МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.02 – МКР. 2176 “С” 2023.11.27. 48 ПЗ

БОНДАР АНТОН ОЛЕКСАНДРОВИЧ

2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультету захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 632.3:57:632.93:633.15

ПОГОДЖЕНО	**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**
Декан факультету	**Завідувач кафедри**
захисту рослин, біотехнологій та екології	**фітопатології імені**
	акад. В.Ф. Пересипкіна
_____ Коломієць Ю.В.	**_____ Гентош Д.Т.**
«___» _____ 2024 р.	«____» _____ 2024 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: Біологічні особливості збудника бактеріозу качанів кукурудзи *Bacillus subtilis* та контроль його поширення

Спеціальність 202 Захист і карантин рослин

Освітня програма Захист рослин

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Гарант освітньої програми,	
д.с.-г.н., професор	**Доля М.М.**
Керівник магістерської кваліфікаційної роботи,	
к.б.н., с.н.с.	**Артемчук І.П.**
Виконав	**Бондар А.О.**

КИЇВ – 2024

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
фітопатології імені
акад. В.Ф. Пересипкіна
_____ Гентош Д.Т.
«____» _____ 2024 р.

З А В Д А Н Н Я

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

Бондарю Антону Олександровичу

Спеціальність 202 Захист і карантин рослин

Освітня програма Захист рослин

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Тема магістерської кваліфікаційної роботи: Біологічні особливості збудника бактеріозу качанів кукурудзи *Bacillus subtilis* та контроль його поширення

затверджена наказом ректора НУБіП України від 27 листопада 2023 р. №2176 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру: 15 листопада 2024 р.

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи: збудник бактеріозу качанів кукурудзи, *Bacillus subtilis,* контроль

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Виявлення збудника бактеріозу качанів кукурудзи

2. Вивчення біологічних властивостей *Bacillus subtilis*

3. Дослідження впливу пестицидів на *Bacillus subtilis*

Дата видачі завдання “10” вересня 2023 р.

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи **І.П. Артемчук**

Завдання прийняв до виконання **А.О. Бондар**

РЕФЕРАТ

Робота виконана на 50 сторінках, містить 3 розділи, 3 рисунки, 5 таблиць, 47 джерел використаної літератури.

Метою роботи було виявлення та виділення збудників бактеріальних хвороб кукурудзи, вивчення їхніх основних біологічних властивостей.

За рівнем поширення, універсальністю використання та енергетичною поживністю кукурудза (*Zea mays* L.) належить до найбільш важливих продовольчих, кормових і технічних культур на земній кулі. Не дарма її називають «царицею полів». Найбільші виробники кукурудзи – США, Китай, Бразилія, країни ЄС та Аргентина. За даними USDA Україна посідає 6 місце в рейтингу світових виробників кукурудзи [1].

Кукурудза в Україні користується великим попитом, адже її зерно вважається найпродуктивнішим для аграріїв. За останні роки кукурудза займає одне зі стратегічно важливих місць у зерновому балансі поряд з іншими зерновими культурами, збільшивши частку в загальній структурі виробництва усього зерна майже до 50 %. Якщо аналізувати вітчизняну статистику динаміки росту посівних площ і урожайності, то кукурудза є лідером серед усіх сільськогосподарських культур [2]. В Україні за останні п’ять років площі посіву кукурудзи постійно зростають. Так, у 2016–2020 рр. збиральні площі під цією культурою збільшилися з 4,2 до 5,4 млн га, або в 1,3 рази [3]. Слід відмітити також постійне зростання обсягів експорту зерна кукурудзи. Для України – це експортно орієнтовна культура. Попит внутрішнього ринку на продовольчу та фуражну кукурудзу становить близько третини її загального виробництва. Тож більша частина урожаю реалізується на зовнішньому ринку [4]. Завдяки постійному зростанню площ посівів кукурудзи в Україні збільшується і потреба сільськогосподарського виробництва в нових високопродуктивних вітчизняних гібридах кукурудзи зі стабільною урожайністю та високою стійкістю до хвороб та шкідників. Сучасні гібриди кукурудзи мають високий потенціал урожайності, але у виробництві він реалізується неповністю через недостатню стійкість їх до хвороб. Найбільш

економічно ефективним методом боротьби з хворобами та шкідниками є створення і використання у виробництві стійких гібридів кукурудзи. В селекційних програмах гостро стоїть питання вирішення проблеми поєднання продуктивності рослин і стійкості їх до різних стресових факторів навколишнього середовища, тобто підвищення адаптивного потенціалу сільськогосподарських культур [5]. Селекційні дослідження спрямовані на поглиблення знань про характер успадкування господарсько-цінних ознак з метою цілеспрямованого створення і добору вихідного матеріалу для синтезу високопродуктивних гібридів кукурудзи. У сільськогосподарському виробництві кукурудза все частіше висівається в умовах мононокультури, а це сприяє накопиченню у ґрунті збудників хвороб. Світові втрати зерна кукурудзи внаслідок шкодочинної дії фітопатогенів становить в середньому 9,4 %, а в Україні цей показник перебуває у межах 19–25 % і більше [6]. Втрати врожаю від хвороб та шкідників значно коливаються по роках. Це залежить від ґрунтово-кліматичних умов, які можуть сприяти або пригнічувати поширення цих чи інших шкідливих організмів

ЗМІСТ

Вступ ……. 7

Розділ 1. Огляд літератури …….. 9

1.1. Кукурудза – одна з давніх землеробських культур …… 9

1.2. Кукурудзяний качан як відходи сільського господарства … 13

1.3. Поширені захворювання качанів та листя кукурудзи …… 15

1.4. Фунгіциди й агротехнічні заходи для ефективного захисту кукурудзи ……. 25

Розділ 2. Матеріали та методи …… 28

2.1. Методи виділення фітопатогенних бактерій ……. 28

2.2. Методи перевірки патогенних властивостей бактерій ……. 31

2.3. Методи ідентифікації фітопатогенних бактерій …… 32

Розділ 3. Результати дослідження ……. 36

3.1. Властивості виділених ізолятів *Bacillus subtilis* ……..... 36

3.2. Вплив пестицидів на *Bacillus subtilis* ……. 42

Висновки …….. 45

Список використаних джерел ……. 46

ВСТУП

Кукурудза одна з найцінніших кормових культур. За врожайністю зерна вона перевищує всі зернові культури. Зерно використовується на продовольчі цілі (20%), технічні (15-20%) і на фуражні (60-65%). За вмістом кормових одиниць зерно кукурудзи переважає овес, ячмінь, жито. Кілограм його містить 1,34 кормової одиниці, 78 г перетравного протеїну. Протеїн представлений неповноцінним зеїном і глютеліном, тому згодовувати зерно слід у суміші з високопротеїновими кормами. У зерні кукурудзи 65-70% вуглеводів, 9-12% білка, 4—8% рослинної олії (у зародку до 40%) і лише близько 2% клітковини. Містяться вітаміни А, Вр В2, В6, Е, С, незамінні амінокислоти, мінеральні солі і мікроелементи. Вміст білка невисокий, він дефіцитний за деякими незамінними амінокислотами, особливо за вмістом лізину і триптофану.

Кукурудза - одна з найбільш поширених зернових культур. Із загальної світового виробництва зерна кукурудзи близько 65% йде на корм худобі. Зерно використовують в цілому, роздробленому або розмолотому вигляді в якості основного незамінного компонента концентрованого корму, придатного для годування всіх сільськогосподарських тварин, особливо свиней і птиці. Воно характеризується високими кормовими якостями, так як має майже всі необхідні поживні речовини в легкозасвоюваній формі.

Зерно кукурудзи використовується на продовольчі цілі. З нього виготовляють понад 150 харчових і технічних продуктів: борошно, крупу, пластівці, крохмаль, сироп, глюкозу, спирт. Із 100 кг зерна одержують 37-40 л спирту, що на 3-5 л більше, ніж із зерна інших культур. Із зародків зерна добувають цінну харчову олію, яка має лікувальні властивості (зменшує вміст холестерину в крові і запобігає захворюванню на атеросклероз). Із стрижнів качанів виготовляють фурфурол, лігнін, ксилозу, одержують целюлозу і папір. З 1 ц зерна можна одержати 56 кг крохмалю (або 60 кг фруктози чи 38 л спирту), 22,4 кг корму з вмістом протеїну 21%, 5,2 кг глютенового борошна і 2,7 кг кукурудзяної олії. Кукурудза, як просапна культура має важливе агротехнічне значення.

Щоб ефективно контролювати захворювання кукурудзи, краще запобігати спалаху захворювання або контролювати його, коли хвороба знаходиться на низькому рівні, а не намагатися впоратися з хворобою, яка вже завдала значної шкоди. Обстеження поля на наявність хвороб протягом вегетаційного періоду, висаджування стійких до хвороб сортів (якщо можливо) і дотримання сівозмін – усе це може зменшити ймовірність більшості спалахів захворювань у майбутньому.

Щотижневе обстеження поля може надати інформацію про наявні хвороби, ступінь тяжкості та потенційну втрату врожаю, якщо їх не лікувати. Немає кращого способу визначити стан захворювання на врожаї кукурудзи, ніж фактично перебувати в полі, щоб особисто побачити ці проблеми та прийняти обґрунтовані рішення щодо того, яку тактику управління слід застосовувати. Перегляд історії поля, виявлення хвороб і картографування проблем із захворюваннями на полі – все це корисна інвестиція часу, яка допоможе в боротьбі з хворобами кукурудзи.

Рішення про те, який сорт/сорти кукурудзи вирощувати, може бути складним, а облік стійкості до хвороб може посилити труднощі. У деяких випадках підвищення врожайності та високий рівень стійкості до хвороб може бути неможливим (як у випадку стеблової гнилі) або стійкі сорти просто недоступні. Завжди, коли це можливо, завжди доцільно використовувати сорти, стійкі до хвороби, особливо якщо конкретна хвороба була проблемою в минулому.

Вирощування кукурудзи на одному полі протягом наступних років може бути бажаним з кількох причин. Однак існують ризики, якщо не використовувати інші культури в сівозміні в полі, оскільки популяція збудників хвороби кукурудзи може з часом збільшуватися, збільшуючи ймовірність великого спалаху хвороби з подальшою втратою врожаю. У регіонах, де хвороба стає проблемою, поле не слід засівати кукурудзою (або будь-якими спорідненими культурами) протягом кількох років, щоб зменшити рівень патогенів (і ризик спалахів хвороби) на полі.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Кукурудза – одна з давніх землеробських культур

Вона є однією з найбільш продуктивних злакових культур універсального призначення, яку вирощують для продовольчого, кормового і технічного призначення. У країнах світу для продовольчих потреб використовується приблизно 20% зерна кукурудзи, для технічних 15-20%, на корм худобі 60 - 65%.

У нашій країні кукурудза є найважливішою кормовою культурою. За її рахунок тваринництво забезпечується концентрованими кормами, силосом і зеленою масою [1].

Найбільш цінний корм – зерно кукурудзи, яке містить 9-12% білків, 65-70% вуглеводів, 4-8% олії, 1,5% мінеральних речовин. У 100 кг його міститься 134 корм, од., до 8 кг перетравного протеїну.

Кукурудзяне борошно широко використовують у кондитерській промисловості – для виготовлення бісквітів, печива, запіканок. Із зерна виробляють харчові пластівці, повітряну кукурудзу, крупу. Причому за вмістом білків (12,5%) кукурудзяна крупа переважає інші крупи (пшоно, ячмінну, гречану).

Із зерна виробляють харчовий крохмаль, сироп, цукор, мед. Вживають у їжу недостигле зерно, особливо цукрової кукурудзи, у вигляді варених качанів. Із зародків зерна добувають рослинну олію, яка є не тільки висококалорійним продуктом харчування, а й має лікувальні властивості: містить лецетин, який знижує вміст холестерину в крові і запобігає атеросклерозу.

Зерно кукурудзи використовують для виробництва різних прохолодних напоїв, піностійких сортів пива, етилового спирту, гліцерину, органічних кислот (молочної, лимонної, оцтової та ін.), із стебел та стрижнів качанів виробляють папір, целюлозу, ацетон, метиловий спирт та ін. Із стовпчиків

маточок незрілих качанів готують відвари, які вживають при гострих захворюваннях і хронічних запаленнях печінки, нирок та сечового міхура.

Підраховано, що з кукурудзи виготовляють понад 300 різних виробів, значна частина яких, у свою чергу, є сировиною для виготовлення іншої продукції. Наприклад, з кукурудзяного сиропу виробляють каучук, фарби, різні антисептики, розчинники олії та ін.

Селекціонери працюють над виведенням високоолійних форм кукурудзи. Вже є форми із вмістом олії в зерні понад 15%.

Рис. 1.1. Зовнішній вигляд культури [8]

Рис. 1.2. Зовнішній вигляд культури [8]

У світовому землеробстві, у тому числі й в Україні, кукурудзу використовують як універсальну культуру - на корм худобі, для продовольчих і технічних потреб – виробництва круп і борошна, харчового крохмалю та рослинної олії, меду й цукру, декстрину та етилового спирту тощо. Це одна з найпоширеніших сільськогосподарських культур.

Рід кукурудзи (*Zea* L.) представлений одним видом - кукурудзою (маїс) культурною (*Zea mays* L.). Тривалий час вважали родоначальником кукурудзи однорічну багатостеблу рослину тео-синте, доки не було встановлено, що само тео-синте походить від кукурудзи. Тео-синте утворює дворядний початок із зернівками, які охоплені лусками і не вимолочуються. Трапляється в Центральній Америці як бур'ян у посівах кукурудзи. Зустрічається тео-синте багаторічне - багатостебла рослина, яка також є бур'яном на кукурудзяних полях у Центральній Америці.

Кукурудза культурна (2n-42) – однорічна трав'яниста рослина, яка зовнішнім виглядом значно відрізняється від інших злакових рослин.

Коренева система мичкувата, добре розвинена, окремі корені проникають у ґрунт на глибину 2-3 м. У кукурудзи розрізняють кілька ярусів коренів: зародкові, гіпокотильні, епікотильні, підземні вузлові та надземні стеблові (повітряні, або опірні). Основну масу кореневої системи становлять підземні вузлові корені, які заглиблюються у ґрунт до 2,5 м і більше та розходяться в боки у радіусі понад 1 м. Ярусне розміщення коренів у ґрунті з перевагою основної частини їх у гумусовому шарі більш повно забезпечує рослину елементами живлення і вологою за рахунок літніх опадів.

Стебло у кукурудзи – міцна, груба, округла соломина, заповнена нещільною паренхімою. Висота його залежно від біологічних особливостей сорту чи гібрида та факторів урожайності коливається від 60-100 у ранньостиглих форм і до 5-6 м у пізньостиглих. Товщина – 2-7 см. Кількість міжвузлів на стеблі у ранньостиглої кукурудзи досягає 8-12, у дуже пізньостиглої - до 30-40 і більше.

Листки лінійно-ланцетні, великі, довжина листкової пластинки 70-110 см, ширина 6-12 см і більше. Листок зверху опушений, має невеликий язичок і не має вушок. Розміщуються листки на стеблі почергово, не затінюючи один одного. Краї їхні ростуть швидше, ніж середина, а тому є хвилястими, що збільшує загальну листкову поверхню рослини. Кількість листків на стеблі адекватна кількості стеблових вузлів. У кукурудзи на одній рослині формується чоловіче суцвіття - волоть і жіноче - початок, тобто вона є однодомною роздільностатевою рослиною.

Волоть у кукурудзи верхівкова, розміщується на кінці центрального стебла або на верхівках бічних пагонів - пасинках. На осі волоті переважна кількість бічних гілок першого порядку, рідко на двох-трьох нижніх утворюються гілки другого порядку. Колоски з чоловічими квітками розміщені вздовж кожної гілки двома або чотирма рядами, попарно, з яких один сидячий, другий на короткій ніжці.

Колоски двоквіткові; квітки тичинкові, з широкими опушеними перетинчастими колосковими лусками та тонкими м'якими - квітковими, між якими знаходиться три тичинки з двогніздими пиляками. У кожній добре розвиненій волоті утворюється до 1-1,5 тис. квіток, які за сприятливих умов зацвітають разом з жіночими квітками або на 2-4 дні раніше. Пилок переноситься вітром до 300-1000 м, що враховують при просторовій ізоляції насінних посівів кукурудзи.

Суцвіття з жіночими квітками - початки - розвиваються з частини найактивніших пазушних бруньок стеблових листків. На стеблі утворюються здебільшого 2-3 початки, решта бруньок не розвиваються.

Початок розміщується на короткій ніжці (стебельці), покритій зовні обгортковими листками, які відрізняються від звичайних стеблових добре розвиненими піхвами і редукованими пластинками. Внутрішні листки обгортки тонкі, майже плівчасті, світлі, зовнішні - товщі й зелені.

Основою початка є добре розвинений стрижень циліндричної або слабоконусоподібної форми, завдовжки 15-35 см. Маса його становить 15-

25% загальної маси початку. У комірках стрижня, які розміщуються поздовжніми рядами, розміщуються попарно колоски з жіночими квітками.

Колоски початку мають м'ясисті (при висиханні - шкірясті) колоскові луски та ніжні тонкі - квіткові. У кожному колоску знаходиться дві квітки, але утворює зернівку лише одна - верхня, друга, нижня - безплідна. Розміщені попарно колоски формують дві зернівки, тому початки мають парну кількість рядів зерен - від 8 до 24 і більше. Нормально розвинені жіночі квітки мають сформовані маточки, які складаються із зав'язі, довгого (до 40-50 см) ниткоподібного стовпчика і приймочки.

Плід у кукурудзи - гола зернівка різних розмірів і форми, консистенції та забарвлення [4].

1.2. Кукурудзяний качан як відходи сільського господарства

Кукурудза (*Zea mays*) є основною культурою з найбільшим виробництвом у світі, за оцінками, 1026 мільйонів тонн []. Кукурудза є універсальним товаром, і близько 7,42% загального світового виробництва припадає на Африку (FAOSTAT, 2019). На його частку припадає 30–50% у витратах сімей з низьким доходом як у Південній, так і в Східній Африці. Нігерія є 10-м найбільшим виробником кукурудзи в світі та одним із провідних виробників в Африці. Крім того, близько 60% кукурудзи, виробленої в Нігерії, переробляється на пиво, борошно, солодовий крохмаль, кукурудзяні пластівці, корм для тварин і декстрозу. Велика кількість виробленої кукурудзи призвела до того, що залишки стали джерелом серйозної екологічної загрози для країн-виробників. Побічний продукт кукурудзи, кукурудзяний качан є основною серцевиною кукурудзяного качана, де ростуть зерна. Кукурудзяні качани відокремлюються від зерна кукурудзи за допомогою машини або вручну в процесі виробництва кукурудзи. Кукурудзяний качан – це частина, яка залишилася після видалення зерен, і вона була класифікована як відходи, оскільки її економічна цінність не була добре зрозуміла або максимізована. Всього з 1 кг кукурудзи виходить

приблизно 0,22 кг качана. Лі та Чен (2020) висловили думку, що приблизно 203 мільйони тонн відходів можуть утворюватися щорічно через вирощування кукурудзи. Крім того, Prasad et al. (2020) включили кукурудзу до числа найбільш значних культур, що утворюють відходи, а її качани та листя – основними відходами.

У багатьох країнах, що розвиваються, найбільш загальне ставлення до утилізації сільськогосподарських відходів включає захоронення та спалювання на фермах після збору врожаю. Захоронення відходів сприяє зростанню хвороботворних мікроорганізмів, забрудненню підземних вод через просочування фільтратів і забрудненню повітря через виділення неприємних запахів. Спалювання сільськогосподарських відходів має на меті позбутися відходів або служити джерелом деревного вугілля та енергії для різних цілей. Однак спалювання може генерувати велику кількість парникових газів (CO_2, N_2O і CH_4), забруднювачі повітря (CO, NOx, SO_2, NH_3 і леткі органічні сполуки), а також інші тверді частинки [5]. Зростання утворення органічних відходів сільського господарства є прямим поясненням деяких із серйозних проблем навколишнього середовища, включаючи забруднення ґрунтових вод, викиди парникових газів і зростання патогенів [6]. Крім того, Міжнародне енергетичне агентство (МЕА) оцінило сектор утилізації відходів як джерело однієї п’ятої антропогенних викидів метану в усьому світі, що є головним джерелом зміни клімату [7]. Це було повторено Duque-Acevedo та ін. (2020), вважаючи, що сільське господарство відповідає за приблизно 21% викидів парникових газів. Крім того, кукурудзяні качани можна підвищити за допомогою компостування для отримання органічного гною або шляхом мікробної ферментації для виробництва високоякісних продуктів екологічно чистим способом.

Кукурудзяні качани становлять 27–30 % відходів кукурудзи. Це лігноцелюлозний матеріал із високим вмістом целюлози (69,2%), при цьому геміцелюлоза та лігнін становлять до 22,8% та 8% відповідно. Це потенційний корм для годування тварин або як добавка до кормового

субстрату [8], а в багатьох розвинених країнах залишки кукурудзи використовуються як сировина для виробництва енергії [9] або в розробці нових матеріалів, таких як змішаний цемент і кераміка [10]. Крім того, повідомляється, що качан кукурудзи є видатним джерелом вуглецю або субстратом для росту різноманітних промислово значущих грибів і бактерій, для виробництва нутрицевтичних і фармацевтично важливих ферментів. Згідно з Aachary та Prapulla (2011), існує достатньо можливостей для використання качанів кукурудзи для додавання вартості та використання в харчових цілях, таких як виробництво ксилоолігосахаридів (XOS), ксилози та ксиліту. Сесуріячан та ін. (2017) підкреслив, що оскільки кукурудзяний качан є відносно недорогою та вільно доступною біомасою, його можна використовувати в різноманітних промислових процесах. Таким чином, існують можливості для біотехнологічної валоризації качанів кукурудзи, і вони щодня збільшуються. Кукурудзяний качан використовувався як субстрат для вирощування їстівних грибів [11], його можна ферментувати, щоб використовувати як корм для тварин [12], які використовуються для виробництва ферментів [13] і можуть ефективно перетравлюватися мікробами при виробництві біопалива [14]. У всіх цих випадках качани кукурудзи, значні сільськогосподарські відходи, використовуються як субстрат для виробництва високоякісних продуктів за допомогою мікробної валоризації в рамках кругової та біоекономіки.

1.3. Поширені захворювання качанів та листя кукурудзи

Хвороби проростків/загнивання насіння

В’янення та опіки сходів спричинені великою кількістю ґрунтових та насіннєвих грибів. Проростаючі зерна кукурудзи можуть бути уражені, і сильна інфекція може вбити ембріон до проростання (зараження розсади до сходів) або знищити проростки до або після появи сходів (зараження розсади після сходів). Ці захворювання поширені на погано дренованих, холодних (нижче 10-13°C) і вологих ґрунтах. Глибина посіву, тип ґрунту, вік і якість

насіння, механічне пошкодження насіннєвої оболонки та генетична стійкість до інфекції впливають на тяжкість захворювання [15].

Хвороби, що викликають гниль насіння та ураження розсади, можна розділити на дві основні групи:

1. Патогени в або на насінні під час посадки. Гриби, пов'язані з насінням під час посадки, зазвичай викликають колосові гнилі, і включають види *Fusarium, Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Bipolaris* і *Alternaria* . (див. розділ «Гниль колоса та ядра»). Ступінь пошкодження залежить від того, наскільки сильно загнивали насіння до збору врожаю та кондиціонування.

2. Збудники хвороб у ґрунті при посадці. Види *Pythium* є найпоширенішими ґрунтовими грибами, які можуть викликати гниття насіння та загнивання коренів розсади, хоча види *Fusarium* також можуть діяти як збудники ґрунту для розсади. *Penicillium oxalicum* — це грибок, який може спричинити опіки розсади, які, на відміну від інших хвороб розсади, сприяють високим температурам [16].

Симптоми. Погана приживлюваність насаджень, різний час появи сходів і проміжки в рядках зазвичай є ознакою гнилі насіння або ураження сходів. Окремі симптоми рослин включають затримку росту, пожовтіння, в'янення та відмирання листя. Насіннєві гнилі та опіки можна сплутати з механічними чи хімічними пошкодженнями чи пошкодженням комахами. Тому для точної діагностики необхідне дослідження частин рослин під землею [17].

У досходової ураження розсади колеоптиль і коренева система, що розвивається, виглядають коричневими, мокрими та слизовими. У разі післясходової ураження розсади розсада може мати звужене стебло на лінії ґрунту, жовтіти, в'янути та загинути.

Цикл захворювання. Нитки росту гриба (міцелій) контактують з насінням або тканиною проростків і потрапляють у насіння через тріщини в оболонці насіння або шляхом прямого проникнення. Міцелій швидко проростає крізь клітини та між ними, вбиваючи насіння. Подібні напади можуть відбуватися через корінці та стебла шляхом прямого проникнення або

через рани. Міцелій проліферує в молодих клітинах, викликаючи швидкий розпад і загибель тканин [18].

Кореневі гнилі

Часто коренева гниль викликана діяльністю ряду різних грибів і бактерій, які атакують рослини, що наближаються до дозрівання. Виявлення однієї причини кореневої гнилі може бути проблематичним, оскільки вплив навколишнього середовища та стадія росту рослини впливатимуть на здатність конкретного збудника викликати кореневу гниль. Загалом цикли захворювання подібні, оскільки багато з цих грибів також викликають гниль стебла, а організми кореневої гнилі присутні в живих і мертвих рослинах кукурудзи та можуть виживати на кукурудзяних відходах і в ґрунті. Вони атакують мертві або відмирають тканини рослин і сприяють гниттю рослинних залишків. Спори деяких видів грибів, що викликають кореневу гниль, переносяться вітром [19].

Специфічні кореневі гнилі включають *фузаріозну* та *пітієву* кореневу гниль.

Фузаріозна коренева гниль (багато різних видів *Fusarium*)

Симптоми. Кореневі симптоми можуть варіюватися від незначного ненормального побуріння коренів до повного руйнування коренів. Рожевий відтінок коренів може свідчити про інфекцію *Fusarium graminearum* (збудник фузаріозу зернових).

Pythium Root Rot (різні гриби Pythium)

Симптоми. Заражені корені можуть мати коричневий або чорний колір. Над землею рослини можуть виглядати пожовклими та низькорослими. Зовнішня частина кореня може втратити колір, тоді як внутрішні частини залишаються білими [20].

Термін «стеблова гниль» використовувався для позначення будь-якої ситуації, коли стебла кукурудзи ламаються, вилягають або передчасно гинуть. У найсуворішому визначенні цей розділ буде стосуватися гнилі стебла як розпаду внутрішніх тканин стебла. В основному гриби стеблової гнилі, не

завдають значної шкоди здоровим рослинам. Хоча стебла містять високий рівень вуглеводів, рослини кукурудзи здатні переносити більшість мікроорганізмів, що викликають гниль стебла. Оскільки налив зерна зменшує запаси в стеблах, підвищується сприйнятливість до інфекції. Стеблові гнилі зазвичай спостерігаються пізніше в сезоні, часто через деякий час після зараження, коли зерно висихає на полі [21].

Першою ознакою гнилі стебла є в'янення рослини. Протягом наступних кількох днів листя стає сірим, колос опускається, а зовнішня сторона нижнього стебла стає коричневою. Коли зовнішня тканина стебла стає коричневою, тканина серцевини в найнижчому міжвузлі гниє і відділяється від шкірки. У міру того як гниюча тканина серцевини деградує, колись тверде стебло стає порожнистою та набагато слабшою трубкою, яка легше залягає. У рослин із загнилими стеблами майже завжди загнили коріння. Діагностика конкретних збудників гнилі стебла може бути важкою, оскільки низка грибів і бактерій можуть брати участь у спричиненні гнилі стебла [22].

Оскільки більшість ушкоджень, пов'язаних із стебловою гниллю, важко виявити до кінця сезону, поля кукурудзи слід оглянути через 40-60 днів після запилення, перш ніж помітити будь-яке вилягання. Два методи, які можна використовувати для виявлення стеблової гнилі, включають «тест на поштовх» і «тест на прищипування або стискання».

1. Тест Push Test – випадковим чином виберіть 20 рослин із 5 різних ділянок кукурудзяного поля (загалом 100 рослин). Натисніть на верхню частину рослини та зверніть увагу, полягала вона чи ні.

2. Тест на щипки або стискання – випадково виберіть 20 рослин із 5 різних ділянок кукурудзяного поля (загалом 100 рослин). Видаліть нижнє листя і прищипніть або стисніть стебло над корінням. Якщо плодоніжка легко стискається, з помірним натисканням, то вона гниє зсередини. Записують кількість загнилих стебел [23].

Незалежно від того, який метод використовується, якщо 10-15% рослин вилягають, слід розглянути питання про раннє збирання. Додаткові витрати на

сушку, які можуть виникнути, будуть покриті підвищенням ефективності збору врожаю, оскільки кукурудза матиме менше часу для гниття та згодом залягання на полі [24].

Антракнозна гниль стебла (*Colletotrichum graminicola*)

Симптоми. На відміну від інших стеблових гнильців, гриб Colletotrichum graminicola може загнивати кілька міжвузлів рослини. Полягання до дозрівання є найбільш очевидним симптомом, і в деяких випадках частини рослини над колосом відмирають, а нижні частини рослини залишаються зеленими. Найбільш очевидним симптомом антракнозної гнилі стебла є блискуче чорне знебарвлення біля основи стебла спочатку, а потім у верхніх загиблих частинах рослини. Це знебарвлення пояснюється масами грибкових ниток (міцелію) безпосередньо під поверхнею шкірки. Зовнішній вигляд симптомів може бути досить різноманітним, оскільки почорнілі ділянки можуть бути однорідними або у вигляді плям. Вони можуть виникнути будь-де на стеблі або іноді лише біля вузлів. Внутрішні тканини стебла часто чорніють або змінюють колір, виглядають подрібненими. Стебло можна легко стиснути між великим і вказівним пальцями. Зовнішні та внутрішні симптоми не завжди відображають один одного, оскільки рослини зі знебарвленою зовнішньою шкіркою можуть мати внутрішні тканини, які виглядають здоровими, або стебла, які мають знебарвлену серцевину, можуть мати шкірку, яка виглядає зеленою та безсимптомною [25].

Цикл захворювання. Гриб може виживати в деяких видах бур’янів, зараженому насінні та залишках кукурудзи. Крім гнилі стебла, цей збудник також викликає опіки листя. Спори, що утворюються в уражених листках, можуть розбризкуватися за оболонками листя, де потім проникають у стебла. Місця годування комах та інші рани також можуть служити точками входу. Коли заражені залишки кукурудзи залишаються на полі, поява антракнозу листя та гнилі стебла, як правило, зростає із зменшенням рівня у міру збільшення відстані від пожнивних залишків. На полях, де немає решток, грибок може потрапити на нові поля шляхом розповсюдження вітром спор,

пов’язаних із сухими шматочками листя, або шляхом проникнення в коріння закопаного інокулята [26].

Фузаріозна гниль стебла (*Fusarium moniliforme, F. subglutinans, F. profileratum*)

Симптоми. За наявності симптомів, які важко відрізнити від гнилі стебла Gibberella, і відсутності легко розпізнаних ознак грибка, фузаріозну гниль стебла може бути досить важко діагностувати. Часто єдиним засобом причетності до фузаріозної гнилі стебла є відсутність ознак гнилі стебла Gibberella, антракнозної гнилі стебла та інших гнилей стебла [27].

Як і при інших стеблових гнилях, спостерігається подрібнення внутрішніх тканин. На нижніх міжвузлях з’являться коричневі смуги. Тканини стебла, що гниють, можуть мати різні кольори, починаючи від бежевого до білувато-рожевого і оранжево-рожевого кольору, які, як правило, менш інтенсивні, ніж рожево-червона пляма гнилі стебла Gibberella.

Гниття, як правило, починається після запилення, посилюється в міру дорослішання рослин і стає більш поширеним у теплих сухих умовах.

Цикл захворювання. Різні гриби виживають у ґрунті та на пожнивних рештках. За сприятливих умов може заражати коріння або рани на стеблах чи листках. F. moniliforme може бути присутнім протягом усього життя рослини, починаючи від зараженого насіння і закінчуючи новими колосовими гнилями. Поширення спор може відбуватися вітром, дощем, комахами або птахами [28].

Стеблова гниль диплодія/стенокарпелла (*Stenocarpella maydis*)

Симптоми. Диплодійну гниль стебла спочатку можна побачити як зміну кольору нижньої частини стебла від коричневого до коричневого. Внутрішні тканини нижніх частин рослини виглядають подрібненими та легко подрібнюються. Можуть спостерігатися білі нитки або килимки росту грибків, особливо під час тривалих вологих періодів. Як і у Gibberella, крихітні темно-коричневі або чорні плями з’являться на нижній частині стебла. (Для подальших відмінностей дивіться розділ «Гниль стебла Gibberella») [29].

Цикл захворювання. Гриб може виживати на залишках стебла або на поверхні ґрунту, або на поверхні. У теплих вологих умовах і дощі спори можуть вивільнятися і поширюватися вітром або навіть комахами. Волога погода через два-три тижні після шовкоутворення є сприятливою для розвитку диплодіозної гнилі. Зараження зазвичай відбувається через коронку, коріння або нижні вузли. Рани від комах також можуть бути джерелом проникнення грибка [30].

Жиберелова гниль стебла (*Giberella zeae*)

Симптоми. Стеблова гниль Gibberella має типові симптоми гнилі стебла, в'янення, листя, які нагадують пошкодження морозом, мають колір від світлого до тьмяно-сіро-зеленого. Нижня частина стебла розм'якшується і набуває світло-коричневий колір. Поруч і на вузлах утворюються крихітні поверхневі круглі чорні цятки (перитеції). Їх можна легко зішкребти з поверхні стебла. Внутрішня серцевинна тканина руйнується, залишаючи лише ниткоподібні судинні пучки. Діагностичною ознакою стеблової гнилі Gibberella є червонувато-рожеве забарвлення всередині стебла [31].

Цикл захворювання. Гриб може виживати на перезимували рослинних рештках, заражених грибком. З настанням теплих і вологих умов навесні утворюються розповсюджувані вітром спори, які можуть заразити рослини кукурудзи. Інокулят також може бути отриманий у вигляді диспергованих конідій влітку. Інфекції стебла зазвичай виникають незабаром після запилення, розвиваючись біля основи листкових піхв або біля коренів. Гриб також може потрапити через коріння і проростi в нижню частину стебла. *G. zeae* також викликає паршу та ураження сходів пшениці, ячменю, вівса та жита. Гриб широко поширений, і рівень грибка не стає настільки низьким у районах вирощування кукурудзи, щоб повністю виключити ризик спалахів гнилі стебла Gibberella [32].

Гриб, що викликає гниль гібера, є тим самим, що викликає фузаріоз колосових культур. Тому сівозміни мінімум на один рік з культурами, відмінними від зернових або трав, є критичними, особливо якщо

практикується скорочений обробіток ґрунту. Підгортання пожнивних залишків і боротьба з бур'янами та вогнями зменшать рівень інокулята. Будь-яке джерело стресу може збільшити ймовірність загнивання стебла, включаючи високу щільність рослин, високий рівень захворювань листя, пошкодження комахами, що свердлять стебла, високий рівень азоту та низький рівень калію. Підтримка збалансованої родючості ґрунту на основі аналізів ґрунту також зменшить вплив гнилі стебла Gibberella [33].

Гниль пітії (*Pythium aphanidermatum*)

Симптоми. Симптоми гнилі стебла Pythium, як правило, обмежені міжвузлями, найближчими до лінії ґрунту, включають м'які, зруйновані та темно-зелені тканини. Навіть після вилягання рослини зазвичай залишаються зеленими, оскільки судинна система залишається неушкодженою. На відміну від інших стеблових гнилей, які мають видимі зимуючі структури гриба (наприклад, чорні цятки на стебловій гнилі Gibberella), немає очевидних ознак розвитку грибка, пов'язаного з гниллю стебла Pythium [34].

Якщо зараження відбувається до цвітіння, найнижче міжвузля загине, і заражені стебла можуть мати сильний запах. Міжвузля можуть скручуватися, в результаті чого рослина вилягає, але зеленувато-коричневий колір стебла зберігається тижнями. Якщо інфекція станеться під час молочної стадії (R3), коріння та кілька нижніх міжвузлів будуть просочуватися водою, що призведе до ранньої загибелі рослини.

Цикл захворювання. Види Pythium вважаються водяними пліснявами і діють інакше, ніж інші гриби гнилі стебла. Спори, які можуть рухатися самостійно (зооспори), плавати крізь вологий ґрунт до коріння кукурудзи, проникати всередину рослини та ініціювати захворювання [35].

Гриб зимує у вигляді крихітних затверділих структур, відомих як ооспори, які можуть пережити сухі холодні умови зими в ґрунті та рослинних рештках. Навесні зимуючі ооспори проростають, вивільняючи плаваючі зооспори або нитки міцелію, кожна з яких здатна інфікувати рослини. Ооспори

можуть залишатися життєздатними роками, а гриб може виживати на бур’янах.

Бактеріоз качанів – бактеріальне захворювання, поширене в усіх регіонах України, де вирощується кукурудза. У посівах інфекція розповсюджується хлібним клопом, в організмі якого живуть бактерії Bacillus mesentericus var. vulgatus Flugge. Уражені шкідником качани кукурудзи втрачають лежкість, швидко пліснявіють, погіршуються насіннєві якості зерна. Зернівки виходять недорозвиненими, мають менший розмір та вагу 1000 зернин, енергія проростання суттєво знижується, насіння втрачає схожість [36].

Збудник бактеріозу качанів – бактерія *Bacillus subtilis* (застаріла назва *Bacillus mesentericus vulgatus*). Мікроорганізми роду *Bacillus subtilis* належать до родини *Bacillaceae*.

Рис. 1.3. Симптоми бактеріозу качанів [8]

Це грампозитивні паличкоподібні бактерії, які аеробно утворюють нерухомі поодинокі або парні внутрішньоклітинні спороносці. Спороносна бактерія має вигляд палички з заокругленими краями розміром в межах 0,7 – 0,9 х 1,6 – 2,5 мкм та часто утворює довгі рухливі нитки. Штами бактерій утворюють колонії сірого кольору та є збудниками псування харчової сировини. Завдяки здатності утворювати ендоспори, паразит володіє високими адаптивними можливостями та здатний заражати овочеві та плодові культури [37].

Ознаки хвороби. Характерні симптоми хвороби проявляються на неприкритих обгортками верхівках качанів кукурудзи. На зернівках з'являються невеликі вдавлені плями блідо-сірого кольору розміром 2 – 3 мм. На білозерних сортах навколо плям утворюється вузька темно-сіра облямівка, у сортів з жовтим зерном облямівка виражена слабкіше. При подальшому поширенні плями збільшуються в розмірі, на зернівках з'являються виразки, вони стають зморшкуватими, починають жовтіти та змінюють колір аж до бурого [38].

Стадії розвитку бактеріозу качанів. Зараження качанів кукурудзи відбувається в польових умовах. Хвороба проявляється на стадії молочної стиглості зерна. Розповсюджувачем інфекції є комаха-переносник — хлібний клоп *Trygonotylus ruficornis*. У другій половині літа шкідник накопичується в посівах проса та могара, а також в бур'янах, які ростуть в полях кукурудзи. Особливо довго бактерії зберігаються на стеблах заражених рослин. Розвиток бактеріозу відбувається наступним чином:

1. При укусі зернівки паразит пошкоджує насіннєву оболонку та вносить в ранку спороносні бактерії, які утворюють колонії.

2. Збудник хвороби поширюється на розташовані поруч ділянки та забезпечує подальше інфікування качанів.

3. Зазвичай кількість заражених зернівок на качані не перевищує 30 – 40 штук. Як правило, вони розташовуються по декілька штук у ряду ближче до верхівки [39].

1.4. Фунгіциди й агротехнічні заходи для ефективного захисту кукурудзи

Сучасні препарати допоможуть вберегти кукурудзу від поширених хвороб, їх використовують також у випадку ураження для лікування [40]. Дія полягає в тому, що розвиток і ріст грибків пригнічується, зрештою, показники врожайності збільшуються. Серед найбільш ефективних фунгіцидів варто виділити наступні:

- «Амістар Екстра» від Syngenta. Універсальний, підходить для профілактики, під час його використання виходить подовжити термін вегетації та зібрати багатий врожай. Забезпечує довготривалий захист, відрізняється високою фотостабільністю. Дає найкращі результати у разі використання для профілактики чи на початковій стадії хвороби, на один га знадобиться 0,5–0,75 л;

- «Аканто Плюс» від Corteva Agriscience. Має відразу дві діючі речовини, тому завжди ефективний і забезпечує якісний результат. Призводить не лише до збільшення врожайності, а й підвищує якість зерна. Необхідний також для стабільного розвитку й росту кукурудзи, її стійкості до негативних факторів. Цей препарат використовують два рази під час вегетації, на гектар потрібно 0,75–1,0 л;

- «Коронет» від Bayer. Має дві діючі речовини, активно пригнічує патогенні організми в різні періоди їхнього розвитку. Використовується для профілактики, лікування й довготривалого контролю фітохвороб. Користуватись ним можна в різні періоди, у тому числі й тоді, коли рослина починає цвісти. Дозування – 0,6–0,8 на га, найкраще обробляти двічі;

- «Ретенго» від BASF. Цей препарат має трансламінарний механізм дії, тому є ефективним проти безлічі хвороб, сприяє підвищенню врожайності та якості готового матеріалу. Його найкраще використовувати за поганої погоди у період 8–10 листків чи тоді, коли з’являється волоть (один раз або двічі). На гектар потрібно 0,5 л;

- «Абакус» від BASF. Це двокомпонентний препарат із яскраво вираженою терапевтичною дією, його застосовують і для профілактики. Не лише збільшує врожайність, а й підвищує стійкість культури до негативних факторів, покращує засвоєння азоті під час використання добрив. Його застосовують, коли є 8–10 листків чи в період появи волоті (один раз або двічі), дозування – 1,5–1,75 л на гектар [41].

Уникнути захворювань допоможе комплексний захист, у тому числі за допомогою пестицидів. Знадобляться й певні агротехнічні заходи, наприклад, слід суворо дотримуватись правил сівозміни, термінів висівання й норми загортання зерна. Як уже зрозуміло, глибина не має бути занадто малою чи великою, оптимальною є 4–8 см. Висівати найкраще при температурі 9–12 градусів [42].

Залишки рослин на полі потрібно заорювати, адже збудники хвороб часто зимують саме в них. Для висівання варто обирати районовані якісні гібридні сорти із великими показниками стійкості до шкідників і патогенних організмів. До обов'язкових заходів відноситься також протруювання. Ділянки потрібно час від часу оглядати, щоб виявити перші ознаки захворювань. Велике значення має і якість посівного матеріалу, його потрібно купувати у перевірених виробників [43].

Заходи захисту від *Bacillus subtilis*

Для захисту кукурудзи від поширення бактерій *Bacillus subtilis* приймають превентивні заходи та використовують хімічні протруювачі насіння. Агротехнічні заходи в сільському господарстві включають:

- правильне дотримання сівозміни та ретельний вибір попередників;
- використання гібридів та сортів, що мають генетичну стійкість до бактеріальних інфекцій;
- своєчасну боротьбу з бур'янами та комахами-переносниками інфекції;
- глибоку зяблеву оранку ґрунту;

– дотримання норм при внесенні мінеральних та органічних добрив для підживлення рослин;

– своєчасне видалення та спалювання пожнивних залишків відразу після збору врожаю;

– правильне зберігання зерна в складських приміщеннях;

– проведення карантинних заходів.

Засоби боротьби з бактеріозом качанів

Найбільшу ефективність та результативність в боротьбі з бактеріозом качанів надає застосування хімічних препаратів, таких як:

– Протруйник Syngenta Максим® — контактний системний препарат, призначений для захисту сільськогосподарських культур від широкого спектра хвороб, викликаних грибами та мікроорганізмами, включаючи збудників, що поширюються через ґрунт та посівний матеріал. Унікальна діюча речовина флудіоксоніл знищує внутрішні та зовнішні інфекції, має тривалу захисну дію, не чинить фітотоксичного впливу на ґрунт. Використовується для передпосівної обробки насіннєвого матеріалу, норма витрати складає 1,0 л/т.

– Протруйник DEFENDA Фуксія, ТН — препарат з локально-контактною активністю, що вживається для знищення небезпечних інфекцій всередині та зовні насіння. Надійно захищає рослини протягом тривалого проміжку часу, активна речовина флудіоксоніл розподіляється в ґрунті після посіву, вбирається кореневою системою, поширюється по тканинах рослин після виходу на поверхню та руйнує клітинні мембрани збудника, викликаючи його загибель. Норма витрати для обробки насіння кукурудзи становить 1,0 – 1,5 л/га [44].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Методи виділення фітопатогенних бактерій

Установлення етіології невідомого інфекційного захворювання можливо тільки за дотримання тріади Генле-Коха. Суть її в наступному. Із ураженої тканини виділяють ізоляти бактерій у чистій культурі, якими штучно заражують той же орган виду і сорту рослини, з якого виділено бактерії. Якщо після інокуляції динаміка інфекційного процесу та кінцеві симптоми аналогічні тим, з яких виділено ізоляти, проводять реізоляцію патогена. За всіма біологічними властивостями ізоляти і реізоляти мають бути ідентичними. Виділення патогена мікробіологічними методами в чисту культуру для встановлення етіології захворювання є обов'язковим і не може бути замінене молекулярно-біологічними та генетичними дослідженнями. Це обумовлено тим, що в уражених тканинах, крім патогена, містяться й інші види мікроорганізмів (у культивованому і некультивованому станах), які унеможливлюють ідентифікацію збудника захворювання. Виділення мікроорганізмів з місць ураження потребує максимальних засобів асептики як рук, інструментів, так і уражених зразків. Необхідно максимально обмежити мікрофлору, яка не має відношення до даного патологічного процесу. Слід пам'ятати, що у природі дуже рідко спостерігається «чиста» інфекція, тобто захворювання спричинене одним видом (штамом, клоном) мікроорганізму. За будь-якої патології в ній беруть участь різні чинники. Переважно на початку інфекційного процесу переважає збудник захворювання і в цей період (у початковій стадії хвороби) його найкраще ізолювати. Адже в подальшому протіканні хвороби може змінюватись не лише патогенна, а й сапротрофна мікрофлора різних систематичних і функціональних груп мікроорганізмів [45].

У здорових органах рослин у мінорних кількостях (до 1 %) знаходяться мікроорганізми, зокрема бактерії, біологічною особливістю яких є здатність живитись живими клітинами, тобто бути патогенами. Це також варто

враховувати при ізоляції мікроорганізмів з місць уражень. як правило, при тій чи іншій патології безпосередньо в лісі органи рослин можуть бути сильно уражені, часто з супутньою мікрофлорою. Це значно ускладнює ізоляцію збудника захворювання. Тому для досліджень загальної патології (плямистості, гнилі, виразки тощо) необхідно відібрати зразок з первинними симптомами захворювання. Дослідні зразки слід помістити у заздалегідь підготовлені паперові кульочки (конверти). Синтетичні плівки та інші матеріали, що погано пропускають повітря, непридатні для транспортування зразків через те, що в таких матеріалах створюються сприятливі умови для збудників пліснявіння, загнивання тощо, яке далеко не завжди пов'язано зі збудником, що міститься в даному зразку. У лабораторних умовах із уражень готуються зразки для мікробіологічних досліджень. Виділення ізолятів з місць ураження необхідно проводити у спеціалізованій лабораторії (боксі) з дотриманням усіх вимог асептики. Руки, стіл, інструменти, обладнання мають бути простерилізовані (протерті спиртом, за необхідності дослідний зразок опускають в спирт, після чого підпалюють: особливо це важливо для соковитих зразків та з метою знищення епіфітної поверхневої мікрофлори). Зразки для мікробіологічного аналізу найкраще брати з місць уражень в період активної фази хвороби (якщо хвороба припинилась або зразки брати з застарілих уражень, то це значно утруднює виділення і подальшу діагностику та ідентифікацію мікроорганізмів, що спричинили даний патологічний процес внаслідок того, що, по-перше, із застарілих уражень фітопатогенні бактерії взагалі можуть не виділятись через антагонізм супутньої мікрофлори, а по-друге, у таких зразках надзвичайно багато побічної мікрофло ри, і, в першу чергу, сапротрофної, що на порядок збільшує час, необхідний для подальшої діагностики мікроорганізмів). Зразок необхідно взяти таким чином, щоб у достатній мірі в ньому була безпосередньо зона ураження, невеличка смужка зов нішньо здорової тканини і невеличка смужка ураженої. Іншими словами, зразок треба брати на межі здорової і хворої частини органа рослини. кщо цим знехтувати, то це теж додасть роботи по діагностиці, адже перевіряти в

подальшому треба всі мікроорганізми, що виділились. Докладати максимум зусиль для того, щоб у зразку не було інших включень (зокрема, бруду) [46].

Найбільш поширеним методом виділення бактерій є метод посіву розтертих уражених тканин. Підготовлені для аналізу зразки промивають послідовно нестерильною (10 хв) та стерильною водогінною водою (2 хв), гомогенізують (розтирають) у стерильній воді у стерильній фарфоровій ступці. Ступку і пестик стерилізують етанолом. Для цього в чисту й суху ступку наливають 1,0–1,5 мл спирту, рівномірно змочують ним всю внутрішню її поверхню і головку пестика, фламбують, промивають стерильною водою від токсичних речовин, які могли утворитись від неповного вигорання спирту або випадкової органіки. Гомогенізат висівають мікробіологічною (платиновою) петлею на пластинки агаризованих середовищ, зазвичай – картопляного агару (КА) у чашках Петрі. Після цього висіви ставлять у термостат при температурі 25-28 ºС і спостерігають за ростом колоній протягом 3, 7, 10 діб. У подальшому систематизують колонії за забарвленням, консистенцією, прозорістю тощо, тобто відмічають морфологічно подібні колонії. Із кожного типу колоній відсівають на КА однутри колонії для подальшого їх вивчення. Цей метод придатний для ізолювання бактерій з будь-яких рослинних тканин, особливо м’якої консистенції (листки, насіння, плоди, не здерев’янілі пагони тощо) [47].

Досить поширеним методом виділення бактерій є метод обростання уражених тканин. З цією метою на живильне тверде середовище розкладають стерильне або не стерильне насіння (чи інші шматочки ураженої рослинної тканини, що підлягає дослідженню) у чашках Петрі. Тримають чашки в термостаті при 28 ºС і спостерігають за ростом мікроорганізмів, зокрема бактерій, навколо зразка. Потім відбирають потрібні колонії і роблять з них відсів на живильні середовища з подальшим відбором колоній бактерій для наступних досліджень. Ріст бактерій навколо дослідних зразків певною мірою свідчить про бактеріальну природу ураження.

2.2. Методи перевірки патогенних властивостей бактерій

Найважливішою ознакою фітопатогенних бактерій є їхня здатність заражати здорові рослини і спричиняти в них захворювання. Патогенність дозволяє надійно відокремити бактерійних збудників від сапротрофних бактерій. Слід враховувати, що патогенність, зазвичай, специфічна, тобто типові симптоми хвороби виявляються лише в окремих не багатьох видів рослин-господарів [28].

Тому при оцінці патогенності вибір тест-рослини (рослинигосподаря, живильної рослини) має істотне значення. Дуже багато фітопатогенних бактерій за певних умов спричинюють зміни на багатьох рослинах, але це не свідчить, що і в природі на цих же рослинах розвиваються специфічні хвороби. Тому варто розрізняти типові і нетипові симптоми. Типові симптоми утворюються на специфічних для даного патогена (спільних) живильних рослинах – рослинах-господарях. Нетипові симптоми виникають у тому разі, якщо патогенні бактерії у великій кількості потрапляють в тканини несприйнятливих рослин. При цьому виникає захисна реакція рослин (реакція надчутливості), яка чітко діагностується макроскопічно і легко може бути прийнята за справжні симптоми хвороби. Таким чином, при виявленні збудника хвороби на певній рослині чи її органах (наприклад листки, пагони, гілки, насіння тощо), кращим тест-об’єктом є саме ця рослина чи її органи, на яких виявлена бактеріальна патологія. Якщо коло живильних рослин у силу об’єктивних причин не відоме або перевірка патогенних властивостей на живильній рослині не доцільна з методичних чи інших міркувань (наприклад, у зимовий період, для запобігання поширеності збудників бактеріозів у природі, економією дорогоцінного матеріалу (деревних рослин, дотримання певних режимів температури і вологості оточуючого середовища тощо) для попереднього встановлення патогенності бактерій використовують індикаторні рослини (листки тютюну, проростків пшениці, редиски, суданської трави тощо). Окрім того, цілком придатні для попередньої перевірки патогенних властивостей бактерій органи деревних рослин

(наприклад листки) зі зрізаних у природних умовах гілок та пагонів, занурених у посуд з водою в лабораторних умовах. Проте патогенні властивості бактерій завжди треба підтверджувати на тих рослинах (органах рослин), з яких вони виділені [30].

Для штучного зараження рослин готують водну суспензію з чистої культури клітин ізолятів бактерій, які виросли на КА протягом 1-3 діб. Титр бактеріальних клітин встановлюють за стандартом мутності. Переважно використовують суспензію клітин бактерій титром 10^8-10^9. Метод інокуляції для перевірки патогенних властивостей ізолятів бактерій підбирають з урахуванням того, які органи рослини заражають. Так, при зараженні гілок і стовбурів місце ураження злегка протирають ватним тампоном, змоченим спиртом. Після того, як рештки спирту випаруються, стерильним скальпелем роблять Т-подібний надріз різної глибини і в місце поранення піпеткою вноситься суспензія бактерій. Замість суспензії можна вносити в надрізи 1-2 добову чисту культуру ізоляту. Окрім того, суспензію бактерій можна вносити у стовбури і гілки шляхом ін'єкції за допомогою товстої голки з шприцем.

2.3. Методи ідентифікації фітопатогенних бактерій

Для встановлення видової належності виділених бактерій відбирають ізоляти, які вивчають порівняно з еталонними.

Морфологію колоній вивчають на КА і МПА. При вивченні культуральних властивостей, окрім твердих поживних середовищ, використовують рідкі – МПБ, МПБ+10 % сахарози; Омельянського, Ейкмана, Ліске, Кона, Чапека тощо. Описують форму колоній, колір і консистенцію.

Фарбують клітини ізолятів, які виросли на КА протягом 18-24 год., за Грамом з використанням метиленової синьки та фуксину. Бактеріальну масу розтирають у краплині води на предметному скельці й термічно фіксують. Зафіксований препарат накривають шматочком фільтрувального паперу, насиченого розчином кристал-віолету, змочують водою, витримують 2 хв, шматочки паперу знімають і, не промиваючи препарату, наливають на нього

розчин Люголя (на 1 хв.) до повного покривання мазка. Розчин Люголя зливають, а препарат промивають 95 %-м спиртом до тих пір, поки краплі спирту не стануть прозорими. Після промивання водою препарат додатково забарвлюють фуксином Пфейфера (2-3 хв.). Після зливання фарби його промивають водою, а мазок висушують. У тих самих препаратах описують форму та розміри клітин [34].

Для виявлення та локалізації спор у клітині, зміни її форми готують препарати 3-добової культури, яку фарбують фуксином. На МПА і в МПБ (м'ясо-пептонний бульйон) виявляють утворення флуоресцентного пігменту. Вивчають здатність ізолятів бактерій утворювати низку ферментів. Протеолітичні ферменти виявляють на желатині, молоці та МПБ.

На желатині відзначають характер його розкладу (пошаровий, глибинний, воронкоподібний). При розрідженні желатину по всій висоті стовпчика пробірки 2-3 год. витримують у холодильнику, після чого визначають желатиназну активність. Потреба охолодження рідкого желатину в холодильнику пов'язана зі здатністю його переходити інколи у рідкий стан при температурі 28 ºС без участі бактерій. На желатині часом утворюється флуоресцентний пігмент. На знежиреному молоці, інокульованому бактеріями, утворюються кислі продукти (молочна кислота та ін.), що спричиняє коагуляцію молока, або молоко просвітлюється і випадає осад, що свідчить про наявність протеаз, які розщеплюють білки. У разі відсутності змін молока впродовж місяця його підігрівають. Якщо при цьому відбувається коагуляція, то це вказує на слабку активність ферменту. У разі глибокого розкладу білків МПБ утворюється індол та сірководень. Індол виявляють за допомогою смужок фільтрувального паперу, змочених щавелевою кислотою. Смужки над культуральною рідиною фіксують ватною пробкою. Порозовіння паперу свідчить про присутність індолу, а інтенсивність забарвлення – про активність ізоляту бактерій [35].

Для виявлення сірководню використовують смужку фільтрувального паперу, насичену оцтовокислим свинцем. Як і в дослідах з індолом, смужки

паперу розміщують над інокульованим МПБ. Почорніння їх свідчить про наявність сірководню, який утворюється із сірковмісних амінокислот – цистеїну та метіоніну.

Пектолітичні ферменти виявляють за розкладом шматочків картоплі, моркви, столових буряків. Для цього їх промивають спочатку проточною водогінною водою, а потім – стерильною водою, змочують в етанолі, обпалюють, очищають від шкірки, нарізають кружечками й розкладають у стерильні чашки Петрі. Одно- та тридобову культуру бактеріальної маси, що виросла на КА, петлею наносять на центральну частину кружечків картоплі, моркви, столових буряків. Інкубацію проводять у термостаті за температури 26-28 ºС протягом 1-10 діб. Целюлазу виявляють за деструкцією фільтрувального паперу.

Для визначення бактеріальних амілаз пластинки КА, на яких виросли колонії бактерій протягом 3-7 діб, заливають розчином Люголя. Світла зона навколо колоній на фоні синього забарвлення крохмалю вказує на позитивний результат.

Нітратредуктазу, що відновлює нітрати до нітритів, виявляють на МПБ з 0,1 %-м азотнокислим калієм. Червоне забарвлення культуральної рідини з реактивом Грисса свідчить про позитивну реакцію. Відновлення KNO_3 до аміаку визначають реактивом Несслера, який з краплею культуральної рідини дає червоне забарвлення.

Для визначення оксидазної активності бактерій краплю культуральної рідини через 24-30 год. росту бактерій в МПБ наносять на фільтрувальний папір, насичений тетраметилпарафенілендіаміндегідрохлоридом. У разі позитивної реакції через 10-20 с утворюється темно-бордова пляма.

Левансахаразну активність визначають за утворенням слизистих колоній на КА з 5 % сахарозою. Здатність ізолятів бактерій засвоювати різні джерела вуглецю вивчають на мінеральному середовищі Омельянського з додаванням 0,5 % карбогідратів, а саме: мальтози, рамнози, лактози, фруктози, ксилози, манози, сахарози, сорбітолу, гліцеролу, дульцитолу, інозитолу,

манітолу та саліцину. к індикатор, використовують водний розчин бромтімолу блакитного.

Для вивчення ферментативного або окислювального шляху засвоєння глюкози, який визначає належність бактерій до аеробів або факультативних анаеробів, рідке середовище з глюкозою (2-3 мл) у двох пробірках засівають суспензією титром 10^7 клітин ізоляту бактерій. Для обмеження доступу повітря одну пробірку заливають стерильним вазеліновим маслом товщиною 1 см, другу – залишають без змін. Здатність бактерій ферментувати різні джерела вуглеводів вивчають на синтетичному середовищі Омелянського з водним або спиртовим індикатором бромтімол-бляу. Зазвичай для діагностики використовують наступні джерела вуглецю: моносахариди (арабіноза, галактоза, маноза, ксилоза); дисахариди (лактоза, мальтоза, рафіноза, сахароза); полісахариди (декстрин, інсулін); спирти (етиловий, дульцит, гліцерин, маніт, сорбіт, адоніт, інозит); глюкозиди (ескулін, саліцин); солі органічних кислот і амінокислоти. Наявність росту визначають за зміною забарвлення індикатора з блакитного на жовтуватий. Ріст бактерій в обох пробірках свідчить про ферментативний тип засвоєння глюкози і, відповідно, ізолят належить до факультативних анаеробів. кщо бактерії рос- туть тільки у пробірці без олії, окислюваний тип засвоєння глюкози і ізолят відносять до облігатних аеробів.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Властивості виділених ізолятів *Bacillus subtilis*

Патогенні бактерії *B. subtilis* – грампозитивні палички розміром 0,6-0,8х2-3 мкм із заокругленими кінцями, рухомі (рис. 3.1).

Утворюють спори в середині клітини, не спричинюючи її розбухання. Клітини розміщуються поодиноко, короткими ланцюжками.

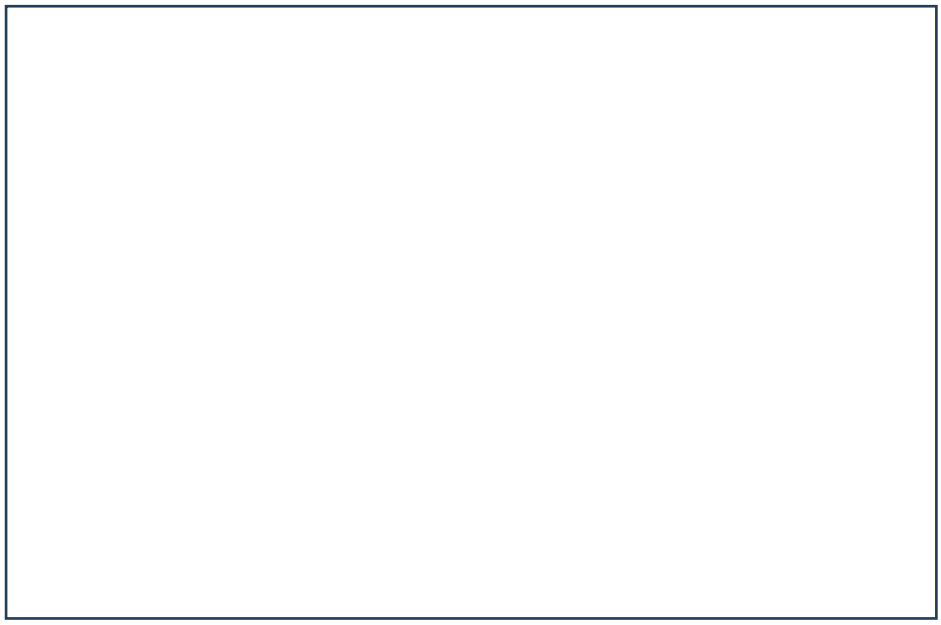

Рис. 3.1. Морфологія клітин *B. subtilis*

На КАА бактерії на 5-у добу росту утворюють сірувато-бежевого кольору округлі або неправильної форми колонії діаметром 3-5 мм, плоскі, складчасті; центр їх відокремлений, забарвлений більш інтенсивно.

У світлі, що проходить через колонію, вони не просвічуються, краї нерівні, лопатеві. Максимальна температура росту – 45 ºС, мінімальна – 5 ºС.

Бактерії в МПБ ростуть на поверхні у вигляді рясної плівки, яка з часом осідає на дно.

Бульйон при цьому забарвлюється в жовтий колір.

Інших пігментів при рості в МПБ або на агаризованих середовищах Кінга А і Б не виявлено.

Усі 13 виділених ізолятів *B. subtilis* мали подібні морфологічні характеристики, яка включала морфологію колонії, морфологію клітин, наявність ендоспор і реакцію за Грамом. Отримані результати наведено в таблиці 3.1, 3.2. Що стосується морфологічних ознак, то всі ізоляти *B. subtilis* були грампозитивними та паличкоподібними, виробляли ендоспори, а щодо ознак колоній вони були від кремового до білого кольору, від круглої до неправильної форми та мали нерівний або нерівний край колонії.

Таблиця 3.1

Морфологічні характеристики ізолятів *Bacillus subtilis*

Ізолят	Колір колонії на живильному агарі	Колір колонії на середовищі Hi-Crome Bacillus	Форма колонії
ІЗ-1	Кремовий	Зелений	Кругла
ІЗ-2	Білий	Зелений	Кругла
ІЗ-3	Тускло білий	Зелений	Кругла
ІЗ-4	Сіруватий	Зелений	Кругла
ІЗ-5	Жовтувато-білий	Зелений	Неправильної форми
ІЗ-6	Кремовий	Зелений	Кругла
ІЗ-7	Кремовий	Зелений	Кругла
ІЗ-8	Тускло білий	Зелений	Кругла
ІЗ-9	Кремово-білий	Зелений	Кругла
ІЗ-10	Кремовий	Зелений	Кругла
ІЗ-11	Жовтувато-білий	Зелений	Неправильної форми
ІЗ-12	Тускло білий	Зелений	Кругла
ІЗ-13	Тускло білий	Зелений	Кругла

Таблиця 3.2

Морфологічні характеристики ізолятів *Bacillus subtilis*

Ізолят	Форма клітини	Фарбування за Грамом	Утворення ендоспор
ІЗ-1	Паличка	+	+
ІЗ-2	Паличка	+	+
ІЗ-3	Паличка	+	+
ІЗ-4	Паличка	+	+
ІЗ-5	Паличка	+	+
ІЗ-6	Паличка	+	+
ІЗ-7	Паличка	+	+
ІЗ-8	Паличка	+	+
ІЗ-9	Паличка	+	+
ІЗ-10	Паличка	+	+
ІЗ-11	Паличка	+	+
ІЗ-12	Паличка	+	+
ІЗ-13	Паличка	+	+

Бактерії ферментують глюкозу, арабінозу, ксилозу, мальтозу, сахарозу, маніт, сорбіт, саліцин, інозит, але не ферментують лактозу, рамному, дульцит, адоніт.

Розріджують желатин, гідролізують крохмаль, пептонізують молоко, слабо редукують нітрати, підкислюють лакмусову сироватку.

Не утворюють індолу і сірководню. Реакція Фогес-Проскауера негативна.

У бактерій виявлена каталаза.

Не виявлені оксидаза і левансахараза (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Морфолого-біохімічні властивості виділених ізолятів *Bacillus subtilis*

Тест	Типовий штам *Bacillus subtilis*	Виділені ізоляти *Bacillus subtilis*
Розмір клітин, мкм:		
Ширина	0,7-0,8	0,7-0,8
довжина	2-3	2-3
Забарвлення за Грамом	+	+
Спороутворення	+	+
Набухання клітини	-	-
Рухомість	+	+
Наявність каталази	+	+
Ріст в анаеробних умовах	-	-
Реакція Фогес-Проскауера	+	+
Ріст при температурі: максимум	45-55	55
мінімум	5-20	10
Ріст на середовищі з 7 % NaCl	+	+
Утворення кислоти з: глюкози, арабінози, ксилози, маніту	+	+
мальтози, сахарози, сорбіту, саліцину, інозиту, манози, лактози, дульциту	-	-

Утворення газу із глюкози	-	-
Редукція нітратів	+	сл
Гідроліз крохмалю	+	+
Розрідження желатину	+	+
Утворення сірководню		-
Пептонізація молока	-	-
Лакмусова сироватка	+	+
Наявність ферментів: лецитинази	-	-
левансахарази, оксидази		-

Примітка: «+» – позитивна реакція, «–» – негативна реакція, сл. – слабо позитивна реакція; незаповнені місця – дані відсутні

Результати біохімічних тестів для ідентифікації *B. subtilis* показали, що всі ізоляти показали позитивну реакцію на гідроліз крохмалю, розрідження желатину, гідроліз казеїну, тест VP (Voges-Proskauer), тест на цитрат, тест на каталазу, солюбілізацію фосфату та не було зростання *B. subtilis* виділяється при температурі 55ºС (табл. 3.4, 3.5).

Таблиця 3.4

Біохімічна характеристика ізолятів *Bacillus subtilis*

Ізолят	Гідроліз крохмалю	Тест VP (Voges-Proskauer)	Тест на цитрати	Розрідження желатину
ІЗ-1	+	+	+	+
ІЗ-2	+	+	+	+
ІЗ-3	+	+	+	+
ІЗ-4	+	+	+	+
ІЗ-5	+	+	+	+

ІЗ-6	+	+	+	+
ІЗ-7	+	+	+	+
ІЗ-8	+	+	+	+
ІЗ-9	+	+	+	+
ІЗ-10	+	+	+	+
ІЗ-11	+	+	+	+
ІЗ-12	+	+	+	+
ІЗ-13	+	+	+	+

Таблиця 3.4

Біохімічна характеристика ізолятів *Bacillus subtilis*

Ізолят	Гідроліз казеїну	Тест на каталазу	Тест на розчинення фосфату
ІЗ-1	+	+	+
ІЗ-2	+	+	+
ІЗ-3	+	+	+
ІЗ-4	+	+	+
ІЗ-5	+	+	+
ІЗ-6	+	+	+
ІЗ-7	+	+	+
ІЗ-8	+	+	+
ІЗ-9	+	+	+
ІЗ-10	+	+	+
ІЗ-11	+	+	+
ІЗ-12	+	+	+
ІЗ-13	+	+	+

Отже, на основі результатів біохімічних тестів, всі ці ізоляти були підтверджені як *B. subtilis*

3.2. Вплив пестицидів на *Bacillus subtilis*

Нами перевірено антибактеріальну активність пестицидів, які рекомендовані до використання в Україні, щодо збудника бактеріозу качанів кукурудзи. Дослідження здійснювали з використанням виділених нами трьох ізолятів *Bacillus subtilis*. Пестициди досліджували у рекомендованій виробником дозі, у 10 разів більшій та у 10 і 100 разів менших дозах. Результати досліджень наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Чутливість збудника бактеріозу качанів кукурудзи до деяких пестицидів

Препарат	Концентрація	Ріст бактерій		
		Ізолят 1	Ізолят 2	Ізолят 3
Пенкоцеб	32,0 г/л	–	–	–
	3,2 г/л	–	–	–
	0,32 г/л	–	–	–
	0,032 г/л	+	+	+
Татту	60 мл/л	–	–	–
	6 мл/л	–	–	–
	0,6 мл/л	+/-	+/-	+/-
	0,06 мл/л	+	+	+
Ацидан	50 г/л	–	–	–
	5 г/л	–	–	–
	0,5 г/л	–	–	–
	0,05 г/л	+/-	+	+/-
Ридоміл Голд	50 г/л	–	–	–
	5 г/л	–	–	–
	0,5 г/л	–	–	+/-
	0,05 г/л	+/-	+/-	+/-
Чемпіон	30 г/л	–	–	–
	3 г/л	–	–	–

	0,3 г/л	–	–	–
	0,03 г/л	+	+	+
Ефатол	20,0 г/л	–	–	–
	2,0 г/л	–	+	–
	0,2 г/л	+	+	+
	0,02 г/л	+	+	+
Тіофен	25,0 г/л	+	+	+
	2,5 г/л	+	+	+
	0,25 г/л	+	+	+
	0,025 г/л	+	+	+
Мікосан В	250 мл/л	–	–	–
	50 мл/л	–	–	–
	5 мл/л	+	+	+
	0,5 мл/л	+	+	+
Дуал Голд	32 мл/л	+	+	+
	3,2 мл/л	+	+	+
	0,32 мл/л	+	+	+
	0,032мл/л	+	+	+
Зенкор	14 г/л	+	+	+
	1,4 г/л	+	+	+
	0,14 г/л	+	+	+
	0,014 г/л	+	+	+
Таурус	10,0 г/л	+	+	+
	1,0 г/л	+	+	+
	0,1 г/л	+	+	+
	0,01 г/л	+	+	+
Контроль		+	+	+

Примітка. + - ріст бактерій, – - відсутність росту.

Встановлено, що препарат Тіофен, який є аналогом препарату Топсин М, не має антибактеріальної дії в усіх досліджуваних концентраціях щодо усіх штамів фітопатогенних бактерій.

Фунгіцид Ефатол виявляє антибактеріальну активність лише у дозі, що у 10 разів перевищує рекомендовану виробником.

На ріст фітопатогенних бактерій *P. syringae* не впливають препарати Дуал Голд, Зенкор.

Пенкоцеб має антибактеріальну дію у рекомендованій та нижчій за рекомендовану у 10 разів дозах. У дозі нижчій за рекомендовану у 100 разів цей препарат майже не впливає на ріст бактерій *Bacillus subtilis*. Препарат Татту виявляє антибактеріальну активність у рекомендованій та вищій за рекомендовану концентраціях. Ридоміл Голд та його аналог Ацидан мають антибактеріальну дію щодо збудників бактеріозів зернових культур у рекомендованій та у 10 разів нижчій концентраціях, як і Пенкоцеб. До складу препаратів Пенкоцеб, Татту, Ридоміл Голд, Ацидан входить манкоцеб, якому і притаманна антибактеріальна дія. Різниця у антибактеріальній активності цих препаратів пов’язана із різною концентрацією манкоцебу у разі застосування фунгіцидів у рекомендованих виробниками дозах.

Антибактеріальну активність стосовно *Bacillus subtilis* виявив також біологічний фунгіцид Мікосан В. Він активний у рекомендованій та вищій за рекомендовану концентраціях. Здатність пригнічувати ріст фітопатогенних бактерій також властива Чемпіон (гідроксид міді) у рекомендованій та навіть нижчих за рекомендовані дозах.

Таким чином, серед фунгіцидів виявлені препарати з антибактеріальною дією – Пенкоцеб, Татту, Ридоміл Голд, Ацидан та Чемпіон і біофунгіцид Мікосан В, які можуть бути використані для захисту рослин від збудника бактеріозу качанів кукурудзи.

ВИСНОВКИ

1. Тринадцять штамів *Bacillus subtilis* були виділені та ідентифіковані на основі морфологічних, біохімічних і функціональних характеристик.

2. Морфологічно всі ізоляти були грампозитивними, паличкоподібними та утворювали ендоспори. Колоніально вони виглядали від кремового до білого кольору, від круглої до неправильної форми та мали неправильні або обірвані краї колоній.

3. При біохімічній характеристиці всі ізоляти продемонстрували позитивні реакції на гідроліз крохмалю, розрідження желатину, гідроліз казеїну, тест VP (Voges-Proskauer), тест на цитрат, тест на каталазу та солюбілізацію фосфату.

4. Серед досліджених фунгіцидів виявлені препарати з антибактеріальною дією – Пенкоцеб, Татту, Ридоміл Голд, Ацидан та Чемпіон і біофунгіцид Мікосан В, які можуть бути використані для захисту рослин від збудника бактеріозу качанів кукурудзи

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Світовий ринок кукурудзи 2021 і українські реалії: від глобального до локального. 30 листопада 2021, https://latifundist.com/analytics/27-svitovij-rinok-kukurudzi-2021-ukransk-real-vd-globalnogo-do-lokalnogo

2. Кернасюк Ю. В. Рентабельна кукурудза. Агрономія сьогодні. № 4 (19). 2020. С. 7–9.

3. ТОП-10 країн виробників кукурудзи в 2021/22 МР, 10 травня 2022, URL: https://latifundist.com/rating/ top-10-krayin-virobnikiv-kukurudzi-2021-22-mr.

4. Маслак О., Ільченко О. Економіка кукурудзи на зерно в Україні. Пропозиція: український журнал з питань агробізнесу. 2015. № 5. С. 38–42

5. Козубенко В. Е. Селекция кукурузы. Москва: Колос 1965, 206 с.

6. Баннікова К., Явдощенко М. Хвороби кукурудзи 2015 року та прогноз їхнього поширення у 2016- му. Спецвипуск журналу Пропозиція. Кукурудза від насіння до прибутку. 2016. С. 35–38.

7. Довідник із захисту рослин. Л. І. Бублик, Г. І. Васечко, В. П. Васильев та ін. Київ: Урожай 1999. С. 118–130.

8. Гур'єва І. А., Рябчун В. К., Літун П. П. Методичні рекомендації польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи. 2-ге вид. допов. Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. Харків. 2003. 43 с.

9. Методика проведення експертизи сортів рослин групи зернових, круп'яних та зернобобових на придатність до поширення в Україні. Лівандовський А. А. та ін. Вінниця: ФОП Корзун Д. Ю., 2016. 82 с.

10. Класифікатор-довідник виду Zea mays L. НААН, ІР ім. В. Я. Юр'єва, НЦГРРУ. Харків. 2004. 82 с.

11. Чоні С. Фузаріоз кукурудзи: шкодочинність та особливості розвитку. Агроном № 4 (74). 2021. С. 114–120.

12. Марков І. Л. Діагностика хвороб кукурудзи та біоекологічні особливості їх збудників. Агроном № 3 (49). 2015. С. 128–138.

13. Ідентифікація ознак кукурудзи (Zea mays L.): навч. Посібник. В. В. Кириченко та ін. Харків, 2007. С. 66, 67, 84, 85, 91, 99.

14. Чернобай Л. М. Методологія селекції кукурудзи на стійкість до біотичних чинників. Харків: ФОП Бровін О. В.. 2019. С. 88–91, 101–104.

15. Методичні рекомендації з обліку чисельності шкідників і розповсюдженості хвороб у посівах кукурудзи. В. П. Петренкова та ін. – Харків ФОП Тарасенко В. П., 2014. С. 12, 13, 28, 29, 36, 37.

16. Чернобай Л. М. Сажкові хвороби кукурудзи. Агроном. № 1. 2005. С. 36–39.

17. Фітопатологія: підручник. Лівандовський А. А. та ін.: за ред. І Л. Маркова. Київ: Фелікс, 2016. С. 155–159.

18. Боровська І. Ю., Петренкова В. П., Чернобай Л. М., Чугаєв С. В. Визначення джерел стійкості кукурудзи до шкідливих організмів. Генетичні ресурси рослин. Харків. 2014. № 14. С. 83–95.

19. Гаврилюк В. М.. Присяжнюк І. В., Хроменко В. О. Кукурудзяний стебловий метелик. Захист рослин. 2002. № 6. 21 с.

20. Cerquiglini, C., Claro, J., Giusti, A.M., Karumathy, G., Mancini, D., Marocco, E., et al., 2016. Food Outlook June 2016. Food Agric. Organ. United Nations, p. 14, Available at: http://www.fao.org/3/a-i5703e.pdf

21. López-Castillo, L.M., Silva-Fernández, S.E., Winkler, R., Bergvinson, D.J., Arnason, J.T., García-Lara, S., 2018. Postharvest insect resistance in maize. J. Stored Prod. Res. 77, 66–76. http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2018.03.004.

22. Li, S., Chen, G., 2020. Agricultural waste-derived superabsorbent hydrogels: Preparation, performance, and socioeconomic impacts. J. Cleaner Prod. 251, 119669. http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119669.

23. Prasad, M., Ranjan, R., Ali, A., Goyal, D., Yadav, A., Singh, T.B., Shrivastav, P., Dantu, P.K., 2020. Efficient transformation of agricultural waste in India. Contam. Agric. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-41552-5_13.

24. Wang, R., Zhao, Y., Xie, X., Mohamed, T.A., Zhu, L., Tang, Y., Chen, Y., Wei, Z., 2020. Role of NH_3 recycling on nitrogen fractions during sludge

composting. Bioresour. Technol. 295, 122175. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122175.

25. Duque-Acevedo, M., Belmonte-Urena, L.J., Cortés-García, F.J., Camacho-Ferre, F., 2020. Agricultural waste: Review of the evolution, approaches and perspectives on alternative uses. Glob. Ecol. Conserv. 22, e00902. http://dx.doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00902.

26. Mohlala, L.M., Bodunrin, M.O., Awosusi, A.A., Daramola, M.O., Cele, N.P., Olubambi, P.A., 2016. Beneficiation of corncob and sugarcane bagasse for energy generation and materials development in Nigeria and South Africa: A short overview. Alex. Eng. J. 55 (3), 3025–3036. http: //dx.doi.org/10.1016/j.aej.2016.05.014.

27. Dagne W, Habtamu Z, Demissew A, Temam H, Harjit S (2008) Combining ability of maize inbred lines for grain yield and reaction to grey leaf spot disease. East African Journal of Science 2(2): 135-145.

28. Girma C, Sentayehu A, Berhanu T, Temesgen M (2015) Test cross performance and combining ability of maize (Zea mays L.) inbred lines at Bako, Western Ethiopia. Global Journal of Science 15(4): 2249-4626.

29. Zelalem B, Chemeda F, Dagne W, Temam H, Shimelis H, et al. (2018) Combining ability and nature of gene action in maize (Zea mays L) inbred lines for resistance to gray leaf spot disease (Cercospora zeae maydis) in Ethiopia. Crop Protection 112: 39-48.

30. Chavan S (2014) Identification of new sources of resistance against Ustilago maydis from the wild progenitor teosinte. Department of plant pathology, University of Georgia, Athens, GA 30602.

31. Gingera GR, Davis DW, Groth JV (1994) Pedigree selection for improved partial resistanceto common leaf rust in sweet corn. Crop Science 34: 615-620.

32. Pataky JK, Tracy WF (1999) Widespread occurrence of common rust, caused by Puccinia sorghi, on Rp-resistant sweet corn in the midwestern United States. Plant Disease 83(12): 1177.

33. Bekeko Z (2019) Distribution and importance of common rust (*Puccinia sorghi* Schw.) of maize in Hararghe highlands, Eastern Ethiopia. East African Journal of Science 13: 135-144.

34. Darino MA, Rochi L, Lia VV, Kreff ED, Pergolesi MF, et al. (2016) Virulence characterization and identification of maize lines resistant to *Puccinia sorghi* Schwein. Present in the Argentine Corn Belt Region 100(4): 770-776.

35. Pratt RC, Gordon K (2006) Breeding for resistance to maize foliar pathogens. Plant Breeding Reviews 27: 119- 173.

36. Vivek BS, Odongo O, Njuguna J, Imanywoha J, Bigirwa G, et al. (2010) Diallel analysis of grain yield and resistance to seven diseases of 12 African maize (Zea mays L.) inbred lines. Euphytica 172: 329-340.

37. Anderson PA, Tyler BM, Pryor A (1992) Genome complexity of the maize rust fungus, Puccinia sorghi. Experimental Mycology 16(4): 302-307.

38. Jeger M (2004) Analysis of disease progress as a basis of evaluating disease management practices. Annual review Phytopathology 42: 61-82.

39. Madden LV, Hughes G, van den Bosch F (2007) The study of plant disease epidemics. St Paul: APS: 1-10.

40. Makumbi D, Wangai A (2013) Maize Lethal Necrosis (MLN) disease in Kenya and Tanzania: Facts and actions. CIMMYT-KARI.

41. Mahuku G, Lockhart BE, Wanjala B, Jones MW, imunye JN, et al. (2015b) Maize lethal necrosis (MLN), an emerging threat to maize-based food security in sub-Saharan Africa. Phytopathology 105(7): 956-965.

42. Demissie G, Deressa T, Haile M, Bogale G, Dida M, et al. (2016) Prevalence, distribution and impact of maize lethal necrosis disease (MLND) in Ethiopia. Pest Management Journal of Ethiopia 18: 37-49.

43. Wangai AW, Redinbaugh MG, Kinyua ZM, Miano DW, Leley PK, et al. (2012) First report of Maize chlorotic mottle virus and maize lethal necrosis in Kenya. Plant Disease 96(10): 158-1583.

44. \Adams IP, Harju VA, Hodges T, Hany U, Skelton A, et al. (2014) First report of maize lethal necrosis disease in Rwanda. New Disease Reports 29: 22.

45. Lukanda M, Owati A, Ogunsanya P, Valimunzigha K, Katsongo K, et al. (2014) First report of maize chlorotic mottle virus infecting maize in the Democratic Republic of the Congo. Plant Disease 98(10): 1448.

46. Mahuku G, Wangai A, Sadessa K, Teklewold A, Wegary D, et al. (2015a) First report of Maize chlorotic mottle virus and maize lethal necrosis on maize in Ethiopia. Plant Disease 99: 1870.

47. Guadie D, Knierim D, Winter S, Tesfaye K, Abraham A (2018b) Survey for the identification and geographical distribution of viruses and virus diseases of maize (Zea mays L.) in Ethiopia. European Journal of Plant Pathology 153: 429-439.