

ЕНТОМОПАТОГЕННІ БАКТЕРІЇ В АГРОЦЕНОЗІ КАРТОПЛІ

Вплив екологічних факторів на збереження та ентомоцидну активність *Bacillus thuringiensis* в агробіоценозі картоплі

Визначено ступінь впливу абіотичних та біотичних факторів на ентомопатогенні бактерії штамів *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 та *B. thuringiensis* var. *shandongiensis* 787 у агроценозі картоплі. Показано, що значна роль у даному процесі належить опадам та тривалості сонячного сяяння.

Встановлено антибактеріальні властивості екстрактивних речовин картоплі сорту Явір щодо спор штамів 994 та 787.

***Bacillus thuringiensis*, сонячна інсоляція, опади, екстрактивні речовини, картопля**

Одним із перспективних методів захисту рослин, що забезпечує вихід якісної, екологічно безпечної продукції, є застосування засобів мікробіологічного контролю чисельності комах-фітофагів на основі ентомопатогенних бактерій *B. thuringiensis* різних серотипів.

На збереження ентомопатогенів на поверхні листя рослин, оброблених біоінсектицидами, впливають різноманітні екологічні чинники. Серед абіотичних факторів слід зазначити сонячну інсоляцію, температуру, вологість та опади [1, 2]. Ультрафіолетове випромінювання інактивує більшість збудників хвороб [2]. Серед біотичних факторів значний вплив мають екстрактивні речовини рослин [3]. Дане питання особливо актуальне для умов Півдня України, клімат якого характеризується високими показниками інсоляції та температури.

Нами вивчався вплив тривалості сонячного сяяння та опадів на збереження та ентомоцидну активність спор ентомопатогенних штамів *B. thuringiensis* 994 та 787 на листі картоплі сорту Явір, а також вплив екстрактивних речовин листя картоплі на ріст та розвиток бактерій.

Матеріали і методи досліджень. Динаміку збереження спор штамів *B. thuringiensis* 994 і 787 на поверхні

А.В. КРИЖКО,
молодший науковий співробітник
Л.М. КУЗНЕЦОВА,
кандидат біологічних наук
Південна дослідна станція
Інституту сільськогосподарської
мікробіології НААН
Г.М. ТКАЛЕНКО,
кандидат сільськогосподарських
наук
Інститут захисту рослин НААН

листя картоплі в умовах Південного Степу і залежну від цього ентомоцидну активність патогенів вивчали за методикою А.Г. Кольчєвського та ін. [4]. В день постановки досліду та далі протягом 7-ми діб спостерігали безвітряну сонячну погоду із середньою температурою повітря 27,2°C і тривалістю сонячного дня 10,6–12,9 годин. Наявність опадів відмічали на 7-му добу досліду (1,1 мм), максимальну тривалість сонячного сяяння спостерігали протягом перших 3-х діб.

Вплив екстрактивних речовин листя картоплі на штами *B. thuringiensis* 994 та 787 досліджували в лабораторних умовах на м'ясо-пептонному агарі (МПА) за методом Е.М. Даніні. Дію екстрактивних речовин оцінювали за зоною затримки росту бактерій і безпосередньо за кількістю колоній в чашках Петрі [5].

Результати досліджень. Аналіз спор на поверхні листя, проведений через добу після обробки, показав, що кількості життєздатних спор досліджуваних штамів 994 та 787 знижується в середньому більше, ніж на 95,7% порівняно з початковою кількістю. В подальшому, протягом 3-х діб, тенденція зниження спор зберігалася, хоча і менш активно (на 99,0%). Кількість спор *B. thuringiensis*, яка практично дорівнювала досліджуваному показнику в контрольному варіанті, відмічена на 7-му добу досліду.

Активне зниження кількості життєздатних спор протягом перших 3-х діб є наслідком дії високого рівня інсоляції. Практично повна відсутність спор штамів 994 та 787 на поверхні листя на 7-му добу досліду пов'язана як з інтенсивністю сонячного сяяння, так і з опадами, які відмічали протягом 6-ї доби досліду (табл. 1).

Однак, при визначенні ентомопатогенної дії штамів 994 та 787 проти личинок колорадського жука залежно від зберігання їх спор на поверхні листя встановлено, що ефективність штамів не корелювала з визначеною динамікою (рис. 1). Личинки, яких підсаджували на оброблені листя на першу та третю доби, гинули відповідно на 97,3% і 80,0% та 93,3% і 76,0%. Ї тільки на 5-ту добу активність штамів значно

1. Динаміка збереження спор ентомопатогенних штамів *B. thuringiensis* 994 та 787 на листі картоплі під впливом опадів та інсоляції в умовах Південного Степу (польовий дослід)

Час після обробки, доба	Кількість спор з розрахунку на 1 г листової маси		Зменшення кількості спор, %		Сума опадів за один день, мм	Тривалість сонячного сяяння, годин
	Штам 994	Штам 787	Штам 994	Штам 787		
В день обробки	5,1·10 ⁷	2,2·10 ⁷	—	—	0,0	++
1-ша	3,2·10 ⁶	0,5·10 ⁶	93,7	97,7	0,0	+++
3-тя	4,9·10 ⁵	2,2·10 ⁵	99,0	99,0	0,0	+++
5-та	3,9·10 ⁵	2,0·10 ⁵	99,1	99,0	1,1	++
7-ма	2,7·10 ²	1,4·10 ²	99,9	99,9	0,0	+++

Примітка. Тривалість сонячного сяяння за одну добу: “++” – 6–9 годин; “+++” – 10–13 годин

знижувалася і становила відповідно 62,6% та 49,3%, а на 7-му добу не перевищувала 21,3%.

Високу активність штамів 994 та 787 у перші 3 доби дослідження, за літературними даними, можна пояснити тим, що токсини *B. thuringiensis* залежно від штаму патогена можуть зберігатися на листі протягом 5–10 діб [1]. Більш активна дія штаму 994 на 5-ту та 7-му доби дослідження порівняно зі штамом 787 забезпечується здатністю штаму 994 продукувати крім білкових кристалів і термостабільний екзотоксин.

Відомо, що екстрактивні речовини рослин можуть не тільки пригнічувати ріст спорових мікроорганізмів, але й впливати на їх розвиток. Наприклад, за дії екстрактивних речовин яльця, кедр, ялини та модрина на штами *B. thuringiensis* відмічали появу гігантських, веретеноподібних, кластридальних та ниткоподібних форм клітин [3, 6]. Екстрактивні речовини акації викликають затримку росту бактерій *B. thuringiensis* на 24 години, а клепа та горіха – на 48 годин [7]. Встановлено також, що за дії нелетучих речовин капусти відбувається затримка утворення кристалів *B. thuringiensis* на 2–3 дні [2].

Отримані результати показали, що екстрактивні речовини картоплі сорту Явір на різних фазах розвитку рослин характеризуються різною бактерістатичною дією відносно досліджуваних патогенів (табл. 2).

За аналізу впливу екстрактивних речовин картоплі у фазі сходів розмір зони затримки росту бактерій в чашках на МПА у варіанті зі штамом 994 досягав 2,5 мм, у варіанті зі штамом 787 – 4,5 мм. Кількість колоній, які формувалися в чашках у варіанті зі штамом 994, дорівнювала кількості колоній контрольної

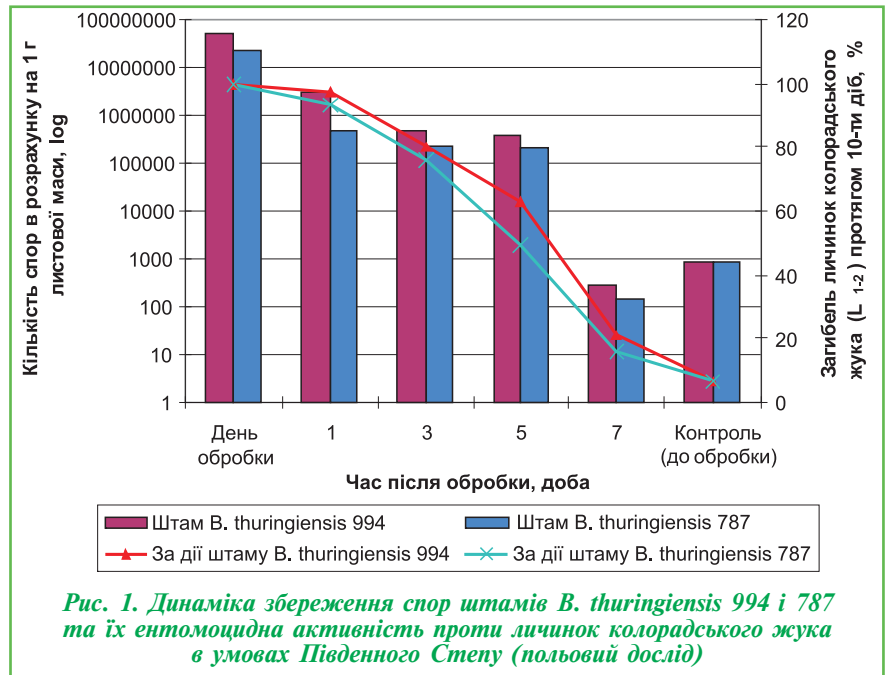


Рис. 1. Динаміка збереження спор штамів *B. thuringiensis* 994 і 787 та їх ентомоцидна активність проти личинок колорадського жука (L₁₋₂) протягом 10-ти діб, % в умовах Південного Степу (польовий дослід)

го варіанту, в той час як у варіанті зі штамом 787 спостерігали зменшення кількості колоній відносно контролю у 2,8 рази. При мікроскопіюванні таких колоній на стадії розвитку вегетативних клітин (через 8–10 год.) відмічали різницю в кількості клітин в ланцюжках штамів дослідних і контрольних варіантів (рис. 2). Так, у варіанті зі штамом 787 кількість клітин в ланцюжках дослідних варіантів досягала 14–18 клітин, у контрольних – 11–13 клітин.

В подальшому, через дві доби культивування штамів, відмічали значну різницю в часі формування спор і білкових кристалів. Тоді, як у клітинах штамів 994 та 787 відмічали наявність вільних спор і кристалів, в контролі відбувався процес активного формування проспор і білкових кристалів ендотоксину.

У фазі бутонізації розмір стерильної

зони в чашках у варіанті зі штамом 994 досягав 1,5 мм, у варіанті зі штамом 787 – 3,5 мм. Кількість колоній у варіантах зі штамом 994 та 787 була у 1,5 рази менша, ніж у контролі.

У фазі цвітіння екстрактивні речовини картоплі не спричиняли утворення стерильної зони у варіанті зі штамом 994, у варіанті зі штамом 787 стерильна зона досягала 2,8 мм. Кількість колоній в чашках Петрі у варіанті зі штамом 994 була у 1,2 рази менша, ніж у контролі, а у варіанті зі штамом 787 спостерігали зменшення кількості колоній відносно контролю у 2,8 рази.

Вплив екстрактивних речовин картоплі на розвиток культур штамів *B. thuringiensis* 994 та 787 у фазі дозрівання не встановлено.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що на збереження спор ентомопатогенних бактерій штамів *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 та *B. thuringiensis* var. *shandongensis* 787, внесених за обробки у агроценоз картоплі, впливають такі абіотичні чинники: тривалість сонячного сяяння та опади. Максимальна тривалість сонячного сяяння, яку спостерігали протягом перших трьох діб дослідження, призвела до зменшення спор бактерій більше, ніж на 95,7%. Опади на шосту добу дослідження, разом з тривалістю сонячного сяяння, сприяли зменшенню кількості спор *B. thuringiensis* до 99,0%.

Штами ентомопатогенів, залежно від строку збереження спор, збе-

2. Вплив екстрактивних речовин картоплі на різних фазах розвитку рослин на життєздатність бактерій штамів *B. thuringiensis* 994 та 787 (польовий дослід)

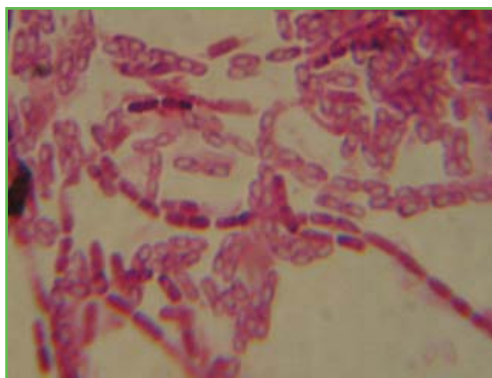
Варіант дослідження	Фаза розвитку	Величина зони затримки росту бактерій, мм	Кількість колоній бактерій, екз./чашку Петрі	
			контроль	дослід
Штам <i>B. thuringiensis</i> 994	Сходи	2,5±0,2	303,3±6,4	323,6±44,2
	Бутонізація	1,5±0,2	501,6±17,1	331,0±21,4
	Цвітіння	0	436,0±11,0	350,7±18,1
	Дозрівання	0	347,0±12,7	325,3±5,2
Штам <i>B. thuringiensis</i> 787	Сходи	4,5±0,3	489,6±43,0	171,8±6,5
	Бутонізація	3,5±0,2	431,0±16,8	291,7±13,2
	Цвітіння	2,8±0,6	277,7±5,5	181,7±29,1
	Дозрівання	0	409,3±15,0	343,7±40,8



B. thuringiensis var. *thuringiensis* 994



Контроль



Дослід

B. thuringiensis var. *shandongiensis* 787



Контроль



Дослід

Рис.2. Вплив екстрактних речовин картоплі на розвиток культур *B. thuringiensis* (лабораторний дослід)

6. Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства. — М. — 1966. — С. 65–74.

7. Кузнецова Л.Н. Циркуляция и сохранность *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* в очагах американской белой бабочки как основа рационального применения битоксицилина: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.07 «микробиология»/ Л.Н. Кузнецова. — Ленинград, 1986. — 17 с.

Крыжко А.В.,
Кузнецова Л.Н.,
Ткаленко Г.Н.

Влияние экологических факторов на сохранность и энтомоцидную активность *Bacillus thuringiensis* в агроценозе картофеля

Определена степень влияния абиотических и биотических факторов на штаммы энтомопатогенных бактерий *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 и *B. thuringiensis* var. *shandongiensis* 787 в агроценозе картофеля. Установлено, что значительную роль в сохранности спор бактерий на листе растения играют осадки и интенсивность солнечного сияния. Для картофеля сорта Явор, как существенный фактор относительно штаммов 994 и 787, определены антибактериальные свойства экстрактивных веществ.

***Bacillus thuringiensis*, солнечная инсоляция, осадки, экстрактивные вещества, картофель**

Kryzhko A.V.,
Kuznetsova L.M.,
Tkalenko G.M.

The ecological factors influence of on the saving and entomopathogenic activity of *Bacillus thuringiensis* in the potato agroecosystem

The influence degree of abiotic and biotic factors on the entomopathogenic bacteria strains *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 and *B. thuringiensis* var. *shandongiensis* 787 in the potato agroecosystem was determined. It is established, that the great role in this process the rainfalls and the solar light duration took part. The antibacterial properties of the potato of the Javor breed extractive substances against the strains 994 and 787 were revealed.

***Bacillus thuringiensis*, solar light, rainfalls, extractive substances, potato**

рігають високу активність (76,0–93,3%) проти личинок молодших віків колорадського жука, підсаджених на листя картоплі протягом трьох діб після обробки.

Екстрактивні речовини картоплі сорту Явір (біотичний фактор) спричиняють антибактеріальну дію на ентомопатогенні бактерії штамів *B. thuringiensis* 994 та 787. Максимальне пригнічення росту *B. thuringiensis* спостерігається за дії екстрактивних речовин рослин картоплі у фазі сходів. Зона затримки росту бактерій досягала 2,5 та 4,5 мм відповідно штамів 994 та 787.

Екстрактивні речовини прискорюють ріст бактерій штамів *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 994 та *B. thuringiensis* var. *shandongiensis* 787 на стадіях вегетативних клітин та спорування, порівняно з контролем.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кандыбин Н.В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика / Кандыбин Николай Васильевич. — М.: Агропромиздат, 1989 — 172 с.
2. Кольчевский А.Г. Влияние фитонцидов растений, произрастающих в биоценозах капустных и картофельных полей на *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* шт. 202 / А.Г. Кольчевский // Бюл. ВНИИ с/х микробиологии. — 1981. — №33. — С. 57–60.
3. Гукасян А.Б. Бактериостатическое и бактерицидное действие хвои и ее химических компонентов на возбудителя болезни сибирского шелкопряда / А.Б. Гукасян // Изв. Сиб. отд. АН СССР. — 1958. — №7. — С. 174–188.
4. Кольчевский А.Г. Определение количества спор и параспоральных включений в растениях и в почве. Методические указания. / Кольчевский А.Г., Лескова А.Я., Хомякова К.Г. — Л. — 1984. — 12 с.
5. Фитонциды, их роль в природе и значение для медицины / [под ред. Б.П. Токина.]. — М.: Изд-во академии медицинских наук СССР, 1952. — С. 330.