

**Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів
та дослідження біорізноманіття**

2. *Грищенко А. М.* Використання картопляної дієтичної харчової клітковини в хлібопечінні / А. М. Грищенко, І. В. Якимчук, Ю.С. Шевчук // Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті: 78-а наук. конф. молодих учених, аспірантів і студентів (2-3 квітня 2012 р.): матер. конф. — 2012. — С. 79—80.
3. *Гуменюк Г. Д.* Використання відходів промисловості і сільського господарства у тваринництві / Г. Д. Гуменюк. — Київ: Урожай, 1983. — 15 с.
4. *Пастух Г. С.* Одержання пектину із картоплі та дослідження його структури / Пастух Г. С., Грабовська О. В., Мірошник В. О. // Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету. Серія :Технічні науки. — 2013. — Вип. 12 (75). — С. 128—135.
5. *Пастух Г. С.* Перспективи використання картопляної мезги для виробництва продуктів оздоровчого призначення / Г. С. Пастух, О. В. Грабовська // Оздоровчі харчові продукти та дієтичні добавки : технологія, якість та безпека: тези Міжнар. наук.-практ. конф. — К.: НУХТ, 2014. — С. 78—79.

УДК 579.841.1:632.95.024

**МОРФОЛОГІЧНА ДИСОЦІАЦІЯ ФІТОПАТОГЕННИХ
БАКТЕРІЙ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* ЗА ДІЇ
ПЕСТИЦИДІВ**

Л. М. Буценко, Н. М. Булеца, Л. А. Пасічник

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного
НАН України

E-mail: imv_phyto@ukr.net

Вивчення впливу пестицидів на фітопатогенні бактерії в основному здійснюються задля пошуку препаратів для захисту рослин. Проте, на сьогодні обсяги застосування пестицидів

**Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів
та дослідження біорізноманіття**

настільки великі, що спричинюють значні екологічні зсуви та забруднення довкілля [5]. Фітопатогенні бактерії агрофітоценозів постійно перебувають під впливом хімічних речовин, що використовуються за інтенсивної технології вирощування сільськогосподарських культур [5]. Тому **метою роботи** було вивчення морфолого-фізіологічних змін клітин *Pseudomonas syringae* pv. *atofaciens* (збудника базального бактеріозу пшениці) за внесення пестицидів у поживне середовище.

Морфологічна дисоціація у бактерій є одним із проявів мінливості мікроорганізмів [2, 3]. Внаслідок морфологічної дисоціації бактерії, які утворюють на щільних середовищах гладкі блискучі колонії (вони позначаються як S-форма), починають утворювати мутантні складчасті матові колонії (R-форма) [3]. Необхідно зазначити, що при морфологічній дисоціації змінюються також фізіологічні, біохімічні та імунологічні властивості бактерій. Явище дисоціації сприяє гетерогенності бактеріальної популяції, підвищує її стійкість, розширює межі виживання виду [3]. Для фітопатогенних бактерій *P. syringae* характерна природна мінливість популяції з розщепленням на різні морфотипи, однак частота такої дисоціації невелика [2].

Об'єктом досліджень слугували штами *P. syringae* pv. *atofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 із колекції живих культур відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Досліджували вплив інсектицидів – Твікс, Альфа Супер та гербіциду Гранстар, що рекомендовані до використання на посівах пшениці в Україні [4]. Культивування бактерій здійснювали на картопляному бульйоні та картопляному агарі за температури 28°C. Морфолого-культуральні, біохімічні, серологічні властивості *P. syringae* pv. *atofaciens* визначали загальновідомими методами [1].

Інсектицидні препарати Альфа Супер та Твікс, що належать до класу піретроїдів, при додаванні до агаризованих поживних середовищ не впливають на ріст фітопатогенних бактерій. Гранстар також не мав значущого впливу на ріст *P. syringae* pv. *atofaciens*.

**Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів
та дослідження біорізноманіття**

Упродовж культивування ми спостерігали морфологічну дисоціацію колоній *P. syringae* pv. *atofaciens* з появою R-форм у варіантах із додаванням інсектицидів, в контролі і за внесення гербіциду Гранстар. Колонії *P. syringae* pv. *atofaciens* типової S-форми були гладкі, блискучі, прозорі, з припіднятим центром, а R-форми – шорсткі, матові, плоскі та більші за розмірами, з нерівними краями.

Частота спонтанної морфологічної дисоціації *P. syringae* pv. *atofaciens* не перевищувала 5×10^{-3} . У випадку культивування з пестицидами цей показник значно зростав за дії інсектицидів Твікс, Альфа Супер до 1×10^{-2} та до 1×10^{-1} під впливом гербіциду Гранстар.

Досліджені R-дисоціанти за фізіолого-біохімічними властивостями майже не відрізнялися від вихідної S-форми *P. syringae* pv. *atofaciens*. Вони були оксидазонегативними, використовували в якості єдиного джерела живлення глюкозу, фруктозу, арабінозу, інозит, дульцин і не споживали глюкозу анаеробно, лактозу і саліцин.

Всі R-дисоціанти *P. syringae* pv. *atofaciens* УКМ В-1011 взаємодіяли із штамоспецифічною антисироваткою в реакції мікроаглютинації на склі. Однак, у випадку R-форм індукованих пестицидами, аглютинація відбувалася лише із антисироваткою в розведенні 1:10, що може бути пов'язано зі змінами в структурі O-антигена.

Відмінності у морфології клітин S- та R-форм *P. syringae* pv. *atofaciens* УКМ В-1011 вдалося виявити методом електронної мікроскопії. Розміри клітин із типових S-колоній становили приблизно $2 \times 0,5$ мкм. Спостерігали однорідний зовнішній шар та чіткі межі поділу клітин, що свідчить про повноцінність поверхневих структур. Клітини з шорстких R-колоній реєстрували як поодинокі, так і в нероз'єднаних ланцюжках по 2-3 клітини. У індукованих інсектицидами Альфа Супер і Твікс R-форм спостерігали суцільні тяжі 10-14 нм завдовжки, які відповідали розміру 5-7 поодиноких клітин.

Після дії інсектицидів спостерігали порушення поділу і розходження бактеріальних клітин, що в свою чергу призводить

**Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів
та дослідження біорізноманіття**

до утворенню нетипових колоній. Важливим моментом є не типовість R-форми, що утруднює діагностику, адже шорсткі колонії з нерівномірним краєм часто не враховуються як *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Така форма колоній, можливо, пов'язана із тяжами нерозділених клітин, які не дозволяють формувати рівні симетричні колонії.

Для перевірки збереження вірулентних властивостей у R-форм *P. syringae* pv. *atrofaciens* встановлювали їх здатність індукувати реакцію надчутливості (РНЧ). Встановлено, що *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 з R-колоній спричинювали РНЧ на листях *Nicotiana tabacum*, так само як і типовий S-морфотип.

Для вивчення здатності R-форм *P. syringae* pv. *atrofaciens* виживати в навколишньому середовищі дослідили їхню здатність рости за високих і низьких температур та високої концентрації хлориду натрію. Встановлено, що R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 (спонтанна та індукована) краще ніж вихідна S-форма ростуть при температурі 40°C. Не було виявлено достовірної різниці у здатності S- та R-форм *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 рости при температурі 6°C та за концентрації NaCl 4%.

Успішна колонізація рослини є необхідною умовою для виживання фітопатогенних бактерій та визначає можливість індукції ними патологічного процесу. Утворення біоплівки розглядається як одна із стратегій колонізації рослин бактеріями *P. syringae* [6].

Встановлено, що спонтанна та індукована R- форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 краще формують біоплівку, порівняно з S-формою цього штаму. Так, маса біоплівки R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens*, індукованої Альфа Супер, була більш ніж у 2 рази, а спонтанної R-форми – більш ніж у 3 рази більшою порівняно з масою біоплівки, сформованою S-формою *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011.

Отже, синтетичні пестициди Альфа Супер, Твікс, Гранстар зумовлюють морфологічну дисоціацію *P. syringae* pv. *atrofaciens*, які є збудниками бактеріозів зернових культур. R-

**Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації організмів
та дослідження біорізноманіття**

форми *P. syringae* pv. *atropaciens* характеризуються підвищеною здатністю до формування біоплівки та активніше ростуть за температури 40°C за збереження вірулентності. Це може призводити до формування більш агресивних популяцій цього збудника в природі та розширює межі витривалості виду.

Література

1. *Діагностика* фітопатогенних бактерій. Методичні рекомендації / [В.П. Патики, Л.А. Пасічник, Л.А. Данкевич та ін.]; ред. В.П. Патики. — Київ, 2014. — 76 с.
2. *Естественная* изменчивость морфолого-биохимических и патогенных свойств коллекционных культур фитопатогенных бактерий / В.А. Мурас, Р.И. Гвоздяк, Н.В. Житкевич, А.Г. Азимцев // Микробиол. журнал. — 1983. — Т. 45, № 5. — С. 36—42.
3. *Милько Е.С.* Процесс диссоциации у бактерий: Учебное пособие / Е.С. Милько, И.Б. Котова, А.И. Нетрусов. — М.: МАКС Прес, — 2007. — 68 с.
4. *Перелік* пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. — К.: Юніверс Медіа, 2014. — 832 с.
5. *Specifics* of pesticides effects on the phytopathogenic bacteria / [V. Patyka, N. Buletsa, L. Pasichnyk et al.] // Ecol. Chem. Eng. S. — 2016. — Vol. 23, N 2. — P. 311—331.
6. *Ueda A.* Characterization of the ability to form biofilms by plant-associated *Pseudomonas* species / A. Ueda, H. Saneoka // Curr. Microbiol. — 2015. — Vol. 70, N 4. — P. 506—513.