

Є.П. Копилов¹, С.П. Надкерничний¹, Л.О. Білявська²,
О.В. Голубець³

¹Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,
вул. Шевченко, 97, Чернігів, Україна, тел.: +38 (0462) 23 70 38,
e-mail: evhenyukopilov@ Rambler.ru

²Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, МСП, Д 03680, Україна

³Науково-дослідний центр випробувань продукції ДП Укрметтестстандарт,
вул. Метрологічна, 10, Київ, Україна

ІНДУКУВАННЯ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ДО ЗБУДНИКІВ КОРЕНЕВИХ ГНИЛЕЙ ЗА СПРИЯННЯ ГРИБА *CHAETOMIUM COCHLIODES* PALLISER

Показано ефективність використання сапрофітного гриба *Chaetomium cochliodes* 3250 як засобу індукції стійкості рослин пшениці ярої до збудників кореневих гнилей. Вивчено жирнокислотний склад культурального середовища гриба і встановлено, що *C. cochliodes* 3250 утворює арахідонову кислоту, яка нагромаджується в культуральному середовищі. Арахідонова кислота є біогенним еліситором і в тканинах рослин індуктує системну імунну відповідь на дію патогенів і несприятливих умов.

К л ю ч о в і с л о в а : *C. cochliodes* 3250, еліситори, арахідонова кислота, кореневі гнилі.

Раніше нами було показано, що ґрунтовий сапрофітний гриб *Chaetomium cochliodes* 3250 характеризується високою антагоністичною активністю щодо фітопатогенних грибів — збудників кореневих гнилей багатьох сільськогосподарських культур, що і спричинило створення на його основі мікробного препарату Хетоміка [4, 5, 8]. Було встановлено, що *C. cochliodes* 3250, інтродукований в ґрунт з насінням пшениці ярої, здатний приживатися в кореневій зоні, активно колонізувати кореневу систему, витискаючи з неї збудників кореневих гнилей. Приживаючись у ризосферному ґрунті пшениці ярої, *C. cochliodes* 3250 виявляє антифунгальну дію. Нами було показано механізм взаємодії, яка виникає між інтродукованим у кореневу зону пшениці ярої *C. cochliodes* 3250 і аборигенними ґрунтовими грибами, який базується на принципі конкурентного виключення, відомого в екології як принцип Гаузе. Згідно цього принципу більш конкурентоспроможний вид, в даному випадку гриб-антагоніст *C. cochliodes* пригнічує розвиток фітопатогенних грибів, які виявилися слабкішими у цьому змаганні видів. Такий тип взаємовідносин може бути ефективно використаний в боротьбі зі збудниками захворювань рослин [7].

Відомо також, що стійкість рослин до збудників хвороб може викликатися біологічно активними речовинами-еліситорами. Еліситори здатні включати різні сигнальні системи рослинних клітин, що приводить до експресії захисних генів, синтезу відповідних білків, утворенню фітоалексинів і, зрештою, формуванню



імунітету рослин щодо патогенів [9]. Як еліситори вивчаються певні класи хімічних сполук біогенного походження, зокрема, органічні кислоти: аміномасляна, арахідонова, жасмонова, шавлева та інші. У цьому зв'язку становило інтерес дослідити здатність *S. cochliodes* 3250 утворювати біологічно активні речовини, які можуть викликати системну стійкість рослин до дії патогенів.

Метою досліджень було вивчити ефективність використання *S. cochliodes* 3250 як засобу підвищення стійкості рослин пшениці ярої до збудників кореневих гнилей та збільшення урожайності культури.

Матеріали і методи

Chaetomium cochliodes 3250 вирощували на рідкому поживному середовищі Ролена-Тома, поверхнево, за температури 26–27 °С впродовж 7–8 діб. Культуральну рідину відфільтровували і пропускали крізь мембранні фільтри. Ефективність гриба вивчали за умов польового досліду на чорноземі вилугованому слабogleюватуому легкосуглинковому на лесі (дослідне поле Інституту сільськогосподарської мікробіології), який характеризувався такими агрохімічними показниками: вміст гумусу в орному шарі становив 3,56%; рН_{сольовий} – 5,2–5,5; сума ввібраних основ – 12,5–14,0 мг-екв. на 100 г ґрунту; азот, що легко гідролізується (за Корнфільдом) – 95–100 мг; рухомих форм фосфору (за Кірсановим) – 251–256 мг P₂O₅; обмінного калію (за Кірсановим) – 108–111 мг K₂O на 1 кг ґрунту. Площа облікової ділянки – 15 м², повторність досліду 4-разова. У досліді використано сорт пшениці ярої Краса Полісся. Норма висіву насіння становила 5 млн. зерен на 1 га. Агротехніка вирощування загальноприйнята для зони Полісся. Мінеральні добрива вносили в дозі N₄₅P₃₀K₄₅. Дослід закладали за схемою: 1 – без внесення хімічних і мікробних препаратів (контроль); 2 – передпосівна обробка насіння Вітаваксом 200 ФФ; 3 – передпосівна обробка насіння Хетоміком (біоагент *S. cochliodes* 3250), 4 – передпосівна обробка насіння культуральним середовищем (КС) *S. cochliodes* 3250, розбавленим водою у співвідношенні 1:100. Передпосівну обробку насіння КС *S. cochliodes* 3250, розбавленим водою у співвідношенні 1:100, здійснювали з розрахунку 1% від маси насіння, Вітаваксом 200 ФФ – 3 кг/т, Хетоміком – 2,5 кг/т насіння, що становило 45–50 тисяч сумкоспор гриба на одну насінину. При закладці і проведенні досліду використовували методику Доспехова [4].

У дослідних варіантах визначали ураженість рослин за фазами розвитку кореневими гнилями, вміст хлорофілів *a* і *b* в листках пшениці ярої та урожайність. Для обліку ураженості рослин кореневими гнилями використовували бальну оцінку за розробленою шкалою і формулами [6].

Вміст хлорофілів *a* і *b* у листках пшениці ярої визначали спектрофотометричним методом [2]. Для цього відбирали зразки листків з верхнього ярусу рослини у п'ятиразовій повторності під час цвітіння. Кожен зразок аналізували у 4-х кратних аналітичних повтореннях.

Для визначення жирнокислотного складу КС *S. cochliodes* 3250 здійснювали метаноліз на водяній бані впродовж однієї години за температури 80 °С. Жирні кислоти екстрагували сумішшю ефір-гексан (1:1). Екстракти поєднували і випаровували на вакуумно-ротаторному випаровувачі [3]. Одержані зразки аналізували на газовому хроматографі HP 6890: аналітична колонка FFAP 30 см, d – 32 мм, газ-носії – гелій; швидкість потоку – 30 мл/хв, t-150-250 °С, кількість проби – 1 мкл [1].



Результати та їх обговорення

Результати вивчення видового складу грибів, виділених з уражених кореневими гнилями рослин пшениці ярої, засвідчили, що в патогенному комплексі переважали представники роду *Fusarium*, а саме: *Fusarium culmorum* (W.G.Sm) Sacc., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. oxysporum* (Schlecht.) Snyd.et Hans., *F. oxysporum* var. *orthoceras* (Appl.et Wr.) Bilai, *F. heterosporum* Nees, *F. sambucinum* var. *minus* Wr. Траплялися також *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (syn. *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram, *Helminthosporium sativum* Pammel, King et Bakke) і, зрідка, *Pseudocercospora herpotrichoides* (From) Deighton.

Отже, пшениця яра в досліді була уражена звичайною (гельмінтоспоріозною) і фузаріозною кореневими гнилями.

Ураженість рослин пшениці ярої кореневими гнилями показано на рис. 1.

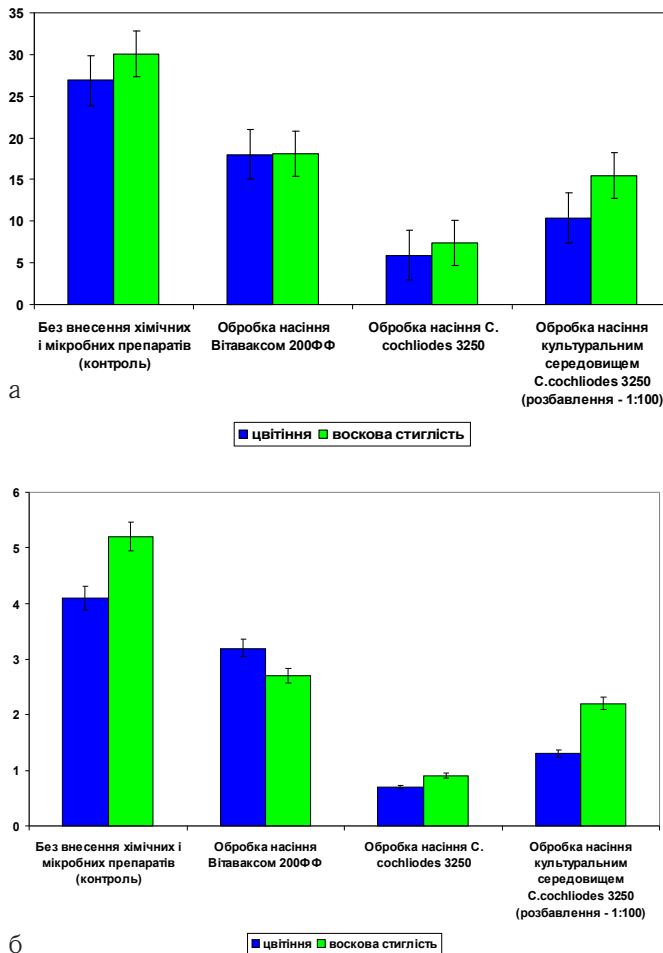


Рис 1. Вплив *C. cochlodes* 3250 на поширення і розвиток корневих гнилей пшениці ярої сорту Краса Полісся

(а — поширення хвороби, б — розвиток хвороби)

Fig. 1. Effect *C. cochlodes* 3250 on root rots widespreading and development of spring wheat of Krasa Polyssia cultivar

(a — widespreading of disease, b — development of disease)

Наведені дані свідчать про високу ефективність використання *C. cochliodes* 3250 як засобу, що сприяє підвищенню стійкості пшениці ярої до фітопатогенних грибів, при чому ефективним виявилось застосування не тільки гриба *C. cochliodes* 3250, а й культурального середовища мікроміцета. Так, у варіанті, де використовували культуральне середовище *C. cochliodes* 3250, рослини значно менше уражувалися кореневою гниллю (поширення хвороби — 10,4–15,5%, розвиток хвороби — 1,3–2,2% залежно від фаз розвитку рослин), ніж в контрольному варіанті (поширення хвороби — 26,9–30,1%, розвиток хвороби — 4,1–5,2%).

Тобто, поширення хвороби зменшилось у середньому в 1,9–2,6 раза, а інтенсивність прояву — в 2,3–3,2 раза. Біологічна ефективність застосування культурального середовища *C. cochliodes* 3250 проти корневих гнилей досягала 57,7–68,3%, що є вище, ніж за використання Вітаваксу 200 ФФ, біологічна ефективність якого становила в середньому 34,5%.

Обмеження розвитку корневих гнилей пшениці ярої при застосуванні КС *C. cochliodes* 3250 можна пояснити здатністю гриба утворювати або антибіотичні речовини, що накопичуються в культуральному середовищі, або ж біологічно активні речовини-індуктори (елісатори) стійкості рослин до захворювань. Вивчення антибіотичної активності КС *C. cochliodes* 3250 показало, що гриб не утворює речовини антибіотичної дії щодо зазначених вище збудників корневих гнилей пшениці ярої. Тому подальші наші дослідження були спрямовані на виявлення в культуральному середовищі *C. cochliodes* 3250 біологічно активних речовин-елісаторів.

Проведений з використанням газової хроматографії аналіз жирнокислотного складу культурального середовища *C. cochliodes* 3250 засвідчив, що він містить жирні кислоти з різним числом вуглецевих атомів (табл. 1) і, що особливо важливо, в культуральному середовищі гриба була виявлена арахідонова (ейкозатетраєнова) кислота (1,42% від загального вмісту жирних кислот), яку відносять до біогенних елісаторів. Вона є активним індуктором окиснювального вибуху, синтезу рослинних антибіотиків (фенолів, фітоалексинів) і реакції надчутливості. У тканинах рослин арахідонова кислота, проявляючи властивості елісаторів, індукує системну імунну відповідь на дію несприятливих факторів.

Отже, зменшення ураженості рослин пшениці ярої корневими гнилями під впливом *C. cochliodes* 3250 можна пояснити як високою антагоністичною активністю гриба відносно фітопатогенних грибів, встановленою попередніми дослідженнями, так і здатністю утворювати арахідонову кислоту, яка є активною речовиною-елісатором і сприяє підвищенню стійкості рослин до збудників хвороб.

Використання як живої культури *C. cochliodes* 3250, так і культурального середовища суттєво впливало на біосинтез хлорофілу в листках пшениці ярої (табл. 2). Так, у варіантах, де проводили передпосівну обробку насіння КС гриба, розбавленого водою у співвідношенні 1:100, вміст хлорофілу *a* збільшився відповідно на 14,8, хлорофілу *b* — на 14,0% у порівнянні з контрольним варіантом. Відомо, що вміст хлорофілу *a* в хлоропластах рослин значно перевищує міст хлорофілу *b*, а за дії стресових факторів різної природи зменшується вміст саме хлорофілу *a*, тому його збільшення під впливом культурального середовища *C. cochliodes* 3250 сприяє підвищенню стійкості рослин до несприятливих умов навколишнього середовища.



Таблиця 1
Жирнокислотний склад культурального середовища *C. cochliodes* 3250

Table 1

Fatty-acid content of cultural medium *C. cochliodes* 3250

Назва кислоти	Число атомів вуглецю	Вміст, % від загальної суми
Лауринова	C ₁₂ :0	0,50
Міристинова	C ₁₄ :0	1,27
Ізо-міристинова	Ізо-C ₁₄ :0	2,03
12-Метилтетрадецена	Антеізо-C ₁₄ :0	10,67
Пентадеканова	C ₁₅ :0	0,74
12-Метилтетрадеканова	Антеізо-C ₁₅ :0	6,79
Пальмітинова	C ₁₆ :0	11,94
Пальмітоолеїнова	C ₁₆ :1	1,67
15-Метилгексадецена	Ізо-C ₁₇ :0	0,85
14-Метилгексадеканова	Антеізо-C ₁₇ :0	9,05
Маргарина	C ₁₇ :0	0,35
Гептадецена	C ₁₇ :1	0,66
Стеаринова	C ₁₈ :0	3,89
Олеїнова	C ₁₈ :1	13,02
Елаїдинова	C ₁₈ :1	1,10
Лінолева	C ₁₈ :2	24,06
<i>Цис-транс</i> -октадекадієн-9,11-ова	C ₁₈ :2	0,94
<i>Цис-цис</i> -октадекадієн-11,13-ова	C ₁₈ :2	2,10
Ліноленова	C ₁₈ :3	3,09
Арахінова	C ₂₀ :0	0,32
Галдолеїнова	C ₂₀ :1	0,41
<i>Цис-цис</i> -ейкозадієн-11,14-ова	C ₂₀ :2	0,18
Дигомо-γ-ліноленова	C ₂₀ :3	0,26
Арахідонова	C ₂₀ :4	1,42
Бегенова	C ₂₂ :0	0,35
Докозадієнова	C ₂₂ :2	2,34



Таблиця 2

Вміст хлорофілів (*a* і *b*) в листках пшениці ярої сорту Краса Полісся у фазу цвітіння (польовий дослід, 2008 р.)

Table 2

Chlorophyll content (*a* and *b*) in the leaves of cultivar Krasa Polyssia spring wheat (field research, 2008)

Варіант досліджу	Концентрація хлорофілів, мг/100 г листків		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>
Без внесення препаратів	409,3	77,7	487,0
Обробка насіння Вітаваксом 200ФФ	453,0	84,6	537,6
Обробка насіння Хетоміком	534,2	128,4	662,6
Обробка насіння КС <i>C. cochlodes</i> 3250	469,8	88,6	558,4
НІР ₀₅	9,95	5,44	12,30

Значне зменшення ураженості пшениці ярої кореневими гнилями, підвищення інтенсивності фізіолого-біохімічних процесів під впливом *C. cochlodes* 3250, а саме зростання вмісту хлорофілу в листках забезпечило суттєвий приріст урожаю культури – 13,1% (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив *C. cochlodes* 3250 на урожайність пшениці ярої сорту Краса Полісся (польовий дослід, 2008 р.)

Table 3

Effect of *C. cochlodes* 3250 on productivity of cultivar Krasa Polyssia spring wheat (field research, 2008)

Варіант досліджу	Урожай, ц/га	Приріст урожаю	
		ц/га	%
Без внесення препаратів	41,1	-	-
Обробка насіння Вітаваксом 200ФФ	44,5	3,4	8,3
Обробка насіння <i>C. cochlodes</i> 3250	50,2	9,1	22,1
Обробка насіння КС <i>C. cochlodes</i> 3250	46,5	5,4	13,1
НІР ₀₅	2,0		

Застосування КС *C. cochlodes* 3250 виявилось ефективнішим, ніж застосування хімічного препарату Вітаваксу 200 ФФ, який сприяв збільшенню урожайності лише на 8,3%. Аналіз структури урожаю пшениці ярої показав (табл. 4), що передпосівна обробка насіння культуральним середовищем *C. cochlodes* 3250 позитивно впливала на такі елементи, як довжина колосу, кількість зерен у колосі, маса зерна в колосі та маса 1000 насінин.



Таблиця 4
Структура врожаю пшениці ярої сорту Краса Полісся під впливом *C. cochliodes* 3250 (польовий дослід, 2008)

Table 4
Spring wheat crop structure of cultivar Krasa Polyssia under the influence of *C. cochliodes* 3250 (field research, 2008)

Варіант дослідю	Довжина колосу, см	Кількість зерен в колосі, шт.	Маса зерен з одного колосу, г	Маса 1000 насінин, г
Без внесення препаратів	6,2±0,09	31,9±0,75	1,12±0,04	35,0±0,53
Обробка насіння Вітаваксом 200ФФ	6,5±0,06	34,5±0,67	1,25±0,02	36,2±0,26
Обробка насіння Хетоміком	7,2±0,12	39,5±1,83	1,48±0,06	37,6±0,23
Обробка насіння КС <i>C. cochliodes</i> 3250	6,9±0,06	36,7±1,47	1,37±0,05	37,1±0,26

Проведеними дослідженнями показано високу ефективність використання сапрофітного гриба *C. cochliodes* 3250 як засобу індукування стійкості рослин пшениці ярої до збудників корневих гнилей. При взаємодії зазначеного гриба з рослинами важлива роль може належати речовині-елісатору арахідонової кислоти, яка утворюється *C. cochliodes* 3250 і нагромаджується у його культуральному середовищі.

ЛІТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 1486-99. Получение метиловых эфиров жирных кислот. Введ.01.01.01. — М. — Гос. стандарт. Рос. Федерации, 2001. — С. 2—3.
2. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. — Киев: Наук. думка, 1973. — 567 с.
3. Жеребило О.Е., Вишталюк Н.М. Жирнокислотный состав клеточных липидов *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* в сравнении с типовыми представителями рода и семейства // Микробиол. журн. — 1991. — 53, № 4. — С. 26—33.
4. Копилов Є.П. Здатність аскоміцета *Chaetomium cochliodes* Palliser вступати в тісні симбіотичні взаємовідносини з рослинами пшениці ярої // Агроєкологічний журнал. — 2008. — Червень. — С. 111—114.
5. Копылов Е.П. Биоконтроль возбудителей корневых гнилей яровой пшеницы // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: Междунар. научн. конф. (Минск-Раков, 1—2 июня 2006 г.): Материалы Межд. научн. конф. — Минск-Раков, 2006. — С. 267—270.
6. Коршунова А.Ф., Чумаков А.С., Шекочихина Р.И. Защита пшеницы от корневых гнилей. — Ленинград: Колос, 1976. — 184 с.
7. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика: Монографія / За ред. В.В. Вологона. — К.: Аграрна наука, 2006. — 311 с.
8. Патица В.П., Копилов Є.П., Надкерничний С.П. Вплив *Chaetomium cochliodes* Palliser на мікроміцети кореневої зони ярого ячменю // Микробиол. журн. — 2001. — Т. 63, № 5. — С. 3—9.
9. Тарчевский И.А. Элиситор-индуцируемые сигнальные системы клеток растений // Физиология растений. — 2000. — Т. 47, № 2. — С. 321—332.



Е.П. Копылов¹, С.П. Надкерничный¹, Л.А. Белявская², О.В. Голубец³

¹Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН,
ул. Шевченко, 97, Чернигов, Украина, тел.: +38 (0462) 23 70 38,
e-mail: evhenyukopilov@rambler.ru

²Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д 03680, Украина

³Научно-исследовательский центр испытаний продукции ГП Укрметтестстандарт,
ул. Метрологическая, 10, Киев, Украина

ИНДУЦИРОВАНИЕ СТОЙКОСТИ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ КОРНЕВЫХ ГНІЛЕЙ ПРИ СОДЕЙСТВИИ ГРИБА *CHAETOMIUM COCHLIODES* PALLISER

Реферат

Показана эффективность использования сапрофитного гриба *Chaetomium cochliodes* 3250 в качестве индуктора стойкости растений яровой пшеницы к возбудителям корневых гнилей. Изучен жирнокислотный состав культуральной среды гриба и установлено, что *C. cochliodes* 3250 синтезирует арахидоновую кислоту, накапливающуюся в культуральной среде. Арахидоновая кислота является биогенным элиситором, индуцируя в тканях растений иммунный ответ на действие патогенов и неблагоприятных условий. Способность *C. cochliodes* 3250 продуцировать арахидоновую кислоту является одним из факторов повышения стойкости растений яровой пшеницы к возбудителям корневых гнилей при его использовании.

Ключевые слова: *Chaetomium cochliodes* 3250, элиситоры, яровая пшеница, корневые гнили, арахидоновая кислота.

Е.Р. Копылов¹, S.P. Nadkernychny¹, L.O. Belavskaya², O.V. Golubets³

¹The Institute Of Agriculture Microbiology UAAS, 97Shevchenko str., Chernigov, Ukraine, tel.: +38 (0462) 23 70 38, e-mail: evhenyukopilov@rambler.ru

²Zabolonty Institute Of Microbiology And Virology, NAAS of Ukraine,
154, Acad. Zabolotny str., Kyiv, MSP, G03680, Ukraine

³Research center of product testing DP Ukemettteststandard,
10 Metrologichna str., Kyiv, Ukraine

THE INDUCTION OF SPRING WHEAT RESISTANCE TO ROOT ROTS AGENTS UNDER THE INFLUENCE OF FUNGUS *CHAETOMIUM COCHLIODES* PALLISER

Summary

The effectiveness of saprophyte fungus *Chaetomium cochliodes* 3250 usage as an inductor of spring wheat plants resistance to root rots agents was achieved. The content of fatty acids in cultural medium was investigated. It was found out that *C. cochliodes* 3250 produced arachidonic acid accumulating it in cultural medium. Arachidonic acid is a biogenic elicitor which induces an immune answer in plants tissues in response to pathogenes action and unfavourable environment. The ability of *C. cochliodes* 3250 to produce arachidonic acid is one of the factors of rising up spring wheat plants resistance to root rot agents during its usage.

Key words: *Chaetomium cochliodes* 3250, elicitors, spring wheat, root rots, arachidonic acid.

