

УДК 368.51: 632.35:579.22

В.П. ПАТИКА¹, О.М. ЗАХАРОВА²¹Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ГСП, Д 03608, Україна²Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, 03041, Київ, Україна

ХВОРОБИ РІПАКУ ТА ЗАХИСТ ВІД НИХ

Виявлені бактеріальні ураження озимого та ярого ріпаку і ідентифіковані його збудники. Досліджено здатність фітопатогенних бактерій до синтезу етилену. Встановлено, що всі виділені нами ізоляти є високо- та середньоагресивними, щодо різних сортів ріпаку та споріднені з представниками роду *Pseudomonas*, *Xanthomonas* та *Pectobacterium*.

Ключові слова: бактеріальні хвороби ріпаку, бактерії родів *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, бактеріоз коренів, слизовий бактеріоз

Ріпак – надзвичайно цінна кормова культура. Під час його переробки з 100 кг насіння, крім 38-41 кг олії, одержують 55-57 кг макухи, що містить 32-34% добре збалансованого за амінокислотним складом білка та 10-18% жиру або шроту (34-38% білка і лише 2-5% жиру). Він є важливою кормовою культурою та цінним попередником, який використовують, як сидерати. Ріпак використовується, як основна культура для виробництва біодизелю [4,7].

Проте з літературних джерел відомо, що до найбільш поширених хвороб в Україні належать альтернативний, чорна ніжка, снігова плісень, несправжня борошниста роса (пероноспороз), фомоз, тифульоз, тобто грибні хвороби. Щодо бактеріальних та вірусних хвороб дослідження і наукові дані малочисельні. Недотримання основних вимог технології вирощування ріпаку (попередник, оранка, якісна сівба), а особливо високе насичення сівозмін цією культурою, що спостерігається в останні роки, призводить до збільшення відсотка рослин, уражених саме бактеріальними збудниками, які є не менш шкідливими, ніж грибні [2, 3, 5, 6].

Матеріал і методи досліджень

Для виділення і культивування бактерій використовували картопляний агар (КА). Досліджували 18 ізолятів бактерій, збудників слизового бактеріозу та бактеріозу коренів, виділених нами з різних уражених органів та тканин ріпаку. Для порівняльних досліджень використали 29 штамів фітопатогенних бактерій *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* та штами *Pseudomonas fluorescens* 8573, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* УКМ В-1075^T, *P. syringae* pv. *syringae* В1027^T, *P. marginalis* pv. *marginalis* 9175^T з колекції культур відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології (ІМВ) ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Здатність до синтезу етилену фітопатогенними бактеріями досліджували за складом повітря над стовпчиком агаризованого середовища за допомогою газового хроматографа Chrom-5.

Патогенні властивості ізолятів визначали шляхом штучного зараження рослин ріпаку у фазі формування розетки листків до періоду бутонізації та цвітіння. У дослідженнях використовували 6 сортів ріпаку ярого (Марінс, Антарія, Оксамит, Марія, Микитинецький, Лужок), 2 сорти озимого ріпаку (Чорний Велетень та Аріон) та капусту сорту Амагер. Для штучного зараження використовували однодобову бактеріальну суспензію титром 10^7 кл/мл. Контролем слугувала стерильна водогінна вода. Рослини інокулювали потрійним уколом тканини з подальшим нанесенням бактеріальної суспензії. Облік агресивності штамів проводили за розробленою нами 10-и бальною шкалою. Штами з патогенністю від 7 до 9 балів вважалися агресивними, від 5 до 7 балів середньоагресивними та від 5 до 1 балів-низькоагресивними. Культурально-фізіологічні властивості бактерій вивчали загальноприйнятими класичними методами. Здатність засвоювати вуглеводи та спирти, як єдине джерело живлення, визначали за ростом бактерій та зміною забарвлення середовища

Омелянського, що містило індикатор бром-тимол синій та 0,5% розчин досліджуваного вуглеводу чи спирту. Облік результатів здійснювали на 3, 7, 14 та 21 добу культивування. Наведені у роботі дані є середнім значенням досліджень, проведених у чотирьох повторях.

Результати та їх обговорення

В період з 2010 по 2012 рр. нами виділено 18 ізолятів бактерій з різних уражених органів та тканин ріпаку з ознаками слизового бактеріозу та бактеріозу коренів [6].

Бактерії виділяли протягом всього періоду вегетації рослини, як восени, весною (ярий ріпак), так і в другій половині літа під час збирання урожаю. Розвиток захворювання розпочинається у першій декаді жовтня місяця, у більш теплих регіонах і пізніше з утворенням порожнини всередині кореневої шийки. На початку весни більшість уражених тканин кореня буріє, ослизнюється і розмочалюється, що призводить до загибелі рослин. З причин контрастної зимової температури і бесніжжя весною 2011 року спостерігалось збільшення кількості уражених рослин. Як на озимих і, особливо, ярих сортах ріпаку при підвищеній вологості спостерігається ураження серцевини стебла, яка з часом загниває і висихає, у результаті чого стебло стає цілком порожнім. Уражені місця стебла іноді чорніють. На дорослих рослинах зазначена хвороба виявляється у вигляді в'янення, як верхніх, так і нижніх листків. Згодом листки відмирають, починаючи з нижніх, і прикривають стебло (рис. 1).



Рис. 1. Природне ураження ріпаку

Аналіз агресивності колекційних штамів щодо різних сортів ріпаку показує, що найбільш стійкими до збудників бактеріозу коренів (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* та *Pseudomonas fluorescens*) виявилися саме сорти озимого ріпаку Чорний Велетень та Аріон, а до слизового бактеріозу (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* та *Pseudomonas fluorescens*) сорт ярого - Марія та зовсім не чутливими сорти Оксамит та Микитинецький. [6].

Перевірка стійкості районуваних сортів ріпаку до виділених нами штамів, збудників бактеріальних хвороб показала, що найменш чутливими до збудників виявилися сорти — Оксамит та Микитинецький. Натомість Марінс та Марія, а також сорт ріпаку озимого — Аріон були найменш стійкими до виділених нами штамів.

За результатами досліджень морфолого-культуральних та фізіолого-біохімічних властивостей 44% від загальної кількості виділених нами штамів це — прямі, рухомі палички, розташовані поодинокі або парами, грамнегативні і не утворюють спор. На картопляному агарі через дві доби утворюють сірувато-білі, напівпрозорі, блискучі, круглі, діаметром 1,0-2,5 мм, плоскі, з піднесеним центром і, в основному, слабо - хвилястим краєм колонії типові для роду *Pseudomonas* [6] (рис.2). Штами ростуть на МПБ, пептонізують або згортають молоко, пошарово розріджують желатин. Варіюють по здатності редукувати нітрати, здатні утворювати каталазу і оксидазу, підлужують лакмусову сироватку, не утворюють індол і сірководень. На

мінеральному середовищі Омелянського, до якого додавали в якості єдиного джерела вуглецю глюкозу, галактозу, арабінозу, маннозу, фруктозу, ксилону утворюють кислоту. Не здатні зброджувати рамнозу, сахарозу, рафінозу, лактозу, мальтозу і манітол. Не засвоюють дульцитол та саліцин. Вивчений нами комплекс фенотипічних властивостей значно зближує їх з представниками роду *Pseudomonas*, а саме оксидазопозитивними представниками видів *P. fluorescens* та *P. marginalis* pv. *marginalis* [6]. Здатність виділених нами штамів уражувати окрім ріпаку, ще ряд рослин також свідчить на користь їх спорідненості з представниками видів *P. fluorescens* та *P. marginalis* pv. *marginalis*, які є класичними поліфагами.

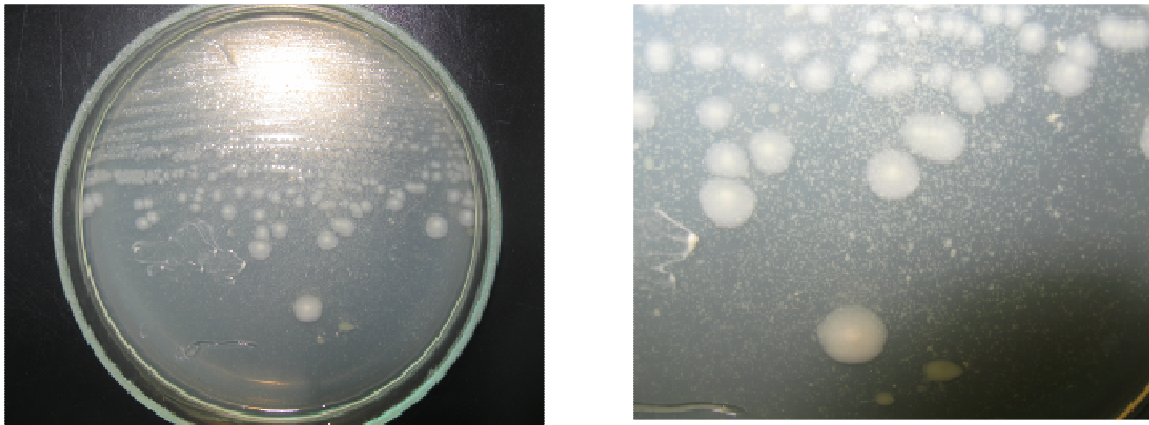


Рис. 2. Колонії фітопатогенних бактерій роду *Pseudomonas fluorescens*

Показано, що 37% виділених нами штамів це – прямі, рухомі палички, розташовані поодинокі або парами, грамнегативні і не утворюють спор. При рості на картопляному агарі утворюють невеликі, округлі, гладкі, блискучі, жовті колонії з рівними краями, характерні для роду *Xanthomonas* [6] (рис. 3). Дані ізоляти ростуть на МПБ, пептонізують або згортають молоко, розріджують желатин. Не здатні редукувати нітрати, утворюють каталазу, але не синтезують оксидазу, підлужують лакмусову сироватку. На мінеральному середовищі Омелянського, до якого додавали в якості єдиного джерела вуглецю глюкозу, галактозу, арабінозу, ксилону, мальтозу, сахарозу, рафінозу, манітол утворюють кислоту, але не здатні засвоювати рамнозу, лактозу, дульцитол і саліцин. Вивчення комплексу ознак фенотипу даних штамів підтверджує їх спорідненість із типовими представниками роду *Xanthomonas* і зокрема колекційним штамом *X. campestris* pv. *campestris* 8185 [1,6].

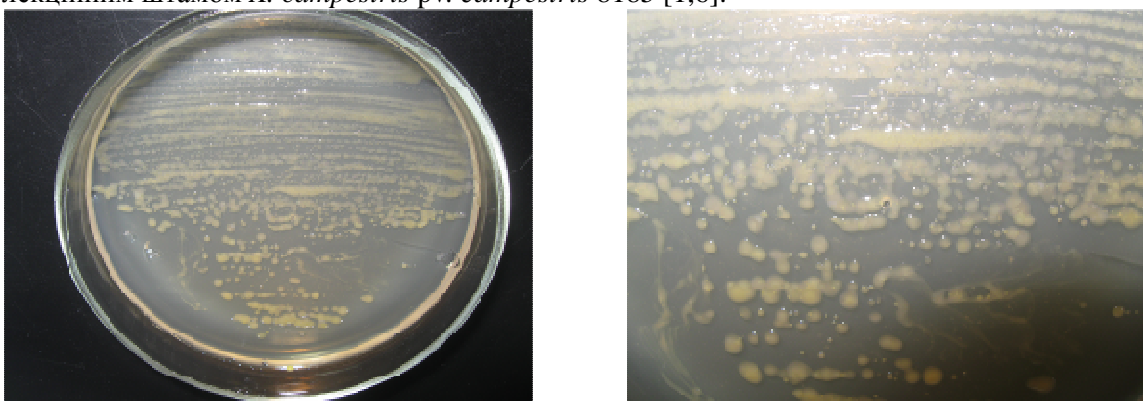


Рис. 3. Колонії фітопатогенних бактерій роду *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Решта 19% досліджених нами штамів це – прямі, рухливі поодинокі або розташовані парами, грамнегативні, аспорогенні палички. На картопляному агарі через дві доби утворюють сірувато-білі, опуклі, з конусним центром і рівними краями колонії типові для роду *Pectobacterium* [1, 6]. Здатні рости на МПБ, редукувати нітрати і пошарово розріджувати желатин. Варіабельні за здатністю пептонізувати і згортати молоко. Оксидазонегативні та каталазо позитивні. На мінеральному середовищі Омелянського, до якої додавали в якості

єдиного джерела вуглецю фруктозу, лактозу, рамнозу, ксилозу, рафінозу, галактозу, глюкозу, сахарозу манітол та саліцин утворюють кислоти. Не здатні використовувати дульцитол. Вивчений нами комплекс фенотипових властивостей вказує на спорідненість даних штамів з типовими представниками роду *Pectobacterium* і зокрема типовим штамом *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* B-1075^T [1,6].

Штучне зараження ізольованими штамми рослин-індикаторів та ріпаку (рис.4) показало їх патогенність та ступінь агресивності. Так, в результаті досліджень показано, що виділені нами та колекційні штами є середньо- та високоагресивними для капусти сорту Амагер, моркви сорту Велес F1, картоплі сорту Слов'янка та томатів сорту Новічок, що свідчить про широку їх патогенність для ряду сільськогосподарських культур.



Рис. 4. Штучне ураження ріпаку (а) та капусти (б).

Виділені нами штами були досить патогенними по відношенню до всіх досліджених культур, що свідчить про їх високу агресивність.

Відомо, що етилен – один із ключових фітогормонів, який здійснює значний вплив на ріст та розвиток рослин. Зокрема, він гальмує ріст, розтягнення клітин, порушує геотропізм, сприяє опаданню листя, прискорює процеси дозрівання плодів та старіння [10]. Продукувати етилен, як фактор патогенності можуть і окремі види фітопатогенних бактерій, а саме *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, *Pseudomonas syringae* тощо. Відомо, що кількість етилена в рослинах збільшується при інфікуванні їх хвороботворними мікроорганізмами, що в свою чергу є захисною реакцією рослини на дію патогену. Хоча відомо, що сам етилен відіграє важливу роль в розвитку захворювань [9, 10].

Встановлено, що досліджені штами *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* синтезують етилен в різній кількості (таблиця) що, очевидно, є їх штамовою ознакою. Подальші дослідження щодо синтезу етилену виділеними нами ізолятами з ріпаку дадуть змогу використовувати ці дані для більш поглибленого вивчення їх агресивності.

Таблиця

Синтез етилену колекційними штамми *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

№ п/п	Штам	Кількість етилену (нМоль/г*кл)
1	8659	0,5
2	8185	0,7
3	8171	0,3
4	820	0,2
5	8174	0,09
6	8160	0,8
7	8188	0,2
8	80036	0,4
9	8175	0,19

Продовження таблиці		
10	8195	0,017
11	8159	0,014
12	8179	0,2
13	8050	0,014
14	8156	0,029
15	8178	0,013
16	8196	0,04
17	8182	0,9-1
18	8166	0,027
19	8148	0,2
20	8194	0,007
21	8154	0,013
22	8189	0,014
23	8161	0,024
24	8836	0
25	8149	0
26	8147	0
27	8170	0
28	8837	0
29	8173	0

Висновки

Всі досліджені нами штами є патогенними з різним ступенем агресивності як на капусті сорту Амагер, так і різних сортах ріпаку та за основними морфолого-культуральними та біохімічними ознаками є спорідненими з основними збудниками бактеріозу коренів *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, слизового бактеріозу *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* та *Pseudomonas fluorescens*, *P. marginalis* pv. *marginalis*, *P. syringae* pv. *syringae*. Виявлені збудники дають можливість фахівцям вірно і екологічно безпечно визначити відповідні технологічні схеми для захисту рослин.

В.Ф. Патыка¹, О.М. Захарова²

¹Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

²Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Київ

БОЛЕЗНИ РАПСА И ЗАЩИТА ОТ НИХ

Обнаружены бактериальные поражения озимого и ярового рапса и идентифицированы его возбудители. Исследована способность фитопатогенных бактерий к синтезу этилена. Установлено, что все выделенные нами изоляты являются высоко-и среднеагрессивными к различным сортам рапса и сроднены с представителями рода *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Pectobacterium*.

Ключевые слова: бактериальные болезни рапса, бактерии родов *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, бактериоз корней, слизистый бактериоз

V.F. Patyka¹, O.M. Zakharova²

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

DISEASES OF RAPE AND PROTECTION AGAINST THEM

In crops of spring and winter rapeseed was identified and described bacterial destruction of culture and identified their agents. Investigated the ability of pathogenic bacteria to the synthesis of ethylene. It was found that all selected by us isolates are high or middle aggressive towards different varieties of rape and are members of the genus *Pseudomonas*, *Xanthomonas* and *Pectobacterium*.

Keywords: rape's bacterial diseases, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, bacteriosis of roots, slimy bacteriosis

1. *Микроорганизмы – возбудители болезней растений* / Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. [и др.]. – К.: Наук. думка, 1988. – 552 с.
2. *Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин* / Гвоздяк Р.І., Пасічник Л.А, Яковлева Л.М. [та ін.]; за ред. В.П. Патики – К.: ТОВ "НВП "Інтерсервіс", 2011. – 444 с.
3. *Довідник із захисту рослин* / Под ред. М.П. Лісового. – К.: Урожай, 1999. – 743 с.
4. *Зінченко О.І. Рослинництво: Підручник* / Зінченко О.І., Салатенко В.Н., Білоножко М.А. ; за ред. О.І.Зінченко. – Київ: Аграрна освіта, 2001. – 591 с.
5. *Зробок О.М. Біологічна стійкість проти збудників хвороб і продуктивність сортів ріпака ярого а агроекологічних умовах Полісся* // О. Зробок, С. Боборусь // Зб. наук. праць Уман. держ. аграр. ун-ту. – 2009. – Вип. 71, № 1. – С. 78–85.
6. *Бактеріальні хвороби ріпаку* / [О.М. Захарова, М.Д. Мельничук, Л.А. Данкевич, В.П. Патики] // Мікробіол. журн. – 2012. – 74, № 6. – С. 46– 52.
7. *Рослинництво. Технології вирощування сільськогосподарських культур* / [Лихочвор В.В., Петриченко В.Ф., Іващук П.В., Корнійчук О.В.]; за ред. В.В. Лихочвора, В.Ф.Петриченка. – 3-є вид. – Львів: НВФ «Українські технології», 2010. – 1088 с.
8. *Технологія вирощування і захисту ріпаку.* / [М.П. Секун, О.М. Лапа, І.Л. Марков та ін.]; за ред. М.П. Секуна та О.М. Лапи. – Укр. Акад. аграрних наук, Інститут захисту рослин, Національний аграрний університет. 2008. – 62 с.
9. *Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов.* // [Е.А. Цавкелова, С.Ю. Климова, Т.А. Чердынцева, А.И. Нетрусов] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006.– 42. – № 2.– С. 133–143.
10. *Полевой В.В. Фито-гормоны. Гл. 5. Этилен.* / В.В. Полевой. – – Л., 1982. – 248 с.

Рекомендує до друку
М.М. Барна

Надійшла 21.06.2012