

Л. О. КРЮЧКОВА, д-р біол. наук, Ю. Ф. МАРЧЕНКОВА*, студентка
 Інститут мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, м. Київ
 *ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка

УРАЖЕННЯ ПШЕНИЦІ ГРИБКОМ *BIPOLARIS SOROKINIANA* ТА ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО АНТАГОНІЗМУ ДЛЯ БОРОТЬБИ ІЗ ФІТОПАТОГЕНОМ

В даній статті представлені результати досліджень бактеріального антагонізму різних штамів *Bacillus subtilis* з метою створення пробіотичних препаратів для боротьби із фітопатогенним грибом *Bipolaris sorokiniana*, виділеним із насіння пшениці.

Ключові слова: *Bipolaris sorokiniana*, темно-бура плямистість листя, гелмінтоспоріозна коренева гниль, чорний зародок насіння, пробіотичні препарати, штамі *Bacillus subtilis*.

In this article the results of researches of bacterial antagonism of different strains of *Bacillus subtilis* are presented with a view to create probiotic drugs for struggle with phytopathogenic fungi *Bipolaris sorokiniana*, isolated from the wheat.

Keywords: *Bipolaris sorokiniana*, dark brown leaf spot, helminthosporium foot-rot, black wheat germ, probiotic drugs, strains of *Bacillus subtilis*.

В наш час виробники зерна зазнають значних економічних збитків через велику кількість захворювань, якими уражуються рослини. Збудники захворювань можуть бути різної природи, але переважно це – фітопатогенні бактерії та гриби. Саме ці мікроскопічні інфекційні агенти є дуже небезпечними, оскільки важко запобігти ураженню ними рослин в природних умовах через дуже швидкі темпи їх поширення [1].

Одним із найбільш небезпечних фітопатогенних грибів є *Bipolaris sorokiniana*, який викликає такі захворювання злакових, як темно-буру плямистість листя, гелмінтоспоріозну кореневу гниль та чорний зародок насіння. Збудник уражує багато злакових культур, з яких переважають пшениця, ячмінь та рис. *B. sorokiniana* належить до так званих анаморфних грибів. Під цією назвою (тобто анаморфні гриби, або незавершені гриби відділу *Deuteromycota*, або група *Fungi Imperfecti*, або мітоспорові гриби) розглядають традиційну групу дейтероміцетів або конідіальних грибів, яка налічує понад 15 тис. назв. Група об'єднує гриби з багатоклітинним міцелієм, які розмножуються виключно нестатевим шляхом за допомогою спор – конідій. Конідії утворюються на відгалуженнях міцелію – конідієносцях – або шляхом розчленування гіф на окремі клітини-артроспори. Вищі форми спороношення, які пов'язані зі статевим процесом, відсутні або зустрічаються дуже рідко. Більшість представників анаморфних грибів є стадією розвитку (анаморфою) у життєвому циклі аскоміцетів, рідше – базидіоміцетів [2].

Грибниця збудника розташовується між клітинами тканин рослин, а на поверхні уражених органів утворюється конідіальне спороношення, яке виходить через пори або між клітинами епідерміса [3].

Конідієносці багатоклітинні, темні, більш-менш колінчаті, довжиною біля 130 і товщиною 6–7 мкм. Конідії темно-оливкові, веретеноподібні або видовжені – яйцевидні, частіше прямі, іноді зігнуті, розміром 60–134 X 17–30 мкм, з 2–13 поперечними

перегородками. Поширюється грибок в період вегетації рослин конідіями. Розвиток гриба відбувається за температури 6–37°C, а максимальне зараження надземних органів рослин за температури 15°C і вище та відносній вологості повітря 95–97% [3].

Зимує збудник захворювання у вигляді грибниці та конідій на стерні та опалому зерні, витримує морози до -39°C. Тому джерелом інфекції можуть бути заражене зерно та рештки уражених рослин у ґрунті. Тим не менше в таких умовах грибок зберігається біля року, а пізніше під впливом ґрунтових бактерій та інших мікроорганізмів гине [4].

Збудником гриба уражуються всі органи рослин. При темно-бурій плямистості на листі більш дорослих рослин спочатку з'являються темні, а пізніше – темно-сірі або світло-бурі, злегка видовжені плями з темним краєм, які з часом вкриваються оливково-бурим нальотом. Стебла, особливо їх нижні вузли, іноді загнивають, внаслідок чого уражені тканини пом'якшуються і рослини «лягають» на землю. Уражені стебла вкриваються темно-сірим нальотом [5].

Коренева гниль викликає побуріння та деформацію проростків, котрі часто гинуть ще до виходу коліоптіле на поверхню ґрунту. За появи проростків на листках є бурі смуги та плями. Характеризується побурінням кореневої системи, її симптоми спостерігаються також на прикореневій частині стебла у вигляді бурих штрихів. Захворювання призводить до зниження посівів, порожнього колосся, або до розвитку неповноцінного колосся з крихким зерном. Збудник переважно вражає поверхневі тканини кореня, в судини не проникає, тому вважається, що хвороба стає шкідливою лише за системного ураження, коли з'являється листова плямистість (темно-бурий гелмінтоспоріоз) і чорний зародок насіння [6].

Чорний зародок насіння пшениці та інших злакових культур є захворюванням комплексного характеру. Серед збудників захворювання розповсюджені гриби *Alternaria alternata* (Fries) Keissl. та



Bipolaris sorokiniana (Sacc.) Shaem. Чорний зародок характеризується затемненням насіння в районі зародка або безпосередньо зародкового щитку. Захворювання може поширюватися на будь-яку частину насіння, при цьому його колір може змінюватися від темно-коричневого до оливкового, а наповненість зернівки може зберігатися. Під час інфікування насіння *B. sorokiniana* спостерігається характерна темна пігментація в зоні зародку. Грибниця патогену проникає в перикарп, ендосперм і часто в зародок. Уражене зерно пріле. Насіння з чорним зародком є фізіологічно недорозвинутим і має низьку енергію проростання. Рослини, що формуються з такого насіння, відстають в рості та розвитку і часто є причиною виникнення кореневої гнилі, що істотно знижує врожайність [7].

Практично усі види фітопатогенних грибів є продуцентами певних мікотоксинів. Поки що не доведено, що *Bipolaris sorokiniana* утворює мікотоксини. Проте питання ускладнюється тим, що зазвичай *B. sorokiniana* уражує злакові у поєднанні з *Alternaria alternata*, причому у розвинутих країнах таке ураження досягає 60% зібраного урожаю пшениці. Цей різновид грибків викликає велике занепокоєння у спеціалістів і являє собою реальну небезпеку для людини і тварин. Мікотоксини, які утворює *A. alternata*, вивчені ще недостатньо, а науково-контрольні лабораторії у країнах СНД не визначають їх вміст у зернопродуктах. Проте відомо, що альтернаріол, його метиловий ефір, тенузанова кислота та інші вторинні метаболіти по своїх токсичних властивостях не поступаються фузаріотоксинам і афлатоксинам [8].

Існують методи боротьби з *Bipolaris sorokiniana*. Тривалий час використання фунгіцидів (речовин хімічної природи) було широко розповсюджено у сільському господарстві. Але дослідження останніх років довели, що деякі фунгіциди забруднюють рослини і їх продукцію, передають їм свій неприємний запах і смак (наприклад похідні гексахлорану). Унаслідок своєї універсальності окремі фунгіциди пригнічують також розвиток корисних мікроорганізмів, комах, птахів, риб, що при систематичному використанні фунгіцидів може призвести до порушення біологічної рівноваги в біоценозах [9].

Безпечніший метод боротьби з фітопатогенними грибами – використання пробіотичних препаратів на основі бактерій (зокрема роду *Bacillus*). Він має низку переваг перед застосуванням фунгіцидів: має вибіркову дію, є менш токсичним для рослини, може стимулювати ріст і розвиток рослин, підвищувати їх стійкість до патогенів і т.д.) [9].

Ріст споживчого попиту на екологічно чисту продукцію рослинництва, а також вартість хімічних пестицидів є переконливим приводом для створення біопрепаратів для захисту рослин від хвороб. У зв'язку з цим є очевидною перспективність робіт по створенню біологічних засобів захисту рослин від захворювань, в тому числі на основі культур живих мікроорганізмів – антагоністів, котрі пригнічують ріст і розвиток фітопатогенів. Використання бактерій – антагоністів у якості діючої основи препаратів для боротьби з грибковими захворюваннями рослин стає все більш актуальним, так як широке викорис-

тання хімічних пестицидів призводить до виникнення резистентних до них форм фітопатогенних грибів, що ускладнює боротьбу з ними [10].

В наш час вітчизняними вченими створений ряд мікробних препаратів для захисту рослин від захворювань. Це, наприклад, псевдобактерин (на основі *Pseudomonas aureofaciens*, штам BS 1393), планріз (на основі *P. fluorescens*, штам AP-33), бактофіт (на основі *Bacillus subtilis*, штам ПМ 215) та інші. За характерними властивостями діючих агентів ці та інші мікробні засоби захисту рослин можна класифікувати на дві групи: препарати на основі вільноживучих бактерій і на основі ендоспермів (ендосперми – мікроорганізми, що мешають у тканинах рослин без нанесення суттєвої шкоди рослині або отримання вигоди, більшої, ніж від місця мешкання). До останньої групи належать 2 вітчизняних біофунгіцида – фітоспорин (основа *B. subtilis*, штам 26Д) та інтеграл (*B. subtilis*, штам 24Д) [10].

Накопичені знання в області мікробіології, фізіології, біохімії, генетики свідчать про переваги бактерій роду *Bacillus* у продукуванні біологічно-активних речовин. Висока здатність пристосовуватися до різних умов існування (наявність або відсутність кисню, ріст і розвиток у значному діапазоні температур, використання у якості джерел харчування різноманітних органічних або неорганічних сполук і т.д.) сприяє поширенню бацил у ґрунті, воді, повітрі, харчових продуктах та інших об'єктах зовнішнього середовища [11].

Серед бацил найбільш застосовуються штами *Bacillus subtilis*. За ступенем вивченості генетичних і фізіологічних властивостей вони займають друге місце після *E. coli*. Про великі можливості *B. subtilis* у біотехнології свідчить факт створення банку даних по молекулярній генетиці цього штаму – SubtiList, у котрий заносяться уся інформація про бактеріальний геном. Аналіз результатів наукових досліджень, які проводяться у нашій країні та за кордоном, свідчить про масштаби використання бактерій роду *Bacillus* для отримання продуктів із біомаси бактерій або їх метаболітів [11].

Серед методів виявлення антагонізму *in vitro* найбільш розповсюджено є метод відстроченого антагонізму на щільному поживному середовищі. Принцип методу полягає у роздільному, послідовному культивуванні мікроорганізмів, що досліджуються, та мікроорганізмів – індикаторів. Цей метод дозволяє виявити різноманітні метаболіти, що пригнічують розвиток інших мікроорганізмів [12].

Метою експерименту було дослідити антагоністичний вплив різних штамів бактерій *B. subtilis* на ізоляти *B. sorokiniana*, виділені з насіння пшениці. Виділення грибів проводять через добу і більше після проростання ураженого зерна у вологій камері пересіванням спор гриба у стерильні чашки Петрі із КГА.

Штами *Bacillus subtilis* (5/6, 113, 26Д, 1/11) були використані у якості агентів біоконтролю росту фітопатогенного гриба *B. sorokiniana*. Усі бактеріальні штами були одного віку, вирощені на КГА.

Через 2 дні, після інкубації у термостаті за температури 24°C, до чашок Петрі, в яких на той час вже виростили бактерії, були підсіяні ізоляти гриба

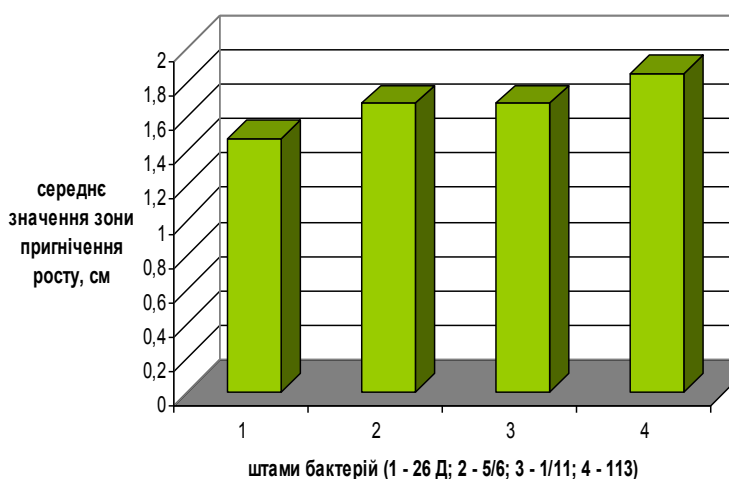


Рис. 1. Порівняння дії різних штамів *Bacillus subtilis* через 5 днів після інкубації на ізоляти гриба *Bipolaris sorokiniana*, виділені із насіння пшениці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Акулов А.Ю. Микроэволюция *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorokin) Schoet в связи с паразитизмом на над и подземных органах растений // *Мат. VIII Молод. конф. ботаников в Санкт-Петербурге (17-21 мая 2004 г., Санкт-Петербург)*. – СПб.: СПГУТД, 2004. – 59 с.
2. Акулов О.Ю. Биологичні особливості *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorokin) Shoemaker і діагностика збудників кореневої гнилі та чорного зародку ярого ячменю : Дис... канд. наук: 06.01.11 - 2007. - 154 с.
3. Хасанов Б.А. Несовершенные грибы как возбудители основных заболеваний злаков в Средней Азии и Казахстане. Автореф. докт. дисс. М., 1992. 44 с.
4. Agrios, G. N. 1997. *Plant Pathology, 4th Edition. Academic Press, San Diego.* 12 – 33 p.
5. «Атлас болезней и вредителей зерновых культур», «Атлас болезней и вредителей масличных культур», Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, Прага, 1968 г. 12 – 21 с.
6. Ишкова Т.И., Берестецкая Л.И., Гасич Е.Л., Левитин М.М., Власов Д.Ю. Диагностика основных грибных болезней хлебных злаков. С.-Петербург, 2000. 76 с.
7. Защита растений от болезней. В. А. Шкаликов, О.О. Белошапкина, Д.Д. Букреев и др.; под. ред. В. А. Шкаликова. – М.: Колос, 2001. 248 с.
8. В. И. Татаринова, А. О. Дмитрівська, Т. О. Рожкова, А. О. Мосол Вплив мікробних препаратів на розвиток кореневих гнилей пшениці ярої сорту краса полісія в умовах державного підприємства дослідного господарства СГМ УААН // *Вісник Сумського національного аграрного університету, Серія «Агронія і біологія», випуск 4, 2011 с 17-20*
9. Груздев Г.С. Химические средства защиты растений / Г.С. Груздев. -М.: Колос. 1980. 33 – 46 с.
10. Мубинов И. Г. Реакция пшеницы на действие клеток эндофитного штамма 26Д *Bacillus Subtilis*-основы биофунгицида фитоспорин : диссертация... кандидата биологических наук : 03.00.12 Уфа, 2007 130 с.
11. Гатауллин А. Г. Биологические свойства штаммов *Bacillus subtilis*, перспективных для создания новых пробиотиков : Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 Москва, 2005 131 с.
12. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии: Справочник – Киев: Наукова думка, 1982. 552 с.

Поступила 09.2012



664.769:[631.526.3:633.11]

Д.А. ЖИГУНОВ, канд. техн. наук, доцент кафедры технологии переработки зерна
Одесская национальная академия пищевых технологий

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СОВРЕМЕННЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ УКРАИНЫ III. РАЗМОЛОСПОСОБНОСТЬ ЗЕРНА

Изучена крупнообразующая способность современных сортов украинской пшеницы. Показано, что при первичном измельчении мягкозерной пшеницы образуется в 1,3...1,4 раз меньше крупок, а при измельчении вакси-пшеницы – в 1,1...1,2 раза больше крупок по сравнению с твердозерной пшеницей. Основную часть продуктов крупнообразования мягкозерной пшеницы представляют дунсты и мука низкой зольности. Зольность промежуточных продуктов у вакси-пшеницы сопоставима с обычной твердозерной пшеницей.

Ключевые слова: зерно, сорт, пшеница, твердозерная пшеница, мягкозерная пшеница, крупнообразование, выход, зольность, энергозатраты.

Milling properties of the modern varieties of Ukrainian wheat were studied. It is shown that the produced semolina yield on the head break grinding stage of the soft and waxy wheat in 1,3...1,4 times less and in the 1,1...1,2 times higher compared to common hard wheat. The main parts of the intermediate products of the soft wheat are dunnsts and flour with low ash content. Ash content of the intermediate products of the waxy wheat is comparable to common hard wheat.

Keywords: grain, variety, wheat, hard wheat, soft wheat, head break system, yield, ash, energy requirements.

В предыдущих статьях [1, 2] были рассмотрены физические и биохимические особенности совре-

менных сортов хлебопекарной пшеницы, новых нетрадиционных сортов безамилозной и мягкозерной