

Н.В. ПИЛЯК

О.М. НІКІПЕЛОВА, доктор хімічних наук

Інженерно-технологічний інститут «Біотехніка»,
НААН України, Маяцька дорога, 26, смт Хлібодарське,
Одеський р-н, Одеська обл., 67667, Україна
e-mail: nceb2017@gmail.com, olena.nikihelova2020@gmail.com

ПЕРСПЕКТИВНІ МІКРООРГАНІЗМИ ДЛЯ ЗБЕРІГАННЯ ПЛОДІВ ЯБЛУНЬ В УМОВАХ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР

Мета. Підібрати перспективні мікроорганізми з колекції культур мікроорганізмів з агрономічно цінними властивостями від ІТІ «Біотехніка» НААН для зберігання плодів яблунь в умовах низьких температур. **Методи.** Дослідження проводили з використанням загальноприйнятих методик та методичних підходів, що використовуються в мікробіології та біотехнології. **Результати.** Проведено комплекс досліджень з виділення шкідливих об'єктів, що уражують плоди яблунь при зберіганні в умовах низьких температур. В результаті досліджень виділено патогенні мікроорганізми родів *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus*. В лабораторних умовах проведено дослідження антагоністичної активності перспективних штамів мікроорганізмів з колекції ІТІ «Біотехніка» НААН проти фітопатогенів, які було виділено з уражених плодів яблунь. Для виконання цієї роботи з колекції Інституту відібрано грибні та бактеріальні штами з фунгіцидними властивостями. **Висновки.** Встановлено, що гриби роду *Trichoderma* проявили високу антагоністичну активність щодо фітопатогенів грибної етіології. Затримка росту шкідливих об'єктів становила 90—100%. Грибні штами-антагоністи *Gliocladium rozeum* і *Ampelomyces artemisia* шт. А-1 зумовили зони затримки росту фітопатогенів, які уражують плоди яблунь, у межах 75—80%. Серед бактеріальних штамів найактивнішими до вказаних фітопатогенів виявились *Pseudomonas aureofaciens* шт. 111 і *Pseudomonas fluorescens* шт. 2, які за рахунок високих титрів життездатних клітин і активних метаболітів пригнічували ріст фітопатогенів на 85—90%.

**колекційні штами мікроорганізмів; плодоовочева продукція;
фітопатогени; зберігання; антагоністична активність**

В садах України вирощуються яблука різних сортів, що ускладнює розробку єдиного комплексу збирання, технології зберігання, раціонального використання транспорту для доставки на зберігання і реалізацію [1]. Враховуючи, що плоди мають здатність достигати після зняття їх з материнської рослини, на довготривале зберігання закладають зимові сорти, які в процесі лежання набувають приємного смаку, специфічного аромату та необхідної консистенції.

Однією з головних причин втрат у процесі зберігання плодів є патогенні мікроорганізми, що проявляються у післязбиральний період. Втрати, спричинені шкідливими об'єктами, в різні роки складають в середньому 6,2—23,2% всієї вирощеної рослинної продукції.

На поверхні плодів перебуває велика кількість мікроорганізмів, які потрапляють на рослинні об'єкти під час вирощування, збирання, транспортування й зберігання [2—5]. Кількість цвілевих грибів на 1 кг плодів, ягід та овочів становить до 7×10^6 клітин, дріжджів — до 3×10^7 , бактерій — до 1×10^8 ; з них кислотоутворюючих бактерій — до 5×10^5 клітин. Особливо багато мікроорганізмів на поверхні коренеплодів і картоплі. Високий рівень заселеності мікроорганізмами також у ягід, плодівих та зелених овочів. У плодів, особливо зерняткових культур, цей показник менший.

Хвороби, що виявляються при зберіганні, як правило, пов'язані з розвитком певних видів мікроорганізмів, до яких видова й сортова стійкість плодів та овочів ослаблена. Стійкість проти фітопатогенних мікроорганізмів змінюється в процесі зберігання продукції. При дозріванні й старінні опірність розвитку інфекції зменшується. Види й сорти плодів та овочів різняться за ступенем стійкості проти мікроорганізмів.

Навіть за знижених температур втрати від бактеріальних, а особливо грибних захворювань, залишаються значними [6]. Тому пошук методів захисту від фітопатогенів при зберіганні плодоовочевої продукції є дуже актуальним.

Для зниження втрат плодів від шкідливих організмів у процесі зберігання найбільш доцільно використовувати біологічні методи захисту, що базуються на застосуванні мікробіопрепаратів, основою яких є живі мікроорганізми та/або продукти їхньої життєдіяльності.

Перспективним препаратом для захисту плодів від широкого спектра грибних і бактеріальних захворювань є біопрепарат Триходермін БТ, що виробляється на основі гриба роду *Trichoderma*. Він пригнічує розвиток фітопатогенів прямим паразитуванням, конкуренцією за субстрат, виділенням ферментів, антибіотиків (гліотоксину, віридину) та інших біологічно активних речовин.

За рахунок високої біологічної активності гриб роду *Trichoderma* швидко освоює плодівий субстрат, підвищуючи його стійкість проти хвороб [7]. Важливу роль у пригніченні розвитку захворювань сіль-

ського господарських культур відіграють бактерії роду *Bacillus* [8]. Встановлено також доцільність застосування бактерій роду *Pseudomonas*, які широко застосовують у нашій країні та за її межами для контролю розвитку фітопатогенів [9].

Застосування біопрепаратів для захисту рослин від шкідників і хвороб та при зберіганні плодоовочевої продукції в умовах низьких температур безпечно для людей і тварин. На відміну від хімічних засобів застосування біопрепаратів супроводжується збереженням чисельності корисної фауни й стабілізацією біоценотичних зв'язків в екосистемі. Екологічною перевагою мікробіологічних препаратів є також їхня висока видова специфічність щодо шкідливих організмів [10—12].

Використання традиційних мікробіологічних методів для контролю складу і чисельності мікробіоти плодів дозволить удосконалити параметри зберігання і транспортування продукції, підвищити якість, знизити втрати, подовжити терміни її зберігання.

Мета досліджень. Підібрати перспективні мікроорганізми з колекції культур мікроорганізмів ІТІ «Біотехніка» НААН з агрономічно-цінними властивостями для зберігання плодів яблунь в умовах низьких температур.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили з використанням загальноприйнятих методик та методичних підходів, що використовуються в мікробіології та біотехнології [13, 14]. Шкідливі об'єкти виділяли із зіпсованих плодів яблунь, застосовуючи метод посіву на селективні поживні середовища (м'ясо-пептонний агар (МПА), середовище Сабуро) [13]. Антагоністичні властивості колекційних мікроорганізмів щодо фітопатогенів, виділених з уражених плодів яблунь, визначали методом перпендикулярних штрихів. Індекс антагонізму оцінювали, враховуючи зону відсутності росту досліджуваних тест-об'єктів [13].

Результати досліджень та обговорення. Зберігання продукції рослинництва відбувається в умовах широкого доступу до неї мікроорганізмів. Усі рослини мають прижиттєву, властиву їм епіфітну мікрофлору, а хворі рослини — і відповідних збудників інфекції. Під час збирання врожаю ця мікрофлора поповнюється мікроорганізмами з навколишнього середовища (головним чином, з ґрунту). Тому кожен об'єкт зберігання містить значну кількість мікроорганізмів, здатних за певних умов активно розмножуватись і впливати на якість продуктів, що зберігаються.

У зв'язку з цим проведено комплекс досліджень з виділення шкідливих об'єктів, які уражують плоди яблунь при зберіганні в умовах низьких температур. В результаті досліджень було виділено патогенні мікроорганізми родів *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus*.

В лабораторних умовах досліджено антагоністичну активність пер-

спективних штамів мікроорганізмів з колекції ІТІ «Біотехніка» НААН проти фітопатогенів, які було виділено з уражених плодів яблунь. Для виконання цієї роботи з колекції Інституту було відібрано грибні та бактеріальні штами з фунгіцидними властивостями:

- грибні штами *Trichoderma viride* шт. Т-4, *Gliocladium rozeum*, *Ampelomyces artemisia* шт. А-1, *Coniotirium minitans* шт. С-20;
- бактеріальні штами *Pseudomonas aureofaciens* шт. 111, *Pseudomonas fluorens* шт. 2, *Bacillus subtilis* шт. 215, *Bacillus subtilis* шт. 26D.

Антагоністичні властивості колекційних мікроорганізмів щодо фітопатогенів, які виділено з уражених плодів яблунь, визначали методом перпендикулярних штрихів. Індекс антагонізму оцінювали, враховуючи зону відсутності росту досліджуваних тест-об'єктів (рис. 1).

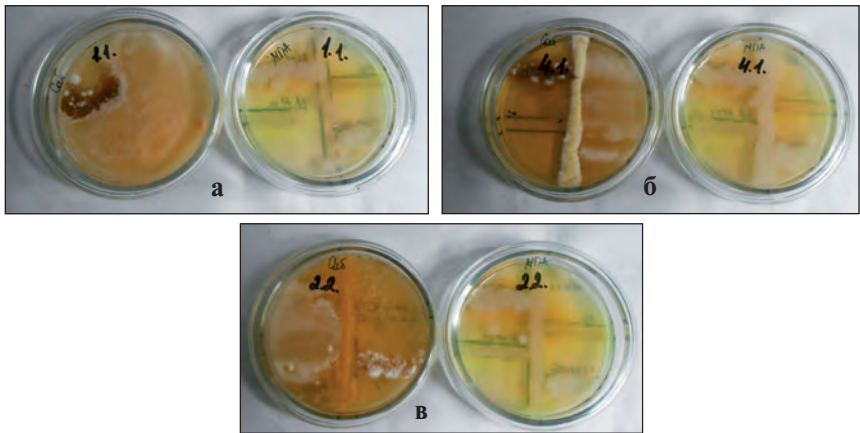


Рис. 1. Антагоністична активність колекційних штамів мікроорганізмів проти фітопатогенів на початку досліджу: а — *Penicillium*; б — *Botrytis*; в — *Aspergillus*

Встановлено, що гриби роду *Trichoderma* проявили високу антагоністичну активність до фітопатогенів грибної етіології. Затримка росту шкідливих об'єктів становила 90—100% (рис. 1б, 2). Грибні штами-антагоністи *Gliocladium rozeum* і *Ampelomyces artemisia* шт. А-1 викликали зони затримки росту фітопатогенів у межах 75—80%, а *Coniotirium minitans* шт. С-20 зовсім не проявив антагоністичної активності до фітопатогенів, які уражують плоди яблунь (рис. 1а, 2, 3).

Серед бактеріальних штамів найактивнішими щодо всіх вказаних фітопатогенів виявились *Pseudomonas aureofaciens* шт. 111 і *Pseudomonas fluorens* шт. 2, які за рахунок високих титрів життєздатних клітин і активних метаболітів стримували ріст фітопатогенів на 85—90% (рис. 3).

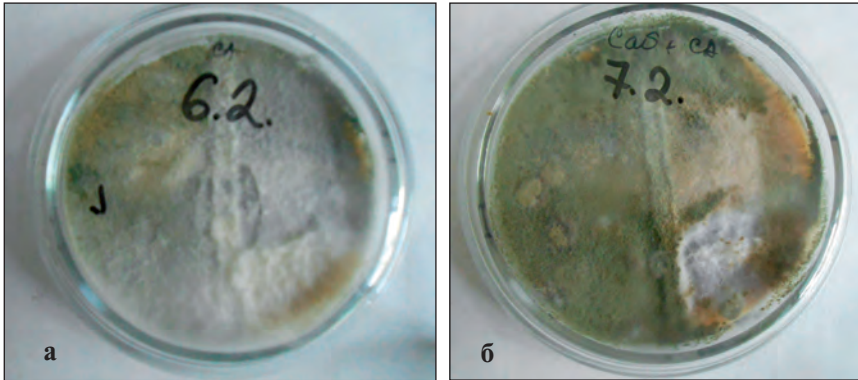


Рис. 2. Антагоністична активність
грибних колекційних штамів наприкінці досліду:
а — *Penicillium*; б — *Botrytis*

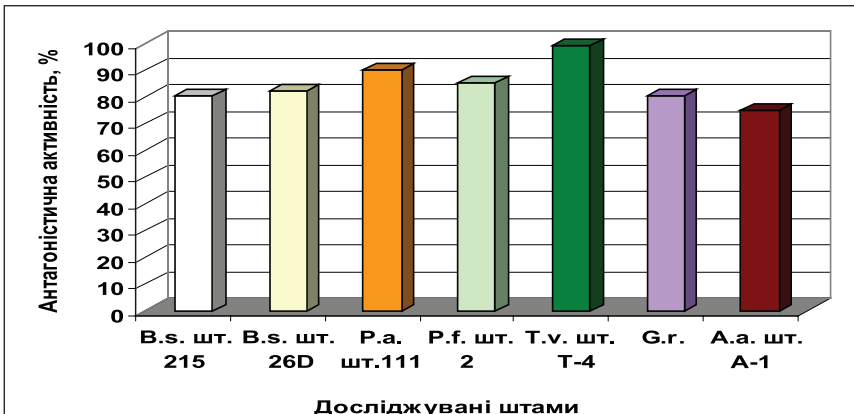


Рис. 3. Антагоністична активність колекційних мікроорганізмів:
B.s. — *Bacillus subtilis* шт. 215; *B.s.* — *Bacillus subtilis* шт. 26D;
P.a. — *Pseudomonas aureofaciens* шт. 111; *P.f.* — *Pseudomonas fluorescens* шт. 2;
T.v. — *Trichoderma viride* шт. T-4; *G. r.* — *Gliocladium r.*;
A.a. — *Ampelomyces artemisia* шт. A-1

В результаті досліджень відібрано перспективні штами з високою біологічною активністю, що здатні пригнічувати домінуючі фітопатогени плодів яблунь:

- *Bacillus subtilis* шт. 215;
- *Bacillus subtilis* шт. 26D;
- *Pseudomonas aureofaciens* шт. 111;
- *Pseudomonas fluorescens* шт. 2;

- *Trichoderma viride* шт. Т-4;
- *Gliocladium rozeum*;
- *Ampelomyces artemisia* шт. А-1.

Найбільш перспективним для захисту плодів від захворювань, які викликають патогенні мікроорганізми, визначено штам *Trichoderma viride* шт. Т-4, що пригнічує розвиток фітопатогенів на 90—100%.

ВИСНОВКИ

В результаті досліджень відібрано перспективні штами з високою біологічною активністю, що здатні пригнічувати домінуючі фітопатогени плодів яблуна. Встановлено, що гриби роду *Trichoderma* проявили високу антагоністичну активність до фітопатогенів грибної етіології. Затримка росту шкідливих об'єктів становила 90—100%. Грибні штами-антагоністи *Gliocladium rozeum* і *Ampelomyces artemisia* шт. А-1 викликали зони затримки росту фітопатогенів в межах 75—80%. Серед бактеріальних штамів найактивнішими щодо всіх вказаних фітопатогенів виявились *Pseudomonas aureofaciens* шт. 111 і *Pseudomonas fluorescens* шт. 2, які за рахунок високих титрів життєздатних клітин і активних метаболітів стримували ріст фітопатогенів на 85—90%. Можна сподіватися, що застосування препаратів на основі мікроорганізмів, які досліджували, при зберіганні рослинної продукції в умовах низьких температур забезпечить знищення шкідливої мікрофлори плодів, дасть можливість зменшити втрати тургору продукції та запобігти значним втратам за рахунок усушки.

Фінансування: дослідження проводили в рамках ПНД 11 «Біологічні методи захисту рослин за умов екологізації землеробства» («Біо-контроль»); ДР № 0121U108491.

Конфлікт інтересів: автори декларують про відсутність конфлікту інтересів.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. Опалко А.І., Опалко О.А. Проблеми і перспективи селекційно-генетичного вдосконалення яблуни (*MALUS MILL.*). Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015. Т. 16. С. 141-146.
2. Youming Shen, Jianyi Zhang, Jiyun Nie, Hui Zhang, Syed Asim Shah Bacha. Apple microbial communities and differences between two main Chinese producing regions. Food Quality and Safety. 2022. 6: fyab033. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyab033>
3. Jürgen Köhl, Rogier Kolnaar, Willem J. Ravensberg. Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. Front. Plant Sci. 19 July 2019. Vol. 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>

4. Pankaj Trivedi, Jan E. Leach, Sunnah G. Tringe et al. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews microbiology*. 2020. 18(11): 07-621. [https:// doi.org/ 10.1038/s41579-020-0412-1](https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1)

5. Bösch Y., Britt E., Perren S. et al. Dynamics of the Apple Fruit Microbiome after Harvest and Implications for Fruit Quality. *Microorganisms*. 2021. 9. 272. [https:// doi.org/10.3390/microorganisms9020272](https://doi.org/10.3390/microorganisms9020272)

6. Karina Juhnevica-Radenkova, Vitalijs Radenkovs, Dalija Seglina. Microbiological changes and severity of decay in apples stored for a long-term under different storage conditions. *Zmdirbyste-Agriculture*. 2016. vol. 103. No. 4. P. 391-396. [https:// doi.org/0.13080/z-a.2016.103.050](https://doi.org/10.13080/z-a.2016.103.050)

7. Дідик Н.Н., Стрижков А.Г., Шепель С.В. Використання біопрепаратів при зберіганні рослинних продуктів. *Аграрний вісник Причорномор'я. Сільськогосподарські науки*. 2003. Вип. 3 (6). Частина II: Агрономія. С. 147-149.

8. Титаренко Н.В., Теслюк Н.І., Іваниця В.О. Перспективи використання бактерій у культурі клітин та тканин рослин. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2020. № 3. С. 6-31. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.3\(50\).214202](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.3(50).214202)

9. Марков І.Л. Біологічний метод захисту рослин від хвороб. *Агроном*. 2013. № 3. С. 60-62.

10. Павленко В.П. Підсумки дослідження видового складу грибів на плодах яблуни в умовах зберігання. *Садівництво*. 2002. Вип. 54. С. 213-221.

11. Barth M., Hankinson T.R., Zhuang H., Breidt F. Microbiological spoilage of fruits and vegetables. *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages*. 2009. P. 135-183. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1_6

12. Urrea R., Cabezas L., Sierra R., et al. Selection of antagonistic bacteria isolated from the *Physalis peruviana* rhizosphere against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology*. 2011. Vol. 111. Is. 3. P. 707-716. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05092.x>

13. Чайковська В.В., Чабанюк Я.В., Опришко Н.О. та ін. Антогоністичні властивості бактерій ризосфери сільськогосподарських культур. *Наук. доп. НУБіП*. 2012. Вип. 2(31). http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012_2/12cvv.pdf

14. Волкогон В.В., Надкринична О.В., Токмакова Л.М. та ін. Експериментальна ґрунтова мікробіологія ; за наук. ред. В.В. Волкогона. Інститут сільськогосподарської мікробіології. Чернігів, 2010. С. 308-382.

Pyliak N., ORCID: 0000-0002-5074-4011

Nikipelova O., ORCID: 0000-0003-3167-6970

Engineering and Technological Institute «Biotechnica» of NAAS,
26, Mayatska road, Khlibodarske township, Odesa district,

Odesa region, 67667, Ukraine
e-mail: nceb2017@gmail.com;
olena.nikihelova2020@gmail.com

Prospective microorganisms for the storage of apple fruits in the conditions of the refrigerator

Goal. To select promising microorganisms from the collection of cultures of microorganisms with agronomically valuable properties of ETI «Biotechnica» of NAAS for storage of apple fruits in the refrigerator. **Methods.** Research was conducted using generally accepted methods and methodical approaches used in microbiology and biotechnology. **Results.** A set of studies was conducted to isolate harmful objects that affect apple fruits when stored in refrigeration conditions. As a result of research, such pathogenic microorganisms as: *Botrytis* (gray fruit rot); *Rhizopus* (gray mold); *Aspergillus* (black mold); *Penicillium* (green mold). In laboratory conditions, a study of the antagonistic activity of promising strains of microorganisms from the collection of ETI «Biotechnica» of NAAS against phytopathogens that were isolated from affected fruits was conducted. To perform the work, fungal and bacterial strains of microorganisms with fungicidal properties were selected from the institute's collection. **Conclusions.** It was established that the fungi of the genus *Trichoderma* showed high antagonistic activity against phytopathogens of fungal etiology. The delay in the growth of harmful objects was at the level of 90—100%. Antagonist fungal strains *Gliocladium rozeum* and *Ampelomuces artemisia* pcs. A-1, caused growth retardation zones of phytopathogens in the range of 75—80%, and *Soniotirium minitans* pcs. C-20 showed absolutely no antagonistic activity against phytopathogens affecting apple fruits. Among the bacterial strains, *Pseudomonas aureofaciens* pcs. 111 and *Pseudomonas fluorescens* pcs. AR33, which suppressed the growth of phytopathogens by 85—90% due to high titers of viable cells and active metabolites. Among the bacterial strains, *Pseudomonas aureofaciens* pcs. 111 and *Pseudomonas fluorescens* pcs. AR33, which suppressed the growth of phytopathogens by 85—90% due to high titers of viable cells and active metabolites.

collection strains of microorganisms; fruit and vegetable products; phytopathogens; storage; antagonistic activity

REFERENCES

1. Opalko A.I., Opalko O.A. (2015). Problemy i perspektyvy selektsijno-henetychnoho vdoskonalennia iabluni (*MALUS MILL.*). [Problems and prospects of breeding and genetic improvement of the apple tree (*MALUS MILL.*)]. Faktory eksperymental'noi evoliutsii orhanizmiv, 16:141-146. (in Ukrainian).

2. Youming Shen, Jianyi Zhang, Jiyun Nie, Hui Zhang, Syed Asim Shah Bacha (2022). Apple microbial communities and differences between two main Chinese producing regions. *Food Quality and Safety*, 6: fyab033. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyab03>

3. Jürgen Köhl, Rogier Kolnaar, Willem J. Ravensberg. (19 July 2019). Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Front. Plant*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>

4. Pankaj Trivedi, Jan E. Leach, Sunnah G. Tringe, Tongmin Sa & Brajesh K. Singh (2020). Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews microbiology*, 18(11): 07-621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>

5. Bösch Y., Britt E., Perren S., Andreas Naef, Jürg E. Frey, Andreas Bühlmann (2021). Dynamics of the Apple Fruit Microbiome after Harvest and Implications for Fruit Quality. *Microorganisms*, 9, 272. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020272>

6. Karina Juhnevica-Radenkova, Vitalijs Radenkovs, Dalija Seglina. (2016). Microbiological changes and severity of decay in apples stored for a long-term under different storage conditions. *Zemdirbyste-Agriculture*, 103(4), 391-396. <https://doi.org/10.13080/z-a.2016.103.050>

7. Didyk N.N., Stryzhkov A.H., Shepel' S.V. (2003). Vykorystannia biopreparativ pry zberihanni roslynykh produktiv. [The use of biological preparations in the storage of plant products]. *Ahrarnyj visnyk Prychornomor'ia. Sil'skohospodars'ki nauky*, 3 (6), 147-149, Chastyna II: Ahronomiia. (in Ukrainian).

8. Tytarenko N.V., Tesliuk N.I., Ivanytsia V.O. (2020). Perspektyvy vykorystannia bakterij u kul'turi klityn ta tkanyh roslyn. [Prospects for the use of bacteria in the culture of plant cells and tissues]. *Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia*, 3, 6-31. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.3\(50\).214202](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.3(50).214202). (in Ukrainian).

9. Markov I.L. (2013). Biolohichnyj metod zakhystu roslyn vid khvorob. [Biological method of protecting plants from diseases]. *Ahronom*, 3, 60-62. (in Ukrainian).

10. Pavlenko V.P. (2002). Pidsumky doslidzhennia vydovoho skladu hrybiv na plodakh iabluni v umovakh zberihannia. [Results of the study of the species composition of fungi on apple fruits under storage conditions]. *Sadivnytstvo*, 54, 213-221. (in Ukrainian).

11. Barth M., Hankinson T.R., Zhuang H., Breidt F. (2009). Microbiological spoilage of fruits and vegetables. *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages*, 2009:135-183. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1_6

12. Urrea R., Cabezas L., Sierra R., Cárdenas M., Restrepo S., Jiménez P. (2011). Selection of antagonistic bacteria isolated from the *Physalis peruviana* rhizosphere against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology*, 111(3), 707-716. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05092.x>

13. Chajkovs'ka V.V., Chabaniuk Ya.V., Opryshko N.O., Bunas A.A., Yashchuk V.U. (2012). Antohonistychni vlastyvosti bakterij ryzosfery sil's'kohospodars'kykh kul'tur. [Antagonistic properties of rhizosphere bacteria of agricultural crops]. *Nauk. dop. NUBiP*, 2(31). http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012_2/12cvv.pdf. (in Ukrainian).

14. Volkohon V.V., Nadkrynychna O.V., Tokmakova L.M. et al. (Volkohon V.V. Ed.). (2010). *Ekspyrymental'na gruntova mikrobiolohiia*. [Experimental soil microbiology]. Instytut sil's'kohospodars'koi mikrobiolohii. Chernihiv, 308-382. (in Ukrainian).

Надійшла до редакції: 05.09.2023. **Прийнята до друку:** 09.09.2023

Надруковано: грудень, 2023

Опубліковано онлайн: лютий, 2024