

Мерліч Андрій

аспірант

Самойленко Ольга

студент

Ліманська Наталія

к.біол.н., доцент

Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова

м. Одеса

**ЗАСТОСУВАННЯ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ДЛЯ РОЗРОБКИ
ЕКОЛОГІЧНО-БЕЗПЕЧНИХ СПОСОБІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН ВІД
ФІТОПАТОГЕНУ *ERWINIA CAROTOVORA***

Біологічний контроль є кращим за обробку пестицидами за багатьох причин, зокрема, у випадку застосування пестицидів можливим є розвиток ятрогенних захворювань через зменшення природних антагоністів. Приклади спроб

використовувати бактерії, щоб контролювати бактеріальні захворювання рослин є не такими багаточисельними, як для контролю грибних захворювань [2]. Молочнокислі бактерії (МКБ) є загальнопризнаними безпечними мікроорганізмами (GRAS статус). МКБ продукують антимікробні сполуки, включаючи перекис водню, CO₂, діацетил, ацетальдегід, D-ізомери амінокислот, бактеріоцини [3]. Крім цього, з літературних даних відомо, що молочнокислі бактерії здатні стимулювати ріст рослин, збільшуючи вміст гумусу в ґрунті [1].

У зв'язку з вищесказаним, розробка екологічно-безпечних біопрепаратів для захисту рослин від фітопатогенів на основі молочнокислих бактерій є перспективним напрямком біотехнології, оскільки молочнокислі бактерії є не лише ефективними антагоністами фітопатогенних бактерій, а й сприяють кращому росту рослин.

Метою роботи було провести скринінг ізолятів молочнокислих бактерій на здатність інгібувати ріст фітопатогена *Erwinia carotovora* та вибрати найбільш ефективні ізоляти для використання в розробці біопрепарату для захисту рослин.

Для цього було досліджено 36 ізолятів молочнокислих бактерій, які включали ізоляти виду *Lactobacillus plantarum*, виділені з виноградного суслу, та інші види лактобацил з колекції культур мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ ім. І.І. Мечникова. Молочнокислі бактерії були протестовані на здатність інгібувати ріст фітопатогенної бактерії *Erwinia carotovora* orchid за допомогою методу агарових шарів (agar spot overlay method). Добові культури ізолятів молочнокислих бактерій, які були вирощені в рідкому середовищі MRS (MERCK) при температурі 30°C, наносили на чашки Петрі з 1,5% MRS агаром (MERCK) в об'ємі 2 μl. Після висихання добових культур чашки Петрі поміщали на 30°C. На другий день чашки з зонами росту молочнокислих бактерій заливали напіврідким 0,8% LB агаром, в який додавалася добова культура *Erwinia carotovora* orchid, вирощена в рідкому середовищі LB при температурі 27°C. Після застигання агару чашки Петрі поміщалися в термостат з температурою 27°C для інкубування фітопатогена. Після доби вирощування була відмічена наявність зон лізису або інгібування росту, діаметри яких були виміряні.

Для вивчення природи антагоністичних речовин застосовували метод агарових лунок. Для цього використовували надосадову рідину добових культур дослідних ізолятів лактобактерій, які вирощували добу в рідкому середовищі MRS (MERCK) при температурі 30°C. Одну частину надосадової рідини нейтралізували 1M розчином NaOH, а іншу залишали кислою. Далі надосадову рідину вносили в лунки, зроблені в 0,8 % LB агарі, в який перед розливанням в чашки Петрі була додана добова культура фітопатогена *Erwinia carotovora* orchid. Після цього чашки Петрі поміщали в термостат і інкубували при температурі 27° на протязі доби. На наступний день відмічали наявність зон лізису або інгібування росту в газоні фітопатогену навколо лунок, в які була додана надосадова рідина.

Серед протестованих ізолятів найбільші зони лізису або інгібування росту фітопатогену давали ізоляти «291» та «Cс1». Це говорить про те, що данні ізоляти характеризуються найбільшою антагоністичною активністю серед протестованих.

З 36 протестованих ізолятів за допомогою методу агарових лунок кисла надсадова рідина 13 ізолятів проявила яскраво виражену антагоністичну активність проти фітопатогена, 17 ізолятів проявили слабковиражену активність. Нейтралізована культуральна рідина інгібуючої активності не показала, що говорить про кислотну природу антагоністичних речовин, що виділяють протестовані молочнокислі бактерії в культуральну рідину.

Ізоляти, що проявили найбільшу антагоністичну активність, можуть розглядатися як перспективні для застосування в біотехнології для розробки екологічно-безпечних біопрепаратів для захисту рослин.

Автори висловлюють подяку к.б.н. Криловій К.Д. за люб'язно наданий штам *Erwinia carotovora* orchid.

Література

1. Higa T., Kinjo S. (1989) Effect of lactic acid fermentation bacteria on plant growth and soil humus formation. In: Proceedings of 1st International Conference on Kyusei Nature Farming, Khon Kaen, Thailand 1989: 140-147.
2. Visser R., Holzapfel W.H. Lactic Acid Bacteria in the Control of Plant Pathogens // The Lactic acid Bacteria. - : Elsevier Science Publishers, 1992, V. 1. - P. 193 – 194.
3. Yang E., Fan L., Jiang Y., Doucette C., Fillmore Sh. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts // AMB Express a SpringerOpen Journal. – 2012. – P. 1.