіксація молекулярного азоту	–	–
Ріст за присутності 20 % HCl	–	–
Гідроліз желатини	–	–
Гідроліз крохмалю	–	–
Каталазна активність	+	+
Накопичення полігідроксибутирату	+	+
Стійкість до стрептоміцину	+	+
Чутливість до цефтриоксону	+	+

Усі ці ознаки дозволяють припустити, що обидва штами відносяться до роду *Pseudomonas*. Штам 432, на відміну від штаму 118, утворює пігмент коричнюватого кольору, який не флюоресціює і не дифундує у середовище, засвоює широкий спектр низькомолекулярних вуглеводів, використовує нітрати та

амінокислоти як джерело азоту. За цими ознаками його попередньо можна віднести до виду *P. serapia*. Але дослідження таксономічного положення штамів продовжуються.

Особливістю штамів 118 та 432, яка важлива для їх практичного застосування, є відсутність бактерицидної або бактериостатичної дії щодо виробничих штамів азотфіксувальних, фосфатмобілізувальних бактерій-біоагентів мікробних препаратів, призначених для поліпшення кореневого живлення рослин. Результати експерименту свідчать про те, що виділені штамми: не інгібують ріст симбіотичних азотфіксувальних бактерій родів *Rhizobium* і *Bradyrhizobium*, які утворюють бульбочки на коренях бобових культур (препарат Ризобофіт); діазотрофів – агробактерій, ентеробактерій (Діазофіт, Ризоентерин для злакових та овочевих культур); не перешкоджають функціонуванню фосфатмобілізувального штаму бактерій *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 (препарат Фосфоентерин).

Антагоністичну активність нових штамів безпосередньо у ґрунті, а також, ефективність їх використання у складі мікробного комплексу як біопротектора встановлено у польових дослідах з пшеницею озимою, результати яких виявили значне зниження поширення та розвитку корневих гнилей у посіві інокульованих рослин [6].

Таким чином, господарська цінність штамів бактерій-антагоністів 118 та 432 полягає у високій антифунгальній активності щодо фітопатогенних мікроміцетів, розвиток яких вони гальмують, а також, у відсутності бактерицидного впливу на виробничі штамми симбіотичних і асоціативних азотфіксувальних, фосфатмобілізувальних, рістстимулювальних бактерій. Завдяки цій обставині штамми бактерій 118 та 432 можуть бути використані як біопротектори у сполученні з мікробними препаратами.

1. Большой практикум по микробиологии /[Т.В. Аристовская, М.Е. Владимирская, М.М. Голлербах и др.]; под ред. Г.Л. Селибера. – М.: Высшая школа, 1962. – 492 с.

2. Біологічний азот /[Патика В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін]. – К.: Світ, 2003. – 422 с.

3. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учебное пособие /Д.Г. Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

4. Шерстобоева О.В. Роль мікробіологічних препаратів у

підвищенні продуктивності рослин екологічно безпечними засобами /О.В. Шерстобоева //Физиол. и биохим. культурн. раст. – 2004. – № 3 – С. 229-238.

5. Определитель Берджи: 9 изд. в 2-х томах /Под ред. Дж. Хоулта, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса; пер. с англ. под. ред. Г.А. Заварзина. – М.: Мир, 1997. – Т. 1.– 430 с.

6. Чайковська В.В. Комплексні мікробні препарати для інтегрованих систем землеробства /Чайковська В.В., Чабанюк Я.В., Шерстобоева О.В. //Мікробіол. і біотехнол. – 2007.– № 1. – С. 75-81.

СВОЙСТВА НОВЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

Шерстобоева Е.В., Чайковская В.В., Чабанюк Я.В.

Институт агроэкологии УААН, г. Киев

Выделены новые штаммы бактерий рода Pseudomonas с антифунгальными свойствами, которые не обладают бактериостатическим действием по отношению к производственным штаммам азотфиксирующих, фосфатмобилизирующих бактерий, продуцентам веществ фитогормонального действия, что позволит использовать их при комплексной инокуляции.

Ключевые слова: бактерии-антагонисты, фитопатогены, идентификация, биопрепараты.

PROPERTIES OF NEW BACTERIA-ANTAGONISTS OF PHYTOPATHOGENIC MICROMYCETES

Sherstoboeva E., Chaykovskaja V., Chabanjuk J.

Institute of Agroecology, UAAS, Kyiv

The new bacterial stains from Pseudomonas genus with antifungal properties were allocated. It was shown that isolated strains do not possess bacteriostatic action in relation to the industrial stains of nitrogen fixing and phosphorus-mobilizing bacteria, producers of phytohormonal-like substances that all together allow their use at complex inoculation.

Key words: bacteria-antagonists, phytopathogenes, identification, biopreparations.