

# АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ, ЩО ДОМІНУЮТЬ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ РИЗОСФЕРИ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ЩОДО ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРОМІЦЕТІВ

КІРОЯНЦ М.О.<sup>1</sup>, ПАТИКА Т.І.<sup>1</sup>, ПАТИКА М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: [midiya1993@gmail.com](mailto:midiya1993@gmail.com)

[patykatatyana@gmail.com](mailto:patykatatyana@gmail.com)

[npatyka@nubip.edu.ua](mailto:npatyka@nubip.edu.ua)

**Анотація.** Метою роботи було проведення досліджень щодо проявлення представниками бактеріального біому, що домінують у ризосфері ячменю ярого, антагоністичної активності щодо фітопатогенних мікроміцетів.

Для дослідження антагоністичних властивостей штамів бактерій, що домінують у ризосфері, використовувався стандартний дифузний метод подвійної культури в чашках Петрі. Рівень антагоністичної активності мікроорганізмів оцінювали за показником (%) пригнічення росту й розвитку мицелію мікроміцетів *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45, *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77.

У результаті проведених досліджень встановлено, що бактерії *Bacillus methylotrophicus* 10 мали інгібуючий ефект на *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 – 77,4 %, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 66,6 % та *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77 – 86,7 %, водночас бактерії *Phyllobacterium ifriqiyense* 1 проявляли активність щодо фітопатогенів на відповідно 45,1 %, 63,1 % та 65,0 %.

Отже, обидва штами ризосферних бактерій, що домінують, мають високу антагоністичну активність до фітопатогенних мікроміцетів, що дає підставу для подальшого їхнього вивчення.

**Ключові слова:** *Bacillus methylotrophicus* 10, *Phyllobacterium ifriqiyense* 1, антагоністичні властивості, фітопатогенні мікроміцети

## Вступ.

Природою закладені всі механізми управління найважливішими біосферними процесами: азотфіксація, антагонізм певних мікроорганізмів до патогенів, синтез мікрооргані-

мами біологічно активних речовин, спроможних суттєво впливати на фізіологічний стан рослин та їхній імунітет тощо (Андреюк, 1992). У кореневій зоні рослин із найбільшою активністю проявляються всі позитивні та негативні сторони міжмі-

кробної та рослинно-мікробної взаємодії (Кіроянц, 2020).

Під час вивчення особливостей формування мікробного комплексу чорнозему типового в агрофітоценозі ячменю ярого проведено порівняльну характеристику чисельності основних фізіологічних і таксономічних груп мікроорганізмів, проаналізовано якісний склад, структуру та різноманіття мікробного комплексу, що формується в онтогенезі ячменю ярого за різних систем землеробства (Новикова, 2011). За допомогою індексів біорізноманіття Шеннона та домінування Сімпсона в різні фази онтогенезу ячменю ярого проведений аналіз формування мікробіоти та виділені штами мікроорганізмів, що домінують у ризосфері ячменю ярого. Лабораторними молекулярно-біологічними методами ідентифіковано бактерії, що домінують – *Bacillus methylotrophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1 (zareєстровані в базі GenBank МК947056, МК947049 (Berg et al, 2016); <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/МК947056>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/МК947049>).

Ризосферні бактерії можуть проявляти високу антагоністичну активність відносно фітопатогенних мікроорганізмів за рахунок синтезу екзометаболітів різної хімічної природи, а також виступати як потенційні

елісатори, за допомогою яких можливо контролювати та знижувати рівень ураження фітопатогенами на стадіях онтогенезу рослин (Goudjal, 2016).

Дослідження властивостей високоактивних мікроорганізмів як потенційних біоагентів препаратів зокрема захисної дії для застосування в екологічно безпечних агротехнологіях є одним із пріоритетних завдань сучасної агроєкології.

**Метою роботи** було проведення досліджень щодо проявлення представниками бактеріального біому, що домінують у ризосфері ячменю ярого, антагоністичної активності щодо фітопатогенних мікроміцетів.

### Матеріали і методи.

У дослідженнях використано ідентифіковані та класифіковані штами мікроорганізмів, що домінують – *Bacillus methylotrophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1 (GenBank МК947056, МК947049). Штами фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45, *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch 18.77 (рис. 1), надані з колекції кафедри фітопатології ім. академіка В. Ф. Пересипкіна НУБІП України.

Антагоністичні властивості визначали дифузним методом подвійної культури в чашках Петрі на



Рис. 1. Фітопатогенні мікроміцети

**Примітка:** а) *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2; б) *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45; в) *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77.

глюкозо-пептонному агаризованому середовищі (ГПА-Звягінцева). У дослідженнях використано класичний метод блоків (Егоров, 2004) за участю доміантних ризосферних бактерій *Bacillus methylotrophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiyense* 1.

Під час дослідження ризосферних бактерій їх культивували впродовж доби за 28 °С для утворення й накопичення в агаризованому поживному середовищі біологічно-активних метаболітів. Пробопідготовку десятидобових тест-культур фітопатогенних мікроміцетів здійснено за умов інкубації блочним способом та температурним діапазоном від 24 до 28 °С.

Антагоністичну активність ризосферних прокариот оцінювали за ступенем інгібування росту та розвитку тестових мікроміцетів. Діаметр колонії вимірювали на 14 добу, визначали відсоток інгібування росту колоній грибів за формулою:

$$\begin{aligned} \text{Інгібування росту (\%)} &= \\ &= \frac{D_k - D_d}{D_k} \times 100 \% \end{aligned}$$

де:  $D_k$  – діаметр колонії гриба в мм у контролі,  $D_d$  – діаметр колонії гриба в мм у досліді.

Діаметр колонії вимірювали в радіально протилежних сторонах двічі, та розраховували середнє арифметичне значення.

Ступінь антагоністичної активності випробуваних штамів ризосферних бактерій, визначали відповідно до розміру зони пригнічення росту тест-штаму навколо агарового блоку. Зони затримки росту враховували через 3 і 10 діб культивування.

Статистичну обробку проводили за допомогою Microsoft Excel.

## Результати та їх обговорення.

Результати досліджень інгібуючої активності штамів бактерій щодо фітопатогенних мікроміцетів представлено в таблиці 1.

У результаті проведених досліджень встановлено, що бактерії *Bacillus methylotrophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiyense* 1 інгібували ріст фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 – 45,1 % і 77,4 % відповідно, тест-культури *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 63,1 % і 66,6 %, *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77 – 65,2 % і 86,7 %.

Проведені дослідження антагоністичної активності свідчать (рис. 2), що виділені ризосферні бактеріальні агенти *Bacillus methylotrophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiyense* 1 пригнічують ріст мікроміцетів, що є свідченням їхньої антифунгальної активності.

Бактерії *Phyllobacterium ifriqiyense* 1 більш швидко заселяють субстрат і відповідно використовують поживні ресурси, у той же час мікроміцети втрачають можливість росту та не мають можливості подальше заселяти субстрат, проявляється тенденція до загибелі. Отже, вочевидь, виявлена антагоністична активність пов'язана із конкуренцією. У природних умовах антагонізм такого типу частіше всього спостерігається в ґрунтового середовищі ризосфери рослин, де між мікроорганізмами відбувається конкуренція за джерела живлення (кореневі екsudати) (Гадзало, 2015).

Інтенсивність росту й розвитку бактерій, що домінують у ризосфері рослин ячменю ярого, навколо агарових блоків фітопатогенних мікроміцетів на 3 і на 10 добу досліді представлено в таблиці 2.

Табл. 1. Інгібуюча активність домінантних бактерій ризосфери ячменю ярого

<i>Bacillus methylo-trophicus</i> 10 Do 10 день (мм)	<i>Phyllobacterium ifriqiense</i> 1 Do 10 день (мм)	Фітопатогенні мікроміцети (контроль), Dk (мм)		Інгібуюча активність P (%)	
				<i>Bacillus methylo-trophicus</i> 10	<i>Phyllobacterium ifriqiense</i> 1
34±1,6	14 ±0,8	<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb. 23.2	62±3,8	45,1	77,4
21±2,4	19±1,3	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 3.45	57±4,5	63,1	66,6
29±1,4	11±1,9	<i>Nigrospora oryzae</i> (Berk. & Broome) Petch. 18.77	83±3,6	65,2	86,7

Примітка: Dk – діаметр колонії гриба в мм у контролі, Do – діаметр колонії гриба в мм у досліді, P – показник інгібування.

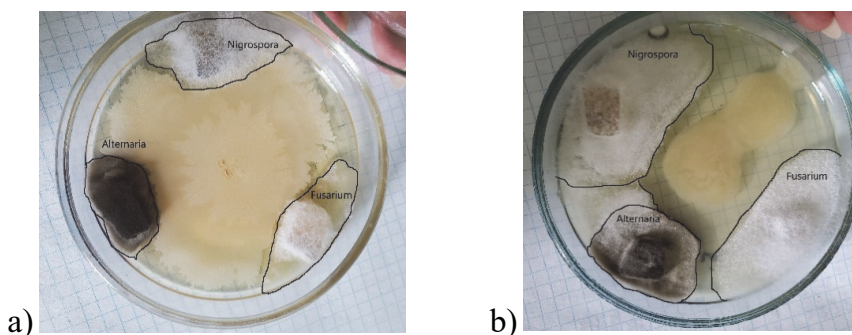


Fig. 2. Antagonistic activity of strains of rhizosphere dominant bacteria (tenth day).

Примітка: а) *Bacillus methylo-trophicus* 10; б) *Phyllobacterium ifriqiense* 1.

За отриманими результатами досліджень бактерії *Bacillus methylo-trophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1 на 3 добу досліді пригнічували ріст та розвиток фітопатогенних мікроміцетів, зокрема, зони затримки росту мікроміцетів були такі: *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2

– 3 і 9 мм відповідно, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 11 і 13 мм та *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77 – 5 і 11 мм відповідно. Та на 10 добу досліді бактерії *Bacillus methylo-trophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1 пригнічували ріст грибів *Fusarium sporotrichioides*

Табл. 2. Визначення зони затримки росту фітопатогенних мікроміцетів під впливом домінуючих бактерій на 3 і 10 день досліді.

Фітопатогенні мікроміцети (контроль, мм) 3 день (мм)	<i>Bacillus methylo-trophicus</i> 10		<i>Phyllobacterium ifriqiense</i> 1		
	3 день (мм)	10 день (мм)	3 день (мм)	10 день (мм)	
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb. 23.2	62 ± 1,4	3 ± 0,2	1 ± 0,1	9 ± 0,6	2 ± 0,1
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 3.45	57 ± 0,9	11 ± 0,6	3 ± 0,2	13 ± 0,8	5 ± 0,4
<i>Nigrospora oryzae</i> (Berk. & Broome) Petch. 18.77	83 ± 2,2	5 ± 0,4	2 ± 0,1	11 ± 0,7	7 ± 0,5

---

Sherb. 23.2 – 1 та 2 мм, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 3 і 5 мм та *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77 – 2 та 7 мм відповідно.

Отже, антагоністична активність досліджуваних штамів бактерій, що домінують у ризосфері ячменю ярого, проявлялась уже на третю добу досліду й підсилювала свій вплив на ріст і розвиток фітопатогенних мікроміцетів упродовж експерименту.

### Висновки

Досліджені ризосферні бактерії *Bacillus methylotrophicus* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1, мають антагоністичну активність щодо фітопатогенних мікроміцетів, а також проявляють інгібуючий вплив на ріст і розвиток фітопатогенних мікроміцетів, а отже, і можливість конкурувати з конкретними дослідженими фітопатогенами рослин.

Отже, подальші дослідження цих бактерій та пошук нових ефективних із поліфункціональною дією є перспективними для розробки біотехнологій їхнього застосування в якості препаративних форм для рослинництва (альтернативні екологічні технологічні засоби до хімічних із захисту рослин і застосування мінеральних добрив).

---

### References

1. Andreiuk, K. I., & Valahurova, E. V. (1992). Fundamentals of the ecology of soil microorganisms. Naukova dumka.
2. Artamonova, M. N., Alekseeva, A. S., & Potaturkina-Nesterova, N. I. (2013). Antagonistic activity of associative rhizobacteria. International Journal Of Experimental Education, 10, 276-279.
3. Dobrovolskaia, T. G. (2002). The structure of soil bacterial communities. M.: ICC Akademkniga.
4. Ehorov, N. S. (2004). Antibiotic Fundamentals. M.: Publishing house of Moscow State University.
5. Hadzalo, Y. M., Patyka, M. V., & Zvaryshniak, A. S. (2015). Agrobiology of the rhizosphere of plants. Agricultural science.
6. Kiroiants, M. O., Patyka M. V., & Patyka, T. I. (2020). Phylogenetic analysis of dominant microorganisms of the genera Bacillus and Phyllobacterium isolated from the rhizosphere of spring barley. Bulletin of Agricultural Science. 5, 48-53. doi.org/10.31073/agrovisnyk202005-06
7. Kriuchkova, L. O., Drahovoz, I. V., Lapa, S. V., & Avdieieva, L. V. (2012). Antagonistic activity of bacteria of the genus Bacillus against phytopathogenic micromycetes. Achievements and problems of genetics, selection and biotechnology. Kyiv. Logos. 4. 368-371.
8. Novykova, I. I., & Lytvynenko, A. I. (2011). Biological effectiveness of biological products based on antagonistic microbes against root rot of cucumber and strawberry wilt and their effect on the species composition of soil micromycetes. Plant Protection Bulletin. 2. 10-22.
9. Aeron, A., Pandey, P., & Kumar, S. (2011). Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria. Bacteria in Agrobiology: Cropcosystem. Maheshwari, Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, D.K.1-26.
10. doi: 10.1007/978-3-642-18357-7\_1
11. Berg, G., Rybakova, D., Grube, M., & Koberl, M. (2016). The plant microbiome explored: implications for experimental botany. J. Exp. Bot. 4. 995-1002.
12. doi: 10.1093/jxb/erv466.
13. Goudjal, Y. (2016). Potential of endophytic Streptomyces spp. for biocontrol of Fusarium root rot disease and growth promotion of tomato seedlings. Biocontrol Sci Technol. 12. 1691-1705.
14. Patyka, N.V., Tonkha, O.L., & Sinchenko, V.N. (2019). Features of the formation of the structural and functional composition of the microbiome of chernozem virgin in the steppe of Ukraine. Mikrobiolohichnyi Zhurnal. 4. 90-106.

**Kiroiants M.O., Patyka M.V., Patyka T.I. (2021). ANTAGONISTIC ACTIVITY OF DOMINANT STRAINS OF BACTERIA OF SPRING BARLEY RHIZOSPHERE AGAINST PHYTOPATHOGENIC MICROMYCETES. PLANT AND SOIL SCIENCE, 12(2): 54–59. <https://doi.org/10.31548/agr2021.02.054>**

**The purpose of the work.** The aim of the study was to conduct research on the manifestation of the dominant representatives of the bacterial biome of the rhizosphere of spring barley antagonistic activity against phytopathogenic micromycetes.

**Research methods.** The standard diffusion method of double culture in Petri dishes was used to study the antagonistic properties of the dominant strains of rhizosphere bacteria. The level of antagonistic activity of microorganisms was assessed by the indicator (%) of inhibition of growth and development of the mycelium of micromycetes *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45, *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77.

**Results and scope of their application.** Studies have shown that *Bacillus methylotrophicus* 10 had an inhibitory effect on *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 – 77,4%, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 66,6% and *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch. 18.77 – 86,7%, while the bacteria *Phyllobacterium ifriqiense* 1 showed activity against phytopathogens by 45,1%, 63,1% and 65,0%, respectively.

**Conclusions.** Thus, both strains of rhizosphere dominant bacteria have high antagonistic activity against phytopathogenic micromycetes, which gives grounds for their further study.

**Keywords:** *Bacillus methylotrophicus* 10, *Phyllobacterium ifriqiense* 1, antagonistic properties, phytopathogenic micromycetes

---