

Пагони-регенеранти, що досягали довжини 1-1,5 см відокремлювали від материнської рослини і пересаджували на живильне середовище з різним вмістом ауксинів для індукції ризогенезу. Експериментальні роботи у даному напрямку продовжуються.

Висновки

1. Для руйнування твердої оболонки та для підвищення схожості насіння *Sophora japonica* L. необхідно проводити попередню обробку концентрованою сірчаною кислотою впродовж 15 хв.
2. При введенні у культуру насіння *Sophora japonica* L. найбільш ефективною виявилось оброблення, за такою схемою: етанол (3 хв.) → HgCl_2 (15 хв.).
3. Найбільший коефіцієнт розмноження спостерігали при поєднанні БАП 1,5 мг/л + ІОК 0,5 мг/л.

Література

1. Лаврентьєва А.М. Використання біотехнологічних методів розмноження декоративних інтродуцентів// Вісник Львівського ун-ту. – Львів: ЛНУ ім. Івана Франка. – 2003, вип. 36. – С. 137-145.
2. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – К.: Наук. думка, 1980. – 487 с.
3. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин. – К.: Поліграф Консалтинг, 2003. – 520 с.
4. Колесников А.И. Декоративная дендрология. – М.: Лесн. пром-сть, 1974. – С. 361-362.
5. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. – Л.: Наука, 1985. – 348 с.
6. Биотехнология растений: культура клеток/ Пер. с англ. В. И. Негурка; С предисл. Р.Р. Бутенко. – М.: Агропромиздат, 1989. – 280 с.

УДК 631*114:633.877 Аспір. В.В. Розенфельд – Національний АУ, м. Київ

ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ НАСІННЯ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ НА ЙОГО СХОЖІСТЬ І ЕНЕРГІЮ ПРОРОСТАННЯ

Наведено експериментальні дані про вплив бактеріальної мікрофлори насіння сосни звичайної на його схожість та енергію проростання. Встановлено негативний вплив ендofітних бактерій на сходи. Показано, що ендofітні бактерії проявляють більш чіткі антифунгіцидні властивості порівняно з епіфітними бактеріями насіння сосни.

Ключові слова: насіння сосни звичайної, схожість, енергія проростання, бактеріальна мікрофлора, антифунгіцидні властивості.

Doctorate V.V. Rosenfeld – National agriculture University

Influence of bacterial microflora of seeds of the ordinal pine and on the germination and energy of growing

The experience data about the influence of bacterial microflora of the ordinary pine seeds on germination and energy of growing has been shown in the article.

The negative influence of endophytic bacteria on the germination has been determined in the article. The fact that endophytic bacteria show more distinct antifungid properties in comparison with epiphytic bacteria of pine seeds has been explained in the article.

Keywords: seeds of the ordinal pine, germination, energy of growing, bacterial microflora, antifungicid properties.

Постановка проблеми. Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.), як і переважна більшість решти хвойних порід, відновлюється виключно насіннєвим шляхом. Тому якість насіння визначально впливає у кінцевому результаті на формування біологічно стійких і високопродуктивних насаджень цієї цінної деревної лісотвірної породи. Відомо, що насіння є резерватом інфекції, яка здатна акумулюватись у сіянцях, а у подальшому – й у дорослих рослинах. Стосовно сосни є різні точки зору щодо акумуляції патогенних мікроорганізмів в її насінні. М.Ю. Нечаєва [8], виконуючи експериментальну роботу по бактеріальних хворобах сіянців сосни звичайної, відзначає про відсутність ендofітних патогенних бактерій у насінні сосни. Більшість авторів [2, 4, 9, 10] вважають, що фітопатогенні мікроорганізми, у тому числі і бактерії, розміщуються як на поверхні, так і у самому насінні. Всупереч думці, що тканини рослин можуть бути інфікованими тільки патогенними мікроорганізмами [7], численні дослідники виявили мікроорганізми, які здатні персистувати тривалий час у тканинах рослин, не викликаючи патологічних явищ [12, 14, 15]. Необхідно зауважити, що незважаючи на масове всихання соснових насаджень різних вікових груп, і сьогодні практично не вивчена мікрофлора, особливо бактеріальна, сосни звичайної, у тому числі і насіння. Окремі публікації по епіфітній мікрофлорі насіння ми знайшли для сибірського регіону та деяких країн дальнього зарубіжжя [9, 10, 13, 15]. В Україні подібні дослідження не проводились.

Мета наших досліджень полягала у вивченні впливу мікрофлори насіння сосни звичайної на схожість і енергію проростання за різних умов його пророщування.

Об'єкти, матеріали і методи досліджень. Для мікробіологічних досліджень ми використали насіння сосни звичайної з Бориспільського, Боярського, Вище-Дубечанського, Димерського, Іванівського, Клавдієвського, Макарівського, Тетерівського і Фастівського держлісгоспів, а також з Української лісонасінневої станції "Укрдержліснасіння" (м. Боярка Київської області). Загалом проаналізовано 205 зразків із 97 партій насіння сосни звичайної. Експериментальна частина роботи виконана у відділі фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Схожість та енергію проростання насіння сосни звичайної визначали за загальноприйнятими методами [1, 5, 6]. Для вивчення ендofітної мікрофлори поверхню насіння стерилізували за методом Р.І. Гвоздяка і ін. [2], за яким брали по 10 насінин сосни звичайної, послідовно промивали стерильною водою (10 хв.), витримували у 70 % – етанолі (5 хв.), у 16,5 % перекисі водню (20 хв.), змочували у 96 % – етанолі і миттєво обпалювали, а після цього розкладали на пластинки картопляного агару (КА). Цей метод дає змогу звільнити насіння від епіфітної мікрофлори. У разі утворення ексудату його відсівали на живильне середовище з метою отримання у подальшому чистої культури мікроорганізмів.

Результати та їх обговорення. Отримане для мікробіологічного аналізу насіння сосни звичайної мало різну енергію проростання та схожість. Залежно від партії енергія проростання була від 10 до 28 %, схожість – від

72 до 98 %. Не завжди за енергією проростання можна визначити схожість насіння. У партіях насіння №№ 264 і 315 енергія проростання і схожість були найнижчими – 10 та 14 % і 72 та 74 % відповідно. Водночас енергія проростання партії №№ 317 та 67 була низькою (16 та 18 %), а схожість – високою (94 та 98 %) (табл. 1).

Табл. 1. Енергія проростання та схожість насіння сосни звичайної

Насіння	№ партії					
	67	153	248	264	315	317
Енергія проростання, %	18	28	22	10	14	16
Схожість, %	98	86	80	72	74	94

Незалежно від енергії проростання та схожості ми дуже рідко виявляли насіння, покриті міцелієм мікроміцетів чи з ознаками бактеріального ураження – гниль, слизистий ексудат тощо. Тому наступним етапом нашої роботи було з'ясувати колонізацію мікроорганізмами зовнішньої та внутрішньої (під насінневою шкіркою (спородермою)) поверхні насіння сосни звичайної.

Насіння, промите послідовно водопровідною та стерильною водою і розкладене на поверхню КА, обросло бактеріальною масою в усіх трьох повторностях. Тільки навколо трьох насінин не виявлено бактеріальної маси. Але навіть така невелика кількість насіння, яка не була спеціально простерилізована, виявилась на поверхні стерильною, вказує на слабе прикріплення мікроорганізмів до поверхні насіння, тому вони легко змиваються водою.

Дещо несподівано високий відсоток нестерильного насіння виявлено після зовнішньої стерилізації. Залежно від партії відсоток нестерильного облушеного насіння був від 35 до 91 %. Найменш піддалось стерилізації насіння партії №67, в якій 91,4 % насінин були нестерильними. Насіння цієї партії мало найвищу схожість – 98 %. Дещо меншу схожість мало насіння партії №317 (94 %), хоча нестерильного насіння тут було значно менше – 68,6 %. Найменшу кількість нестерильного простерилізованого насіння було виявлено у партії № 264, яке мало найнижчу (72 %) схожість. Однак чітку залежність між схожістю насіння та його поверхневою стерильністю встановити важко. Враховуючи жорсткі умови стерилізації насіння, появу росту бактерій навколо нього на КА ми пояснюємо наявністю мікроорганізмів під спородермою. Вона може бути пошкоджена при збиранні, стратифікації, можливо по своїй природі являється пористою чи несучільною, через що мікроорганізми у вологій камері проникають з-під спородерми на КА і ростуть навколо насіння. Тобто походження мікроорганізмів, які вирости на КА навколо простерилізованого насіння, вважаємо внутріклітинними.

Під спородермою насіння, простерилізованого етанолом та пергідролем ззовні, бактерії виявлені майже в усіх випадках. Тільки одне насіння партії №264 не обросло бактеріями на КА. Можливо, його спородерма була настільки пошкоджена, що H_2O_2 простерилізував його і зсередини (табл. 2).

Ріст бактерій на КА навколо насіння різних партій був однаковий. Поряд з тим, ріст бактерій навколо насіння різних варіантів досліду відрізнявся між собою. Якщо тип обростання насіння бактеріями після злущення та обробки H_2O_2 був майже однаковий, то він відрізнявся від типу обростання на-

сіння бактеріальною масою після обмивання водою. Вже на другий день інкубації навколо обмитого водою насіння виросла сіро-біла маса бактерій шириною до 2 мм, по краю напівпрозора, ближче до насіння – не прозора, часом з дуже слабкою флюорисценцією, що вказує на наявність бактерій родів *Pseudomonas* та *Bacillus*. За цей час простерилізоване насіння обростало бактеріальною масою невеликою непрозорою смужкою спороносних бактерій (рис. 1). Можливо, початковий ріст бактерій у варіанті досліду з простерилізованим насінням затримували продукти реакції H_2O_2 з бактеріями.

Табл. 2. Колонізація бактеріями насіння сосни звичайної

Оброблене насіння	Колонізація бактеріями насіння різних партій, %						
	67	153	248	264	315	317	У середньому з усіх партій
Водопровідною водою + стерильною водою	97,1	100	100	98,6	100	100	99,3
Простерилізоване насіння	91,4	42,9	88,6	35,2	64,3	68,6	65,2
Злучене насіння після стерилізації	100	100	100	98,6	100	100	99,8

Інкубацію насіння на КА приводили з метою виявлення бактерій. Ріст грибів практично був відсутній навіть на 15 день росту проростків. Тільки на поодиноких насінинах з'являвся дуже слабкий ріст мікроміцетів. Розповсюдження його по чашці було в основному поверхневим, що вказує на антагонізм бактерій до грибів. Бактерії під спородермою проявляють більш чіткі антифунгіцидні (рис. 1-2) властивості порівняно з тими, що населяють поверхню насіння (рис. 1-1).

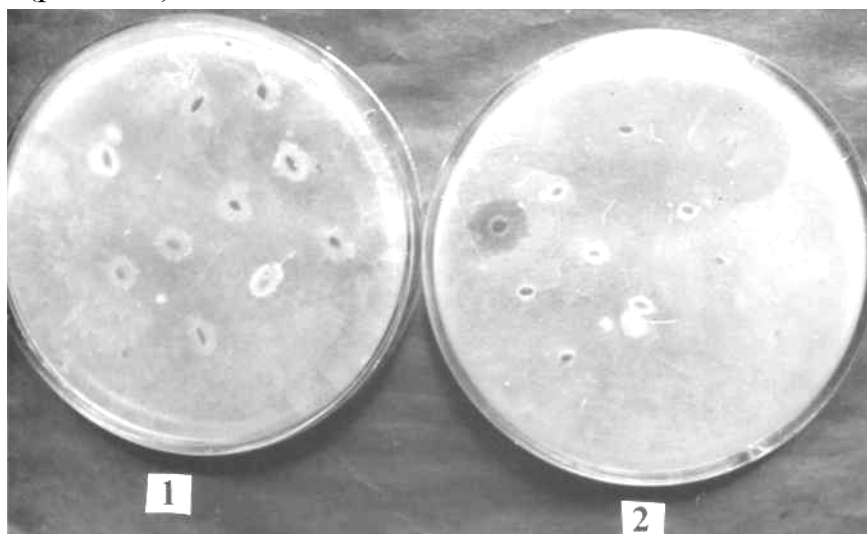


Рис. 1. Обростання насіння сосни звичайної бактеріями на картопляному агарі:
1 – нативне насіння, обмите водою; 2 – злучене насіння

Токсичність бактерій проявляється не тільки до мікроміцетів, але й стосовно до проростаючого насіння. На КА у проростаючого насіння засихають кінчики проростків. Деякі з них (5-10 %) виростають до невеликих розмірів (7-8 мм), покриваються коричневими поздовжніми смужками, кінчик на 1-2 мм некротизується, ріст припиняється. Такого перебігу проростання насіння на фільтрувальному папері з ватною підстилкою ми не спостерігали. Але на фільтрувальному папері не розвивались бактерії та мікроміцети. За нормальних умов росту як на насінні, так і на проростках розвиток мікробіоти

повністю контролюється рослиною. При проростанні насіння на КА бактерії виходять із-під контролю рослини, мають змогу швидко розмножуватись і своїми продуктами життєдіяльності впливають на проростання рослин. Тобто у системі насіння – бактерії – КА регулююча, домінуюча функція переходить до бактерій, тоді як у системі насіння – мікроорганізми – фільтрувальний папір (грунт, пісок) увесь біоценоз підпорядкований рослині.

Висновок. Енергія проростання і схожість насіння сосни звичайної різна у різних партій насіння. Не завжди висока чи низька енергія проростання обумовлює високу чи низьку схожість відповідно. При пророщуванні насіння на фільтрувальному папері практично не виявляються гриби чи бактерії. Проросле насіння на картопляному агарі та інтенсивний ріст бактерій повністю подавляє проростання (схожість) насіння. Насіння сосни звичайної на поверхні та під спородермою інтенсивно колонізоване бактеріями, які різняться між собою за морфологією росту.

У цій роботі вивчено роль бактерій у проростанні насіння та росту проростків сосни звичайної. Виникає необхідність вивчення мікроміцетів у цьому процесі.

Література

1. Бровко Ф.М. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з "Лісонасінневої справи". – К.: НАУ, 2001. – 55 с.
2. Гвоздяк Р.И., Яковлева Л.М. Бактериальные болезни лесных древесных пород. – К.: Наук. думка, 1979. – 244 с.
3. Гвоздяк Р.И., Кабашна Л.В., Пасічник Л.А., Макарчук Є.А. Ендофітна мікрофлора зерна пшениці та її взаємодія з фітопатогенними бактеріями// Доп. НАН України. – 2001, № 1. – С. 173-177.
4. Гойчук А.Ф., Гордієнко М.І., Гордієнко Н.М., Макарчук Я.І., Гойчук Д.А. Патологія дібров. – К.: 2004. – 470 с.
5. ГОСТ 13056.6-68. Семена древесных и кустарниковых пород. Методы определения доброкачественности. – М., 1968. – 14 с.
6. ГОСТ 13056.7-68. Методы определения жизнеспособности. Семена древесных и кустарниковых пород. – М., 1968. – 19 с.
7. Красильников Н.А. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. – М.: Изд. МГУ, 1966. – 216 с.
8. Нечаева М.Ю. Бактериоз сеянцев сосны обыкновенной в питомниках Среднего Поволжья и меры борьбы с болезнью: Автореф дис. ... канд. биол. наук. – Свердловск, 1989. – 18 с.
9. Рыбалко Т.М., Гукасян А.Б. Бактериозы хвойных Сибири. – Новосибирск: Наука, 1986. – 80 с.
10. Щербин-Парфененко А.Л. Бактериальные заболевания лесных пород. – М.: Гослесбуиздат, 1963. – 147 с.
11. Austin B., Alien D.A., Zachary A. et al. Ecology and taxonomy of bacteria attaching to wood surfaces in a tropical harbor// Can.J. Microbiol. – 1979. – 25, № 4/ – P. 447-461.
12. Holl F.B., Chanway C.P. Rhizosphere colonization and seedling growth promotion of lodgepole pine by *B. polymyxa*// Can.J. Microbiol. – 1992. – 38, № 4. – P. 303-308.
13. Phae C.G., Shoda M., Kubota H. Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing – phytopathogenic microorganisms// Soil.Sci.Plant Nutr. – 1990. – 36. – P. 575-586.
14. Petrini O. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues// Microbiology of the Phyllosphere. – London: Cambridge University Press, 1986. – P. 175-187.
15. Reddy P.V., Ladha J.K., So R., Hernandez R., Dazzo F.B., Angeles O.R., Ramos M.C., de Bruijn F.J. Rhizobial communication with rice roots: induction of phenotypic changes, mode of invasion and extent of colonization// Plant and Soil. – 1997. – 194. – P. 81-98.