

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ КОРИСНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
LACTOBACILLUS PLANTARUM ONU 12**

Analysis antagonistic properties, the effects on the germination and development of important crops the strain Lactobacillus plantarum ONU 12 had carried out. The strain L. plantarum ONU 12 has shown high antimicrobial effect in vitro against 7 reference strains and opportunistic pathogenic microorganisms. The positive effect of the studied strain on morpho- and rhizogenesis of cruciferous and cereal seedlings has been established. The strain could be recommended for create on its basis a biopreparation of complex actions, which would be used for pre-treatment of seeds watercress and wheat, for the realization of genetically determined plant productivity and protection from phytopathogens.

Вражаючи різноманітні сільськогосподарські культури фітопатогенні бактерії знижують врожайність, погіршують якість продукції, сприяють передчасній загибелі рослин. Наразі найбільшим попитом для захисту рослин користуються пестициди [1]. Але як токсичні агенти вони негативно впливають на агробіоценози. Іншою серйозною проблемою пов'язаною з вирощуванням продуктів харчування, є погіршення родючості ґрунтів, а також забруднення навколишнього середовища через застосування мінеральних добрив. Усуваючи цю проблему, щоб отримати більш високі врожаї, фермери стають все більш залежними від хімічних джерел азоту і фосфору [4]. Агробіотехнологія дає змогу вирішити дані проблеми, за допомогою мікробних біопрепаратів комплексної дії. Перспективним мікроорганізмом для створення екологічно безпечних біопрепаратів, є *Lactobacillus plantarum*. Даний вид широко застосовується у терапевтичних цілях в якості пробіотики, має статус GRAS [5], та здатен продукувати речовини з антимікробною та рістстимулювальною активностями [2, 3].

Метою роботи було випробування *L. plantarum* ONU 12 в якості кандидата для створення на його основі біопрепарату комплексної дії, який би використовувався для передпосівної обробки насіння крес-салату та пшениці.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були штами бактерій *L. plantarum* ONU 12. Штами УПМ: *Agrobacterium vitis* MR1 (ОНУ), *Agrobacterium vitis* UA6 (ОНУ), *Agrobacterium vitis* 379, *Agrobacterium rhizogenes* 15834 (колекція мікроорганізмів Російського Аграрного Інституту, Росія), *Agrobacterium tumefaciens* C58, *Erwinia carotovora* ZM1, *Ralstonia solanacearum* B-1109-UCM (колекція культур Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного, Київ), насіння крес-салату сорту Ажур, насіння пшениці сорту Дунай.

Для виявлення антогоністичних властивостей *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 *in vitro* використовувався метод дифузії в агарових лунках (well diffusion method). Для експерименту були взяті добові культури *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12. Перед внесенням у лунки значення рН культуральної рідини *Lactobacillus plantarum* були доведені до $7 \pm 0,5$ од. рН за допомогою NaOH. Після висіву бактерій на чашки Петрі, вони були поміщені в термостат на 24 години при 37 °С.

Дослідження ріст-стимулюючої активності штаму *L. plantarum* ОНУ 12 проводили на хрестоцвітних та тонконогових. У якості тест-рослин було обрано крес-салат та пшеницю.

Насіння крес-салату і пшениці (по 50 у кожному варіанті досліду) стерилізували перекисом водню (25%) протягом 1 хв, потім промивали тричі у стерильній дистильованій воді і обробляли суспензіями бактерій штаму *L. plantarum* ONU 12, які вирощували добу у середовищах різного складу. Добові агарові культури засівали в рідкі поживні у

пеніцилінових флаконах об'ємом 10 мл. Концентрацію бактерій визначали за допомогою спектрофотометричного методу з використанням спектрофотометра BioRad Smart Spec. Через 5 днів враховували середню довжину стебел і коренів паростків і обчислювали конфіденційний інтервал (95%). Дослідження проводили у трьох незалежних експериментах по 50 насінин у кожному варіанті. Значимі відмінності між контролем і обробленими варіантами оцінювали у t-тесті ($p < 0.05$). Для розрахунків та побудови графіків використовували програмне обладнання "MicrosoftExcel".

Результати та їх обговорення. Дослідження антагоністичної активності штаму *L. plantarum* ОНУ 12 показало, що він проявляє інгібувальну дію на всі тест-штами фітопатогенів і УПМ.

Так слабку антагоністичну активність (зона затримки росту до 7 мм) *L. plantarum* ОНУ 12 виявив до *A. vitis* MR1 (ОНУ), *A. vitis* UA6 (ОНУ), *Erwinia carotovora* ZM1, *Ralstonia solanacearum* B-1109-UCM. Помірну антагоністичну активність (зона затримки росту до 13 мм) – по відношенню до *A. tumefaciens* C58, *A. vitis* 379, *A. rhizogenes* 15834.

Обробка насіння тест-рослин бактеріями штаму *L. plantarum* ОНУ 12, вирощеними на середовищах різного складу, призводило до покращення їх проростання. При культивуванні *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 у живильному середовищі до складу якого входили: дріжджовий екстракт, МПБ, пептон, глюкоза, казеїн, MgSO₄, MnSO₄ та подальшій обробці насіння пшениці суспензією лактобацил, було виявлена стимулююча активність штаму на розвиток рослин. Довжина коренів, у порівнянні з насінням що вирощувалось без обробки *L. plantarum* ОНУ 12, була більшою на 34,2%, стебел на 35,3%. При культивуванні *L. plantarum* ОНУ 12 у живильному середовищі до складу якого входили: дріжджовий екстракт, глюкоза, казеїн, цитрат амонію, CH₃COONa, MgSO₄, MnSO₄, FeSO₄ та подальшій обробці насіння крес-салату суспензією лактобацил, було виявлена стимулююча активність штаму на розвиток паростків та кореневої системи крес-салату. Довжина коренів, у порівнянні з насінням що вирощувалось без обробки *L. plantarum* ОНУ 12, була більшою на 34,5%, стебел на 42,7%. Якщо порівнювати морфологічні показники у відсотках у порівнянні з негативним контролем – вимочуванням насіння у воді, то відсотки покращення дорівнювали 13,0 – 42,7% у крес-салата і 13,0 – 35,3% у пшениці. Загалом обробки лактобацилами найбільш позитивно відображалися на довжині коренів паростків пшениці – від 23,7 до 34,2%.

Таким чином, показано, що обробка насіння суспензією бактерій *L. plantarum* ОНУ 12 – позитивно впливає на розвиток рослин крес-салату та пшениці на початкових етапах вегетаційного періоду.

Література

1. Рой А.А. и другие Влияние бактерий рода *Bacillus* на возбудителя бактериального рака томатов// Микробиологичний журнал.- 2012.- Т.74 (№5).- С.74-80
2. Соловьева И.В., и другие Изучение биологических свойств новых штаммов рода *Lactobacillus*// Вестник Нижегородского Университета им.Н.И.Лобачевского.– 2010.– С.35.
3. Goffin P. et al Understanding the physiology of *Lactobacillus plantarum* at zero growth // Molecular Systems Biology.-2010.-Vol.6.- P.413
4. Gupta G., et al Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture// J. Microbial & Biochemical Technology.- 2015. Vol. 7 (2).- P.96-102
5. The Food and Drug Administration (FDA) Notice No. GRN 000378. [Електронний ресурс] <http://www.fda.gov/Food/Ingredients/Packaging/Labeling/GRAS/NoticeInventory/ucm300511.htm>