

above 0 in laboratory. Spirochetes contents in the experimental samples were determined and compared after 24 hours.

Lifetime secretes (diffusions substances of rhizomes and washing from alive leaves) of *D. filix-mas* and *T. palustris* repress in vitro cultures of pathogenic leptospires (serological variant *Icterohaemorrhagiae*). Substances which were received from decomposed dead leaves of ferns had a toxic influence on spirochetes, but to a lesser extent. Parts of wetland territories, where species of class Polypodiopsida grow adverse for long-term existence of pathogenic leptospires (serological variant *Icterohaemorrhagiae*).

*Keywords: Dryopteris filix-mas, Thelypteris palustris, pathogenic leptospires, lifetime secretes, substances of decomposed dead leaves*

Рекомендує до друку  
В. В. Грубінко

Надійшла 14.12.2016

УДК 579.887

К. С. КОРОБКОВА, Т. В. ЗАТОВСЬКА

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України  
вул. Заболотного, 154, Київ, 03680

## **ВПЛИВ РИЗОБІЙ НА ПРОЯВ МІКОПЛАЗМОВОЇ ІНФЕКЦІЇ ЛЮЦЕРНИ В ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ**

В умовах мікровегетації досліджено вплив азотфіксуючих бульбочкових бактерій на рослини люцерни, інфіковані молікутами, а саме, проведено морфологічне порівняння зразків *M. sativa* відповідно різних комбінацій інфікування ахолоплазмами і ризобіями. Встановлено, що утворення симбіотичних зв'язків рослин люцерни із *R. meliloti* 425a сприяє покращенню стану рослин і ослабленню негативного впливу на них з боку фітопатогенних молікутів.

*Ключові слова: молікути, фітопатогенні ахолоплазми, ризобії, симбіоз*

Серед основних культур, які мають першочергове значення в зміцненні кормової бази і збільшенні виробництва рослинного білку, *Medicago sativa* займає провідне місце. Проте люцерна належить до числа культур, які значно пошкоджуються як шкідниками, так і хворобами. Одною з найбільш розповсюджених і шкодочинних хвороб люцерни на території колишнього СРСР є «відьмина мітла», для якої встановлено мікоплазмову етіологію [2]. Фітопатогенні мікоплазми, порушуючи основні ланки рослинного метаболізму, завдають істотної шкоди продуктивності культурних рослин, яка може знижуватися від 30 до 90%. Уражені рослини характеризуються карликовістю, здрібненням листя, дрібноплідністю, наявністю «відьминих мітел» [1]. Залишається нез'ясованим роль біологічних властивостей збудників мікоплазмозу і розвитку хвороб рослин на рівні від тканин до цілого організму.

Ґрунтові бактерії род. *Rhizobiaceae* (бульбочкові бактерії) вступають у симбіоз із бобовими рослинами, утворюючи бульбочки на коренях рослин, де відбувається фіксація атмосферного азоту. Це призводить до підвищення продуктивності рослин, що є підставою для використання культур цих мікроорганізмів у сучасному органічному землеробстві. Симбіонтами люцерни є бульбочкові бактерії *Rhizobium meliloti* [3].

Оскільки ефективних засобів боротьби із фітопатогенними молікутами не існує, представляє інтерес встановлення шляхів мінімізації шкідливого впливу цих мікроорганізмів на культурні рослини. Метою проведених досліджень було вивчення взаємодії збудників мікоплазмозу із люцерною посівною і симбіотичними мікроорганізмами – представниками ризобій.

### Матеріал і методи досліджень

З музею культур Національної колекції мікроорганізмів України Інституту мікробіології і вірусології НАН України було отримано штами представників родини *Acholeplasmataceae* - *Acholeplasma laidlawii* PG-8 - типовий штам, і *A.laidlawii var.granulum* 118 – фітопатогенний штам, збудник блідо-зеленої карликовості зернових культур. Культивування ахолеплазм здійснювали на поживному середовищі СМ ІМВ-72 [4]. Крім того, для досліджень було обрано типовий ефективний штам *R.meliloti* 425a (ВІЗР, Санкт-Петербург). У дослідах використовували насіння люцерни *M. sativa* сорту Синюха.

Дослідження виконували в умовах мікровеgetаційного досліду з використанням середовища Красильнікова-Кореняко із наступним внесенням інокулюму ризобій. Спираючись на сучасні дані літератури про властивість ахолеплазм потрапляти у рослину-мішень кореневим шляхом, нами було проведено точкове зараження кореневої зони дослідних рослин в стерильних умовах. Ростові процеси відбувалися в умовах лабораторії – природного освітлення і при температурі 16-18°C.

### Результати досліджень та їх обговорення

В ході виконання досліджень нами було вивчено, як впливають представники азотфіксуючих бактерій *R.meliloti* на рослини, інфіковані різними штамми ахолеплазм, а саме – проведено морфофізіологічне порівняння зразків *M.sativa* відповідно різних комбінацій інфікування ахолеплазмами і ризобіями. Встановлено, що інокуляція ризобіями стерильних рослин сприяла їх розвитку (табл. 1).

Таблиця 1

Симбіотична ефективність *R.meliloti* 425a у мікровеgetаційних дослідах в стерильних умовах і з інфікуванням ахолеплазмами

No варіанту	Маса рослин, мг/ пробірку	
	З інокуляцією <i>R.meliloti</i> 425a	без інокуляції
1.	Без інфікування ахолеплазмами	
	11,2 ± 1,7	7,9 ± 1,7
2.	З інфікуванням <i>A. laidlawii</i> PG-8	
	12,0 ± 2,2	9,2 ± 1,7
3.	З інфікуванням <i>A. laidlawii var.granulum</i> 118	
	9,8 ± 1,4	8,9 ± 1,3

Показано, що внесення у симбіотичну систему чистих культур ахолеплазм через 2 тижні призводило до таких результатів: у випадку *A. laidlawii* PG-8 маса рослин майже не змінювалася, а у варіанті з *A. laidlawii var.granulum* 118 дещо знижувалася, що свідчить про згубний вплив цього штаму. Цікаво, що у варіанті без ризобій з інфікуванням ахолеплазмами спостерігався невеликий стимулюючий ефект. Ці результати узгоджуються з даними літератури, де показано стимулюючий вплив ахолеплазм на рослини томатів на ранніх етапах зараження в модельних умовах [5].

Також було проведено вимірювання вегетативних органів люцерни при внесенні ризобій і інфікуванні ахолеплазмами (табл. 2). Вимірювання довжини рослин показало, що у випадку інфікування ахолеплазмами цей показник перевищував контрольні показники у 1,6 разів, при цьому спостерігалася збільшення кількості листків відносно контролю.

Попереднє внесення ризобій певним чином стримувало ці процеси. Істотної різниці між штамми ахолеплазм щодо впливу на рослини не зафіксовано. У заражених проростків спостерігали потовщення стебла, збільшення кількості листків, ширини листових пластин.

Вплив ахлеплазм на ріст і розвиток рослин люцерни в стерильних умовах і в симбіозі з *R. meliloti* 425a

Варіант	Біометричні показники			
	Довжина рослини, см	Кількість листків	Довжина листка, мм	Ширина листка, мм
Стерильні рослини	5,3	5.2	5.0	4.1
Інокульовані ризобіями	5.6	6.1	6.2	4.2
Інокульовані ризобіями і <i>A. laidlawii</i> PG-8	6.0	6.6	7.0	4.5
Інокульовані ризобіями і <i>A. laidlawii</i> var. <i>granulum</i> 118	6.4	6.5	5.8	4.6
Інокульовані <i>A. laidlawii</i> PG-8	7.1	7.2	5.0	5.4
Інокульовані <i>A. laidlawii</i> var. <i>granulum</i> 118	7.6	7.3	4.8	4.4

Згідно даним літератури, збільшення ширини листків, тобто формування більш заокругленої листової пластинки, і підвищена кількість листків - характерні зовнішні ознаки прояву мікоплазмової інфекції (1,2). Застосування ризобіальної культури стримувало ці показники ближче до варіанту контролю. Крім того, було встановлено, що внесення культур мікроорганізмів на ранніх етапах не впливало на довжину і розгалуженість коренів.

#### Висновки

Отже, завдяки утворенню симбіотичних зв'язків люцерни із ефективним азотфіксуючим штамом бульбочкових бактерій і покращенню стану рослин ослаблюється негативний вплив на них з боку фітопатогенних молюкутів.

1. Борхсениус С. Н. Микоплазми / Борхсениус С.Н., Чернова О.А., Чернов ВМ., Вонский В.М. — Санкт-Петербург: Наука, 2002. — 320 с.
2. "Ведьмина метла" карликовость люцерны (основные сведения о заболевании, методах изучения, мерах борьбы с ним) / [ Власов Ю.И., Самсонова Л.Н., Файзиева Г.А. и др.] — Саратов, 1990. — 90 с.
3. *Rhizobiaceae*: молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / под ред. Г.Спайк, А.Кондорози, П.Хукас. — Санкт-Петербург, 2002. — 568 с.
4. Скрипаль И. Г. Среда СМ ИМВ-72 для выделения и культивирования фитопатогенных микоплазм / Скрипаль И.Г., Малиновская Л.П. // Микробиол. журн. — 1984. — 46, № 2. — С. 71—75.
5. Ванькова А. А. Взаимодействие между микоплазмами (*A. laidlawii*) и растениями (*Medicago sativa* и *Lyc. esculentum* Mill) / Ванькова А.А., Иванов П.И., Мидяник Г.А., Серебренникова Л.А. // Известия ТСХА. — 2008. — Вып.1. — С. 129—133.

Е. С. Коробкова, Т. В. Затовская

Институт микробиологии и вирусологии имени Д. К.Заболотного НАН Украины

#### ВЛИЯНИЕ РИЗОБИЙ НА ПРОЯВЛЕНИЕ МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ ЛЮЦЕРНЫ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

В условиях микровегетации исследовано влияние азотфиксирующих клубеньковых бактерий на растения люцерны, инфицированные молликутами, а именно, проведено морфологическое сравнение образцов *M. sativa* при различных комбинациях инфицирования ахлеплазмами и ризобиями. Установлено, что образование симбиотических связей растений люцерны с

*R. meliloti* 425a способствует улучшению состояния растений и ослаблению негативного влияния на них со стороны фитопатогенных молликутов.

*Ключові слова:* молікути, фітопатогенні ахолеплазми, ризобії, симбіоз

*K. S. Korobkova, T. V. Zatovska*

D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, Ukraine

#### EFFECT OF RHIZOBIA ON THE MANIFESTATION OF MYCOPLASMA INFECTION IN ALFALFA UNDER LABORATORY CONDITIONS

Since effective means to fight phytopathogenic mollicutes are almost non-existent, there is a growing need to identify new ways to minimize the harmful effects of these microorganisms on crops. Therefore, the present study aimed to examine the interaction of extracellular vesicles of mycoplasma *Acholeplasma laidlawii* PG-8 and *A. laidlawii* var. *granulum* 118 with alfalfa plants (*Medicago sativa*) inoculated by symbiotic microorganisms of *Rhizobium meliloti* 425a.

The influence of nitrogen-fixing bacteria on alfalfa plants infected by mollicutes has been studied under conditions of micro-vegetation. In particular, the morphological comparison of *M. sativa* plant samples infected by acholeplasmas and rhizobia in various combinations was carried out. It should be noted that in the early stages of infection by *Acholeplasma laidlawii* cells the plants not inoculated by rhizobia displayed growth. Thus, the plants of alfalfa showed such effects of mycoplasmosis as yellowing, growing new leaves and their reshaping. The study demonstrated that the symbiotic relationships between alfalfa and *R. meliloti* 425a contributes to the improvement of plant state and reduces the negative effects of plant pathogenic mollicutes. In addition, the research proved that the introduction of microbial cultures in the early stages does not affect the length and branching of roots.

*Keywords:* mollicutes, plant pathogenic acholeplasma, rhizobia, symbiosis

Рекомендує до друку

Надійшла 03.02.2017

В. В. Грубінко

УДК 574.2:579.64:632:633.3(2):632.935

<sup>1</sup>В. П. ПАТИКА, <sup>2</sup>Л. В. КИРИЛЕНКО, <sup>2</sup>О. О. АЛЕКСЄЄВ, <sup>1</sup>О. М. ЗАХАРОВА,  
<sup>1</sup>Т. Т. ГНАТЮК

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України  
вул. Заболотного, 154, Київ, 03143

<sup>2</sup>Вінницький національний аграрний університет  
вул. Сонячна, 3, Вінниця, 21008

### **ВПЛИВ БІОПРЕПАРАТІВ, ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА МІКРОБІОМ ҐРУНТУ РИЗОСФЕРИ І ЕФЕКТИВНІСТЬ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ БУЛЬБОЧКОВІ БАКТЕРІЇ – СОЯ, КОЗЛЯТНИК**

Козлятник східний та соя за вирощування без інокуляції ризобіофітом (препаратом бульбочкових бактерій) істотно впливають на формування ґрунтового мікробіому, при цьому у ґрунті відбувається зменшення його біомаси. Знижується чисельність спороутворюючих, олігонітрофільних і целюлозоруйнівних мікроорганізмів та рівень біологічної активності ґрунту, зокрема, інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> і поглинання O<sub>2</sub>, а також амоніфікуючої та нітрифікуючої активності. Певні зміни спостерігають і в динаміці чисельності мікроорганізмів,