

ВЗАЄМОВІДНОШЕННЯ МІЖ ЗБУДНИКАМИ БАКТЕРІОЗІВ ТОМАТІВ

Встановлено, що in vitro переважна більшість штамів збудників бактеріозів томатів родів Xanthomonas, Clavibacter, Pseudomonas та Ralstonia взаємно толерантні. Цим можна пояснити наявність змішаних інфекцій у природі. Лише окремі штами можуть певним чином впливати на ріст інших.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень

Серед овочевих культур, які вирощуються в Україні, томати посідають чільне місце і заслуговують на особливу увагу. Завдяки широкому використанню сучасних тепличних технологій вирощування, вони забезпечують споживачів вітамінами та цінними мікроелементами протягом усього року. Проте отриманню високих та якісних врожаїв

томатів перешкоджають різні захворювання, в тому числі бактеріальні [1], серед яких найшкодочинніші: чорна бактеріальна плямистість, збудником якої є *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge 1920) Dye 1978, та бактеріальний рак – збудник *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis et al., 1984, які потребують пильної уваги, особливо у закритому ґрунті [4]. Серед інших збудників захворювань томатів відмічено широке розповсюдження *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe 1933) Young, Dye & Wilkie 1978, *P. corrugata* (Scarlett, Fletcher, Roberts & Lelliott 1978) Roberts & Scarlett 1981 [6], а в південних регіонах – *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi et al., 1995, який є небезпечним для багатьох культур, у т.ч. для картоплі [3].

При багаторічних аналізах тканин томатів з ознаками бактеріальних уражень нами було відмічено, що з одного ураження одночасно можуть бути ізольовані представники двох різних видів фітопатогенних бактерій. З попередніх досліджень відомо, що, зокрема, у патогенезі м'якої гнилі бульб картоплі можуть брати участь кілька видів фітопатогенів [2]. Тому **метою** наших досліджень було вивчення *in vitro* взаємовідношень між різними видами фітопатогенних бактерій – збудників бактеріальних захворювань томатів.

Матеріали і методи

У роботі використано 45 нових ізолятів і колекційних штамів, отриманих з колекції живих культур відділу фітопатогенних бактерій

Таблиця 1. Перелік штамів та їх походження

Вид	Штам	Походження штаму		
		місце виділення	рік виділення	рослина-хазяїн
<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	9	Україна, Київська обл.	1947	томати
	7598, 7604	Україна, Єленська дослідна станція	1954	''
	7736	Україна, Дорогобич	1954	''
	7742, 7743, 7768, 7790	Україна, Київська обл.	1954	''
	7766, 7798, 8250	Україна	*	''
	7861, 7862	Україна, Київська обл.	1955	''
<i>P. corrugata</i>	8506	Україна, Полтавська обл.	1957	''
	9069	Німеччина	*	*
	9070, 9071	Росія, Москва	*	томати
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	8290	Україна, Київська обл.	1987	''
	140R	Болгарія	*	''
<i>R. solanacearum</i>	9049	Нова Зеландія	1986	''
	9081	Перу	1974	картопля
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	10 ₂	Україна, Київська обл.	1958	томати
	13 _a	Україна, Черкаська обл.	1953	''
	14	Україна, Київська обл.	1953	''
	7741	Україна, Черкаська обл.	1954	''
	7744, 7748	Україна, Київська обл.	1954	''
	7905	Україна, Київська обл.	*	''
	7934	Україна	1956	''
	7960, 7961	Україна, Умань	1957	''
	8240	Україна	1960	''
	8504	Україна, Київ	1969	''
	Гл-3	Україна, Пуща-Водиця	2004	''
Херсон	Україна, Херсон	2004	''	
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	7749, 7750, 7751, 7752, 7753, 7754, 7755, 7756, 7757, 9065 ¹	Україна, Київська обл.	1954	картопля
	*	*	''	

Примітка: * – дані відсутні; ¹ – типовий штам

Інституту мікробіології і вірусології НАН України, а саме: 14 штамів *X. campestris* pv. *vesicatoria*, 3 штами *P. corrugata*, 2 штами *P. syringae* pv. *tomato*, 2 штами *R. solanacearum*, 14 штамів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* та 10 штамів *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* (табл. 1).

Взаємовідношення між різними видами фітопатогенних бактерій – збудників бактеріальних захворювань томатів і картоплі вивчали методом відстроченого антагонізму. В чашки Петрі на поверхню картопляного агару (КА) по діаметру петлею засівали бактеріальну масу однодобової основної культури.

Через 5–7 діб культивування у термостаті при температурі 28 °С, перпендикулярно до основної культури на відстані 1 мм підсівали тест-культуру, яку готували наступним чином: однодобову агарову (КА) культуру бактерій розводили стерильною водогінною водою до стандарту мутності з титром 10⁸ кл/мл. Облік результатів проводили через 1, 2, 3 доби, а в дослідах з *R. solanacearum* (у зв'язку з повільним ростом) ще й через 5 діб. При обліку враховували наявність пригнічення, затримки, стимуляції або відсутність росту тестової культури. Повторність дослідів п'ятикратна.

Результати досліджень

Вивчення взаємовідносин між патогенами томатів проводили як між штамми одного виду, так і між штамми, які належать до різних родів і видів. Усі штами були використані в перехресних реакціях “основна культура – тестова культура”.

З літератури [5] відомо, що *P. corrugata* виявляє антибактеріальну та антифунгальну активність *in vitro* і може використовуватися як агент біоконтролю. Зокрема, більшість ізолятів *P. corrugata* значно пригнічує ріст збудника кільцевої гнилі картоплі *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*, який належить до того ж виду, що і збудник бактеріального раку томатів – *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. У господарствах пасльонові культури картоплі і томатів часто передують одна одній або знаходяться поруч. У зв'язку з цим у деяких випадках ми підключили до досліджень штами *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*.

При взаємодії 14 штамів *X. campestris* pv. *vesicatoria* “сам на сам” у межах виду спостерігається пригнічення тест-культури 7736 на відстані 14 мм від краю основної культури штаму 8506. У той же час основна культура 7736 проявляє бактеріостатичну дію з зоною 10 мм відносно тест-культури 7743. Відмічено слабкий ріст тест-культури 7598 до основної культури 7736 та 7798 – до 8506. Цікавим є факт стимуляції росту тестової культури *X. campestris* pv. *vesicatoria* 9 штамом 7742. В інших випадках відмічено нормальний ріст тестових культур незалежно від штамів основних культур.

Таблиця 2. Взаємовідношення між досліджуваними штамми патогенів

Основна культура (вид, кількість штамів)	Тестова культура							
	вид	всього штамів	у т.ч. проявили дію				відсут- ність росту	
			стиму- ляція росту	затримка росту				
			0	1-6 мм	7-10 мм	>10 мм		
<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> , 14 штамів	<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	14	1	11	0	1	1	0
	<i>P. corrugata</i>	3	0	3	0	0	0	0
	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>R. solanacearum</i>	2	0	1	0	0	0	1
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	14	0	14	0	0	0	0
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> , 14 штамів	<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	14	0	13	1	0	0	0
	<i>P. corrugata</i>	3	0	3	0	0	0	0
	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>R. solanacearum</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	14	1	12	0	1	0	0
<i>P. corrugata</i> , 3 штамми	<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	14	0	14	0	0	0	0
	<i>P. corrugata</i>	3	0	3	0	0	0	0
	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>R. solanacearum</i>	2	0	1	0	0	0	1
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	14	1	13	0	0	0	0
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	10	0	10	0	0	0	0
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> , 2 штамми	<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	14	0	14	0	0	0	0
	<i>P. corrugata</i>	3	0	3	0	0	0	0
	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>R. solanacearum</i>	2	0	1	0	0	0	1
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	14	0	14	0	0	0	0
<i>R. solanacearum</i> , 2 штамми	<i>X. campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	14	0	14	0	0	0	0
	<i>P. corrugata</i>	3	0	3	0	0	0	0
	<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>R. solanacearum</i>	2	0	2	0	0	0	0
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	14	0	14	0	0	0	0

Всього поставлено 1255 варіантів реакцій (табл. 2).

Встановлено, що жоден із 14 штамів *X. campestris* pv. *vesicatoria* не пригнічує, не затримує і не стимулює ріст тест-культур *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato* та *P. corrugata*.

Тільки один із 14 штамів *X. campestris* pv. *vesicatoria* 7604 повністю пригнічує ріст штаму *R. solanacearum* 9049, тоді як усі інші штамми не впливають на ріст тест-культур *R. solanacearum* 9049 і 9081.

Серед досліджених 14 штамів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* по відношенню до тест-культур цього ж виду лише один штам 7961 виявляє антагоністичну дію щодо тест-культури *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂. Зона затримки росту складає 8 мм. Антагоністичну дію

виявляє також штам *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 7741 стосовно тест-культури *X. campestris* pv. *vesicatoria* 7766 (зона затримки росту – 6 мм). Разом з тим жоден із штамів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* не спричиняє ніякої дії відносно всіх досліджуваних штамів, які належать до видів *P. syringae* pv. *tomato*, *P. corrugata* та *R. solanacearum*.

Стосовно штамів бактерій роду *Pseudomonas*, слід відмітити, що з трьох досліджених штамів *P. corrugata* штам 9070 стимулює ріст одного штаму *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 7748, а штам 9071 трохи пригнічує ріст *X. campestris* pv. *vesicatoria* 7861. Антагонізм проявив один штам *P. corrugata* 9069 щодо тест-культури штаму *R. solanacearum* 9049.

Хоча з літератури [5] відома антагоністична дія *P. corrugata* на збудника кільцевої гнилі картоплі, досліджені нами три штами не пригнічують росту жодного з десяти штамів *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Відсутність антагоністичної активності може бути наслідком тривалого зберігання культур у колекції на штучних поживних середовищах, хоча і серед нових ізолятів *P. corrugata* також зустрічаються неактивні штами.

Бактерії виду *P. syringae* pv. *tomato* не впливають на ріст тест-культур усіх штамів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *X. campestris* pv. *vesicatoria*, *P. corrugata* та власне *P. syringae* pv. *tomato*. З двох досліджених штамів *R. solanacearum* один 9049 виявився чутливим до основної культури *P. syringae* pv. *tomato* 140R.

Найчутливішим до антагоністичної дії інших видів бактерій виявився штам *R. solanacearum* 9049, це може бути результатом впливу антагоніста та слабого росту культури на картопляному агарі.

Висновки і перспективи подальших досліджень

Отже, одержані *in vitro* дані свідчать, що переважна більшість штамів збудників бактеріозів томатів родів *Xanthomonas*, *Clavibacter*, *Pseudomonas* та *Ralstonia* взаємно толерантні, тобто їхні взаємовідносини носять характер нейтралізму. Лише окремі штами можуть впливати певним чином на ріст інших.

Нами не виявлено жодного штаму, який би пригнічував або стимулював ріст більше ніж одного штаму досліджуваних тест-культур того ж або іншого виду фітопатогенів. Відповідно, жоден штам тест-культур не реагував яким-небудь чином на всі штами основної культури певного виду збудників бактеріозів.

Разом з тим, із 1255 варіантів поставлених дослідів з вивчення взаємовідносин між патогенами томатів виявлено лише сім антагоністичних різного ступеню та три – стимулюючих ріст. Це вказує на те, що штами вивчених патогенів гетерогенні за цією ознакою, яка може проявитися у природі.

Саме взаємною толерантністю різних штамів і видів збудників бактеріозів можна пояснити наявність змішаних інфекцій, найбільш поширених у природі і найменш вивчених на сьогодні.

У подальшому необхідно вивчити взаємовідношення між фітопатогенними грибами, бактеріями і вірусами *in vitro* та *in vivo*.

Література

1. Корганова Н.Н. Чем болеют пасленовые культуры // Картофель и овощи. – 1994. – № 3. – С. 18–21.
2. Положенець В.М., Немерицька Л.В., Тимошук О.А. Взаємовідносини збудників бактеріальних хвороб родів *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, які викликають змішані гнилі бульб картоплі // X з'їзд Товариства мікробіологів України: Тези доповідей. 15-17 вересня 2004 р., Одеса. – Одеса: Астропринт, 2004. – 408 с.
3. Сударикова С.В., Шнейдер Е.Ю. Бурая гниль картофеля // Защита и карантин растений. – 2000. – № 12. – С. 28–29.
4. Golenia A. Bakteryjny rak pomidora – poważna choroba upraw szklarniowych // Ochr. rośl. – 1989. – 33, N 12. – P. 3–4.
5. Schroeder K.L., Chun W. Suppression of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato plants by using *Pseudomonas corrugata* // Phytopathology. – 1995. – 85, N 10. – P. 1147.
6. Weht S., Weht C., Brandan de U.E.L. Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata* (Roberts & Scarlett): symptomatological description, transmission, suitable conditions and control // Commun. boil. – 1992. – 10, N 4. – P. 355.