

А.Г. Мерліч, Н.В. Ліманська

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082,
Україна, тел.: (0482) 68 79 64; e-mail: andriymerlich@gmail.com

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*, ВИДІЛЕНИХ З РОСЛИННИХ ДЖЕРЕЛ УКРАЇНИ ТА ФРАНЦІЇ, ПРОТИ ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ

Мета. Дослідження антагоністичної активності бактерій *Lactobacillus plantarum*, ізольованих з рослинних джерел України та Франції проти фітопатогенних бактерій. **Методи.** Антагоністичну активність *L. plantarum* досліджено *in vitro* за допомогою методу агарових лунок та *in vivo* шляхом інокуляції експлантів моркви та зараження рослин каланхое. **Результати.** Показано антагоністичну активність досліджених молочнокислих бактерій проти фітопатогенних бактерій як *in vitro*, так і *in vivo*. Встановлено, що у випадку всіх використаних тест-систем не спостерігалось значної залежності між рН культуральної рідини та рівнем антагоністичної активності. Найбільш активними антагоністами у більшості використаних тест-систем були ізоляти *L. plantarum* ОНУ311, ОНУ313, ОНУ476, ОНУ312 і ОНУ12 з України та ОНУ352, ОНУ353 і ОНУ355 з Франції. **Висновки.** Рівень антагонізму *L. plantarum* проти фітопатогенів відрізнявся залежно від штаму лактобацил, його походження, штаму фітопатогена та використаної у роботі тест-системи.

Ключові слова: *Lactobacillus plantarum*, фітопатогенні бактерії, антагоністична активність.

Фітопатогенні бактерії постійно супроводжують як культурні, так і дикі види рослин. За сприятливих умов вони уражують насіння та всі органи рослин протягом вегетації, погіршують якість та знижують обсяг продукції, що призводить до значних економічних збитків сільському господарству. Пестициди, насамперед фунгіциди, порушують екологічну рівновагу між бактеріальною та грибною мікробіотою. Результатом цього є загострення проблеми бактеріозів сільськогосподарських культур [1]. З літературних джерел відомо про високу антагоністичну активність молочнокислих бактерій (МКБ) проти фітопатогенних бактерій. Так, в роботі Visser та ін., 1986, було показано антагоністичну активність різних молочнокислих бактерій, виділених з рослинних поверхонь, до тест-штамів фітопатогенів *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora* та *Pseudomonas syringae*. Авторами було показано ефективне пригнічення *in vitro* на щільних поживних середовищах та в бульйонних культурах [11]. Застосу-



вання хімікатів та бактерицидів у сільському господарстві, так само, як і забруднення навколишнього середовища, можна було би уникнути за допомогою МКБ, і тому вони є перспективними стимуляторами росту рослин бактеріями та агентами біоконтролю [7].

Метою роботи було дослідити антагоністичну активність бактерій *L. plantarum*, ізолюваних з рослинних джерел України та Франції проти фітопатогенних бактерій.

Матеріали і методи

Для дослідження антагоністичної активності використано 25 штамів молочнокислих бактерій *Lactobacillus plantarum*, виділених з рослинного матеріалу України та Франції, та два колекційних штами. Для культивування використовували середовище MRS, в якому бактерії вирощували при температурі 37 °С. Як індикатори застосовували штами фітопатогенних бактерій: *Rhizobium radiobacter* C58, *R. vitis* MR1, *R. vitis* UA6, *R. vitis* 379, *R. rhizogenes* 15834, *Erwinia carotovora* ZM1, люб'язно надані доктором біологічних наук Ф.І. Товкачем, та *Ralstonia solanacearum* B-1109-УКМ з колекції Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України. Штами фітопатогенів перед експериментом інкубували в рідкому середовищі NB (nutrient broth, HIMEDIA) при 28 °С впродовж доби.

Антагоністичну активність лактобактерій *in vitro* вивчали методом агарових лунок згідно з Sumathi та ін., 2010 з деякими модифікаціями. Добові культури лактобактерій нейтралізували 1М NaOH та фільтрували крізь фільтр з діаметром пор 0,20 мкм (Minisart, sartorius stedim biotech, Германія). Для приготування газонів до 20 мл NB агару додавали добові культури фітопатогенів. Після застигання агару в ньому робили лунки діаметром 8 мм, які заповнювали фільтратом культур лактобактерій. Посіви інкубували при 28 °С впродовж доби та вимірювали радіус зон відсутності росту [8]. Дослідження було виконано у 5 повторях.

Для вивчення антагоністичної активності *in vivo* на експлантах моркви (*Daucus carota* L.) коренеплоди відмивали від залишків ґрунту за допомогою миючого засобу в воді з водогону, обробляли 1% розчином дезінфектанту “Білизна”, після чого ретельно промивали під проточною водою. У стерильних умовах знімали верхній шар коренеплоду, фламбували за допомогою 96% етилового спирту на нарізали на диски. Диски викладали у чашки Петрі з шаром фільтрувального паперу апікальною стороною вгору. Далі на кожен диск, в районі камбіального кільця, наносили спочатку 100 мкл добових культур *L. plantarum*, потім 100 мкл добових культур фітопатогенів *Rhizobium radiobacter* C58 або *Erwinia carotovora* ZM1. За контролі слугували диски з нанесеними середовищами NB та MRS та диски, оброблені MRS та фітопатогенами. Через 14–21 день експланти моркви обстежували на наявність пухлин та гнилей, оцінювали відсоток ураження та, відповідно, обраховували відсоток пригнічення фітопатогенів лактобацилами.



Крім того, для вивчення антагоністичної активності лактобацил *in vivo* проводили зараження рослин *Kalanchoe daigremontiana* Mill. Для цього суміш нічних культур штамів *L. plantarum* та *R. radiobacter* C58 (1:1) було введено у верхні тканини листків та стебел у кількості 30 уколів на рослину. Культура *R. radiobacter* з еквівалентним об'ємом середовища MRS та без середовища були введені як позитивні контролю. Рахували кількість утворених пухлин на пагонах і листі рослин та визначали відсоток інгібування фітопатогена, порівнюючи кількість пухлин з кількістю нанесених уколів [5].

Результати та їх обговорення

У дослідженні антагоністичної активності методом агарових лунок були використані 25 ізолятів *L. plantarum*, виділених з рослинного матеріалу України (У) та Франції (Ф), та два контрольні штами з колекції Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України – *L. plantarum* В-2694 та *L. plantarum* В-2709. Досліджені ізоляти *L. plantarum* проявили антагоністичну активність проти усіх тест-штамів фітопатогенних бактерій. Висока антагоністична активність *L. plantarum* узгоджується з даними Василюк та ін., 2014, згідно з якими при дослідженні антагоністичної активності штамів *L. plantarum* показано, що майже усі вони різною мірою проявляли антагоністичну дію [2]. Антагоністична активність в нашому дослідженні також була різною та залежала від ізоляту МКБ та від штаму фітопатогена.

Усі досліджені ізоляти *L. plantarum* проявили антагоністичну активність проти *R. radiobacter* C58 (рис. 1). Ці данні також узгоджуються з Василюк та ін., 2014, згідно з якими більше 90% штамів виявили пригнічувальну дію щодо даного виду фітопатогена [2]. Найбільшу активність проти цього тест-штаму проявили 6 ізолятів *L. plantarum* (22,2% від загальної кількості): ОНУ12, ОНУ311, ОНУ313 (У) та ізоляти *L. plantarum* ОНУ352, ОНУ353, ОНУ355 (Ф). Ці ізоляти утворювали зони затримки росту з радіусами від 8 до 9 мм. Решта ізолятів проявили антагоністичну активність більш низького рівня з радіусами зон інгібування 4,5–7 мм (рис. 1). Найнижчу антагоністичну активність проти цього штаму фітопатогена проявили три ізоляти *L. plantarum* – ОНУ357, ОНУ365 та ОНУ471. Ці ізоляти утворювали зони пригнічення з радіусом 4,5 мм. Цікаво, що антагоністична активність, яка відрізнялася за своїм рівнем в залежності від ізоляту лактобацил, не залежала в значній мірі від рівня рН. Так, фільтрат ізоляту *L. plantarum* ОНУ12, який утворював зони пригнічення росту фітопатогена з радіусом 9 мм, показав значення рН 3,9, тоді як рН такого ж рівня було характерним для фільтратів ізолятів *L. plantarum* ОНУ471, ОНУ365, які утворювали зони пригнічення з радіусом 4,5 мм та показали найнижчий антагонізм порівняно з рештою перевірених в дослідженні штамів. Це може вказувати на те, що дані ізоляти лактобацил, крім органічних кислот, продукують інші антагоністичні сполуки, такі, наприклад, як перекис водню або бактеріюцини. Антагоністичну активність *L. plantarum* проти фітопатогена

R. radiobacter C58 при перевірці методом агарових лунок було показано також у роботі Limanska та ін., 2014 [4].

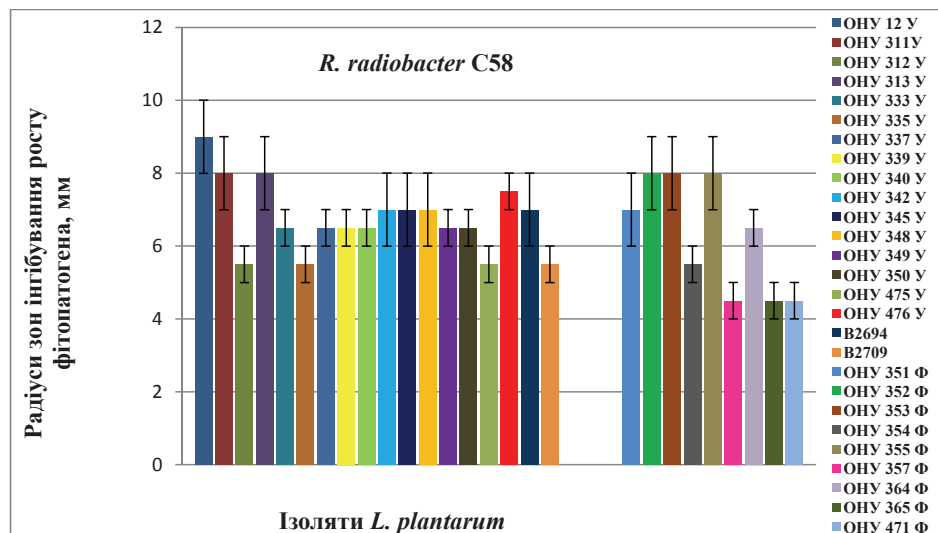
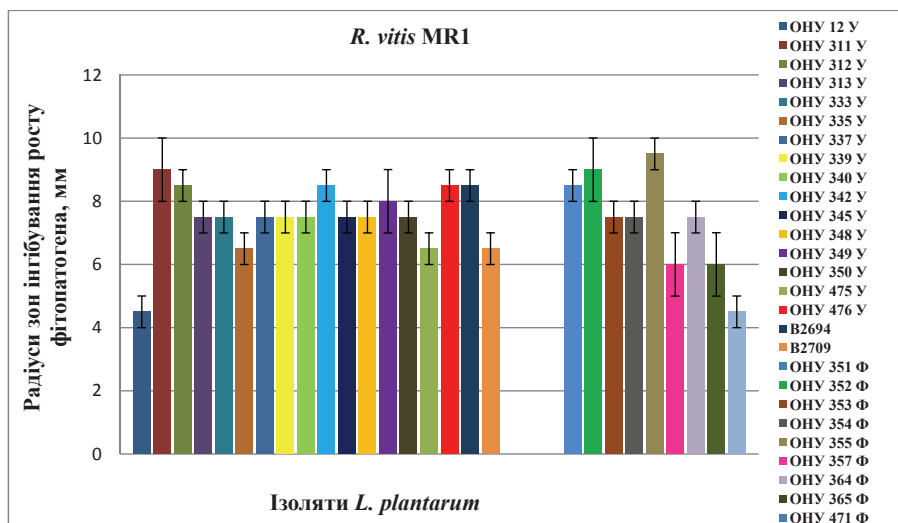


Рис. 1. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *R. radiobacter* C58

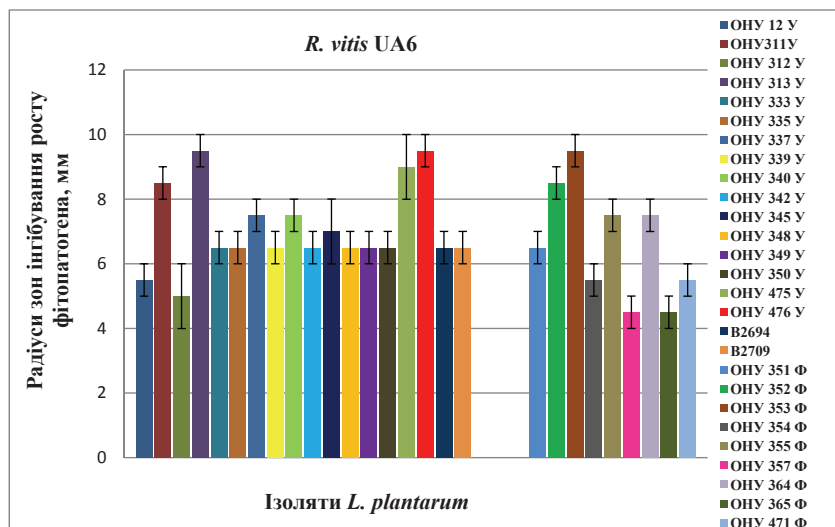
Fig. 1. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against the phytopathogen *R. radiobacter* C58

Крім *R. radiobacter*, в нашому дослідженні МКБ ефективно пригнічували ріст штамів *R. vitis* та *R. rhizogenes* (рис. 2–5). Нами було перевірено антагоністичну активність ізолятів МКБ проти трьох штамів *R. vitis* – MR1, UA6 та 379. Фітопатогенна бактерія *R. vitis* викликає захворювання корончатих галів на винограді [5]. Найбільшу активність проти *R. vitis* MR1 проявили ізоляти *L. plantarum* ОНУ311, ОНУ312, ОНУ342, ОНУ476 (У), колекційний штам В2694, а також ізоляти ОНУ351, ОНУ352 та ОНУ355 (Ф), які утворювали радіуси зон інгібування росту фітопатогена від 8,5 до 9,5 мм (рис. 2). Ізоляти з найбільшою антагоністичною активністю склали 29,6% від загальної кількості лактобактерій. Решта ізолятів (70,3%) проявили більш низький рівень антагонізму та утворювали зони інгібування з радіусами 4,5–8 мм. Найменшу антагоністичну активність проти цього фітопатогена показали два ізоляти *L. plantarum* – ОНУ12(У) та ОНУ471 (Ф). Рівень антагоністичної активності проти цього штамів фітопатогенних бактерій також не залежав від рН фільтратів. Так, рН фільтрату *L. plantarum* ОНУ12 складав 3,9, приблизно такі ж значення рН були характерними для ізолятів з найвищим рівнем антагоністичної активності.

Фітопатогенну бактерію *R. vitis* UA6 найбільш активно пригнічували 6 ізолятів *L. plantarum*: ОНУ311, ОНУ313, ОНУ475, ОНУ476 (У), та ОНУ352, ОНУ353 (Ф) (рис. 3). Ці ізоляти утворювали зони відсутності росту з радіусами 8,5–9,5 мм та склали 22,2% від загальної кількості перевірених *L. plantarum*.

Рис. 2. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти *R. vitis* MR1Fig. 2. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against *R. vitis* MR1

Решта 77,7% ізолятів проявила менш виражений антагонізм проти даного штаму фітопатогенних бактерій, утворюючи зони відсутності росту з радіусами 4,5–7,5 мм. Найменшу антагоністичну активність з радіусами зон пригнічення росту фітопатогена 4,5–5,5 мм показали ізоляти *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ312, ОНУ354, ОНУ357, ОНУ365 та ОНУ471. Як і проти двох попередньо описаних штамів ризобій, рівень антагоністичної активності проти *R. vitis* UA6 не залежав від рН отриманих фільтратів.

Рис. 3. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *R. vitis* UA6Fig. 3. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against the phytopathogen *R. vitis* UA6

Проти штаму *R. vitis* 379 найбільшу антагоністичну активність показали ізоляти *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ311, ОНУ312, ОНУ313, ОНУ476 (У) та ОНУ352, ОНУ353, ОНУ355 (Ф) (рис. 4). Ці 8 ізолятів (29,6%) утворювали зони інгібування росту *R. vitis* 379 з радіусами 7,5–10,5 мм. Ізолят *L. plantarum* ОНУ12 проявив також високий рівень антагонізму проти *R. radiobacter* C58, *L. plantarum* ОНУ311 – проти *R. vitis* UA6, MR1 та *R. radiobacter* C58, *L. plantarum* ОНУ312 – проти *R. vitis* MR1, *L. plantarum* ОНУ313 – проти *R. vitis* UA6 та *R. radiobacter* C58. Ізоляти *L. plantarum* ОНУ311, ОНУ476 та ОНУ352 проявили високу антагоністичну активність проти всіх трьох тест-штамів *R. vitis*: 379, UA6 та MR1.

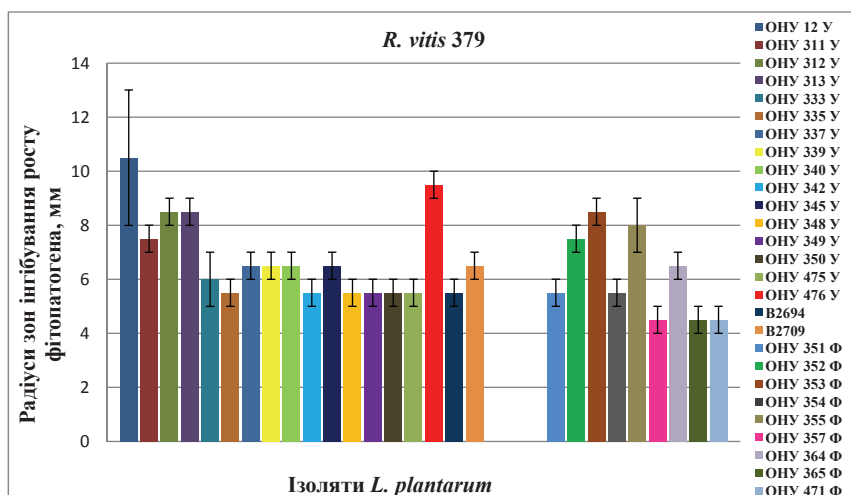


Рис. 4. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *R. vitis* 379

Fig. 4. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against the phytopathogen *R. vitis* 379

Решта ізолятів проявили більш низький рівень антагоністичної активності проти *R. vitis* 379 з зонами пригнічення росту фітопатогена 4,5–6,5 мм. Найменша активність проти цього штаму фітопатогена була характерною для ізолятів *L. plantarum* ОНУ357, ОНУ365 та ОНУ471, які утворювали зони пригнічення з радіусом 4,5 мм. Ці три ізоляти проявили також найнижчу активність проти штаму фітопатогена *R. vitis* UA6. Ізоляти *L. plantarum* ОНУ357, ОНУ365, та ОНУ471 були ізолятами з найнижчою антагоністичною активністю також проти *R. radiobacter* C58.

Патогенні ризобії *R. rhizogenes* викликають тканинну проліферацію рослин у вигляді волосяного кореня [5]. Проти *R. rhizogenes* 15834 найбільший антагонізм проявили ізоляти *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ311, ОНУ312, ОНУ313, ОНУ476 (У), референс-штам B2709, а також ізоляти ОНУ352, ОНУ353 та ОНУ355 (Ф) (рис. 5). Ізоляти з найбільшою антагоністичною активністю склали 33,3% від загальної кількості використаних в дослідженні *L. plantarum* та



утворювали зони пригнічення росту фітопатогена з радіусами 7,5–10 мм. Решта ізолятів проявляла більш низьку антагоністичну активність та утворювала зони пригнічення 4,5–6,5. Найнижчу антагоністичну активність проти тест-штаму *R. rhizogenes* 15834 проявили 4 ізоляти *L. plantarum*: ОНУ351, ОНУ357, ОНУ365 та колекційний штам В2694. Ці ізоляти утворювали зони пригнічення фітопатогена з радіусом 4,5 мм.

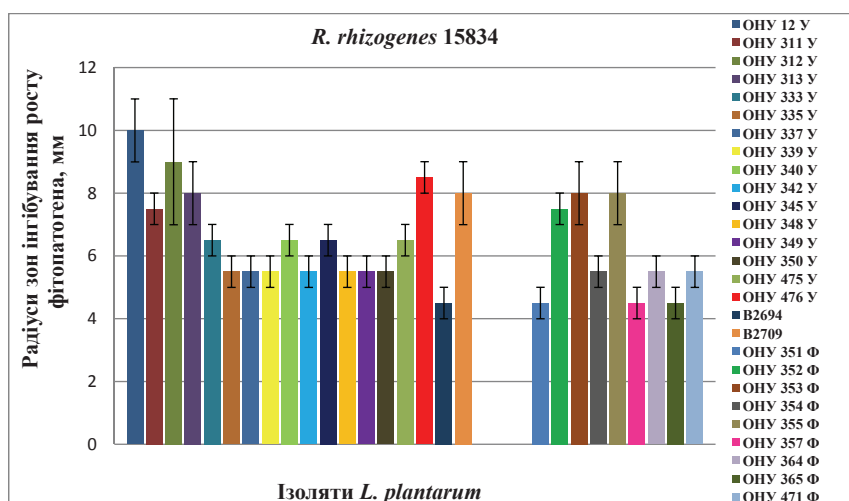


Рис. 5. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *R. rhizogenes* 15834

Fig. 5. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against the phytopathogen *R. rhizogenes* 15834

Найбільш активними антагоністами проти *E. carotovora* були ізоляти *L. plantarum* ОНУ311, ОНУ312, ОНУ313, ОНУ476 (У), колекційний штам В2709, а також ізоляти ОНУ352, ОНУ353, ОНУ355 та ОНУ364 (Ф) (рис. 6). Ці ізоляти (33,3% від загальної кількості) утворювали зони пригнічення фітопатогена з радіусами 7,5–8,5 мм. Отримані результати узгоджуються з даними Mounesh та ін., 2013, де антибактеріальна активність ізолятів МКБ проти *E. carotovora* subsp. *carotovora* була протестована методом агарових лунок, та з 40 ізолятів 8 показали значні зони інгібування росту [6]. Visser та ін., 1992, показали високу чутливість *E. carotovora* до молочнокислих бактерій, коли навіть при конкуренції з патогенами, за умов, повністю сприятливих для останніх, молочнокислі бактерії ефективно пригнічували фітопатогени [10]. Антагоністична активність лактобактерій проти *E. carotovora* *in vitro* показана також в роботі Trias та ін., 2008, де відмічено, що продукування перекису водню було ефективним проти цієї бактерії [9], а також в роботах Василук та ін., 2014 [2].

Решта ізолятів *L. plantarum* (66,6%) в наших експериментах проявили більш низьку антагоністичну активність з радіусами зон пригнічення 4,5–6,5 мм. *R. solanacearum* – небезпечний фітопатоген, який є карантинним об'єктом із високим ризиком поширення та занесення на нові території [3].

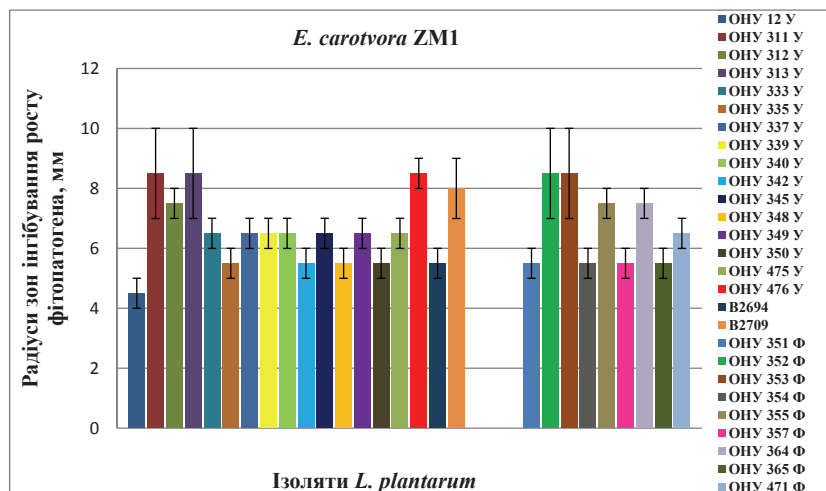


Рис. 6. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *E. carotovora* ZM1

Fig. 6. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against the phytopathogen *E. carotovora* ZM1

В нашому дослідженні проти штаму фітопатогена *R. solanacearum* B-1109 UCM найбільшу активність проявили ізоляти *L. plantarum* OHU311, OHU313 (Y), референс-штам B2709, та OHU352, OHU353, OHU364 (Ф) (рис. 7). Радіуси зон пригнічення склали 9–10 мм (рис. 7).

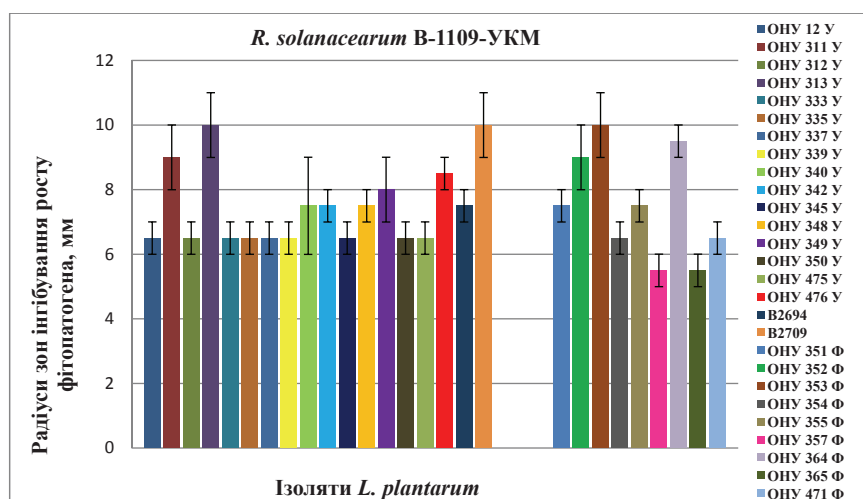


Fig. 7. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolates against the phytopathogen *R. solanacearum* B-1109-UCM

Решта ізолятів показали більш високе пригнічення порівняно з іншими індикаторами фітопатогенів, використаних в роботі, утворюючи зони інгібування *R. solanacearum* 5,5–8,5 мм. Два ізоляти *L. plantarum* OHU 357 та OHU365



були найменш активні проти даного індикатору, утворюючи зони пригнічення з радіусом 5,5 мм.

У більшості випадків ізоляти лактобацил з Франції продемонстрували більш високу антагоністичну активність, ніж ізоляти з України, проти фітопатогенів при дослідженні методом агарових лунок (табл. 1).

Таблиця 1

Частка (%) штамів *L. plantarum* з високою антагоністичною активністю проти фітопатогенів (метод агарових лунок)

Table 1

The number of *L. plantarum* isolates with high antagonistic activity against phytopathogens tested by agar well diffusion assay

Походження ізоляту	Кількість ізолятів	Частка штамів з високою антагоністичною активністю, %						
		C58	MR1	UA6	379	15834	ZM1	B1109УКМ
Україна	16	18,7	25,0	25,0	31,2	31,2	25,0	18,7
Франція	9	33,3	33,3	22,2	33,3	33,3	44,4	33,3

Примітка: C58 – *Rhizobium radiobacter* C58, MR1 – *Rhizobium radiobacter*, UA6 – *Rhizobium radiobacter*, 379 – *R. vitis*, 15834 – *R. rhizogenes*, ZM1 – *Erwinia carotovora*, B-1109-УКМ – *Ralstonia solanacearum*.

Найбільшу активність проти *R. radiobacter* C58 на експлантах моркви зі 100% інгібування фітопатогена проявили *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ311, ОНУ313, ОНУ337 (У) та ОНУ355, ОНУ356 (Ф) (рис. 8).

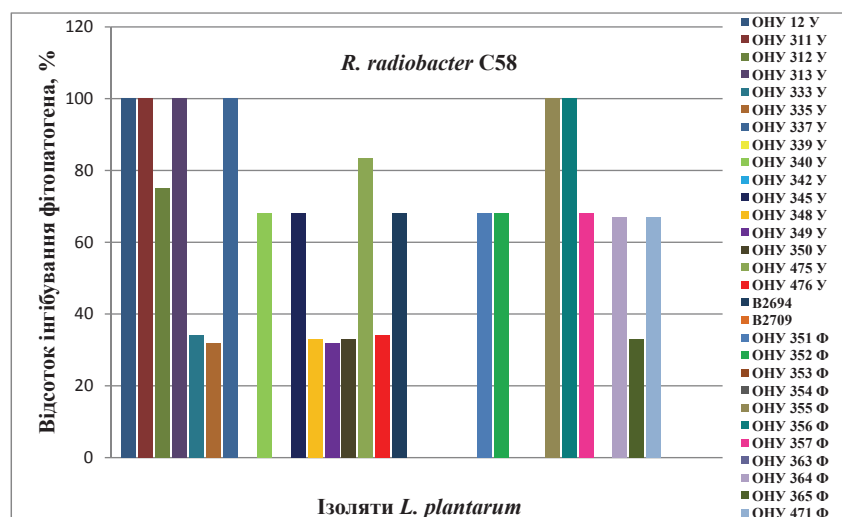


Рис. 8. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *R. radiobacter* C58 на експлантах моркви

Fig. 8. Antagonistic activity of isolates of *L. plantarum* against the phytopathogen *R. radiobacter* C58 on carrot explants

Ці дані узгоджуються з результатами *Limanska* та ін., 2015, згідно з якими МКБ зменшували кількість експлантів моркви з галами та інтенсивність проявів захворювання [5]. Результати високої антагоністичної активності на експлантах моркви ізолятів *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ311, ОНУ313 та ОНУ355 співпадають з високою активністю цих штамів, перевіреною методом агарових лунок. Ізоляти з високою антагоністичною активністю (100% пригнічення) склали 20,6% від загальної кількості перевірених штамів *L. plantarum*. Середню активність (від 67 до 83,5% пригнічення) продемонстрували 10 ізолятів (34,4%), тоді як низьке пригнічення фітопатогена (32–34%) було характерним для 7 (24,1%) ізолятів *L. plantarum*. Решта ізолятів лактобацил (20,6%) не виявили антагоністичної активності проти *R. radiobacter* C58 на експлантах моркви.

Проти *E. carotovora* ZM1 на експлантах моркви найвищу антагоністичну активність продемонстрували 11 ізолятів (37,9%) *L. plantarum*: ОНУ12, ОНУ312, ОНУ313, ОНУ333, ОНУ335, ОНУ337, ОНУ340, ОНУ349 (У), ОНУ356, ОНУ357, ОНУ365 (Ф) (рис. 9). Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* ОНУ312 та ОНУ313 узгоджується з результатами перевірки методом агарових лунок.

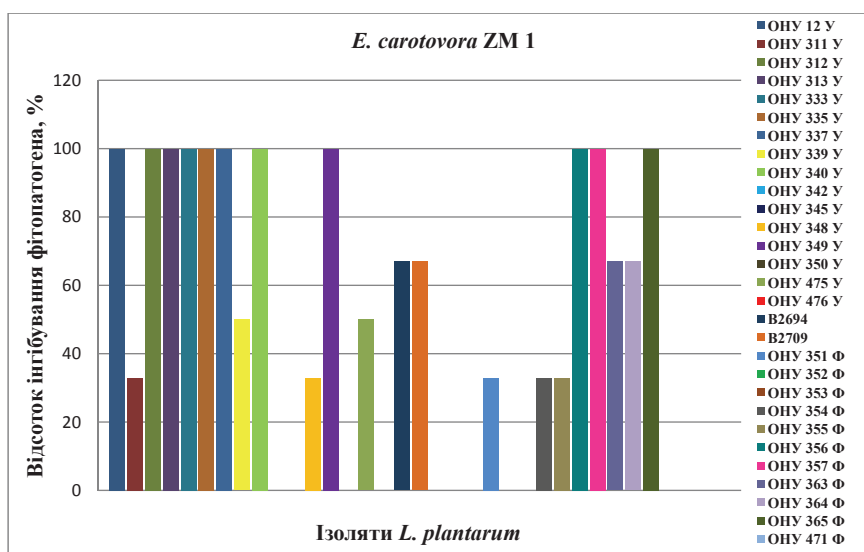


Рис. 9. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *E. carotovora* ZM1 на експлантах моркви

Fig. 9. Antagonistic activity of isolates of *L. plantarum* against the phytopathogen *E. carotovora* ZM1 on carrot explants

Серед решти використаних в роботі *L. plantarum*, 6 ізолятів (20,6%) показали середню активність проти цього фітопатогена (50–67% пригнічення).

Сумісне зараження рослин каланхое сумішню ізолятів *L. plantarum* з фітопатогеном *R. radiobacter* C58 показало значне пригнічення проявів симптомів захворювання (рис. 10). Симптомами захворювання корончатих галів, що ви-



кликається *R. radiobacter*, є утворення пухлин на стеблах та коренях інфікованих рослин, що призводить до дефіциту постачання поживних речовин та води [5]. Найбільшу активність проти цього фітопатогена виявили у ізолятів *L. plantarum* ОНУ12, ОНУ311, ОНУ313, ОНУ333, ОНУ335, ОНУ339 (У), В2694, В2709, ОНУ351, ОНУ354, ОНУ355, ОНУ357, ОНУ364, ОНУ365, ОНУ471 (Ф). Ці ізоляти повністю пригнічували фітопатоген та складали 51,7% від загальної кількості використаних в роботі *L. plantarum*.

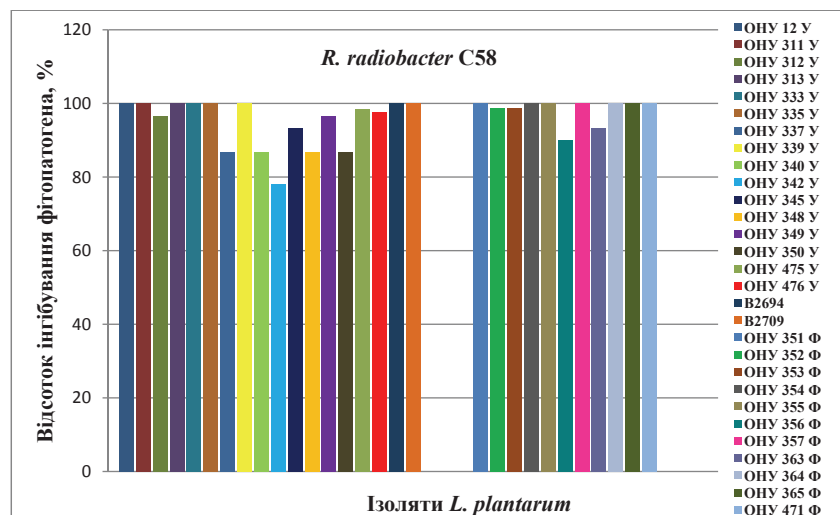


Рис. 10. Антагоністична активність ізолятів *L. plantarum* проти фітопатогена *R. radiobacter* C58 на моделі *K. daigremontiana* Mill

Fig. 10. Antagonistic activity of *L. plantarum* isolated against the phytopathogen *R. radiobacter* C58 on the model of *Kalanchoe daigremontiana* Mill

Висока антагоністична активність *L. plantarum* проти *R. radiobacter* C58 *in vivo* на каланхое узгоджується з результатами Limanska та ін., 2015. Решта ізолятів лактобацил в нашому дослідженні продемонстрували більш низький рівень пригнічення фітопатогена від 78% (*L. plantarum* ОНУ342) до 98,8% (*L. plantarum* ОНУ352, ОНУ353). Ці дані узгоджуються з результатами роботи Limanska та ін., 2014, де за одночасного введення культур лактобацил та їх метаболітів та інокуляції *K. daigremontiana* фітопатогеном *R. radiobacter* C58, утворення пухлин інгібувалося у більшості варіантів обробки [4]. При порівнянні антагоністичної активності та рН фільтратів ізолятів лактобацил не було виявлено певної залежності, що узгоджується з роботою Limanska та ін., 2015, в якій при однаковому рН різні штами також показали різні рівні пригнічення *in vivo* [5].

Загалом, ізоляти *L. plantarum*, виділені в Україні, показали більш високий антагонізм проти вибраних тест-штамів фітопатогенних бактерій на експлантах моркви (табл. 2). Так, 25% ізолятів з України повністю пригнічували *R. radiobacter* та 50% інгібували 100% *E. carotovora*, тоді як 18,1% та 27,2% ізолятів з такими властивостями зустрічались серед штамів, виділених у Франції.



Таблиця 2

**Частка штамів *L. plantarum*, що викликали
повне інгібування фітопатогенів на каланхое та на експлантах моркви**

Table 2

**The number of *L. plantarum* isolates caused
the complete inhibition of phytopathogens on kalanchoe and carrot explants**

Походження ізоляту	Кількість ізолятів	Частка штамів з високою антагоністичною активністю, %		
		на експлантах моркви		на каланхое
		C58	ZM1	C58
Україна	16	25,0	50,0	37,5
Франція	11	18,1	27,2	63,6

Примітка: C58 – *Rhizobium radiobacter* C58; ZM1 – *Erwinia carotovora*.

При перевірці антагонізму *in vivo* на каланхое, навпаки, більша кількість ізолятів із Франції (63,6%) проявили 100% пригнічення фітопатогена *R. radiobacter* порівняно з ізолятами з України (37,5%). Ці результати можуть вказувати на те, що рівень антагоністичної активності молочнокислих бактерій може залежати як від походження ізолятів, так і від використаної в роботі тест-системи для перевірки антагонізму.

Отже, усі досліджені штами *L. plantarum* проявили антагоністичну активність проти фітопатогенних бактерій при перевірці методом агарових лунок, але рівень антагонізму відрізнявся в залежності від ізоляту лактобацил, його походження, штаму фітопатогена та використаної в роботі тест-системи. За використання всіх тест-систем не спостерігали значної залежності між рН фільтратів та рівнем антагоністичної активності. Найбільш активними антагоністами у більшості використаних тест-систем були ізоляти *L. plantarum* ОНУ311, ОНУ313, ОНУ476, ОНУ312 і ОНУ12 з України та ОНУ352, ОНУ353 і ОНУ355 з Франції.

Планується проведення подальших досліджень для виявлення хімічної природи антагоністичних речовин та механізму пригнічення фітопатогенних бактерій найбільш активними штамами лактобацил.



А.Г. Мерлич, Н.В. Лиманская

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082,
Украина, тел.: (0482) 68 79 64; e-mail: andriymerlich@gmail.com

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ УКРАИНЫ И ФРАНЦИИ, ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Реферат

Цель. Исследование антагонистической активности изолятов *L. plantarum* из разных географических регионов против фитопатогенных бактерий и отбор наиболее активных изолятов для разработки биологических препаратов для защиты растений. *Методы.* Антагонистическая активность *L. plantarum* была исследована *in vitro* при помощи метода агаровых лунок и *in vivo* путем инокуляции эксплантов моркови и заражения растений каланхое. *Результаты.* Показана антагонистическая активность исследованных молочнокислых бактерий против фитопатогенов как *in vitro*, так и *in vivo*. Установлено, что в случае всех использованных тест-систем не наблюдалось значительной зависимости между pH культуральной жидкости и уровнем антагонистической активности. *Выводы.* Уровень антагонизма *L. plantarum* против фитопатогенов отличался в зависимости от изолята лактобацилл, его происхождения, штамма фитопатогена и использованной в работе тест-системы. Наиболее активными антагонистами в большинстве использованных тест-систем были изоляты *L. plantarum* ОНУ311, ОНУ313, ОНУ476, ОНУ312 и ОНУ12 из Украины и ОНУ352, ОНУ353 и ОНУ355 из Франции.

Ключевые слова: *Lactobacillus plantarum*, фитопатогенные бактерии, антагонистическая активность.

A.G. Merlich, N.V. Limanska

Odesa National Mechnykov University, 2, Dvorianska str., Odesa, 65082,
tel.: (0482) 68 79 64; e-mail: andriymerlich@gmail.com

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM*, ISOLATED FROM PLANT SOURCES OF UKRAINE AND FRANCE, AGAINST PHYTOPATHOGENIC BACTERIA

Summary

Aim. Study of antagonistic activity of *L. plantarum* isolates from different geographical regions against phytopathogenic bacteria and selection of the most active isolates for development of biological preparations for plant protection. **Methods.** Antagonistic activity of *L. plantarum* was studied *in vitro* by agar well diffusion assay, and *in vivo* by inoculation of carrot explants and infection of kalanchoe plants. **Results.** Antagonistic activity of the studied lactic acid bacteria against phytopathogens was found



both in vitro and in vivo. No relation was found in pH of cultural liquid and level of antagonistic activity in case of all test-systems. **Conclusion.** The level of antagonism of *L. plantarum* against phytopathogens varied depending on the isolate of lactobacilli, its origin, strain of phytopathogen and test-system. The most active antagonists in the majority of used test-systems were the isolates *L. plantarum* ONU311, ONU313, ONU476, ONU312 and ONU12 from Ukraine and ONU352, ONU353 and ONU355 from France.

Key words: *Lactobacillus plantarum*, phytopathogenic bacteria, antagonistic activity.

Список використаної літератури

Булеца Н.М., Буценко Л.М., Пасічник Л.А., Патики В.П. Чутливість фітопатогенних бактерій до стрептоміцину за дії пестицидів // Мікробіологічний журнал. – 2015. – т. 77, №6. – С. 62 – 69.

Василюк О.М., Коваленко Н.К., Гармашева І.Л. Антагоністичні властивості штамів *Lactobacillus plantarum*, ізольованих із традиційних ферментованих продуктів України // Мікробіологічний журнал. – 2014. – т. 76, №3. – С. 24–30.

Грицай Р.В., Броварська О.С., Житкевич Н.В., Варбанець Л.Д. Серологічна характеристика ліпополісахаридів *Ralstonia solanacearum* // Мікробіологічний журнал. – 2012. – т. 74, №5. – С. 16–21.

Limanska N.V., Korotaeva N.V., Yamborko G.V., Ivanytsia V.O. Effect of *Lactobacillus plantarum* on tumor formation caused by *Rhizobium radiobacter* // Microbiology and Biotechnology. – 2014. – №1. – P. 8–18.

Limanska N., Korotaeva N., Biscola V., Ivanytsia T., Merlich A., Franco B.D.G.M., Chobert J.M., Ivanytsia V., Haertle T. Study of the potential application of lactic acid bacteria in the control of infection caused by *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Pathology and Microbiology. – 2015. – Vol. 6, №8: doi: 10.4172/2157-7471.1000292

Mounesh N.V., Santhosh G.P., Mahadevaswamy and Vendan K.T. Antagonism of lactic acid bacteria against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from rhizosphere, plant and fruits of tomato // National seminar on Probiotics in Sustainable Food Production: Current Status and Future Prospects. – 2013. – P. 355–363.

Murthy K. N., Malini M., Savitha J. and Srinivas C. Lactic acid bacteria (LAB) as plant growth promoting bacteria (PGPB) for the control of wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* // Pest Management in Horticultural Ecosystems. – 2012. – №1, V. 18. – P. 60–65.

Sumathi V. and Reetha D. Screening of Lactic Acid Bacteria for their Antimicrobial Activity against Pathogenic Bacteria // International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. – 2012. – 3(4). – P. 802–808.

Trias R., Baneras L., Montesinos E., Badosa E. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi // International Microbiology. – 2008. – V. 11. – P. 231–236.

Visser R., Holzapfel W. H. Lactic Acid Bacteria in the Control of Plant Pathogens. The Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria in Health & Disease. – London and New York: Elsevier Applied Science, 1992. – Vol. 1. – 193–210 p.



Visser R., Holzapfel W. H., Bezuidenhout J. J., and Kotzé J. M. Antagonism of lactic acid bacteria against phytopathogenic bacteria // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1986. – V.52, №3. – P. 552–555.

References

Buleca NM, Bucenko LM, Pasichnyk LA, Patyka VP Sensitivity of phytopathogenic bacteria to streptomycin under the action of pesticides. *Journal of Microbiology*. 2015, 77, 6, 62 – 69 (In Ukrainian).

Vasyliuk OM, Kovalenko NK, Garmasheva IL Antagonistic properties of strains of *Lactobacillus plantarum*, isolated from traditional fermented products of Ukraine. *Journal of Microbiology*. 2014, 76, 3, 24 – 30 (In Ukrainian).

Grycai RV, Brovarska OS, Zhytkevych NV, Varbanets LD Serological characteristic of lipopolysaccharides of *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Microbiology*. 2012, 74, 5, 16 – 21 (In Ukrainian).

Limanska NV, Korotaeva NV, Yamborko GV, Ivanytsia VO Effect of *Lactobacillus plantarum* on tumor formation caused by *Rhizobium radiobacter*. *Microbiology and Biotechnology*. 2014, 1, 8 – 18.

Limanska N, Korotaeva N, Biscola V, Ivanytsia T, Merlich A, Franco BDGM, Chobert GM, Ivanytsia V, Haertlé T. Study of potential application of lactic acid bacteria in the control of infection caused by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Pathology & Microbiology*. 2015, 6, 8: doi: 10.4172/2157-7471.1000292.

Mounesh NV, Santhosh GP, Mahadevaswamy, Vendan KT Antagonism of lactic acid bacteria against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from rhizosphere, plant and fruits of tomato. *National seminar on Probiotics in Sustainable Food Production: Current Status and Future Prospects*. 2013, 355 – 363.

Murthy KN, Malini M, Savitha J, Srinivas C Lactic acid bacteria (LAB) as plant growth promoting bacteria (PGPB) for the control of wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *Pest Menagement in Horticultural Ecosystems*. 2012, 1, 18, 60 – 65.

Sumathi V, Reetha D Screening of Lactic Acid Bacteria for their Antimicrobial Activity against Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2012, 3(4), 802 – 808.

Trias R, Baneras L, Montesinos E, Badosa E Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology*. 2008, 11, 231 – 236.

Visser R, Holzapfel WH Lactic Acid Bacteria in the Control of Plant Pathogens. *Elsevier Applied Science*. 1992, 1, 193 – 210.

Visser R, Holzapfel WH, Bezuidenhout JJ, Kotzé JM Antagonism of lactic acid bacteria against phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 1986, 52, 3, 552 – 555.

Стаття надійшла до редакції 07.12.2016 р.

