

Література

1. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения / Р.Г. Бутенко // Культура клеток растений и биотехнология. – М. : Изд-во "Наука", 1986. – С. 3-20.
2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко. – М. : Изд-во "Наука", 1964. – 272 с.
3. Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение растений / В.А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология. – М. : Изд-во "Наука", 1986. – С. 91-102.
4. Гречаник Р.М. Мікроклональне розмноження бука лісового / Гречаник Р.М., Базюк О.Ф., Каганяк Ю.Й., Гриник Г.Г. // Науковий вісник УкрДЛТУ : Лісівницькі дослідження в Україні. – Львів : УкрДЛТУ. – 2000. – Вип. 10.4. – С. 137-142.
5. Гречаник Р.М. Підбір експлантатів бука лісового (*Fagus sylvatica* L.) та режиму їх стерилізації у мікроклональному розмноженні : матер. Міжнар. наук.-техн. конф. / Р.М. Гречаник, Г.Г. Баранецький, О.Ф. Базюк. – Львів : УкрДЛТУ. – 2001. – С. 195-197.
6. Гузь М.М. Сучасний стан генофонду бука лісового (*Fagus sylvatica* L.) на Львівщині / М.М. Гузь, Р.М. Гречаник, М.М. Лісовий // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів : РВВ НЛТУ України. – 2009. – Вип. 19.7. – С. 44-51.
7. Гузь М.М. Використання поліморфізму бука лісового в зеленому будівництві // Екологія – шляхи гармонізації відносин природи та суспільства : тези міжвуз. наук. конф. / М.М. Гузь, Р.М. Гречаник, М.М. Лісовий. – Умань, 2009. – С. 92-94.
8. Калинин Ф.Л. Методы культуры ткани в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук / под ред. Ф.Л. Калинина. – К. : Вид-во "Наук. думка", 1980. – 488 с.
9. Мельник Ю.А. Формове різноманіття бука лісового на Львівщині / Ю.А. Мельник, Р.М. Гречаник, М.М. Лісовий // Науковий вісник УкрДЛТУ : зб. наук.-техн. праць. – Львів : УкрДЛТУ. – 2003. – Вип. 13.3. – С. 56-62.
10. Ahuja M.R. A commercially feasible micro-propagation methods for aspen / M.R. Ahuja // *Silvae Genet.* – 1984. – № 33. – P. 174-176.
11. Chalupa V. In vitro propagation of *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Quercus*, *Fagus* and other species using adenine – type cytokinins and thidiazuron / V. Chalupa // *Commun. Inst. For. Czech.* – 1985. – № 14. – P. 65-90.

УДК 579.26:630*164.8:582.475.4

Проф. А.Ф. Гойчук¹, д-р с.-г. наук;

проф. Р.І. Гвоздяк², д-р біол. наук; гол. спец. В.В. Розенфельд³, канд. біол. наук;

наук. співроб. Л.М. Ващенко², канд. біол. наук

МІКРОБНА ГЕТЕРОГЕННІСТЬ НАСІНИН СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ

Наведено результати вивчення епіфітної та ендоефітної мікрофлори здорового насіння сосни звичайної. Досліди виконано з окремими насінинами та їхньою масою (наважка – 1 г). У 1 г насіння сосни звичайної виявлено 220-280 тис. колоній утворювальних одиниць (КУО) мікроорганізмів. Вони представлені здебільшого спороутворювальними (*Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*) і неспороносними (*Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia carotovora*, *Enterobacter nimipressuralis*, *Pantoea agglomerans*) бактеріями та грибами із родів *Mucor*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicilium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Torula*. Найменше на (в) насінні целюлозоруйнівних, олігонітрофільних та фітопатогених бактерій. Розрахунково їхня кількість становить 2-20 КУО на 1 насінину.

Гетерогенність здорового насіння за заселенням його мікробіотою виявлено серед епіфітів та ендоефітів за ознакою інтенсивності росту на поживних середовищах домінуючих груп бактерій і грибів, різної їх чутливості до пестицидів, адгезії до поверхні насіння незалежно від його походження та посівних властивостей.

¹ Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ

³ Департамент аграрної освіти, науки та консультування, Міністерство аграрної політики України, м. Київ

Наголошено, що кожна насінина сосни звичайної не схожа на іншу за кількісним і якісним складом мікроорганізмів, що сприяє виживанню сосни звичайної як виду в різних природно-кліматичних умовах.

**Prof. A.F. Goychuk¹; prof. R.I. Gvozdyak²; main scientist V.V. Rozenfeld³;
research officer L.M. Vashchenko²**

Microbial heterogeneity seed of Scots pine

Results of study of epifitic and endophytic microflora of healthy seeds of Scots pine are devoted. Experiments are conducted with separate seeds and by their mass (weight is a 1 gramme). In a 1 gramme found out the seed of Scots pine 220-280 thousands of the colony that forms units of microorganisms. They are presented mainly sporogenous (*Bacillus of subtilis*, *B. rumilus*, *Bacillus sp.*, *Paenibacillus polymyxa*) and unsporogenous (*Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Ervinia carotovora*, *Enterobacter nimipressuralis*, *Panthoea agglomerans*) by bacteria and mushrooms from births of *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicilium*, *Trichoderma*, *Torula*. Least on (in the seed of cellulose's destroyer oligonitrofilnikh and fitopatogenikh bacteria). Calculation their amount is 2-20 of the colony that forms units of microorganisms on a 1 pip.

After settling his microbiota found out heterogeneity of healthy seed among epiphytes and endophytes on the sign of intensity of growth on the nourishing environments of dominant groups of bacteria and mushrooms, their different sensitiveness, to pesticides, adhesion to the surface of seed regardless of his origin and sowing qualities.

It is marked that every seed of Scots pine does not look like other after quantitative and high-quality composition of microorganisms, which is instrumental in the survival of pine-tree ordinary as kind in different natural climatic conditions.

Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.), як і переважна більшість решти хвойних порід, у природних умовах відновлюється тільки насіннєвим шляхом. Тому якість насіння визначальною мірою впливає на вирощування здорового садивного матеріалу, а отже – і біологічно стійких і високопродуктивних насаджень цієї цінної лісоутворювальної породи.

Кожна насінина має певні особливості, які навіть на одному дереві (в одній шишці) нерівнозначні за своїми морфологічними, анатомічними та фізіолого-біохімічними властивостями. Це залежить від багатьох чинників, зокрема й від епіфітної та ендofітної мікрофлор, яка значимо впливає на ферментативні (метаболітичні) процеси, а відтак – і на якість насіння.

Насіння населене епіфітними та ендofітними мікроорганізмами незалежно від його походження, посівних якостей тощо. Вони різноманітні за систематикою, життєздатністю в різних умовах, синтезують корисні та шкідливі для рослин сполуки, здатні захищати рослини, а за певних умов спроможні викликати у них патологічний процес [10, 15]. Кожній насініні притаманна своя, характерна лише для неї, мікробіота, яка відрізняється певним співвідношенням видового складу функціональних груп мікроорганізмів, їх взаємодією між собою та насінною. Цей надзвичайно важливий аспект практично не враховують у частині пояснення різноякісності насіння не лише в лісонасіннєвій справі [6], а й у фізіології онтогенезу, зокрема і в ембріональному його періоді [8].

¹ National university of bioresources the natural use of Ukraine, Kyiv

² Institute of microbiology and virology of the name of D.K. Zabolotnogo NAS of Ukraine, Kyiv

³ Department of agrarian education, science and additional advices, Ministry of agrarian policy of Ukraine, Kyiv

Найкраще вивчено епіфітну та ендofітну мікрофлору насіння сільськогосподарських культур [2, 11, 12, 15], слабо – плодових [1, 7]. Що стосується лісових деревних рослин, то мікрофлора насіння асоціюється переважно зі збудниками хвороб під час заготівлі та зберігання [4, 5, 9, 14, 16], хоча впродовж останніх років з'явилися роботи, пов'язані з вивченням мікробіоти як невід'ємної складової деревних рослин, зокрема й насіння [3, 13, 17, 18].

Видовий і чисельний склад мікрофлори насіння рослин, зазвичай, охарактеризований ґрунтно, а не індивідуально окремих насінин. Проблема пов'язана з тим, що для мікробіологічного аналізу беруть певну масу насіння (залежно від поставленої мети). Такий аналіз дає загальну мікробну характеристику партії насіння, але не характеризує окремі насінини. Ми розглядаємо мікрофлору насіння не як постійну і для всіх насінин однакову, а як динамічну систему, що віддзеркалює походження насіння, умови його заготівлі та зберігання, стан на час відбору проб для аналізу тощо.

Мікрофлора насіння значною мірою формує життєво потрібну мікрофлору коріння і надземних частин рослин. Крім того, на наш погляд, саме мікробна гетерогенність визначає, з яких насінин виростуть рослини, конкурентно здатні зайняти дану природну екологічну нішу. Тому **метою роботи** було вивчити мікробне різноманіття окремих зовні здорових насінин сосни звичайної.

Матеріали та методи. У досліджах використовували тільки зовні здорове однорідне насіння сосни звичайної, відібране на базі насіннєвої станції (м. Боярка, Київська область).

Енергію проростання та схожість насіння визначали на фільтрувальному папері з ватною підкладкою у спеціальних керамічних ростильнях розміром 22,0×12,5 см або у чашках Петрі. Перші три дні насіння витримували за температури 26-28 °С у термостаті, наступні – за кімнатної температури. У кожній із 4 рослин розміщували 50 або 100 насінин сосни звичайної. Облік енергії проростання виконували на 7-й день експерименту, схожість насіння – на 15-й. Повторність дослідів – 4-разова.

Епіфітну патогенну та сапротрофну мікрофлору насіння сосни звичайної вивчали двома методами: 1) шляхом змиву стерильною водогінною водою з наступним висівом на тверді поживні середовища; 2) спостереженням за обростанням мікробною масою насіння, розкладеного на тверде поживне середовище. З цією метою в першому випадку окремі насінини або наважку 1 г поміщали в пробірки зі стерильною водогінною водою, збовтували 10 хв на шутель-апараті (120 об/хв), робили послідовно розведення кратне 10, з яких по 0,1 мл висівали на поживні середовища.

За другим методом насіння (20-25 шт.) розкладали на пластинки агаризованого поживного середовища. Протягом 5-10 діб спостерігали за типом росту мікроорганізмів навколо насіння. Для виявлення фітопатогенних бактерій в окремих випадках здійснювали мікробіологічний аналіз маси бактерій, яка виросла навколо насіння. Для цього бактеріальну масу суспендували у стерилізованій водогінній воді, звідки петлею густим штрихом висівали на пластинки картопляного агару (КА) або на середовище Чапека. Через 5-7 діб інкубації за формою колоній відбирали ізоляти, біологічні властивості яких вивчали в подальших дослідях.

Для виявлення ендofітної мікрофлори попередньо знищували поверхневу мікрофлору насіння. З цією метою промивали нестерильною (10-20 хв) та стерильною водогінною водою (3-4 хв) насіння витримували 20 хв у 15,0-16,5 %-му в пероксиді водню, не змінюючи або двічі змінюючи його розчин. Стерильність контролювали за ростом бактерій навколо насінин, розміщених на КА або в картопляному бульйоні (КБ) та інкубованих 3 доби за 28 °С.

Кількість мікроорганізмів за функціональними й іншими ознаками визначали за їхнім ростом на спеціальних середовищах; амоніфікаторів на м'ясо-пептонному агарі, мікроміцетів – на середовищі Чапека, бактерій, які використовують для живлення мінеральні форми азоту, і стрептоміцети – на крохмаль-аміачному агарі, педотрофів – на середовищі Красильникова, азотфіксаторів та олігонітрофілів – на середовищі Ешбі, целюлозоруйнівних – на середовищі Гетчінсона. Кількість споруутворювальних бактерій визначали висівом на МПА із суспензій, прогрітих за 80 °С протягом 30 хв.

Інкубацію мікроорганізмів проводили в термостаті при 24-28 °С протягом різного часу залежно від швидкості росту мікроорганізмів: амоніфікаторів, педотрофів, олігонітрофілів – на 3–7-й день інкубації, мікроміцетів і стрептоміцетів – на 7–10-й, целюлозоруйнівних – на 30-й день. Здатність пестицидів пригнічувати мікрофлору насіння визначали за обростанням мікробною масою на КА та середовищі Чапека з добавкою пестицида.

Результати та їх обговорення. Гетерогенність насіння за ознакою його заселення мікроорганізмами наочно визначають за мінорними групами. Вивчаючи мікрофлору сосни звичайної, ми встановили, що домінантними серед функціональних груп є амоніфікатори, а мінімальними – целюлозоруйнівні, олігонітрофіли і патогени. Вони знаходяться в таких незначних кількостях, що їх не завжди вистачає по одній колонієутворюючій одиниці (КУО) на насінину. Щодо патогенів, таке явище відзначене на деяких сортах пшениці, де було виявлено лише 20-30 КУО мікроорганізмів в 1 г насіння [11]. Але відомо, яку небезпеку несе ця мізерна кількість бактерій. В окремих випадках це може спричинити епіфітотії. За аналогією з фітопатогенами сапротрофи, які знаходяться на насінні в мінорних кількостях, за певних умов можуть теж позитивно чи негативно впливати на проростання насіння та ріст рослин. У тому плані, на жаль, на них не звертають увагу. Вже перші досліді з різним за забарвленням насінням, зануреним у картопляний бульйон (КБ), свідчили про його різну ростову активність (табл. 1).

У картопляному бульйоні більшу активність за інтенсивністю росту виявили бактерії-епіфіти порівняно з ендofітами. Більш інтенсивний процес простежували з коричневим та чорним насінням, порівняно з пістрявим. У варіанті №1 табл. 1 з насінням, промитим водою, епіфіти на 4-й день досліді на КБ утворили інтенсивну плівку та осад і майже просвітлений бульйон, що свідчило про завершення процесу. За цей час ріст в КБ у варіантах досліді №3 та №4 з ендofітною мікрофлорою не завершився і відбувався інтенсивно. У варіанті з насінням, промитим водогінною та стерильною водою і простерилізованим H_2O_2 (варіант 2), на 4-й день тільки розпочався ріст бактерій. Він можливий або завдяки неповній стерилізації з поверхні насіння або ендofітної мікрофлори. Якщо б це були епіфітні бактерії, то за 4 дні вони б інтенсив-

но вирости в бульйоні. Найімовірніше, що ріст відбувався завдяки бактеріям-ендофітам, які за цей час почали проникати через оболонку насіння.

Табл. 1. Ростова активність бактерій насіння сосни звичайної різного кольору

№ п.п.	Умови підготовки насіння	Колір шкірки насіння	Ріст у картопляному бульйоні		
			плівка	помутніння	осад
1	Послідовно промите нестерильною + стерильною водогінною водою	чорний	+	+	+
		коричневий	+	—	+
		пістрявий	+	—	+
2	Промите насіння водою + 15 % H ₂ O ₂	чорний	—	+	—
		коричневий	—	—	—
		пістрявий	—	+	—
3	Після оброблення H ₂ O ₂ насіння злущували	чорний	+	+	+
		коричневий	+	+	+
		пістрявий	—	+	+
4	Облучене насіння + H ₂ O ₂	чорний	+	+	+
		коричневий	+	—	+
		пістрявий	+	+	+

Примітка: "+" – наявність, інтенсивність росту: помутніння КБ, утворення плівки та осаду; "—" – відсутність росту.

Мікробна гетерогенність насіння чітко виявляється за умов обростання масою мікробіоти на агаризованих поживних середовищах. Нативне (не простерилізоване зверху) насіння сосни звичайної містить чисельні групи та види мікроорганізмів, які виявляються під час його пророщування на КА та в середовищі Чапека (рис. 1).

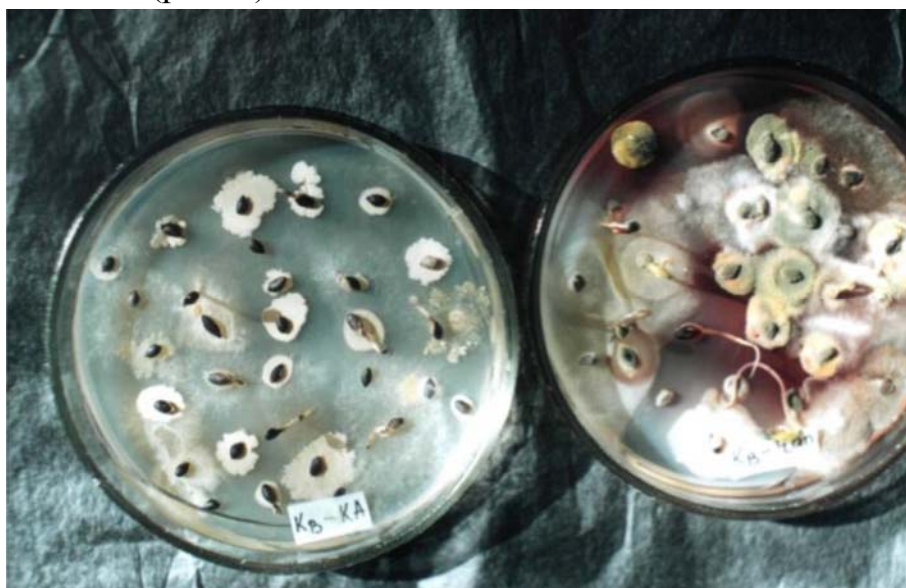


Рис. 1. Обростання насіння сосни звичайної епіфітними бактеріями на КА (зліва) та грибами на середовищі Чапека (справа)

На КА навколо всіх насінин виростала бактеріальна маса, але зовнішній вигляд її мав різну морфологію. Навколо одних насінин бактеріальна маса смужкою 3-5 мм була здутою, зморщеною, сірою, не прозорою. Щодо інших насінин, то бактеріальна маса шириною 1-2 мм обвивала їх. За морфологією вона відрізнялася від спороносних бактерій, мала вигляд тонкої плівки, блискуча, по краю напівпрозора, ближче до насіння непрозора, інколи з дуже слабкою флуоресцентністю, зумовлені неспоросними бактеріями. Бактерії, що вирости навколо насіння, суспендували у воді і висівали на пластинки

КА. В обох випадках виростили спороносні і не спороносні бактерії. Тільки в першому випадку було більше (близько 90 %) спороносних, в другому – не спороносних бактерій. На насінні сосни звичайної ми виявили спороносні (*Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Bacillus sp.*, *Paenibacillus polymyxa*) і неспороносні (*Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia carotovora*, *Enterobacter nimipressuralis*, *Panthoea agglomerans*) бактерії.

За попередніми даними, після промивання насіння водою під краном 10-15 хв, потім стерильною водогінною водою 1-2 хв, 2 насінини із 180 на КА не обросло бактеріями. Тобто, після утримання мікробіоти поверхня різних насінин неоднакова або їхня мікрофлора має різну адгезивну спроможність. Можливо, більш енергійне промивання водою дасть змогу значно звільнити поверхню насіння від бактерій.

Аналогічну закономірність гетерогенності насіння, виявлену в епіфітних бактеріях, простежували і для епіфітних мікроміцетів, які росли у середовищі Чапека навколо насіння сосни звичайної. Грибами обростали всі насінини. Часто відсутність росту грибів на КА навколо насінин не свідчить про слабку їхню колонізацію, оскільки насіння, розкладене на оптимальному для росту грибів середовищі Чапека, інтенсивно обростало грибами. Слабкий ріст грибів на насінні на КА зумовлений швидким ростом бактерій, особливо спороутворювальних, які є антагоністами грибів. Антагонізм між спороутворювальними бактеріями та грибами відзначено на насінні сільськогосподарських рослин [12].

На заселення мікроміцетами насіння сосни звичайної впливає їхнє походження. Так, на насінні однієї партії домінували пеніцили (68 %), в іншій – аспергіли (38 %) і акремоніум (36 %). Мікробна неоднорідність насінин сосни звичайної чітко виявляється за чутливістю до різних пестицидів. Вона може виявлятися на видовому (родовому) або штамовому рівнях. Насіння сосни звичайної обробляли мікосаном, мікосаном новим, фундазолом, вітаваксом, H_2O_2 , марганцево-кислим калієм.

Чітку мікробну гетерогенність насіння сосни звичайної виявлено за дії мікосану та мікосану нового. Тільки частина непростерилізованого насіння сосни звичайної, обробленого мікосаном і мікосаном новим, обросла бактеріями, інше насіння зовсім не обросло мікроорганізмами (в контролі все насіння обросло бактеріями). Це свідчить, по-перше, про те, що на насінні, яке не обросло мікроорганізмами, були чутливі до них неспороносні бактерії, пригнічені пестицидами, і, по-друге, на них не було спороносних або на них всі бактерії були чутливими до названих пестицидів. Це і є мікробна гетерогенність насіння, яка має біологічну доцільність – виживання в природі.

Хімічно синтезований фундазол активно впливає на всю мікрофлору насіння сосни звичайної – бактерії та гриби. Дія його на мікроорганізми залежить від експозиції оброблення насіння. Насіння, оброблене фундазолом і розкладене на пластинки КА, частково було стерильним. За розведенням фундазолу в 400 разів та експозиції оброблення насіння 15 хв 58 % його обростало бактеріями. Із збільшенням експозиції оброблення до 60 хв кількість нестерильних насінин знизилася до 26 %. У контролі (оброблення водою) навколо всіх насінин з'явилася бактеріальна маса (табл. 2).

Табл. 2. Антимікробна ефективність оброблення насіння фундазолом

Розведення фундазолу	Експозиція замочування насіння, хв	Частка на КА насіння, що обросло, %		Частка насіння на середовищі Чапека, що обросло грибами, %				
		бактеріями	грибами	<i>Penicillium purpurogenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Acremonium sp.</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Mucor mucedo</i>
1:400	15	58	19	72	4	16	8	0
	45	45	16	74	0	8	6	12
	60	26	2	65	0	6	10	19
Контроль (вода)	60	100	24	68	4	15	7	6

Дані спостереження за ростом грибів на середовищі Чапека свідчать про вибірккову дію фундазолу. Якщо на гриби із родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* фундазол не впливав, то гриби роду *Alternaria* під дією препарату знизились до нуля, а на представників роду *Acremonium* його дія була вибірковою (рис. 2, табл. 2).



Рис. 2. Вплив фундазолу на епіфітні бактерії насіння сосни звичайної на КА (зліва) та на середовищі Чапека (справа)

Наведені дані вказують на неоднакову частоту заселення видами грибів насінин сосни звичайної. На насінні дослідної партії не виявлено видів грибів – постійних супутників усіх насінин, що малоймовірно і вимагає спеціального дослідження.

На відміну від фундазолу, вітавакс в усіх концентраціях знезаражує насіння сосни звичайної та стимулює його ріст. На дослідному насінні сосни звичайної, розкладеному після оброблення 0,1-0,001 %-ним вітаваксом на КА та середовище Чапека, не виявлено росту мікроорганізмів-бактерій і грибів, що свідчить про його поверхневу стерильність (рис. 3).

Передпосівне замочування насіння сосни звичайної у 5 %-му перманганаті калію майже повністю знищує на них бактерії. Тільки 2 % насінин після оброблення обросло бактеріями. На інших домінували мікроміцети родів *Penicillium* (6 %) та *Alternaria* (8 %). На середовищі Чапека таке насіння завжди обростало грибами, серед яких домінували гриби з роду *Mucor* (44 %) (в контролі таких грибів було 14 %).



Рис. 3. Вплив вітаваксу на епіфітні мікроорганізми насіння сосни звичайної на КА (зліва) та на середовищі Чапека (справа)

На різних етапах дослідження епіфітної мікрофлори насіння сосни звичайної виявлено чисельну групу мікроміцетів, які віднесені до родів *Mucor* Mich., *Trichoderma* Pers., *Aspergillus* Mich. ex Fr., *Penicillium* Link ex Fr., *Alternaria* Nees emend. Matv., *Acremonium* Link, а також дріжджі.

Гриби роду *Mucor* формували більш пухнастий поверхневий міцелій. З часом утворювалися численні кулясті темнозабарвлені спорангії на безбарвних конідієносцях. Спорангієспори – одноклітинні, безбарвні.

Рід *Trichoderma* на середовищі Чапека утворює спочатку білі, а згодом зелені, темно-зелені з чисельними подушечками конідієносців з безбарвними кулястими одноклітинними конідіями.

Рід *Aspergillus* на середовищі Чапека формує жовто-зелені колонії. Резервум колоній спочатку світло-червоний, з часом темніє.

Рід *Penicillium* формує на середовищі Чапека характерні для роду оливково-зелені, зелені, темно-зелені, широко розпростерті, слабо пухнасті колонії. Видимий міцеліальний ріст спостерігається при підвищеній вологості насіння. Резервум злегка рожевий. Відомі як збудники зеленої плісняви насіння деревних порід і у т.ч. сосни звичайної.

Рід *Acremonium* на середовищі Чапека утворює спочатку світлі колонії, які з часом за рахунок забарвлення конідій стають помаранчевими, темно-помаранчевими. Конідії майже кулясті, бородавчасті, темно-помаранчево-коричневі. У масі – майже чорні. Резервум жовто-помаранчевий.

На середовищі Чапека гриби роду *Alternaria* формують оливково-бурі колонії. Конідії багатоклітинні, мають до 8 поперечних перетинок і 1-3 – поздовжніх, світло-оливкові, дрібно бородавчасті. На насінні деревних рослин за підвищеної вологості вони утворюють так звані чорні плісняви. Причиною можуть бути появи групи грибів, які викликають так звану "дитячу" хворобу сіянців, зокрема сосни звичайної.

Гриби роду *Aspergillus* є збудниками зеленої плісняви насіння. Колонії на середовищі Чапека плоскі, переважно зелених відтінків, але зустрічаються і помаранчево-червоно-коричневі. Конідії одноклітинні, частіше кулясті, різного забарвлення (переважають зеленуваті кольори).

Неоднорідне насіння сосни звичайної і за наявності бактерій під спородермою. У насіння під спородермою у більшості партій виявлені бактерії. Однак, простерилізоване зверху насіння і облучене з однієї партії майже у всіх випадках обростало на КА мікроорганізмами, з іншої – стерильними були 8 із 25 насінин (32 %). Облучене насіння, що не обросло бактеріальною масою на КА, культивували в картопляному бульйоні протягом 7 діб. Видимого росту бактерій у картопляному бульйоні не виявлено, що свідчить про відсутність бактерій у тканині насіння.

Неоднорідність насіння сосни за ознакою заселення їх різними видами мікрофлори ми довели в низці дослідів. У злущеному і простерилізованому пергідролем насіння партії № 65 виявлено 86 % бактерій, які росли на КА, і 14 % – грибів. Ендофітну мікробну гетерогенність насіння виявляли і за умов культивування групами в картопляному бульйоні.

З метою виявлення мікроорганізмів під спородермою насіння сосни звичайної здійснювали його мікробіологічний аналіз за такою схемою:

- насіння промивали нестерильною і стерильною водою;
- промите насіння обробляли 15 % H_2O_2 – 10 хв;
- насіння, оброблене H_2O_2 , облучували.

Підсушене насіння з кожного варіанта розкладали на пластинки КА по 30 шт. За ростом бактеріальної маси навколо насіння виявляли його стерильність. Проаналізовано 6 партій насіння. Повторність – 2-разова. Отримані попередні дані вказували на те, що під спородермою знаходяться бактерії. Одноразове оброблення насіння H_2O_2 не дає змоги повністю звільнити його від бактерій. За таких умов (H_2O_2 -16 %, 10 хв) менше половини насіння зовні було стерильним. Багато залежить від партії насіння сосни звичайної. Якщо в партії № 264 за тих умов стерильних на поверхні насінин було 18 із 30 (60 %), то в партії № 67 – тільки 3 із 30 (10 %).

Тип обростання насіння сосни звичайної бактеріями залежить від способу його оброблення. Навколо насінин, промитих нестерильною та стерильною водою, з'являлася смужка біло-сірої бактеріальної маси шириною до 4 мм, по краю напівпрозора і непрозора – біля насіння. Бактеріальна маса навколо насіння, обробленого H_2O_2 , ледь помітна. Можливо, це пов'язано з токсичними продуктами, які утворилися під дією H_2O_2 . Чашки в цьому досліді затягуються повітряним сірим міцелієм гриба, до якого чітко виявили антагонізм бактерії.

Ендофітна мікрофлора теж повністю не ідентична з різних насінин сосни звичайної. Для зниження епіфітної мікрофлори все дослідне насіння сосни звичайної промивали разом стерильною водою. Кожну насінину окремо розтирали в ступці з водою і висівали на пластинки КА. Всього проаналізовано 15 насінин. Не виявлено бактерій-ендофітів у 5 із 15 насінин (33 %) і мікроміцетів-ендофітів – у 13 насінин (87 %). В одному насінні гриби виявлені разом з бактеріями, в інших – самотійно. Тобто, не все насіння заселене мікроорганізмами, і за цією ознакою воно гетерогенне.

Висновки

1. Епіфітні та ендофітні мікроорганізми здорового насіння сосни звичайної представлені різними функціональними групами та видами. Найбільш

- багаточисельні – амоніфікатори: їх більше за суму олігонітрофілів, актиноміцетів, целюлозоруйнівних, фітопатогенів.
2. Насіння заселяють бактерії родів *Ervinia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Panthoea* та гриби родів *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicilium*, *Trichoderma*, *Torula*.
 3. Насінини сосни звичайної відрізняються за мікробіотою: видовим складом, функціональними групами, їх співвідношенням, фізіологічною активністю, чутливістю до пестицидів, адгезивністю.
 4. Мікробна гетерогенність насіння сприяє виживанню рослин у різних екологічних нішах.

Література

1. **Бабич А.К.** Биология возбудителей бактериальных заболеваний плодовых деревьев в УССР : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. – К., 1974. – 21 с.
2. **Гвоздяк Р.І.** Ендofітна мікрофлора зерна пшениці та її взаємодія з фітопатогенними бактеріями / Р.І. Гвоздяк, Л.В. Кабашна, Л.А. Пасічник, Є.А. Макачук // Доповіді НАН України. – 2001. – № 1. – С. 173-177.
3. **Гвоздяк Р.І.** Фітопатогенні бактерії насіння сосни звичайної / Р.І. Гвоздяк, В.В. Розенфельд, Л.М. Ващенко // Вісник державного агроєкологічного університету. – Житомир : Вид-во ДАЕУ. – 2005. – № 2. – С. 156-162.
4. **Гойчук А.Ф.** Патологія дібров / А.Ф. Гойчук, М.І. Гордієнко, Н.М. Гордієнко, Я.І. Макачук, Д.А. Гойчук / за ред. М.І. Гордієнка. – 2-ге вид. [перероб. і доп.]. – К. : Вид-во ННЦ ІАЕ, 2004. – 470 с.
5. **Голгофская К.Ю.** Бактериоз шишек и семян кавказской пихты // Фитопатогенные бактерии. – К. : Вид-во "Наук. думка", 1975. – С. 305-308.
6. **Дебрийнюк Ю.М.** Лісове насінництво / Ю.М. Дебрийнюк, М.І. Калінін, М.М. Гузь, І.В. Шаблій. – Львів : Вид-во "Світ", 1998. – 432 с.
7. **Лукач М.І.** Бактеріальний опік і некроз груші та яблуні, екологічні ніші їхніх збудників : дис. ... канд. біол. наук. – К., 2000. – 156 с.
8. **Макрушин М.М.** Фізіологія рослин / М.М. Макрушин, Е.М. Макрушина, Н.В. Петерсон, М.М. Мельников / за ред. проф. М.М. Макрушина : підручник. – Вінниця : Вид-во "Нова книга", 2006. – 416 с.
9. **Нечаева М.Ю.** Бактериоз сеянцев сосны обыкновенной в питомниках Среднего Поволжья и меры борьбы с болезнью : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. – Свердловск, 1989. – 18 с.
10. **Овчаренко Л.П.** Метагеномний аналіз мікроорганізмів довкілля / Л.П. Овчаренко, Н.О. Козировська. – К. : Вид-во "Спринт-принт", 2008. – 256 с.
11. **Пасічник Л.А.** Фітопатогенні і сапротрофні бактерії агроєкосистем пшениці та вівса : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-р біол. наук. – К., 2009. – 44 с.
12. **Пасічник Л.А.** Епіфітна та ендofітна мікрофлора здорового зерна та вегетуючих рослин пшениці / Л.А. Пасічник, Р.І. Гвоздяк, С.Ф. Ходос // Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія : зб. ст. наук. конф. – К., 2005. – С. 18-13.
13. **Розенфельд В.В.** Епіфітна і ендofітна мікрофлора насіння сосни звичайної Київського Полісся : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. – К., 2008. – 20 с.
14. **Рыбалко Т.М.** Бактериозы хвойных Сибири / Т.М. Рыбалко, А.Б. Гукасян. – Новосибирск : Изд-во "Наука", 1986. – 80 с.
15. **Шерстобоева О.В.** Проблеми бактеріальних ендofітів у рослинно-мікробній взаємодії // Агроєкологічний журнал. – 2006. – № 1. – С. 15-18.
16. **Щербин-Парфененко А.Л.** Бактериальные заболевания лесных пород. – М. : Изд-во "Гослесбумиздат", 1963. – 146 с.
17. **Phae C.G.** Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing – phytopathogenic microorganisms / Phae C.G., Shoda M., Kubota H. // Soil. Sci. Plant Nutr. – 1990. – № 36. – P. 575-586.
18. **Reddy P.M.** Rhizobial communication with rice roots: induction of phenotypic changes, mode of invasion and extent of colonization / Reddy P.M., Ladha J.K., So R. // Plant and soil. – 1997. – № 194. – P. 81-98.