



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **92067** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A01N 63/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 02418	(72) Винахідник(и): Парфенюк Алла Іванівна (UA), Благініна Анастасія Андріївна (UA), Горган Тетяна Михайлівна (UA), Безноско Ірина Володимирівна (UA), Стерлікова Оксана Миколаївна (UA), Ковтун Вікторія Володимирівна (UA), Тищенко Ганна Федорівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 11.03.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.07.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2014, Бюл.№ 14	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ АГРОЕКОЛОГІЇ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ НААН, вул. Метрологічна, 12, м. Київ-143, 03143 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ КУЛЬТУРНИХ РОСЛИН НА РІСТ І РОЗВИТОК КУЛЬТУР ГРИБІВ НЕКРОТРОФНОГО ТИПУ ЖИВЛЕННЯ

(57) Реферат:

Спосіб визначення впливу екзометаболітів культурних рослин на ріст і розвиток культур грибів некротрофного типу живлення, який включає субкультивування культур фітопатогенних мікроміцетів з кореневими метаболітами культурних рослин, причому культури грибів вирощують на твердому поживному середовищі із додаванням певної кількості ексудатів культурних рослин, протягом відповідного періоду проводять спостереження за культурально-морфологічними ознаками колоній мікроміцетів та здійснюють їх виміри, інтенсивність спороутворення встановлюють шляхом прямого підрахунку спор у камері Горяєва-Тома.

UA 92067 U

Корисна модель, що заявляється, належить до галузі сільського господарства і може бути використана у екології, мікології та фітопатології.

Виробництво якісної продукції рослинництва вимагає розв'язання проблем, зокрема обумовлених взаємодією популяцій фітопатогенних грибів некротрофного типу живлення із сортами культурних рослин [1].

Відомо, що інтегральною величиною взаємодії вищих рослин і мікроорганізмів в цілому є щільність мікроорганізмів в прикореневій і ризосферній зоні. У формуванні алелопатичного комплексу рослин значний вплив мають кореневі виділення. Вважається, що синтез і виділення алелопатично активних речовин виникли у вищих рослин, як засіб захисту від тварин і патогенів бактеріального та грибного походження [2]. Крім того, відмічають різницю у хімічному складі корневих виділень різних сортів однієї культури. Відомо, що характер дії ексудатів проростків може свідчити про вплив генотипу сорту на фітопатогенні мікроорганізми [3].

Для розробки способу визначення впливу екзометаболітів культурних рослин на ріст і розвиток культур грибів некротрофного типу живлення використовували метод, розроблений для визначення стимуляції росту діазотрофних бактерій ексудатами проростків ячменю [4].

Але даний метод не адаптований до біології некротрофних грибів. Відсутній також спосіб визначення впливу екзометаболітів культурних рослин на ріст і розвиток колоній мікроміцетів.

За найближчі аналоги також взято [патент на корисну модель Україна (UA) 39411 МПК A01G 7/00, A01H 1/04, Спосіб визначення впливу сортів злакових культур на чисельність фітопатогенів / Парфенюк А.І., Благініна А.А.; заявник і патентовласник - Інститут агроєкології і природокористування НААН. - № u200811542; заявл. 25.09.2008; опубл. 25.02.2009, Бюл. № 4, 2009 р. та патент на корисну модель Україна (UA) 57035 МПК A01G 1/04, Спосіб визначення впливу сортів та гібридів огірка на інтенсивність спороутворення фітопатогенних грибів / Парфенюк А.І., Чміль О.М.; заявник і патентовласник - Інститут агроєкології і природокористування НААН. - № u201008278; заявл. 02.07.2010; опубл. 10.02.2011, Бюл. № 3, 2011р.].

Однак дані способи не забезпечують оцінку впливу корневих виділень сортів культурних рослин на інтенсивність формування інфекційних структур грибів некротрофного типу живлення.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є розробити оригінальний спосіб оцінки впливу метаболітів сортів культурних рослин на ріст та розвиток культур грибів некротрофного типу живлення та на інтенсивність їх спороутворення в умовах *in vitro*.

Технічним результатом корисної моделі, що заявляється, є вивчення механізмів взаємодії елементів патосистеми, що дасть змогу краще зрозуміти особливості взаємодії мікроміцетів і рослин-господарів та запобігти забрудненню агрофітоценозів інфекційними структурами.

Суть способу полягає в наступному: Завчасно простерилізоване насіння різних сортів та гібридів культурних рослин пророщують у вологих камерах до утворення розвинутої кореневої системи. Певну кількість проростків кожного варіанта переносять у ємності зі стерильною дистильованою водою, де витримують впродовж певного часу на розсіяному світлі за певної температури. Ексудати змивають і фільтрують через мікропористий бактеріальний фільтр. Культури грибів вирощують на твердому поживному середовищі із додаванням ексудатів сорту (1 мл). Протягом певного періоду проводять спостереження за культурально-морфологічними ознаками колоній мікроміцетів та здійснюють їх виміри. Інтенсивність спороутворення встановлюють шляхом прямого підрахунку спор у камері Горяєва-Тома.

В процесі розробки способу використовували метаболіти рослин пшениці озимої, огірка, цибулі ріпчастої, часнику посівного, перцю солодкого та моркви, вплив яких досліджувався на наступних мікроміцетах: *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L. R. Jones, *Al. cucumerina* (Ellis & Everh.) J.A. Elliott, *Al. radicina* Meier, Orechsher & E.D. Eddy, *Al. alternata* (Fries) Keissler, *Al. tenuissima* (Nees) Wiltshire., *Fusarium oxysporum* Schldt., *F. moniliforme* J. Sheld., *F. solani* Appl. et Wr., *F. culmorum* (W.G. Sm.) Sacc, *Cladosporium capsici* Kovatsch., *Cl. cucumerinum* Ellis & Arthur, *Ulocladium consortiale* (Thiim.) E.G. Simmons, *Stemphylium allii-cepae* X.G. Zhang & T.Y. Zhang., *Botrytis cinerea* Pers., *B. byssoidea* J.C. Walker, *Penicillium expansum* (Thorn) Fassat, *P. verrucosum* Samcon., *P. canescens* Sopp., *Helminthosporium allii* Campan.

Приклад

Метод оцінки впливу ексудатів проростків пшениці та огірка на ріст і розвиток культури гриба *Fusarium oxysporum* Schldt.

Відомо, що в процесі життєдіяльності через кореневу систему рослини виділяється 23-30 % загального вмісту речовин - це різноманітні водорозчинні і леткі органічні речовини, вітаміни, ферменти, вуглеводи, амінокислоти, органічні кислоти, феноли та ліпіди [5]. У злакових кореневі виділення більше насичені вуглеводами, і для них характерне підвищене виділення біологічно

активних речовин, зокрема вітамінів [3]. Завдяки наявності в екsudатах фізіологічно активних речовин стимулюючої або пригнічувальної дії рослини можуть по різному впливати на культури мікроміцетів та інтенсивність їх спороутворення.

Для отримання метаболітів рослин сортів пшениці озимої та огірка відбирали по 50 насінин кожного досліджуваного сорту, стерилізували відповідно до ДСТУ4138-2002 [6]. Насіння замочували у воді і витримували впродовж 3-5 діб у темряві до формування проростків довжиною 2-3 см. По 10 проростків кожного зразка переносили у чашки Петрі із стерильною дистильованою водою, де витримували впродовж 72 годин на розсіяному світлі при температурі 22-24 °С. Ексудати змивали і фільтрували через мікропористий бактеріальний фільтр (0,02 мкм). Для визначення швидкості росту грибів діаметр колоній вимірювали через кожні 24 години та вираховували за формулою радіальної швидкості росту [7].

Результати субкультивування грибів на фоні екзометаболітів проростків різних сортів пшениці озимої та огірка вказують на диференціацію сортів за їх здатністю впливати на швидкість росту, характер та інтенсивність спороутворення гриба (табл. 1, табл. 2).

Таблиця 1

Вплив екзометаболітів різних сортів пшениці на формування міцелію колоній та інтенсивність спороутворення гриба *F. oxysporum*

Сортозразок	Діаметр колоній, см			Кількість спор у 1 мл суспензії, млн шт./мл.	
	2 доба	4 доба	8 доба	Конідії	Хламідоспори
Контроль	2,00	4,67	7,17	1,13±0,03	0,20±0,03
Одеська 51	2,29	6,67	8,47	0,93±0,05	0,15±0,01
К/С-36	2,92	7,58	8,50	0,45±0,01	0,94±0,02
К/С-38	2,54	6,72	8,17	0,63±0,03	0,25±0,01
К/С-39	2,03	4,20	7,60	0,85±0,01	0,20±0,03

За отриманими результатами встановлено, що сорт огірка Далекосхідний 27/17, Лінія П-1 та сорт пшениці озимої Одеська 51, Лінії К/С-38, К/С-39 мають здатність стримувати формування інфекційних структур даного фітопатогена екsudатами проростків, а гібриди огірка Сквирський 1/27 П F1, СМФ 795 F1 і Левадний F1 та Лінія К/С-36 пшениці озимої навпаки стимулювати порівняно із контролем.

Таблиця 2

Вплив екзометаболітів різних сортів/ гібридів огірка на формування міцелію колоній та інтенсивність спороутворення гриба *F. oxysporum*

Сортозразок	Діаметр колоній, см			Кількість спор у 1 мл суспензії, млн шт./мл	
	2 доба	4 доба	8 доба	Конідії	Хламідоспори
Контроль	1,30	3,00	7,50	2,00±0,03	0,15±0,01
Лінія П-1	0,50	1,50	2,50	0,70±0,02	0,10±0,01
СМФ-795 F1	1,25	2,70	6,55	2,52±0,03	0,15±0,01
Далекосхідний 27/17	0,65	2,00	2,70	1,78±0,02	0,12±0,01
Левадний F1	1,50	3,50	7,50	3,65±0,03	0,22±0,02
Сквирський 1/27 П F1	1,40	3,20	7,70	3,45±0,03	0,20±0,02

Ексудати всіх тестованих сортів пшениці озимої та огірка стимулювали швидкість росту міцелію гриба на початкових етапах субкультивування (рис. 1, рис. 2). Слід відмітити, що на фоні екзометаболітів сортів пшениці К/С-39 та гібриди Сквирський 1/27 П F1, СМФ 795 F1 швидкість росту міцелію гриба *F. oxysporum* була на рівні контролю.

Отримані результати свідчать, що вплив екзометаболітів рослин різних сортів пшениці озимої та огірка в умовах *in vitro* можна вірогідно вивчати вже через дві доби після посіву. Зниження фізіологічної активності і зміна морфологічних ознак колоній гриба підтверджує, що сорти рослин є екологічним фактором контролю інтенсивності спороутворення грибів, які є чинником біологічного забруднення агрофітоценозів.

Розроблений спосіб дозволяє виявляти кількісні та якісні показники механізму впливу сорту культурних рослин на розвиток грибів некротрофного типу живлення, з їх використанням

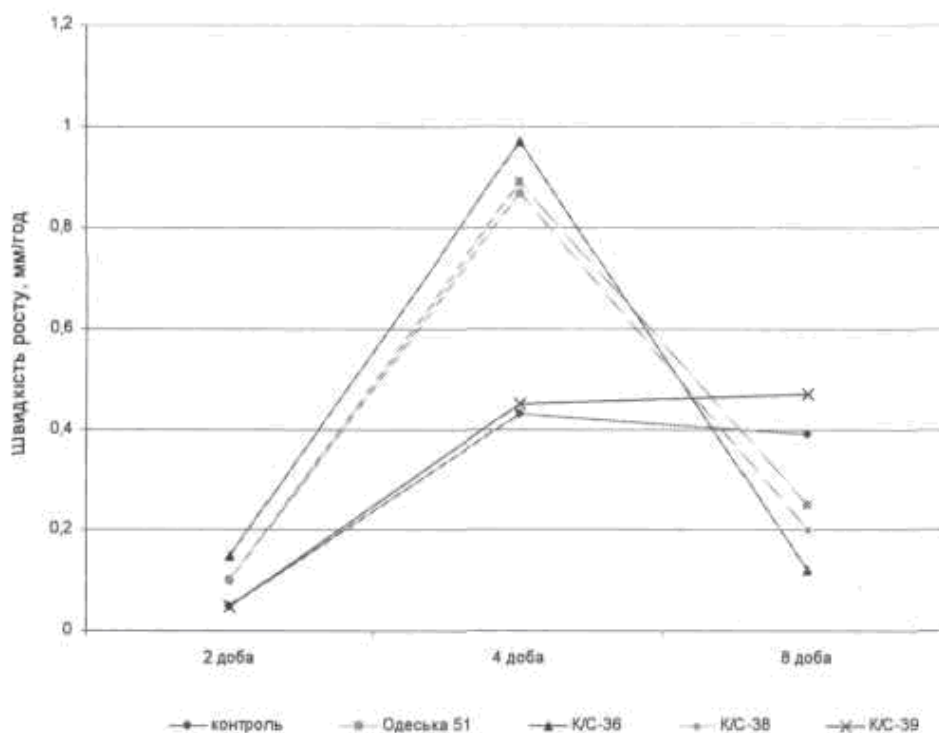
проводити оцінку сортів як фактора впливу на формування грибного фітопатогенного фону в агрофітоценозах.

Джерела інформації:

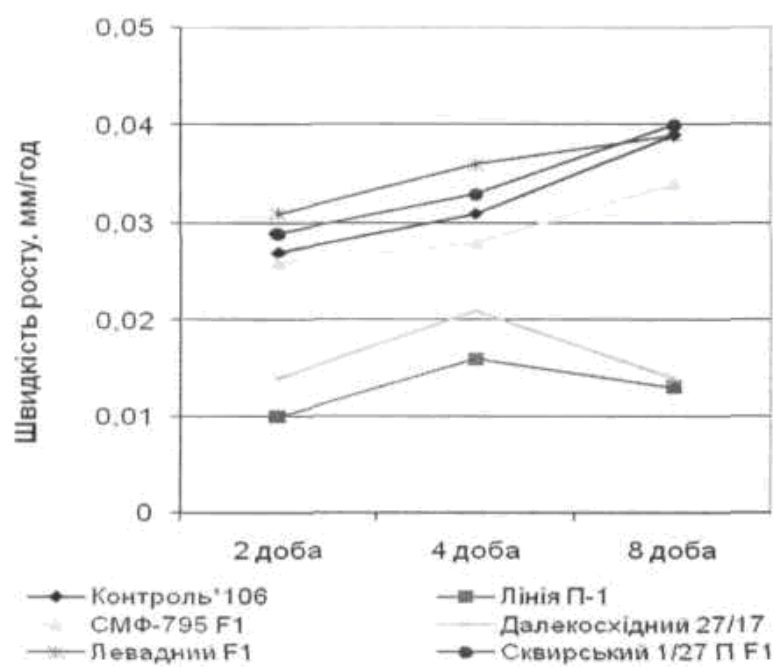
1. Стерлікова О.М. Алелопатичні особливості сортів / гібридів огірка за взаємодії з мікроміцетом *Alternaria cucumerina* Elliot / О.М. Стерлікова, А.І. Парфенюк // Агроекологічний журнал. -2013. - №2. - С 84-87.
2. Райе Э. Аллелопатия /Э. Райе; под. ред. А.М. Гродзинского. - М.: Мир, 1978.-394 с.
3. Пузік В.К. Экзометаболіти культурних злаків та їх роль у фітоценозах / В.К. Пузік, Г.Ф. Наумов. - Харків, 2003.-295 с.
4. Петюх Г.П. Визначення стимуляції росту діазотрофних бактерій ексудатами проростків ячменю: методичні рекомендації / Г.П. Петюх, Ю.В. Подоба. -К.: Логос, 2004. -13 с.
5. Гродзінський А.М. Основи хімічної взаємодії рослин / А.М. Гродзінський. - К.: Наукова думка, 1973.-204 с.
6. Насіння с.-г. культур. Методи визначення якості: ДСТУ 4138-2002. - [Чинний від 2004-01-01]. - К.: Держстандарт України, 2002. -141 с -(Національний стандарт України).
7. Методы экспериментальной микологии / И.А. Дудка, С.П. Вассер, И.А. Элланская и др.; Под ред. В.И. Билай. - К.:Наукова думка, 1982.-548 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення впливу екзометаболітів культурних рослин на ріст і розвиток культур грибів некротрофного типу живлення, який включає субкультивування культур фітопатогенних мікроміцетів з корневими метаболітами культурних рослин, який **відрізняється** тим, що культури грибів вирощують на твердому поживному середовищі із додаванням певної кількості ексудатів культурних рослин, протягом відповідного періоду проводять спостереження за культурально-морфологічними ознаками колоній мікроміцетів та здійснюють їх виміри, інтенсивність спороутворення встановлюють шляхом прямого підрахунку спор у камері Горяєва-Тома.



Фіг.1



Фіг.2

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601