

## МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 631.461

### ЕПІФІТНА МІКРОФЛОРА НАСІННЯ, ОДЕРЖАНОГО ВІД ІНОКУЛЬОВАНИХ РОСЛИН ТОМАТІВ

© 2012 р. Т. М. Мельничук<sup>1</sup>, Л. М. Татарин<sup>1</sup>, В. П. Патика<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології

Національної академії аграрних наук України

(Гвардійське, Сімферопольський р-н, Крим, Україна)

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного

Національної академії аграрних наук України

(Київ, Україна)

Проведено дослідження епіфітів насіння томатів *Lycopersicon esculentum* Mill., одержаного від рослин, інокульованих штамми мікроорганізмів з різною домінуючою функцією: азотфіксація – *Azotobacter vinelandii* 10702, фосфатмобілізація – *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, антагонізм до фітопатогенів – *Paenibacillus polymyxa* П. Показано, що на поверхні насіння відносно контролю знижується чисельність міксоміцетів. Їх видовий склад, як і кількість бактерій, залежать від мікроорганізму, інтродукованого у ризосферу рослин. У насінні підвищується вміст суми флавоноїдних сполук та знижується активність каталази порівняно з контролем.

**Ключові слова:** *Lycopersicon esculentum* Mill., *Azotobacter vinelandii* 10702, *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, *Paenibacillus polymyxa* П, епіфітна мікрофлора, мікроміцети, флавоноїди

Роль мікроорганізмів у формуванні складної продуктивної системи ґрунт–рослина–мікроорганізм є надзвичайно важливою. Збагачення кореневої системи рослин високоактивними штамми бактерій з комплексом агрономічно цінних властивостей сприяє активізації азотфіксації ризоценозу, підвищенню продуктивності рослин, а також покращенню фітосанітарного стану рослин (Whipps, 2001, Біологічний ..., 2003; Мікробні ..., 2006). Відомо, що насіння, одержане від інокульованих рослин, відрізняється за кількісним та якісним складом його епіфітної мікрофлори від контролю. Так, аналіз зерна пшениці озимої, одержаного від насіння, обробленого комплексом бактеріальних препаратів, показав,

що кількість колонієутворюючих одиниць епіфітних мікроміцетів була в 2-7 разів меншою, ніж на поверхні зерна у контролі (Шерстобоева, 2004). При цьому знижувалась і їх видова різноманітність.

Слід відзначити, що епіфіти насіння є джерелом мікробіоценозів ризо- та філосфери рослин і саме вони можуть відігравати істотну роль у формуванні азотфіксуючих комплексів асоціативних мікроорганізмів кореневої зони овочевих рослин, як було показано при вирощуванні огірка в умовах закритого ґрунту (Емцев, 1994).

Багаторічні дослідження в умовах польових дослідів виявили, що інтродукція в ризосферу штамів бактерій *A. vinelandii* 10702, *E. nimipressuralis* 32-3 і *P. polymyxa* П сприяє підвищенню показників якості сформованого насіння. Так, показано збільшення показників схожості насіння бактеризованих рослин томатів на 1,5% та швидкості його проростання на 5% відносно

Адреса для кореспонденції: Мельничук Тетяна Миколаївна, Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН України, вул. К. Маркса 107, с.м.т. Гвардійське, Сімферопольський р-н, АР Крим, 97513, Україна;  
e-mail: melnichuk7@mail.ru

## ЕПІФІТНА МІКРОФЛОРА НАСІННЯ

контролю. Найвищі показники життєздатності і повноцінності насіння у середньому за чотири роки досліджень встановлено у рослин, інокульованих Азотобактерином. Відносно контролю вищими були: енергія проростання насіння (на 8,8%), маса проростків (на 12,3%), маса 1000 насінин (на 4,3%) (Мельничук, 2008).

Мета роботи полягала у дослідженні епіфітів насіння, одержаного від інокульованих рослин томатів різними за домінуючою функціональною активністю біоагентами мікробних препаратів, вивченні його якості, активності каталази та вмісту флавоноїдних сполук.

### МЕТОДИКА

Насіння томатів *Lycopersicum esculentum* Mill. сорту Шанс було одержане від рослин, вирощених в умовах чорнозему південного на дослідній ділянці Південної дослідної станції Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН у 2009 році. Інокульовали насіння та корені розсади при висадці в ґрунт бактеріальними штамами: *Azotobacter vinelandii* 10702 (виявляє азотфіксуючий та рістстимулюючий ефекти); *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 (фосфатмобілізатор, продуцент яблучної, індолілоцтової кислоти і речовин гіберелінового ряду) і *Paenibacillus polymyxa* П (має високі швидкість росту і конкурентоздатність у використанні джерел живлення, здатність до азотфіксації, синтезує фермент хітиназу та антифунгальні продукти метаболізму).

Насіння виділяли вручну за нестерильних умов, руки і посуд знезаражували спиртом, насіння після бродіння промивали водопровідною

водою і просушували перед закладанням на зберігання.

Лабораторні дослідження епіфітної мікрофлори насіння здійснювали після шести місяців його зберігання за методикою Мішустіна і Триصاتського (Мишустин, Триصاتский, 1963). Кількість мікроорганізмів, яка виражається у колонієутворюючих одиницях (КУО), визначали шляхом посівів на агаризованих середовищах. Розрахунок мікроорганізмів проводили у гнотобіотичних умовах на одну рослину, насіння – на 1 грам. Посівні властивості насіння визначали за Державним стандартом (ДСТУ, 2008); за вимогами сучасної концепції тестування насіння (Насінництво ..., 2003). Вміст суми флавоноїдів у насінні томатів визначали спектрофотометрично на Beckman DU-8 (США) (Георгиевский и др., 1990), підготовку зразків до аналізу проводили за описом (Запрометов, 1971). Активність каталази насіння визначали за об'ємом кисню, який виділявся після додавання до екстракту каталази перексиду водню (Методы ..., 1987).

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Формування епіфітної мікрофлори насіння рослин томатів відбувається під час їх виділення з плодів, оскільки в плодах воно вільне від мікроорганізмів. Джерелом постачання епіфітів насіння є мікроорганізми філосфери та навколишнього середовища. Попередні дослідження показали, що штами ризобактерій *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 і *Paenibacillus polymyxa* П можуть колонізувати ризосферу та філосферу томатів, тоді як *Azotobacter vinelandii* 10702 локалізується лише в базальній частині кореня (рис. 1).

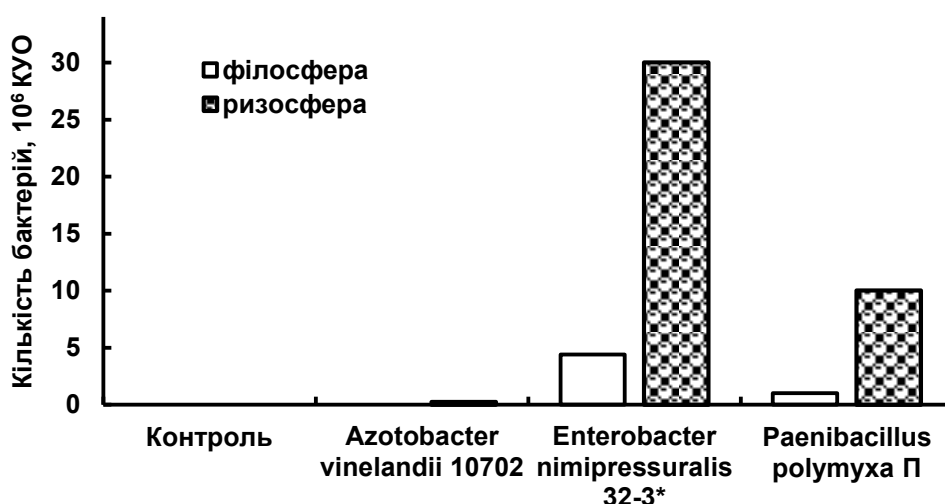


Рис. 1. Здатність штамів колонізувати рослини томатів *Lycopersicum esculentum* Mill. у гнотобіотичних умовах.

\*10<sup>7</sup> КУО/рослину.

### МЕЛЬНИЧУК, ТАТАРИН, ПАТИКА

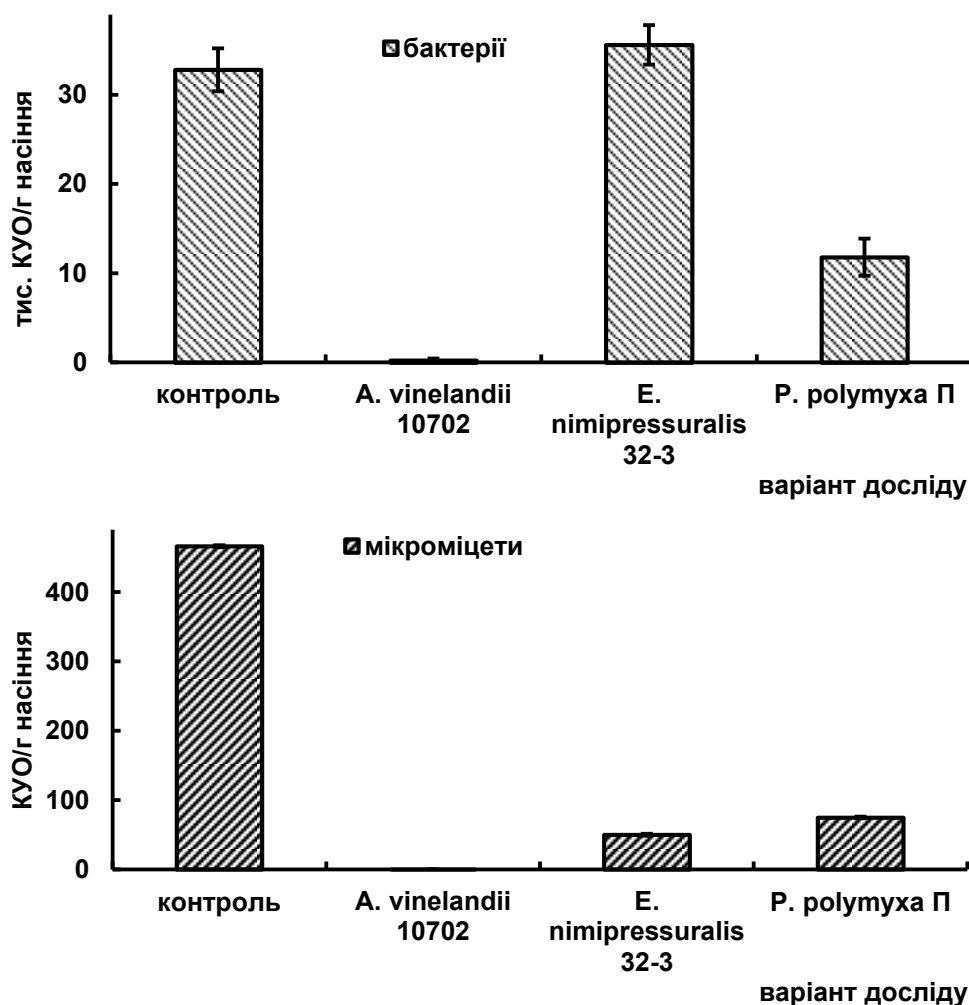


Рис. 2. Епіфітна мікрофлора насіння томатів сорту Шанс, відібраного від інокульованих рослин, через 6 місяців зберігання.

Тому для дослідження епіфітної мікрофлори насіння, одержаного від інокульованих рослин томатів, було відібрано варіанти, де використовували штами мікроорганізмів з різною домінуючою функціональною активністю та здатністю колонізувати філосферу томатів.

Реакція рослин на інокуляцію штамами мікроорганізмів з різною домінуючою функціональною активністю була позитивною, що позначилось на урожайності плодів, яка на 5,3-11,8% перевищувала контроль.

Аналіз кількісного складу епіфітів насіння продемонстрував зниження чисельності мікроскопічних грибів відносно контролю в усіх варіантах із застосуванням інокуляції (рис. 2). Найменша кількість мікроміцетів відзначена у варіанті, де застосовували для інокуляції рослин *A. vinelandii* 10702. Найбільша чисельність їх була у варіанті з антифунгальним штамом *P. polymuxa* П і склала 75 КУО/г насіння, проте у контролі їх було на один порядок більше (466

КУО/г насіння). Зниження відносно контролю чисельності бактерій поверхні насіння було виявлено у варіантах з використанням для інокуляції штамів *A. vinelandii* 10702 на два порядки значень і *P. polymuxa* П втреті, тоді як у контролі вона становила 32,8 тис. КУО/г насіння. На рівні контролю була кількість бактерій у варіанті з інокуляцією штамом *E. nimipressuralis* 32-3.

Детальне вивчення видового складу мікроміцетів насіння томатів показало, що у контролі переважали: *Pleospora bjoerlingii*, який є гемібіотрофом, може викликати зональну плямистість, *Penicillium stecki* – представники даного виду є продуцентами пеніциліну, *Fusarium oxysporum* var. *orthoceras* – збудник фузаріозу. Вплив бактерій, інтродукованих до ризосфери рослин, позначився не тільки на кількості грибів серед епіфітів одержаного насіння, але й на їх видовому складі. Так, у варіанті, де використовували *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, в складі епіфітів визначився *Penicillium stecki*, а

### ЕПІФІТНА МІКРОФЛОРА НАСІННЯ

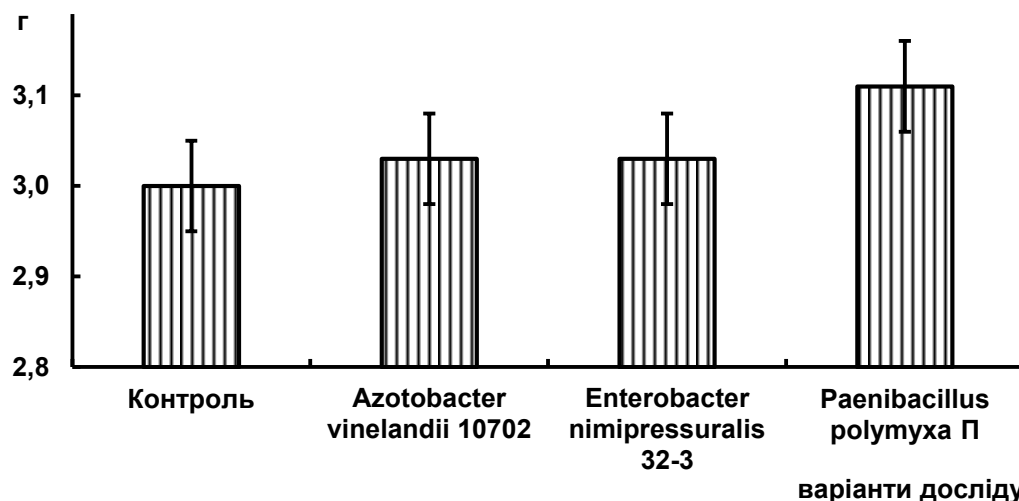


Рис. 3. Маса 1000 насінин томатів сорту Шанс, отриманих з інокульованих рослин в 2009 р.

два інших види не виявлено. В інших варіантах з штамми-інтродуцентами спостерігали серед епіфітів інші види грибів за відсутності характерних для насіння контролю. У варіанті, де насіння одержане від рослин, інокульованих штамом *Azotobacter vinelandii* 10702, виявлено *Penicillium fellutanum* – ризосферний мікроорганізм, продуцент амілаз, у варіанті з *Paenibacillus polymyxa* П – *Aspergillus sulphureus*.

Посівні властивості свіжовиділеного насіння, як правило, досить високі у контролі, тому підвищення енергії проростання та його схожості у варіантах виявилось незначним (на 0,4-0,6% до контролю). Слід відзначити, що біомаса проростка у варіанті з інокуляцією рослин *P. polymyxa* П була на 7,5% вищою, ніж у контролі.

Насіння, одержане від інокульованих рослин, відрізнялося від контролю більшою масою 1000 насінин (рис. 3). Достовірним збільшенням маси насіння виділився варіант, де ро-

слини бактеризували штамом *P. polymyxa* П – на 3,7% відносно контролю.

Виявлено, що у насінні, одержаному від інокульованих рослин, накопичується більша кількість ніж у контролі, фенольних сполук – флавоноїдів, які беруть участь в окисно-відновних процесах, регулюють експресію генів при рослинно-мікробній взаємодії (таблиця). У варіантах дослідження спостерігалось підвищення вмісту флавоноїдних сполук (у перерахунку на кверцетин) на 7,4 - 18,5% та зниження активності каталази на 6,2-31,2% відносно контролю.

Каталаза бере участь у розкладанні пероксиду водню, що утворюється в результаті окиснювально-відновних процесів у живих організмах. Вважається, що каталазна активність має пряму залежність від чисельності мікроорганізмів за умови активної діяльності останніх, і навпаки, зворотно залежність – коли мікрофлора неактивна (Величко, 1973). Зважаючи на це, можна припустити, що мікрофлора насіння

#### Активність каталази і вміст флавоноїдних сполук у насінні, одержаному від інокульованих рослин

Варіант дослідження	Активність каталази		Сумарний вміст флавоноїдних сполук у перерахунку на кверцетин	
	см <sup>3</sup> O <sub>2</sub> /(1 хв·г насіння)	% до контролю	мкг/г сухої речовини	% до контролю
Контроль (вода)	1,6±0,09	100	10,8±0,45	100
<i>Azotobacter vinelandii</i> 10702	1,1±0,06	68,8	12,0±0,46	111,1
<i>Enterobacter nimipressuralis</i> 32-3	1,5±0,06	93,8	11,6±0,30	107,4
<i>Paenibacillus polymyxa</i> П	1,4±0,07	87,5	12,8±0,68	118,5

є більш активною у варіантах, де застосовували мікробні препарати. Така активність існуючих мікроорганізмів на насінні забезпечує кращі умови для його зберігання, підтверджені вищими показниками посівних властивостей та біомаси проростків такого насіння.

Таким чином, проведені дослідження епіфітів насіння, одержаного від інокульованих рослин томатів, показали, що порівняно з контролем знижується чисельність мікробіотів і змінюється їх видовий склад, який залежить від інтродукованого мікроорганізму у ризосферу рослин. Кількість бактерій мала тенденцію до збільшення тільки у варіанті, де застосовували *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, який має здатність активно колонізувати філосферу томатів. У насінні, одержаному від інокульованих рослин, підвищувався сумарний вміст флавоноїдних сполук та знижувалася активність каталази.

*Автори висловлюють глибоку вдячність за допомогу у проведенні досліджень С.П. Наджерничному та Г.О. Іутинській.*

## ЛІТЕРАТУРА

- Біологічний азот* / За ред. В.П. Патики. – К.: Світ, 2003. – 422 с.
- Величко В.А.* Изменения энзиматической активности дерново-подзолистых почв под влиянием водно-эрозийных процессов // *Микроорганизмы почвы и растения*. – Минск: Наука и техника, 1972. – С. 207-215.
- Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е.* Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, 1990. – 333 с.
- Емцев В.Т.* Ассоциативный симбиоз почвенных diazотрофных бактерий и овощных культур // *Почвоведение*. – 1994. – № 4. – С.74-78.
- Запрометов М.Н.* Фенольные соединения и методы их исследования // *Биохимические методы в физиологии растений*. – М.: Наука, 1971. – С. 185-207.
- Мельничук Т.М.* Перспективи застосування мікробних препаратів комплексної дії для підвищення якості насіння овочевих рослин // *Научн. тр. ученых Крымск. гос. аграрн. ун-та*. – Симферополь, 2008. – Вып. 107. – С. 154-157.
- Методы биохимического исследования растений* / Под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – С. 38-41.
- Мишустин Е.Н., Трисвятский Л.А.* Микробы и зерно. – М.: Изд.-во АН СССР, 1963. – С. 39-43.
- Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика* / За ред. В.В.Волкогона. – К.: Аграрна наука, 2006. – 312 с.
- Насінництво й насіннезнавство овочевих і баштанних культур* / За ред. Т.К.Горової. – К.: Аграрна наука, 2003. – 327 с.
- Насіння сільськогосподарських культур. Сортові та посівні якості. Технічні умови: ДСТУ 2240-93*. – [Чинний від 2008-06-18]. – К.: Держстандарт України, 2008. – 73 с.
- Шерстобоева О.В.* Оптимізація структури мікробних угруповань кореневої зони озимої пшениці: Автореф. дис. ... докт. с.-г. наук. – К., 2004. – 46 с.
- Whipps J.M.* Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere // *J. Exp. Bot.* – 2001. – V. 52. – P. 487-511.

*Надійшла до редакції  
15.11.2011 р.*

## THE EPIPHYTIC MICROORGANISMS OF SEEDS, WHICH HAVE GOT FROM INOCULATED PLANTS OF TOMATOES

T. M. Melnichuk<sup>1</sup>, L. M. Tatarin<sup>1</sup>, V. P. Patika<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*The South Experimental Station of Institute of Agricultural Microbiology  
of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
(Gvardiyske, Simferopol distr., Ukraine)*

<sup>2</sup>*D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology  
of National Academy of Sciences of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)*

Research of epiphytic seeds *Licopersicum esculentum* Mill., got from the plants, inoculated of the microbial strains with a different dominant function: of nitrogen fixation – *Azotobacter vinelandii* 10702, phosphatmobilization - *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, antagonism to pathogens - *Paenibacillus polymyxa* П, is conducted. It was shown that goes down quantity of micromicetes and

## ЭПИФИТНА МІКРОФЛОРА НАСІННЯ

their specific composition, as well as amount of bacteria, depends on an introduction microorganism at rhizosphere of plants. The content of sum of flavonoids' connections rises in seed and activity of catalase goes down by comparison to control.

**Key words:** *Lycopersicum esculentum* Mill., *Azotobacter vinelandii* 10702, *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, *Paenibacillus polymyxa* П, epiphytic microflora, micromicetes, flavonoids

## ЭПИФИТНАЯ МИКРОФЛОРА СЕМЯН, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ИНОКУЛИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ

Т. Н. Мельничук<sup>1</sup>, Л. Н. Татарин<sup>1</sup>, В. Ф. Патыка<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Южная опытная станция Института сельскохозяйственной микробиологии  
Национальной академии аграрных наук Украины  
(Гвардейское, Симферопольский р-н, Крым, Украина)

<sup>2</sup>Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)

Проведено исследование эпифитов семян *Lycopersicum esculentum* Mill., полученных от растений, инокулированных штаммами микроорганизмов с различной доминирующей функцией: азотфиксация – *Azotobacter vinelandii* 10702, фосфатмобилизация – *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, антагонизм к фитопатогенам – *Paenibacillus polymyxa* П. Показано, что на поверхности семян снижается относительно контроля численность микромицетов. Их видовой состав, как и количество бактерий, зависят от интродуцированного микроорганизма в ризосферу растений. В семенах повышается содержание суммы флавоноидных соединений и снижается активность каталазы по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** *Lycopersicum esculentum* Mill., *Azotobacter vinelandii* 10702, *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, *Paenibacillus polymyxa* П, эпифитная микрофлора, микромицеты, флавоноиды