

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.01 – МКР. 203 «С». 2023.02.13. 010 ПЗ

НУБІП України

БІЛОШИСТОГО ОЛЕКСАНДРА ВАСИЛЬОВИЧА

НУБІП України

2023

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра фітопатології імені академіка В.Ф. Пересипкіна

УДК – 632.4:632.93: 633.34

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ:

декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології

доктор с.-г. наук, професор

Ю.В. Коломієць

Пояснювальна записка

до випускної магістерської роботи

на тему: «**Біоконтроль фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium spp.*,
Alternaria spp. в агроценозах плодових і ягідних насаджень за участю**

природних регуляторів – бактерій роду *Bacillus*»

Спеціальність 202 Захист і карантин рослин

Виконав:

студент
магістр

спеціальності 202 Захист і карантин
рослин

Білошистий Олександр Васильович

Керівник: Патица М.В.

Рецензент:

Київ – 2023

НУБІП України

Національний університет біоресурсів
і природокористування України

Факультет Захисту рослин, біотехнологій та екології

Кафедра фітопатології імені академіка В.Ф. Пересипкіна

Освітній ступінь Магістр

Спеціальність 202 Захист і карантин рослин

Освітня програма Захист рослин

НУБІП України

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Завідувач кафедри фітопатології
імені академіка В.Ф. Пересипкіна**

кандидат сільськогосподарських наук

Гентош Д.Т.

НУБІП України

“ ” 2023 р.

ЗАВДАННЯ

НА ВИПУСКНУ

МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

Білошистому Олександрові Васильовичу

НУБІП України

1. Тема роботи «Біоконтроль фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. в агроценозах плодових і ягідних насаджень за участю природних регуляторів – бактерій роду *Bacillus*»

Керівник роботи (проекту) Патика Микола Володимирович,

затверджена наказом ректора НУБіП України від _____

Строк подання студентом завершеної роботи _____

2. Вихідні дані до магістерської роботи літературні джерела за темою досліджень, матеріали власних експериментальних досліджень

3. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

– Виявити особливості розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів у у садових насадженнях.

– Оцінити антагоністичну активність бактерій *Bacillus* spp. відносно фітопатогенних мікроміцетів родів *Fusarium*, *Alternaria*.

НУБІП України

Обґрунтувати ефективність 4іто захисних заходів контролю шкідливих організмів за участю мікроорганізмів р. *Bacillus*.

4. Консультанти розділів роботи (просьгу)

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Огляд літератури			
Матеріали та методи досліджень			
Результати досліджень та їх обговорення			
Загальні висновки			
Список використаних джерел			

5. Дата видачі завдання «__» _____ 2023 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Аналіз та узагальнення даних з літературних світових джерел, інформаційний пошук за тематикою досліджень з інтернет-ресурсів та інше.		
2	Розробка схеми виконання досліджень щодо особливостей розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів у садових насадженнях. Планування та організація, проведення досліджень.		

3	Проведення експериментальних досліджень щодо виявлення антагоністичної активності бактерій <i>Bacillus</i> spp. відносно фітопатогенних мікроміцетів родів <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> .	
4	За результатами експериментів обґрунтувати ефективність фітозахисних заходів контролю шкідливих організмів за участю мікроорганізмів р. <i>Bacillus</i> .	
5	Обробка та аналіз отриманих результатів. Оформлення розділів магістерської роботи.	

Студент _____

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____

(підпис)

(прізвище та ініціали)

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РЕФЕРАТ

Магістерська робота як кваліфікаційне дослідження на тему «Біоконтроль фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. в агроценозах плодових і ягідних насаджень за участю природних регуляторів – бактерій роду *Bacillus*» виконана в обсязі 58 сторінок комп'ютерного тексту формату А4,

містить 7 таблиць, 8 рисунків. Використано 48 літературних джерел. Складається з наступних розділів:

1. Огляд літератури.
2. Матеріали та методи досліджень.
3. Результати досліджень та їх обговорення.
4. Загальні висновки.
5. Список використаних джерел.

Дослідження проведено на базі кафедри фітопатології імені академіка В.Ф. Пересипкіна НУБіП України.

Мета роботи — дослідити вплив бактерій роду *Bacillus* на фітопатогенні організми та обґрунтувати контролюючі заходи з фітозахисту.

Об'єкт досліджень – активність бактерій роду *Bacillus*, особливості регуляції фітопатогенів в агроценозах.

Предмет досліджень – захисна дія біоагентів *Bacillus* spp., біоконтроль мікроміцетів родів *Fusarium*, *Alternaria* в плодових і ягідних агроценозах.

Завдання досліджень:

1. Виявити особливості розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів у садових насадженнях.
2. Оцінити антагоністичну активність бактерій *Bacillus* spp. відносно фітопатогенних мікроміцетів родів *Fusarium*, *Alternaria*.
3. Обґрунтувати ефективність фітозахисних заходів контролю шкідливих організмів за участю мікроорганізмів р. *Bacillus*.

ЗМІСТ	
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	8
ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1. Біологічний контроль фітопатогенних організмів в агроценозах	11
1.2. Застосування засобів фітозахисту на основі ґрунтових мікроорганізмів р. <i>Bacillus</i>	16
1.3. Сучасні технології захисту садових агроценозів від фітопатогенів.....	20
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	28
2.1. Об'єкт та предмет дослідження	29
2.2. Методи проведення дослідження	30
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	32
3.1. Особливості розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. в агроценозах плодкових насаджень	32
3.2. Контроль фітопатогенних мікроміцетів <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. в агроценозах ягідних насаджень	39
3.3. Дослідження антагоністичної активності бактерій <i>Bacillus</i> spp. відносно фітопатогенів родів <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i>	43
3.4. Обґрунтування комплексних заходів контролю шкідливих організмів за участю мікроорганізмів р. <i>Bacillus</i>	46
ВИСНОВКИ	51
Ошибка! Закладка не определена...	51
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	54

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

НУБІП України

д.р. – діюча речовина
КУО – колонієутворююча одиниця

ssp. (або spес. sp.) – скорочене найменування таксонів, коли фактична

назва виду не відома

НУБІП України

г – грам
кг – кілограм
л – літр

га – гектар

НУБІП України

л/га – літр на 1 гектар
МПА – м'ясо пептонний агар
ГПА – глюкозо-пептонний агар

КАА – картопляно-глюкозний агар

НУБІП України

мл – мілілітр
млн – мільйон (мільйони)
мм – міліметр

pH – кислотно-лужний баланс (градієнт концентрації)

% – відсоток

НУБІП України

НІР – найменша істотна різниця
хв. – хвилини
С – градусів по Цельсію

НУБІП України

НУБІП України

ВСТУП

НУВБІП України

Біологічний контроль агроценозів відіграє провідну роль у вирішенні проблем, що виникають в результаті пестицидного навантаження. Концепція такого захисту базується на класичних моделях біорегуляції, тобто використанні живих організмів або продуктів їх метаболізму проти живих компонентів агроценозу, а також методів, спрямованих на управління, в першу чергу, природними (біотичними) факторами середовища, які здатні обмежувати, знижувати чисельність і шкодочинність організмів. Сучасна концепція створення фітосанітарних технологій враховує основний спектр багатофакторної залежності в досягненні гарантованого захисту врожаю та екологічної безпеки [1,2].

НУВБІП України

НУВБІП України

З літературних джерел відомо, що більше 100 видів бактерій, 800 видів мікроміцетів і 300 видів нематод можуть бути контролюючими біологічними агентами для шкідників; 50 видів бактерій і мікроміцетів для контролю бур'янів і тільки 20 видів бактерій – для контролю збудників хвороб рослин. У світовому виробництві біологічних засобів захисту рослин біопрепарати для контролю комах-шкідників рослин складають 10,0% проти збудників хвороб – близько 5,0%, для боротьби з бур'янами – 1,5 % [3].

НУВБІП України

НУВБІП України

На сьогодні біоконтроль чисельності та розвитку шкодочинних організмів в агроценозах з використанням мікробіологічного методу захисту рослин розглядається як найбільш екологічна складова комплексу інтегрованого захисту. Основна увага зосереджується на критеріях активності штамів-продуцентів агрономічно-цінних мікроорганізмів та оцінки їх комбінованої (селективної) дії на цільові об'єкти (фітопатогени, комахи) з перспективою розробки сучасних систем біоконтролю різних агроценозів.

НУВБІП України

НУВБІП України

Тенденції останніх років у всьому світі свідчать, що завдяки своїй екологічній безпеці, біопрепарати будуть все активніше витіснити фунгіциди, інсектициди хімічного синтезу, хоча мова йде про розумну заміну найбільш небезпечних синтетичних пестицидів, а не про повне їх усунення.

Важливим засобом вирішення проблем сільського господарства є методи регулювання механізмів рослинних процесів: азотфіксація, антагонізм мікроорганізмів до фітопатогенів різних культур, синтез мікроорганізмами біологічно активних речовин, спроможних суттєво впливати на фізіологічний стан рослин та їх імунітет тощо.

Інтродукція мікробних агентів у вигляді біопрепаратів в агроєкосистеми є ефективним методом корекції мікрофлори ґрунту, трофічної структури біологічних систем, наприклад «ґрунт-рослина-фітопатоген», а також покращення росту та розвитку рослин та підвищення їх продуктивності [4-7].

Тому дослідження впливу бактерій роду *Bacillus* на фітопатогенні організми та наукове обґрунтування контролюючих заходів фітозахисту є сучасним та актуальним напрямком.

Для досягнення мети передбачалось вирішення наступних завдань:

- Виявити особливості розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів у садових насадженнях.
- Оцінити антагоністичну активність бактерій *Bacillus* spp. відносно фітопатогенних мікроміцетів родів *Fusarium*, *Alternaria*.
- Обґрунтувати ефективність фітозахисних заходів контролю шкідливих організмів за участю мікроорганізмів р. *Bacillus*.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологічний контроль фітопатогенних організмів в агроценозах

Посилення антропогенного впливу на екосистеми усіх типів викликає суттєве порушення структурно-функціональної організації та фітосанітарного стану агроценозів, що потребує їх екологічного оздоровлення. Особливу актуальність ця проблема набуває у теперішній час в умовах фітосанітарної дестабілізації, значних змін чисельності видового складу шкочочинних організмів у агроценозах та масового розповсюдження порівняно невеликої кількості об'єктів, що відносяться до домікантних видів та інших, на фоні загального збіднення біологічного різноманіття агроєкосистем [8, 9].

З літературних джерел відомо, що біологічний метод захисту рослин базується на використанні живих організмів, продуктів їх життєдіяльності та біологічно активних речовин, іншими словами зоофагів, ентомопатогенних мікроорганізмів, гербіфагів, антибіотиків, феромонів, ювенолідів, біологічно активних речовин, що регулюють розвиток та розмноження шкочочинних організмів. В цьому зв'язку біологічний захист рослин розглядається як основа стабілізації агроєкосистем. Використання мікробіологічних методів захисту рослин, наприклад, біофунгіцидів, є екологічно і соціально безпечною ланкою з точки зору збалансованості та стабільності функціонування агроєкосистем.

Біологічний метод більш гнучкий у вирішенні сучасних завдань розвитку стійкого агровиробництва у порівнянні з іншими методами (наприклад, як в умовах інтенсивного, так і органічного землеробства) [10-12].

Сучасний біологічний контроль шкочочинних організмів враховує основний спектр багатфакторної залежності в досягненні гарантованого захисту врожаю та екологічної безпеки. Пріоритетними стають підсилення природних механізмів рівноваги триотрофної системи (грунт – мікроорганізми – рослини), спрямоване застосування біоагентів, екологічно вивірені багатоваріантні інтегровані системи з антирезистентною стратегією і тактикою.

Сучасний інтегрований захист рослин передбачає управління популяціями шкідливих організмів у межах конкретних агробіоценозів за допомогою застосування оптимальної для конкретних умов системи заходів з метою оптимізації фітосанітарного стану посівів.

Головною передумовою інтегрованого захисту рослин є фітосанітарний моніторинг і прогноз шкідливих організмів, який повинен представляти собою систему збору, накопичення, аналізу і використання фітосанітарної інформації з метою цілеспрямованого і оптимального проведення заходів захисту рослин.

Фітосанітарний моніторинг – це система спостережень і контролю поширення, щільності, інтенсивності розвитку та шкідливості шкідливих організмів. Головна мета фітосанітарного моніторингу, як і будь-якої програми спостережень, отримати необхідну інформацію для складання прогнозів і сигналізації розвитку шкідливих організмів та прийняття рішення по проведенню захисних заходів. На

сьогодні, за даними ФАО, людство недобирає у середньому 34,0% потенціально можливого врожаю сільськогосподарських рослин. Ці витрати оцінюються у 75,0 млрд. доларів. Вони розподіляються таким чином: витрати від шкідників – 30,0 млрд, від хвороб – 25,0 млрд, від бур'янів – 20,0 млрд. [12].

Виробництво і застосування біологічних засобів захисту рослин упродовж останніх двадцяти років показують стійку тенденцію до подальшого зростання (табл. 1). За прогнозом щорічне зростання виробництва біологічних засобів захисту рослин, живлення та стимулювання росту сільськогосподарських культур на рівні 12,0 – 17,0%.

Таблиця 1.1. Показники світового ринку біологічних продуктів [13]

Рік	2005	2009	2012	2014	2016	2020	2025 (прогноз)
Виробництво біопродуктів, млн. доларів США	500	1000	1500	2000	3000	4000	7500

Біопрепарати для захисту рослин на основі мікроорганізмів порівняно з хімічними засобами мають такі переваги:

- нешкідливість для людини, тварин,
- відсутність фітотоксичності, мутагенної та онкогенної активності,
- широкий спектр дії на різні фітопатогени,
- раціональна технологія виробництва та відносно невисока вартість.

Важливою умовою успішного біологічного контролю фітопатогенів є здатність бактерій продукувати стимулятори росту рослин (фітогормони), покращувати засвоєння фосфору рослинами, фіксувати атмосферний азот, індукувати резистентність рослин до фітопатогенів.

Крім прямої стимуляції росту за рахунок синтезу корисних для рослин метаболітів, ризосферні бактерії синтезують сполуки, що сприяють захисту рослин від хвороб (антибіотики, сидерофори та гідролітичні екзоферменти).

Синтез активних речовин притаманний ризосферним мікроорганізмам родів *Bacillus*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, які успішно використовуються при розробленні препаратів для біологічного контролю хвороб рослин. Таким чином, пул природних ресурсів мікроорганізмів, в першу чергу бактеріальних продуцентів, завдяки їх різноманіттю і лабільності має великі перспективи для захисту рослин. Так, вони легко піддаються генно-інженерним маніпуляціям, а також можливістю управління фізіологічними, метаболічними властивостями на фоні змін умов зовнішнього середовища.

Антогоністичний вплив мікроорганізмів на фітопатогени обумовлюється рядом механізмів. Серед них:

- 1) інгібування антибіотиками, токсинами чи поверхнево-активними речовинами (антибіоз) [14, 15];
- 2) конкуренція за джерела живлення, поверхню колонізації [16-18];
- 3) паразитизм, що може включати синтез ферментів, які здатні лізувати клітинні стінки фітопатогенів (хітин аза та інші).

За останніми дослідженнями вчених виявлено, що чим більше пошкодження листків та коренів зернових рослин збудником хвороби, тим вища їхня колонізація штамми р. *Bacillus*, що призводить до зниження розвитку хвороби та стимулювання росту рослини саме на сприйнятливих до хвороб сортах із високою ураженістю [19, 20]. Доведена здатність штамів *Streptomyces* синтезувати захисні сполуки для рослин, що свідчить про перспективу їх використання як агентів біоконтролю.

Фітопатогени уражають рослини, колонізуючи їх поверхню або тканини.

Інфікування супроводжується широким спектром ознак, які у кінцевому результаті призводять до загибелі рослин. Так, відомо про мікроміцети родів *Fusarium*, *Aspergillus*, які синтезують мікотоксини, зокрема канцерогенні, що погіршують якість зерна [21, 22]. Є повідомлення про бактеріози, які спричинені

важкими бактеріальними інфекціями, які важко контролювати. Їхні симптоми

проявляються через плямистість, рак, гниль, гормональний дисбаланс, що призводить до надмірного росту рослин або його затримки. Серед фітопатогенних бактерій найпоширеніші інфекційні захворювання спричиняють *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia*

amylovora, *E. carotovora*, *Ralstonia solanacearum* і *Xylella fastidiosa*, *Pantoea stewartii* та інші. Серед фітопатогенних мікроміцетів найбільшої економічної шкоди завдають *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum* spp., *Rhizoctonia solani*, *Magnaporthe oryzae*, *Gaumannomyces graminis*, *Pythium* spp. та інші.

Стратегії біоконтролю мають можливість вирішувати проблеми, які супроводжують застосування хімічних пестицидів, і виступають сучасною альтернативою захисту рослин від фітопатогенів без заподіяння шкоди екосистемі.

Розроблення та впровадження ефективних мікробіологічних розробок із використанням ґрунтових мікроорганізмів для контролю і пригнічення розвитку захворювань рослин, підвищення продуктивності і якості сільськогосподарської продукції триває, набуває все більшої актуальності як інноваційний компонент

альтернатив хімічним препаратам. Отже, агрономічно корисні мікроорганізми мають безліч переваг над іншими біоагентами: стійкість до факторів навколишнього середовища, конкурентоздатність під час колонізації ризосфери, здатність до бактеріального і фунгального інгібування, індукування росту рослин та їх системної резистентності. Тому на даний час перспективні дослідження та систематизація даних щодо сигнальних мереж та механізмів активації стійкості рослин, рістстимулювальних властивостей мікроорганізмів-продуцентів біопрепаратів та пріоритетності їх використання як інструменту біологічного контролю.

Ключовими умовами досягнення успіху є всебічна раціоналізація хімічного методу та послідовне впровадження фундаментально-прикладних розробок стосовно використання біоагентів, які досліджуються та культивуються в умовах біолабораторій. Ці два процеси мають взаємозв'язок, оскільки в умовах підвищеного пестицидного навантаження на агроценози (при високому рівні екологічної безпеки) не завжди вдається отримати стабільний ефект від використання біоагентів (наприклад, ентомофагів або мікробних препаратів). Та навпаки, при організації диференційного за культурами та фітопатогенами послідовного заміщення пестицидів на регульовальні біологічні засоби можна активізувати та використовувати в інтересах практичного захисту рослин природну біоту. Як свідчить досвід, скорочення обробок пестицидами незмінно веде до накопичення та підвищення регулюючих функцій всього комплексу різноманіття паразитів, хижаків. По мірі відновлення балансу корисних і шкочочинних видів в агроценозах, зони природного біоконтролю розширюються і в них формуються трофічні ланцюжки, які об'єднують біоту в єдину систему біоценотичної регуляції.

НУБІП України

1.2. Застосування засобів фітозахисту на основі ґрунтових мікроорганізмів р. *Bacillus*.

Функції ґрунтових мікроорганізмів різноманітні та численні (входять практично в усі типи біогеноценотичних функцій ґрунтів). Сьогодні розвиток біологічних методів фітозахисту з використанням ґрунтових бактерій не лише забезпечує захист сільськогосподарської продукції, але й розв'язує важливе питання збереження навколишнього середовища та природного рівня біологічного різноманіття.

За типом дії та цільовими об'єктами виділяють такі групи мікробіологічних засобів захисту рослин [17]:

1) біопрепарати на основі:

а) живих спор;

б) антагоністів та їх метаболітів (метаболітні біопрепарати);

2) швидкодіючі токсигенні препарати.

Препарати першого типу базуються на комплексі живих клітин мікроорганізмів та їх біологічно активних речовин. Такі препарати призначені для інтродукції в біоценоз з метою тривалої регуляції щільності популяцій, застосовуються профілактично і є основою стратегії мікробіологічного захисту рослин. Другий тип — метаболітні біопрепарати, які представляють собою виділені з біомаси мікроорганізмів комплекси біологічно активних речовин, що володіють різною активністю. Їх доцільно застосовувати як тактичні засоби при виникненні епіфітотій, для швидкого пригнічення щільності популяцій фітопатогенів тощо.

Мікробіометод захисту рослин, на відміну від хімічних препаратів, має цілий ряд характерних особливостей і переваг, які обов'язково повинні враховуватися при його використанні. До числа цих особливостей слід віднести, перш за все, різнобічну дію біоагентів, виражену в сумарній ефективності та екологічній безпеці.

Сумарна ефективність складається з різних параметрів, обумовлених відношеннями патогена і його хазяїна. Таких відомостей накопичилося достатньо за різними препаратами і видовим спектром фітопатогенних організмів. Використання мікробних агентів на основі бактерій роду *Bacillus* в польових умовах є важливим етапом оцінки ефективного формування зв'язків між рослиною та мікроорганізмом. Багато видів цієї групи мікроорганізмів дійсно показали свою ефективність при контролі поширення патогенів та/або фітостимуляції [17, 19, 23].

Застосування біопрепаратів, як і хімічних засобів захисту рослин, строго регламентовано щодо використовуваних об'єктів і сільськогосподарських культур, норм витрати препарату, термінів обробок та інших параметрів. Ефективність біопрепаратів залежить від різних факторів: конкурентоспроможності штамів, що входять до складу біопрепарату по відношенню до аборигенної мікрофлори і збудників захворювань рослин, ґрунтово-кліматичних та інших регіональних умов. Біологічна ефективність біопрепаратів в значній мірі залежить від температури навколишнього середовища і біології збудника хвороб. Оптимум для обробок біопрепаратами становить вище 18⁰С [24, 25].

На сьогодні розроблено принципи створення мікробних препаратів для рослин, які враховують специфічність взаємодії бактерій з видом рослини та домінування в кореневій зоні відповідних мікроорганізмів.

Серед різноманіття бактерій роду *Bacillus* перспективними є спороутворюючі ґрунтові бактерії *B. subtilis*, *B. pumilus* та інші, які продукують комплекс ферментів, здатних до трансформації різних субстратів і стабільно виживати в мінливому середовищі (близько 60,0% ринку промислових ферментів). У роботах різних вчених повідомляється, що штами *B. subtilis*, *B. pumilus* проявляють антагоністичні властивості по відношенню до патогенних і умовно-патогенних форм мікроорганізмів, таких як *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Fusarium*, крім цього продукують біологічно активні речовини.

синтезують амінокислоти, вітаміни та інші сполуки (активізують фізіологічні процеси росту і розвитку рослин) [26-29].

Як бактеріальний ендофіт *B. subtilis* займає ті ж екологічні ніші в рослинах, що і фітопатогенні форми мікроорганізмів, тому є перспективним біоконтрольним агентом для боротьби з фітопатогенами різних рослин. Для ефективного контролю фітопатогенів в агроценозах здійснюють поєднання хімічних засобів і біологічних [30]. Використання біопрепаратів у чистому вигляді потребує більшої кількості обробок, що збільшує матеріальні витрати.

Дослідженнями доведено, що біоагенти *Bacillus* spp. досить часто використовуються під час біологічного контролю хвороб плодових, ягідних культур, а також овочевих та інших насаджень для зменшення частоти захворювань і мають застосовуватися в більших масштабах. Вони ефективні проти збудників хвороб, що переносяться насінням і ґрунтом [31, 32].

Аналіз літератури свідчить, що використання біопрепаратів та їх суміщення з хімічними препаратами можливе за різних способів застосування: обробка насіннєвого матеріалу, внесення в ґрунт, обприскування рослин. Суміші препаратів дають змогу мінімізувати пестицидне навантаження на агроценози способом зниження норм витрати хімікатів і зменшення кратності обробок та відповідно зменшити механічні пошкодження посівів, поповнити якість продукції та підвищити економічну ефективність заходів захисту.

В Україні використовують низку біопрепаратів вітчизняного виробництва, наприклад Фітоцид-р – біопрепарат, в основі якого є клітини бактерій *Bacillus subtilis*, що мають антимікробні і ростостимулюючі властивості, здатні перетворювати складні органічні та мінеральні сполуки ґрунту на доступні для рослин. У них використана властивість корисних мікроорганізмів – пригнічувати і зупиняти розвиток хвороботворних бактерій та мікроміцетів. Препарат зміцнює імунітет рослин, оздоровлює ґрунт та підвищує його родючість, забезпечує рослини фосфором, азотом, макро – та мікроелементами. Повідомляється, що даний біопрепарат захищає рослини від широкого спектру збудників грибних і бактеріальних хвороб: *Blumeria* spp., *Septoria* spp., *Fusarium* spp., *Pyrenophora*

spp., *Alternaria* spp., *Drechslera* spp., *Ascochyta* spp., *Phytophthora* spp., *Erysiphe* spp. та інших; стимулює ріст та розвиток рослин; підвищує стійкість до несприятливих умов навколишнього середовища та покращує якість продукції рослинництва.

Також ефективними вважаються біопрепарати від комплексу хвороб, які викликані мікроміцетами та бактеріями – ФітоДоктор, Алірін-Б, Бактофіт, Гамаїр, Біо-фунгіцид та інші. Вони схожі за принципом дії на рослину: пригнічують розмноження та розвиток багатьох фітопатогенних грибів і бактерій, знижують токсичність ґрунтів після пропарювання або застосування хімічних препаратів шляхом відновлення ґрунтової мікробіоти, а також сприяють підвищенню імунітету та стимулюють ріст рослин, що є важливим для уникнення повторного зараження та підвищення врожайності. Ці біопрепарати по ефективності не поступаються хімічним засобам захисту, а у більшості випадків є ще більш ефективними.

Спосіб застосування засобів фітозахисту на основі ґрунтових мікроорганізмів р. *Bacillus* полягає у наступному:

- передпосівна обробка насіння проводиться у день посіву шляхом замочування насіння на 1-2 години або обприскуванням;
- оброблене насіння підсушують та висівають одразу або не пізніше ніж через 8 годин після обробки;
- обробку розсади проводять перед висаджуванням рослин у ґрунт;
- розсаду обприскують розчином препарату в затіненому місці або занурюють корені рослин у розчин і висаджують у ґрунт;
- обприскування рослин проводять у період вегетації з інтервалом 10-15 днів;
- перед застосуванням біопрепарат необхідно ретельно перемішати;
- обробку проводити, уникаючи дії прямих сонячних променів, у похмуру погоду або ввечері;
- розчин біопрепарату зберігати не більше доби в прохолодному та захищеному від світла місці.

Таким чином, біологічний метод є основним стратегічним екологічно безпечним методом захисту рослин від шкідливих об'єктів, рівень розвитку якого визначає ступінь продовольчої безпеки держави, якість харчування населення та здоров'я нації. На жаль, біологічні методи захисту рослин у нашій країні не перебувають на етапі стрімкого розвитку, тому їх потрібно впроваджувати, адже за ними – майбутнє. Чим раніше аграрії це зрозуміють, тим буде краще для усього суспільства.

1.3. Сучасні технології захисту садових агроценозів від фітопатогенів

Садівництво – галузь, де інтенсивно застосовують хімічні засоби захисту рослин. Тому на сьогодні важливе практичне значення має збереження в умовах пестицидного навантаження біологічного потенціалу корисних для рослин мікроорганізмів, які забезпечують імунітет рослин, стимулюють розвиток, трансформують важкорозчинні сполуки та забезпечують доступними елементами, поживними речовинами, фізіологічно активними сполуками (гормонами, вітамінами), а також відіграють важливу роль в природному захисті рослин від негативного впливу фітопатогенних організмів та різних факторів середовища.

На сьогодні дослідження особливостей і функцій природних популяцій мікроорганізмів (бактеріальних і мікроміцетних угруповань), що входять до складу епіфітної ризосферної та ґрунтової мікрофлори, надзвичайно важливі та актуальні, оскільки прояв і функціонування мікробіоти все частіше відбувається під впливом абіотичних та антропогенних факторів.

Альтернативою хімічного методу є біологічний захист рослин від збудників хвороб, застосування якого з кожним днем стає все більше актуальним. Практична зацікавленість біологічним методом зумовлена тим, що він безпечний для людини і теплокровних тварин. Агенти біологічного захисту не забруднюють навколишнє середовище, проявляють високу селективність, зручні для масового виробництва та мають невичерпні ресурси для цього. Ось чому у екологічно розвинених країнах біологічний захист рослин є екологічно

безпечною і пріоритетною формою в довготривалих програмах контролю фітопатогенних організмів.

Біологічні препарати розділяють на наступні види:

Біологічні фунгіциди – це препарати живих організмів, продукти їх життєдіяльності, що використовуються аграріями для захисту рослини в період її вегетації від хвороб, які викликають гриби та бактеріальні збудники.

Біологічні фунгіциди володіють значним діапазоном дії, що дозволяє захистити рослини від широкого спектру хвороб, в тому числі: пліснявіння насіння, корневих гнилей, снігової плісняви, борошнистої роси, бурої роси, фітофторозу, альтернаріозу, фузаріозу, фомозу, кокомікозу, бактеріозів і різного роду плямистостей і гнилей.

Біологічні інокулянти – біологічні препарати, що використовують живі культури корисних для рослин мікроорганізмів для зміцнення здоров'я культури.

Використання інокулянтів сьогодні не обмежується тільки бобовими культурами. Інокулянти використовують, також, для передпосівного обробітку насіння різноманітних сільськогосподарських культур: технічних, просапних, зернових колосових, кукурудзи та соняшнику садових агроценозів.

Біологічні деструктори рослинних решток – це препарати, які сприяють пришвидщенню розкладання рослинних решток у ґрунті, пригніченню патогенної мікробіоти та оздоровленню ґрунту. В Україні та світі найпоширенішими є деструктори біологічного походження.

Біологічні добрива – це специфічні ґрунтові мікроорганізми, які, разом з синтезованими ними біологічно-активними речовинами, застосовуються для забезпечення культури доступними формами азоту, фосфору та калію, а також стимуляції їх росту і розвитку, збільшення урожайності та покращення якості продукції.

Біопрепарати, які в переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволені до використання в Україні в садах:

Бізар, р. – садові (яблуна), (захист проти хвороб, підвищення імунітету) 4-6 л/га;

Біофунгіцид *Мікосан «В»* – яблуня (проти збудників комплексу захворювань) 10-12л/га;

Гауспин, р. – садові (яблуня) (захист проти шкідників та хвороб, підвищення імунітету) 4-6л/га;

Казумін 2Л РК біопрепарат фунгіцидної та бактерицидної дії – яблуння (бактеріальний опік) 3,0-4,0л/га;

Псевдобактерін – 2 (Респекта), в.р – яблуня, груша (проти збудників грибних і бактеріальних хвороб) 1л/га;

Фітоцид, р. – садові та квіти (підвищення врожайності захист від хвороб) 1,0-2,0л/га.

Біологічний метод є основним стратегічним екологічно безпечним методом захисту культурних рослин від шкідливих об'єктів, рівень розвитку якого визначає ступінь продовольчої безпеки держави, якість харчування населення та здоров'я нації. На жаль, біологічні методи захисту рослин у нашій країні не перебувають на етапі стрімкого розвитку, тому їх потрібно впроваджувати, адже за ними – майбутнє. Чим раніше аграрії це зрозуміють, тим буде краще для усього суспільства.

Найбільший об'єм продажів та найбільший асортимент мікробних препаратів спостерігається в США, з яких 40,0% використовується на зернові та бобові культури і ще 40,0% на овочівництво, садівництво і органічне виробництво. Те ж саме відбувається в країнах Західної Європи: Німеччині, Франції, Італії, Швейцарії, Англії та ін. У нас згідно «Переліку пестицидів та агрохімікатів дозволених до використання в Україні» зареєстровано не більше 13 біопрепаратів для боротьби з хворобами і шкідниками плодово-ягідних культур.

Один з найпоширеніших і ефективних біопрепаратів *Триходермін* являється препаратом фунгіцидної дії, що містить спори і міцелій гриба – антагоніста *Trichoderma lignorum*, а також продукти метаболізму, що виділяються грибом в процесі виробничого культивування. Мікроміцет пригнічує розвиток фітопатогенних мікроорганізмів шляхом впливу на них прямим паразитуванням, конкуренцією за субстрат, виділенням ферментів,

антибіотиків (зокрема гліотоксин, вірідін, триходермін) та інших біологічно активних речовин, які пригнічують розвиток багатьох видів збудників захворювань, в тому числі бактеріальних, а також гальмують репродуктивну здатність патогенів. В ґрунті гриб розвивається на різних рослинних залишках багатих целюлозою та на міцелії і плодових тілах фітопатогенів. Триходерма, в буквальному розумінні, з'їдає патогенний гриб, не завдаючи шкоди рослині, виділяючи, як уже відзначалось, речовини (метаболіти), що підвищують стійкість рослин до вищезазначених хвороб.

Триходермін застосовують проти корневих гнилей та хвороб листового апарату. Препарат має окрім антимікробних ще й рістстимулюючі властивості. Триходермін найкращий антагоніст грибів-збудників таких захворювань як: біла, сіра, суха і коренева гниль, чорна ніжка, гелмінтоспориоз, вертицильозне і фузаріозне в'янення та інші. Варто пам'ятати, що для того, щоб досягти високої біологічної ефективності від застосування Триходерміну при обробці плодових культур необхідно обробляти їх з моменту розпускання бруньок і впродовж всього вегетаційного періоду, кожні 10-20 днів в залежності від інтенсивності розвитку хвороб.

Норми витрати препарату Триходермін на плодово-ягідні культури проти парші, сірої гнилі винограду, плодової гнилі, пилосперозу, верицильозного і фузаріозного в'янення, сірої та фіофторозної гнилі суниці становить 0,5-1 % розчин для поливу і 1-2 % робочий розчин для оприскування по вегетуючих рослинах.

За даними Інституту захисту рослин (Г. М. Ткаленко «Біологічні препарати для захисту рослин») трьохразова обробка суниці мікробіологічним препаратом Триходермін на основі різних видів роду *Trichoderma* знижувала ураженість листків плямистостями і плодів сірою гниллю. За обробки штамми *Trichoderma lignorum* і *Trichoderma cladiocladium* (2д/га) ураженість листків плямистостями була в 2,7-3,2 рази нижча в порівнянні з контролем, а плодів з сірою гниллю в період масового достигання - в 2,8 і 3,1 рази відповідно. Застосування

біопрепарату Триходерміну сприяло підвищенню урожайності суниці на 22,7-36,3 %.

Планриз – високоефективний, екологічно безпечний препарат фунгіцидної і бактерицидної дії на основі ризоферних бактерій *Pseudomonas fluorescens* AP-33, який не тільки пригнічує збудників багатьох захворювань, але

є й потужним стимулятором росту і використовується на багатьох сільськогосподарських культурах. Бактерії *Pseudomonas fluorescens*

потрапляючи в ґрунт з обробленим насінням активно заселяють кореневу систему рослин, продукуючи ферменти і антибіотики, фітоалексини (речовини,

що сприяють підвищенню імунітету вегетуючих культур), стимулятори росту, ферменти, антибіотики, органічні кислоти, сидерофори (сполуки, які здійснюють зв'язування і транспорт у клітини бактерій іонів заліза, що призводить до обмеження розвитку фітопатогенів і поліпшення росту рослин). На вегетуючих рослинах пригнічують гнілі, що виникли та патогенну флору.

Біологічно активні речовини антибіотичної та рістстимулюючої груп, ефективні в процесі ферментації, знезаражують поверхню насіння від фітопатогенів, тим самим придушуючи насінну інфекцію. Бактерії *Pseudomonas fluorescens* мають здатність активно заселяти ризосферу (кореневу систему)

рослин, харчуючись корневими виділеннями і виробляючи біологічно активні речовини, що пригнічують розвиток хвороб і підсилюють ріст рослин.

Наслідками колонізації ризосфери і вироблення біологічно активних речовин бактеріями *Pseudomonas fluorescens* є також краще засвоєння поживних речовин

рослинами. Органічні кислоти, що виділяються псевдомоноами, розчиняють важкодоступні мінеральні сполуки, які згодом засвоюються рослинами, що дає прибавку урожаю. Біологічно активні речовини, які продукуються бактеріями

Pseudomonas fluorescens при обробці вегетуючих рослин пригнічують розвиток фітопатогенів, які викликають багато захворювань.

Норми витрати препарату Планриз:

на суницю – проти сірої гнілі 4л препарату на 1 га;

на виноградниках – проти борошнистої роси, пероноспорозу, сірої гнилі
 4 л/га;
 – яблуня – проти парші 5 л/га;

– бакова суміш – Планриз 1 л + Триходермін 2 л /га на плоді дерева –
 проти комплексу хвороб – не менше 5 разів за сезон.

З метою тривалішого утримання препарату на поверхні насіння і
 вегетуючої рослини рекомендується використовувати у бакових сумішах
 прилипач Ліпосан.

У комплексі заходів з інтегрованого захисту яблуні від хвороб досить
 важливим є застосування хімічних засобів, яке здійснюється здебільшого за так
 званою фенологічною системою, що базується на проведенні обприскувань у
 весняний період у відповідності з певними фенофазами рослин, а влітку згідно з
 особливостями розвитку найбільш небезпечних хвороб.

Більш прогресивною є так звана інтервенційна, або прогнозна система,
 згідно з якою строки хімічних обробок пов'язують з небезпечними періодами
 інфікування яблуні збудником парші. Але обприскування за такою схемою
 носять переважно не профілактичний, а постінфекційний характер, у зв'язку з
 чим вимагають застосування фунгіцидів системної дії, що відзначаються
 терапевтичними властивостями. Останнє несе у собі небезпеку швидкого
 розвитку у збудника вищеназваної хвороби резистентності до фунгіцидів.

Враховуючи зазначене, в Інституті садівництва НААН України розроблено
 фенопрогностичну систему захисту насаджень від парші та інших шкідливих
 організмів, яка базується на проведенні обробок у період до цвітіння яблуні за
 загальноприйнятими фенологічними критеріями з одночасним
 інструментальним моніторингом епіфітотійної ситуації, а після цвітіння – у
 критичні періоди інфікування дерев збудником парші, які визначають за
 допомогою спеціальних механічних або електронних приладів та нормалізованої
 шкали Міллса (для визначення періодів інфікування яблуні збудником парші та
 ступеня небезпеки інфекції).

Таким чином, комбіноване застосування та чергування при обприскуваннях за фенопрогносною системою контактних і системних фунгіцидів, а також інсектицидів з урахуванням небезпеки тих чи інших хвороб і шкідників забезпечує надійний захист садів від комплексу шкідливих організмів.

Науковці НААН України рекомендують в разі відсутності обробки зерняткових і кісточкових культур до розпускання бруньок 3,0% Бордоською рідиною, то після розпускання бруньок дерева обприскувати 1,0% Бордоською рідиною, Хорусом, 75% в.г., Медян Екстрою 350 SC к.с., Чемпіоном, 77% з.п.

або Косайдом 2000 ВГ.

Сорти яблуні сприйнятливі до парші та борошнистої роси в фенофазу «рожевий бутон» обробляють вдруге фунгіцидами Скор, 25% к.е., Стробі, 50% в.г., Флінт 50% в.г., Ембрелія 140 кс., Терсел в.д.г. Сорти яблуні стійкі до парші, але сприйнятливі до борошнистої роси обприскують зазначеними вище фунгіцидами або застосовують препарати ефективні проти борошнистої роси грибів — Сапроль, 20% к.е., Топаз, 10% к.е., Топсін М, 70% з.п., Талендо 20 к.е.

Перед цвітінням проти плямистостей кісточкових і моніліозу застосовують

Сігнум, в.г., Топаз, Топсін М, Дітан М-45, 80% з.п., Делан, 70% в.г., Фитал, 65%

в.р.к. або Хорус, 75% в.г. Проти кучерявості листків персика ефективні мідні препарати Бордо Ізагро, 20% з.п., Косайд 2000 ВГ та Скор, 25% к.е., Делан, 70% в.г., Фитал, 65% в.р.к.

Для захисту яблуні та груші від парші важливо ліквідувати джерела інфекції (знищення опалого листа, вирізання вражених погонів), створити умови, несприятливі для розвитку збудників хвороби рекомендованими фунгіцидами з дотриманням рекомендацій щодо строків внесення, норм витрат препаратів, кратності обприскувань, періодів очікувань та ін. Нові насадження слід закладати сортами яблуні та груші, імунними та високостійкими проти парші.

Під час захисту яблуні від мучнистої роси важливо вирізувати уражені погони в період обрізування (знищення джерела інфекції). Слід не допускати загущення насаджень, не вносити високих доз азотних добрив, що знижують

стійкість рослин проти хвороби. У зрошуваних садах необхідно дотримуватися режиму поливу. Необхідно проводити профілактичні обприскування дерев фунгіцидами із дотриманням рекомендацій щодо їх застосування.

При захисті яблуні від філостиктозу доцільно знищувати опале листя, а також своєчасно проводити профілактичні обприскування фунгіцидами.

Захист зерняткових культур від плодової гнилі повинен ґрунтуватися на знищенні джерел інфекції та захисту плодів від зараження. Для цього необхідно знімати з дерев та знищувати, а також шляхом пахоти та дискування заробляти у

грунт муміфіковані плоди, періодично збирати та вивозити з саду опалі уражені

плоди, забезпечувати надійний захист насаджень від шкідників, які пошкоджують плоди, не допускати розвитку парші. У садах, де хвороба виявляється у формі опіку, слід вирізати уражені гілки. Рекомендуються профілактичні обприскування дерев фунгіцидами.

Для контролю шкідливості моніліозу кісточкових необхідно знищувати джерела інфекції. Зокрема, видаляти уражені і висохлі плодові гілки, погони, гілки та плоди, проводити зяблеву пахоту в міжряддях і обкопувати приствольні ділянки дерев із загортанням у ґрунт опалих листків та плодів, знімати з дерев муміфіковані плоди, своєчасно застосовувати фунгіцидні весни), контролювати

шкідників, які сприяють ураженню плодів моніліозом.

Для захисту персика від кучерявості необхідно осінньою або ранньою весною вирізати та знищувати уражені погони, проводити зяблеву пахоту ґрунту та заробляти опале листя, своєчасно обприскувати дерева фунгіцидами, вирощувати стійкі сорти.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводились на кафедрі фітопатології імені академіка В.Ф.

Пересипкіна НУБіП України, рослинні зразки для досліджень відбирались на базі ділянок лабораторії фізіології рослин і мікробіології Інституту садівництва НААН України (ІС НААН).

В роботі використано штами бактерій роду *Bacillus* ssp. (Bt 25, Bt 14/2) із робочої колекції непатогенних мікроорганізмів сільськогосподарського призначення кафедри фітопатології імені академіка В.Ф. Пересипкіна НУБіП України (керівник – професор Патики М.В.).

Рослинні зразки різних періодів вегетації (молоді пагони, листя, корені, прикоренева зона, кора, плоди) відбирали із насаджень ІС НААН (яблуна, груша, слива).

Мікробіологічні аналізи виконували за класичними методиками [50-54] з дотриманням правил асептики в лабораторних та модельних умовах.

Морфологію виділених ізолятів вивчали за допомогою інструментальних методів, зокрема мікроскопіюванням препаратів «жива крапля» та фіксованих препаратів, фарбованих фуксином Циля.

В дослідженнях використано фітопатогенні мікроміцети *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – колекція кафедри фітопатології ім. В.Ф. Пересипкіна НУБіП України.

Специфічну активність (патогенність) виділених ізолятів визначали біотестуванням з використанням рослин-індикаторів (свіжі плоди яблуні, коренеплоди моркви), які штучно інфікували відібраними ізолятами.

Статистичну обробку даних виконували за допомогою програм Microsoft Office Excel і Statistica 6.0.

2.1. Об'єкт та предмет дослідження

Об'єкт досліджень – активність бактерій роду *Bacillus*, особливості регуляції фітопатогенів в агроценозах.

Предмет досліджень – захисна дія біоагентів *Bacillus* ssp., біоконтроль мікроміцетів родів *Fusarium*, *Alternaria* в плодових і ягідних агроценозах.

Чисельність бактерій визначали методом прямого підрахунку із використанням методу Виноградського у модифікації О.Г. Шульгіної. Наважку

із середньої проби ґрунту масою 5 г переносили у колбу ємністю 250 см³ із 45 см³ стерильної води. Колбу енергійно струшували протягом 5 хвилин. Після осідання найбільших ґрунтових часток градуваною ілесткою (величина краплі 0,01 см³) наносили одну краплю на поверхню чистого знежиреного предметного

скельця із відзначеним прямокутником площею 8 см² (4 см x 2 см), в межах якого за допомогою покривного скельця рівномірно розподіляли нанесену суспензію.

Облік загальної чисельності мікроорганізмів проводили шляхом поверхневого посіву суспензій з відповідних розведень (-6; -7) на агаризовані поживні середовища (м'ясо-пептонний агар, МПА) за методом прямого підрахунку

клітин [33].

Кількість мікроміцетів виявляли на поживному середовищі Чапека з додаванням антибіотика стрептоміцину [34].

Результати аналізу чисельності мікроорганізмів представляли кількістю колонієутворюючих одиниць в 1,0 мл [35].

Морфологічні типи виділених ізолятів ґрунтових і ризосферних мікроорганізмів досліджували за допомогою мікроскопіювання фіксованих препаратів.

Антагоністичні властивості штамів бактерій роду *Bacillus* ssp. визначали дифузним методом подвійної культури в чашках Петрі на глюкозо-пептонному агаризованому середовищі (ГПА). У дослідженнях використано класичний метод блоків.

Антагоністичну активність штамів Bt 25, Bt 14/2 оцінювали за ступенем інгібування росту та розвитку тестових мікроміцетів. Діаметр колонії вимірювали на 14 добу, визначали відсоток інгібування росту колоній грибів за формулою:

$$\text{Інгібування росту (\%)} = \frac{D_k - D_d}{D_k} * 100\%$$

де: D_k – діаметр колонії гриба в мм у контролі, D_d – діаметр колонії гриба в мм у досліді.

Діаметр колонії вимірювали в радіально протилежних сторонах двічі, та розраховували середнє арифметичне значення.

Ступінь антагоністичної активності випробуваних штамів ризосферних бактерій визначали відповідно до розміру зони пригнічення росту тест-штаму навколо агарового блоку. Зони затримки росту враховували через 3 і 10 діб культивування.

2.2. Методи проведення дослідження

Лабораторні методи: визначення характеристик об'єктів дослідження мікробіологічними методами/

Мікробіологічний аналіз чисельності життєздатних колонієутворюючих одиниць в 1 мл (КУО/мл) суспензії підраховували за формулою:

$$M = \frac{A \times 400}{1000}, \text{ млрд./мл}$$

де, M – титр (10^{-9}); A – середнє значення клітин бактерій ($\frac{\Sigma}{16}$).

Мікроскопічні дослідження готових препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопу «Polivar», збільшення 40x, Sigeta MB-130, збільшення 40x, імерсійний об'єктив 90x, мікроскопу «Axiostar plus», ICS, збільшення 100x, у препаратах «жива крапля», а також фіксованих препаратах, забарвлених фуксином.

Під час спостережень за особливостями розвитку збудників хвороб, визначали їх морфологічні ознаки (методи мікроскопічних досліджень).

Патогени виділяли із живих рослин шляхом перенесення міцелію або спор із ураженої поверхні на нове поживне середовище. У випадку коли міцелій мікроміцетів чи спори неможливо було виділити з поверхні рослин, уражені частини ставили у вологу камеру. Для цього використовували чашки Петрі з вологим фільтрувальним папером, які витримували за оптимальних температурних умов: (+24⁰-26⁰С) і високої відносної вологості повітря (90-100%)

з метою утворення колоній конкретного збудника.

Чисті культури отримували за допомогою методики пасажів колоній на свіже агаризоване поживне середовище. Штрихи на поверхню середовища наносили зигзагоподібною лінією по діаметру чашки з агаром або двома-трьома короткими паралельними штрихами.

Збудників фузаріозу та альтернаріозу інкубували одночасно на різні поживні середовища: МПА, КАА (картопляно-глюкозний агар) Чапска (відповідно по центру чашки Петрі), та культивували стаціонарно за температурою 20⁰-28⁰С. Спостереження здійснювали упродовж семи діб за розвитком патогенів (наявністю чи відсутністю росту, діаметром колонії).

Інтенсивність спороношення спостерігали з використанням камери з сіткою (камера Горязєва).

Статистичний метод встановлення вірогідності отриманих результатів, використання загальноприйнятих у математичній статистиці методик, програми *Microsoft Excel, Statistica*.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Особливості розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів

Fusarium spp., *Alternaria spp.* в агроценозах плодкових насаджень

Оцінка мікробіологічного стану у системі комплексного біомоніторингу садових насаджень та діагностика (від гр. *diagnostikos* – здатний розпізнавати) служать вихідною передумовою щодо розробки сучасних технологій оздоровлення агробіоценозів, формування підґрунтя для посилення механізмів нівелювання наслідків ураження фітопатогенними організмами та дозволяє проводити комплексні фітозахисні заходи. Отже, раціональні заходи контролю фітопатогенних організмів доцільно будувати виключно на основі чітких даних щодо діагностики мікозів і біологічних властивостей їх збудників, що важливо для довготривалої та оперативної оптимізації агроєкосистем.

В результаті проведених мікробіологічних і фітопатологічних досліджень (рис. 3.1) встановлено, що у природних умовах протягом активної фази онтогенезу рослин яблуні сформувався поверхневий мікробіологічний фон переважно з представників мікроміцетних угруповань (змішаний інфекційний фон).

За результатами інформаційного пошуку встановлено, що основними збудниками гнилей є мікроміцети роду *Fusarium*, зокрема *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. gibbosum*, *F. javanicum*, проте найбільший відсоток у патогенезі належить виду *F. oxysporum*, який використано в подальших дослідженнях.

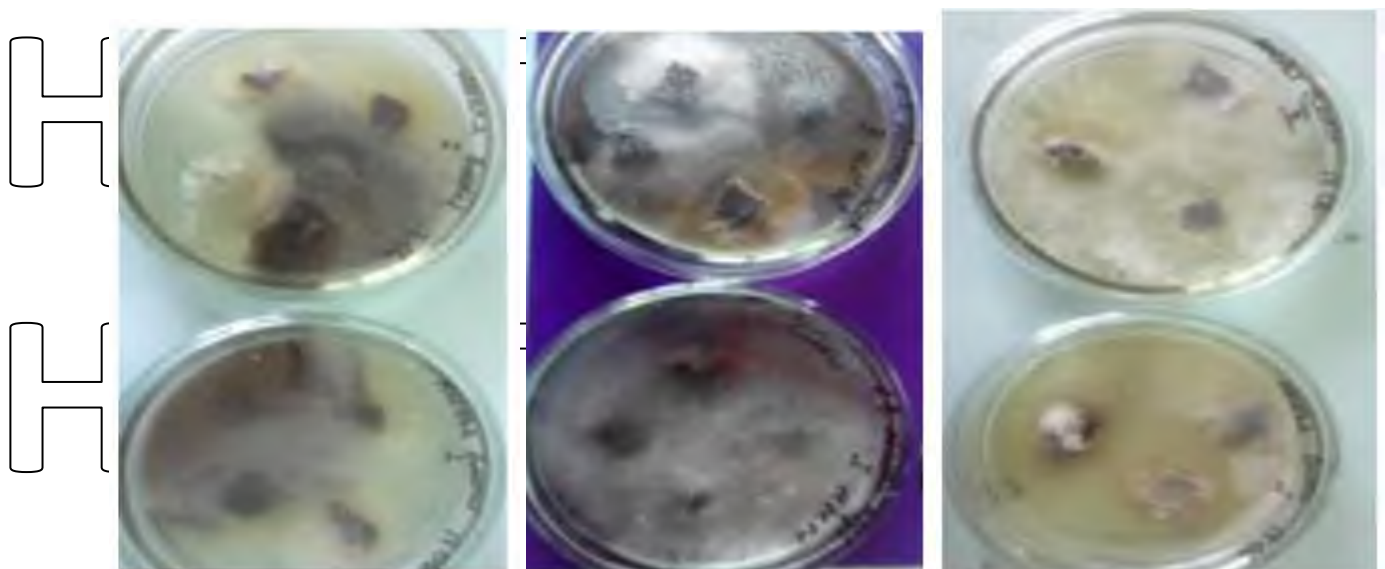


Рисунок 3.1. Лабораторний аналіз з виявлення популяції мікроміцетів р. *Fusarium* spp. (рослинні зразки яблуни)

У ході проведення лабораторних досліджень мікроміцетів роду *Fusarium* spp. спостерігали за будовою, розміром і формою макроконідій та хламідоспор, кількістю перетинок, формою й розміром верхньої клітини, наявністю ніжки, вгнутістю тощо, табл. 3.1 і рис. 3.2

Таблиця 3.1. Види мікроміцетів, виділені з рослинних зразків яблуни в

чисту культуру

Вид / короткий опис	Кількість ізолятів, виділених у чисту культуру, штук
<p><i>Fusarium oxysporum</i> /</p> <p>Конідиальне спороношення різноманітне за морфологією. Утворюють два типи конідій: макро- і мікроконідії. Макроконідії серпоподібні, веретено-серпоподібні із різним ступенем зігнутості. Утворюються на простих або розгалужених коніцієносцях. Деякі види здатні утворювати хламідоспори і склероції.</p>	

Alternaria alternata /

Спостерігаються короткі конідіеносці, які зібрані в кучки або поодинокі. Конідії оливковобурі, оберненобулавоподібні, у ланцюжках, які легко розпадаються, з трьома поперечними і 1-3 поздовжніми перетинками.

11

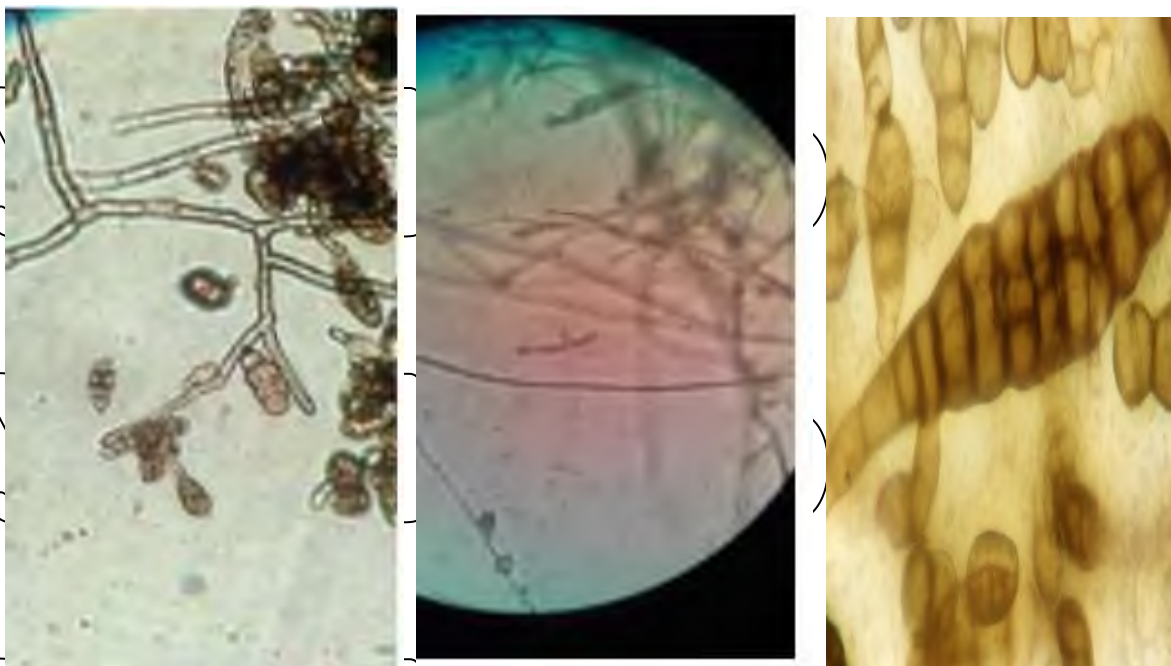


Рисунок 3.2. Морфологія мікроміцетних популяцій – ізолятів з уражених зразків яблуні (поживне середовище Чапека, світлова мікроскопія «Polivar», збільшення 40x)

При ідентифікації мікроміцету роду *Fusarium* враховували мікроморфологічні та макроморфологічні ознаки. Пігментацію та забарвлення повітряного міцелію встановлювали на 15-й день інкубування гриба при 24°C на поживному середовищі Чапека.

Мікроміцети роду *Fusarium* розвиваються в широких температурних межах, при цьому ріст міцелію, проростання конідій і спорозошення проходять за різних температур. Виявлено, що для розвитку *F. oxysporum*, *F. graminearum*

оптимальною температурою є 25°C [37]. У процесі відхилення температури від оптимального рівня в сторону її зниження до 10°C і підвищення до 30°C проростання хламідоспор відповідно знижується.

Під впливом підвищеної температури у мікроміцетів *Fusarium* різко зростає активність до токсинування. Тому в природних умовах ураження цим патогеном судинної системи проявляється не відразу після зараження, а досить довго залишається не помітним, і лише в літній період вегетації за підвищеної температури відмічається в'янення рослин.

Істотним фактором, що стимулює проростання конідій мікроміцетів роду *Fusarium*, є наявність ґрунтової вологи (оптимум 60,0%).

За дослідженнями вчених доведено, що епіфітотії різних гнилей спричинені видами роду *Fusarium* виникають у районах з недостатнім або нестійким зволоженням, або в межах однієї зони в посушливі роки. На думку інших авторів [38] сильний розвиток корневих гнилей відбувається за надлишкової вологи. В разі недостатнього або нестійкого зволоження ґрунту знижується стійкість рослин до патогенів унаслідок інгібування ростових процесів, а також порушується обмін речовин зумовлений посухою. Крім цього за посухи складаються сприятливі температурні умови для паразитування видів роду *Fusarium* [39], що суттєво впливає на інфекційний процес патогену.

В результаті вивчення морфолого-культуральних властивостей виділених ізольованих встановлений збудник сухої плямистості яблука - *Alternaria alternata* Beih, що належить до класу дейтероміцети, порядку гіфоміцети

На штучних поживних середовищах мікроміцети *Alternaria* формують колонії чорного, темно-оливкового, рідше сивого забарвлення. Конідії гладенькі, яйцеподібної, еліптичної форми, коричневого забарвлення з поздовжніми і поперечними перегородками.

Таким чином, внаслідок сприятливих погодно-кліматичних умов у період вегетації рослин домінуючою мікрофлорою були представники *Alternaria*

alternata. Відомо, що мікроміцети *Alternaria alternata* у період цвітіння яблуні активно інфікують квітки, рухається до квітколожа або середини плода, потім інфекція перебуває в стані спокою. В міру досягання плодів патоген розвиваються в насіннєвій камері, де він має сприятливі умови вологості й живлення. Це викликає відповідне гниття серцевини.

У ході досліджень виявлено, що розвивається даний фітопатоген на фоні ураження плодів підкірковою плямистістю (гіркою ямковістю), сильним запаром (побурінням шкірочки), низькотемпературним опіком та іншими функціональними хворобами (рис. 3.3).



Рисунок 3.3. Ознаки функціонування фітопатогенних мікроміцетів

Alternaria spp. на рослинах яблуні

На листках яблуні, уражених *Alternaria alternata*, першою ознакою альтернаріозу є темно-бурі плями різного розміру та форми. Листки в'януть та засихають.

Здатність мікроміцетів надзвичайно швидко збільшувати інфекційне навантаження за рахунок нових генерацій спор створює можливість для розповсюдження хвороби та сильного масового ураження зерняткових рослин за короткий строк, відповідно за умовами, сприятливими для розвитку хвороби.

Встановлено, що через коливання умов навколишнього середовища збудник не має рівномірної швидкості росту, тому плями розвиваються у вигляді кільцевої структури концентричних кілець. Темні, заглиблені ураження, як правило, є проявом альтернаріозу на стеблах і плодах. Отже, спороутворення відбувається в цих язвах, формуючи тонкий, чорний, бархатистий ріст гриба та спор, що покривають уражену ділянку.

За обліку ураження плодових видів збудниками хвороб (різні плямистості) визначено відсоток ураженої поверхні листків, а також відсоток ураженої поверхні листків і пагонів одночасно. Оцінено ступінь ураження поверхні листя й пагонів візуально у відсотках, із заокругленням до 10 (10%, 20%, 30% і т. д.).

В агробіоценозах зерняткових культур загальне середньорічне поширення патологій зумовлених збудниками роду *Fusarium* у роки досліджень становило не більше 30,3%. При цьому, за шкалою оцінки поширення та розвитку фузаріозів спостерігали слабе поширення патології (17,0±5,2%), що відповідає діапазону від 5,0 до 22,0%.

Досліджуючи поширеність і ступінь розвитку альтернаріозу в насадженнях зерняткових культур відмічено, що показники поширення хвороби становили від 8,0% до 9,2%. При цьому інтенсивність розвитку хвороби варіювала від 4,1% до 4,5% (табл. 3. 2).

Таблиця 3.2. Розповсюдженість і розвиток альтернаріозу зерняткових культур (яблуня)

Рік проведення досліджень	Розвиток хвороби, %	Поширеність хвороби, P (%)
2022	4,11	8,0
2023	4,48	9,2
середнє	4,30	8,6

Примітка: $P = p \times 100 / N$, де: N – загальна кількість облікових рослин; p – кількість уражених рослин. Інтенсивність розвитку (ступінь ураження хворобою) – балові шкали із зазначенням (y %) ураженого органа рослини, за формулою: $R = \sum (a \times b) \cdot 100 / N \cdot K$, де: $\sum (a \times b)$ – сума добутку кількості рослин (a) уражених з однаковим ступенем у одному балі (b) на відповідний бал ураження; K – найвищий бал шкали обліку.

Середній показник інтенсивності розвитку хвороби за роки досліджень становив 4,30% при поширеності хвороби 8,6%. Результати досліджень вказують на значну шкідливість альтернаріозу яблуні та необхідність розробки заходів захисту від нього.

У результаті мікологічного аналізу встановлено, що у патологічному комплексі зерняткових (*Malus domestica*) кореневі гнилі представлені декількома видами патологій, серед яких домінуюче місце займає фузаріозна коренева гниль зумовлена збудником *F. oxysporum*. При цьому, *F. oxysporum* спричиняв не тільки до кореневої гнилі, але й ураження судинної системи всієї рослини. Фузаріозне в'янення проявлялося у фенофазу бутонізація–цвітіння (поширення < 20%).

Моніторинг поширення альтернаріозу в агроценозах надає можливість раціональніше здійснювати відповідні заходи захисту зерняткових культур.

При виявленні перших симптомів зараження, слід використовувати фунгіциди системної (у т.ч.) дії, дозволені у агровиробництві України.

Таким чином, в агроценозі плодкових насаджень на прикладі рослин яблуні виявлено комплекс мікроміцетів *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., які потенційно можуть провокувати змішані інфекції рослин та знижувати якісні характеристики врожаю. Адже зовнішній вигляд плодкових культур, як відомо, дуже важливий для споживача.

Необхідність вивчення біології збудників хвороб плодових насаджень та розробка методів діагностування і своєчасного виявлення, ідентифікації, науково-практичне обґрунтування дієвих засобів та заходів щодо захисту рослин від хвороб визначають актуальність досліджень.

3.2. Контроль фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.* в агроценозах ягідних насаджень

Відомо, що у процесі вегетації рослин розвиваються угруповання різних мікроміцетів, які за своїм видовим складом є специфічними. Видовий склад угруповань мікроміцетів, особливо тих, що заселяють ризосферу, відображає видовий склад мікобіому ґрунту в цілому. Певній рослинній асоціації притаманний специфічний склад мікроміцетів, тобто наявність типових видів або домінантів, тих, що трапляється часто (субдомінанти) та другорядних і випадкових видів.

На сьогодні необхідно щорічно проводити спостереження за патогенним комплексом ягідних культур, вивчати особливості перебігу мікозів, їх шкідливість та вплив умов довкілля на розвиток хвороб.

В результаті проведених досліджень визначено мікопатогенний комплекс та спостереження за розвитком хвороб на малині, смородині чорній з відповідною діагностикою. Так, діагностику хвороб проводили за симптомами та морфологічними ознаками патогенів. Розвиток та поширення визначали за загальноприйнятими методиками. При ускладненій діагностиці плямистостей збудників виділяли на агарове середовище.

У таблиці 3.3 надані види патогенних грибів, які уражували ягідні культури.

Таблиця 3.3. Мікопатогенний комплекс ягідних насаджень

Вид рослини, сорт	Фітопатогенні види мікроміцетів / Кількість ізолятів, виділених у чисту культуру (штук)
Малина (<i>Rubus idaeus</i> L.), сорт: Новокитаївська, Саня	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. / 4
Смородина чорна (<i>Ribes nigrum</i> L.), сорт: Вернісаж, Козацька	<i>Alternaria</i> spp. / 7

У ході виконання досліджень на смородині чорній виявили найбільшу кількість фітопатогенних видів, найменшу кількість – на малині. Значних відмінностей у мікопатогенному комплексі ягідних культур не відмітили, окрім сильного розвитку сірої гнилі, спричиненої видом *Botrytis cinerea*, рис. 3.4. Спостерігали некротизацію уражених мікроміцетом ділянок тканин.



Рисунок 3.4. Ознаки гнилі ягід малини та альтернarioзу листя смородини чорної

Малина, як відомо, найсильніше уражується вірусними і грибовими хворобами, які викликають плямисті на пагонах. За всіма повтореннями

візуально було визначено відсоток уражених пагонів. Ураження пагонів малини плямистостями визначали за ступенем охоплення ними поверхні пагонів і виражали у відсотках, заокруглюючи до 10.

Експериментальні дані по вивченню біологічної стійкості сортів смородини чорної проти грибової хвороби альтернаріоз наведені в таблиці 3.4.

Середньостійким сортом смородини чорної виявився Вернісаж.

Таблиця 3.4. Розповсюдженість і розвиток альтернаріозу ягідних культур (смородина чорна), 2022-2023 рр.

Сорт	Ураження листків, %	Розвиток хвороби, %	Група стійкості
Вернісаж	32,9	6,0	2
Козацька	12,0	4,4	1

Примітка: розвиток хвороби характеризує ступінь пошкодженості рослин смородини чорної фітопатогеном. Вказано середній бал (Бс) ступеня ураження рослин смородини чорної патогеном за формулою (відношення суми 20 модельних рослин, бал, на 20).

Досліджені сорти смородини чорної виявились біологічно нестійкими проти хвороб і уражуються альтернаріозом в діапазоні 4,0 до 6,0%. Урожай ягід еклав від 4,5 до 5,0 т/га. Отже, застосування стійких районованих сортів смородини чорної проти грибової хвороби альтернаріозу забезпечує підвищення урожайності ягід від 0,5 до 0,8 т/га та дає можливість зменшити ступінь ураженості в 1 бал.

Слід зазначити, що для розвитку хвороб грибової етіології погодні умови були більш сприятливими (оскільки у період масового поширення спор грибів – початок літнього онтогенезу – випала значна кількість опадів). Ці опади забезпечили наявність значної кількості краплинної води на поверхні рослин, що сприяло ефективному зараженню рослин спорами грибів, і визначили значний розвиток та поширення мікозів на ягідних культурах.

У процесі досліджень спостерігали поступове накопичення у ґрунті *Alternaria* spp. На ділянках листя смородини відмічено зональні плями та

поступове відмирання листової пластини внаслідок злиття окремих зональних плям. В окремих варіантах досліджень спостерігали випадіння середини некротизованої тканини.

З літературних джерел відомо, що до мікотогенного комплексу ягідних культур можуть входити гіфоміцетальні, мелонконіальні, пікнідіальні та борошнисторосяні мікроміцети [40]. У проведених дослідженнях встановлено, що найбільш поширеними фітопатогенними мікроміцетами були представники роду *Alternaria* sp., а також *Botrytis cinerea*.

Встановлено, що перебіг хвороб ягідних культур значно залежить від погодних умов періоду вегетації. Значного розвитку впродовж досліджень набули плямистості та альтернاریоз чорної смородини. Існують певні ризики для вирощування сортів ягідних культур без генів стійкості до збудників цих хвороб.

До причин поширення грибних інфекцій у насадженнях ягідних культур відноситься заражений садивний матеріал. Тому особлива увага при закладанні нових насаджень малини, смородини приділяється його якості та вирощуванню у спеціальних маточниках. Для одержання екологічно безпечної плодової продукції стратегія захисту рослин повинна ґрунтуватись на посиленні екологічного підходу щодо розробки та реалізації захисних заходів з максимальним застосуванням біологічних засобів.

3.3. Дослідження антагоністичної активності бактерій *Bacillus* ssp. відносно фітопатогенних мікроміцетів родів *Fusarium*, *Alternaria*

Бактерії *Bacillus* ssp. можуть проявляти високу антагоністичну активність відносно фітопатогенних мікроорганізмів за рахунок синтезу екзометаболітів різної природи, а також виступати як потенційні еліситори (речовини, які

індукують захисні реакції у рослин), за допомогою яких можливо контролювати та знижувати рівень ураження фітопатогенами на стадіях онтогенезу рослин [41, 42].

Результати досліджень антагоністичної активності штамів бактерій щодо фітопатогенних мікроміцетів представлено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5. Активність штамів *Bacillus* spp. по відношенню до фітопатогенних мікроміцетів (лабораторний дослід)

<i>Bacillus</i> Bt 25	<i>Bacillus</i> Bt 14/2	Фітопатогенні мікроміцети (контроль)	Інгібуюча активність	
			<i>Bacillus</i> Bt 25	<i>Bacillus</i> Bt 14/2
<i>Do</i> 10-день (мм)		<i>Dk</i> (мм)	<i>P</i> (%)	
34,0±1,6	13,6 ±0,8	<i>Fusarium</i> <i>sporotrichioides</i> Sherb. 23.2	45,0	77,1
21,3±2,2	20,0±1,3	62±3,3 <i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 3.45	63,0	67,0
		51±4,0		

Примітка: *Dk* – діаметр колонії гриба в мм у контролі, *Do* – діаметр колонії гриба в мм у досліді, *P* – показник інгібування.

В результаті проведених досліджень встановлено, що штами бактерії *Bacillus* Bt 25 та Bt 14/2 інгібували ріст фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 – 45,0% і 77,1% відповідно, тест-культури *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 63,0% і 67,0%.

Проведені дослідження антагоністичної активності свідчать, що бактеріальні агенти *Bacillus* здатні пригнічувати ріст і розвиток тестових мікроміцетів, що є свідченням їх антифунгальної активності.



Рисунок 3.5. Антагоністична активність штамів бактерій *Bacillus*, десята доба: А) Bt 14/2; Б) Bt 25

При проведенні досліджень встановлено, що штами *Bacillus* Bt 14/2 та Bt 25 швидко заселяють субстрат-середовище та активно використовують поживні речовини, в той же час тестові мікроміцети втрачають можливість росту, не мають можливості подальше заселяти субстрат, таким чином, проявляється тенденція до їх інгибування і загибелі.

Таким чином, виявлена антагоністична активність штамів бактерій пов'язана із конкуренцією (імовірно за типом антагонізму за джерела живлення).

Ріст і розвиток бактерій *Bacillus* Bt 14/2 та Bt 25 навколо агарових блоків фітопатогенних мікроміцетів на 3 і на 10 добу дослідження представлено у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6. Зони затримки росту фітопатогенних мікроміцетів під впливом бактерій *Bacillus*

Фітопатогенні мікроміцети (контроль, мм)	<i>Bacillus</i> Bt 25		<i>Bacillus</i> Bt 14/2	
	3 день	10 день	3 день	10 день
	(мм)			
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb. 23.2	62±1,4	3,2±0,2	1,1±0,1	8,9±0,6
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 3.45	51±0,9	11,8±0,6	3,4±0,2	12,6±0,8

За отриманими результатами досліджень штами бактерії *Bacillus* вже на 3 добу досліду пригнічували ріст та розвиток фітопатогенних мікроміцетів, зокрема вони затримки росту мікроміцетів були наступні: *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 – 3,2 мм, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 11,8 мм (активність штаму Bt 25); 8,9 та 12,6 мм відповідно для штаму Bt 14/2.

Таким чином, антагоністична активність досліджуваних штамів бактерій, *Bacillus* проявлялась вже на третю добу експерименту та підсилювала свій вплив на ріст і розвиток фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium* і *Alternaria* впродовж всього періоду проведення лабораторного досліду.

3.4. Обґрунтування комплексних заходів контролю шкідливих організмів за участю мікроорганізмів р. *Bacillus*

Захист рослин від хвороб потребує розроблення екологічно безпечних методів захисту, серед яких створення стійких сортів та використання біологічних препаратів на сьогодні є найбільш перспективними комплексними заходами. Багато штамів бактерій з антагоністичними властивостями щодо збудників хвороб рослин стали активними інгредієнтами комерційних біологічних препаратів, ще більше штамів розглядаються як перспективні для створення біофунгіцидів.

На відміну від хімічних препаратів, активність бактеріальних інокулянтів в умовах *in vivo* істотно залежить від низки факторів навколишнього середовища, як абіотичних, так і біотичних, що важливо для практичного використання і впровадження.

Здатність бактерій колонізувати ризосферу та філоплану рослини, продукування антигрибних ліпопептидів (антибіотиків) та індуквана системна стійкість є основними механізмами біологічного контролю штамів *Bacillus* [43].

З метою обґрунтування комплексу заходів захисту рослин, обмеження шкодочинності грибних хвороб було вивчено вплив біологічних препаратів Фітоцид (+ Триходермін) на розвиток фітопатогенних мікромішетів, окрема *Fusarium* і *Alternaria* в насадженнях смородини чорної.

Встановлено, що обробка рослин біологічним препаратом Фітоцид (на основі бактерій *Bacillus subtilis*) сприяє зменшенню розвитку хвороби у майже в 2,0 рази (табл. 3. 7).

Таблиця 3.7. Вплив біопрепаратів на ураженість рослин смородини чорної альтернаріозом

Варіант досліджу	Ураженість рослин альтернаріозом					
	2022		2023		середнє	
	поширеність ь хвороби, %	розвито к хвороби , %	поширеність ь хвороби, %	розвито к хвороби , %	поширеність ь хвороби, %	розвито к хвороби , %
Контроль (без обробки)	9,3	4,2	10,1	4,5	9,7	4,35
Фітоцид, 2 кг/га	5,2	2,0	6,00	2,5	5,6	2,25
Триходермін , 2кг/га	7,0	3,1	8,3	3,3	7,65	3,2

Проведені дослідження показують, що для покращення фітосанітарного стану ягідних культур доцільно застосовувати обробку посівів біопрепаратом Фітоцид (норма витрати 2 л/га).

За проведеними дослідженнями науково обґрунтовано застосування біопрепаратів Фітоцид-Р, Триходермін та Екстракон, що в цілому сприяло розвитку ризосферних мікроорганізмів, підвищенню активності мікробіоти ґрунту, стимуляції росту і розвитку рослин.

Аналіз морфометричних показників досліджу показав, що застосування біопрепаратів Фітоцид, Екстракон на основі природного консорціуму ґрунтових мікроорганізмів (основні біоагенти *Sporocytophaga*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Bacillus*; автор і розробник біопрепарату Екстракон професор Патика М.В.) сприяло формуванню нових пагонів та листків, прискорювало процеси розвинення кореневої системи. Порівняно з контролем найкращим виявився варіант із застосуванням біопрепарату Екстракон.

Біопрепарат Екстракон [44, 45] активно проявляє ефект оздоровлення ґрунту, підживлює рослини та прискорює процеси трансформації органічної речовини (рослинних решток) у біогумус.



Рисунок 3.6. Спектр застосування мікробного препарату Екстракон

Застосування біопрепарату Екстракон можливо двома шляхами:

– внесення сипучої (торфової форми) шляхом механічного розтрушування пошарово переміщуючи у компостній кучі (ямі) із целюлозовмісними рештками та обов'язковим зволоженням субстрату, що піддається компостуванню до 50,0 – 60,0 %.

– приготування концентрованого водного розчину (рекомендовано при тонкошаровій трансформації решток на певній площі ґрунту). Рекомендована норма біопрепарату 3 кг/га.

За умов використання біопрепарату Екстракон спостерігався значний рістстимулюючий ефект порівняно з контролем: середня висота пагонів, довжина коренів та кількість утворених пагонів була вищою в середньому в 1,3-2,5 рази.

Таблиця 3.8 — Вплив біопрепаратів на морфометричні показники смородини чорної в період адаптації до природних умов

Варіант досліду / клон сорту	Середня висота пагонів, мм	Середня довжина коренів, мм	Кількість утворених пагонів, шт.
Контроль (без обробки)			
К-1	32,6	27,9	3,1
К-2	30,0	31,3	2,6
Фітоцид Р			
К-1	48,9	35,7	5,5
К-2	52,6	38,7	6,5
Екстракції			
К-1	60,6	53,6	6,7
К-2	58,9	47,3	6,4
НІР _{0,5}	2,03	1,67	0,56

Спостереження за основними фенологічними фазами росту показали, що у варіантах за застосування біопрепаратів збільшується висота рослин, товщина стебла, площа листків, маса рослин, у т.ч. кореневої системи. Рослини мали інтенсивно-зелене забарвлення.

Таким чином, застосування біопрепарату уможливило формування, контроль і відновлення функціональної структури ґрунтової мікробіоти (видовий склад) у процесі взаємодії системи «ґрунт-рослина», знімає ґрунтовому, сприяє оздоровленню ґрунту, запуску його біологічних циклів.

відновленню й активізації природних трофічних зв'язків у біоценозі, покращенню функціонального стану рослин, а також стимулює ріст і розвиток надземної та кореневої маси рослин, які вегетують.

На сьогодні вченими запропоновано технології комплексного фітозахисту садових агроценозів на основі різних альтернатив, а саме: профілактичної обробки рослин різними композиційними препаратами (культуральні рідини, метаболітні фракції тощо); передпосівної обробки рослин комерційними формами біологічних препаратів, які зменшують ураження рослин патогенами або інокуляційними культурами на основі ефективних штамів-антагоністів по вегетації рослин.

Доведено, що штами бактерії *Bacillus* є досить перспективними для захисту рослин від грибних хвороб у складі біологічних препаратів для рослинництва. В результаті проведених досліджень встановлено високу антагоністичну активність щодо мікроміцетів дослідних штамів споро утворюючих бактерій Bt 25, Bt 14/2, яка проявлялась у вигляді зон пригнічення росту тест-патогенів р. *Fusarium*, *Alternaria*. Наявність зони пригнічення росту фітопатогену свідчить про синтез конкретним штамом антибіотичних речовин, які потрапляють у поживне середовище і безпосередньо інгібують ріст мікроміцету. У перспективі важливо досліджувати та розширювати знання щодо механізмів антагоністичного впливу бактерій роду *Bacillus* на збудники хвороб рослин (наприклад, через механізми конкуренції за джерела живлення, колонізації рослинної тканини, індукції стійкості).

ВИСНОВКИ

У магістерській роботі охарактеризовано мікроміцетний патогенний комплекс плодових і ягідних агроценозів, виділено фітопатогенні організми з родів *Fusarium*, *Alternaria*, експериментально визначено ефективний вплив бактерій роду *Bacillus* на фітопатогени та обгрунтовано сучасні контролюючі заходи фітозахисту з пріоритетним використанням біологічних препаратів.

1. Виявлено та описано особливості розвитку та функціонування фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. в агроценозах плодових насаджень у період активної фази онтогенезу зерняткових рослин на прикладі яблуні (*Malus domestica*). Встановлено, що на рослинах формується поверхневий мікробіологічний фон переважно з представників мікроміцетних угруповань (змішаний інфекційний фон).

2. З рослинних зразків яблуні у чисту культуру виділено 7 ізолятів *Fusarium oxysporum* та 11 ізолятів сухої плямистості яблуні – *Alternaria alternata* мікроміцети роду *Fusarium* розвиваються в широких температурних межах, при цьому ріст міцелію, проростання конідій і спороношення проходять за різних температур (оптимум для розвитку *F. oxysporum* 25⁰C). Виявлено, що на штучних поживних середовищах мікроміцети р. *Alternaria* формують колонії чорного, темно-оливкового, рідше сивого забарвлення. Конідії гладенькі, яйцеподібної, еліптичної форми, коричневого забарвлення з поздовжніми і поперечними перегородками.

3. В агробіоценозах зерняткових культур загальне середньорічне поширення патологій, зумовлених збудниками роду *Fusarium* у роки досліджень становило не більше 30,3%. При цьому, за шкалою оцінки поширення та розвитку фузаріозів спостерігали слабе поширення патології (17,0±5,2%), що відповідає діапазону від 5,0 до 22,0%. Фузаріозне в'янення через *F. oxysporum* проявлялося у фенофазу бутонізація-цвітіння (поширення < 20%), при цьому

спостерігаються прояви як кореневої гнилі, так і ураження судинної системи всієї рослини-яблуні.

4. Досліджуючи поширеність і ступінь розвитку альтернаріозу (збудник *Alternaria alternata*) в насадженнях зерняткових культур відмічено, що показники поширення хвороби становили від 8,0% до 9,2%. При цьому інтенсивність розвитку хвороби варіювала від 4,1% до 4,5%. Середній показник інтенсивності розвитку хвороби за роки досліджень становив 4,30% при поширеності хвороби 8,6%. Отже, комплекс досліджених мікроміцетів *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. потенційно може провокувати змішані інфекції рослин та знижувати якісні характеристики врожаю.

5. Визначено мікопатогенний комплекс ягідних культур (смородини чорної *Ribes nigrum* L. сортів Вернісаж, Козацька та малини *Rubus idaeus* L. сортів Новокитаївська, Саня), який складався з різних фітопатогенних видів (виділено 7 ізолятів *Alternaria* spp., а також збудник сірої гнилі *Botrytis cinerea* Pers., який спричинює некротизацію уражених ділянок тканин рослин відповідно 4 ізоляти). Досліджені сорти смородини чорної виявилися біологічно нестійкими проти хвороб і уражуються альтернаріозом в діапазоні 4,0 до 6,0%.

За середньостійкий сорт смородини чорної можна обрати Вернісаж (група стійкості 2).

6. Встановлено, що штами спороутворюючої бактерії *Bacillus* Bt 25 та Bt 14/2 володіють антагоністичною активністю, інгібують ріст фітопатогенних тестових мікроміцетів *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 – на 45,0% і 77,1% відповідно, тест-культури *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – на 63,0% і 67,0%.

Показано, що на 3 добу досліджень спостерігається пригнічення розвитку *Fusarium sporotrichioides* Sherb. 23.2 (зона затримки росту 3,2 мм) та *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 3.45 – 11,8 мм (активність штаму Bt 25) та 8,9 та 12,6 мм відповідно для штаму Bt 14/2.

7. Встановлено, що обробка рослин біологічним препаратом Фітоцид (2 л/га) сприяє зменшенню розвитку хвороб, викликаних *Fusarium* і *Alternaria* в насадженнях смородини чорної, у майже в 2,0 рази. Обґрунтовано застосування

біопрепаратів Фітоцид-Р, Триходермін та Екстракон, що в цілому сприяє розвитку ризосферних мікроорганізмів, підвищенню активності мікробіоти ґрунту, стимуляції росту і розвитку рослин. За умов використання біопрепарату

Екстракон (3 кг/га) спостерігався значний рістстимулюючий ефект порівняно з контролем: середня висота пагонів, довжина коренів та кількість утворених пагонів була вищою в середньому в 1,3-2,5 рази.

НУБІП Україна

НУБІП Україна

НУБІП Україна

НУБІП Україна

НУБІП Україна

НУБІП Україна

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Землеробство з основами екології, ґрунтознавства та агрохімії. Підручник. В.Ф. Петриченко, М.Я. Бомба, М.В. Пати́ка та ін. К.: Аграрна наука, 2011. 492 с.
2. The formation of biological systems and control of microfauna in agrophytocenoses (state of the question). Dolya M., Sahnenko V., Kolodjzhnyi O., Patyka M. Біоресурси та природокористування. 2015. 7(5):5-10.
3. Microbiocontrol of the number of insects and its dominant *Bacillus thuringiensis*. Kandybin N.V., Patyka T.I., Ermolova V.P., Patyka V.F. Innovative Center for Plant Protection. 2009. 254 p.
4. Van der Heijden M.G.A., Bardgett R.D., van Straalen N.M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecol. Lett. 2008. 11:296–310.
5. Chaparro J.M., Sheflin A.M., Manter D.K., Vivanco J.M. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. Biol. Fert. Soils. 2012. 48:489–499.
6. Lambers H., Mougel C., Jaillard B., Hisinger P. Plant-microbe interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. Plant Soil. 2009. 321:83–115.
7. Azizbekyan R.R. Biological Preparations for the Protection of Agricultural Plants (Review). Source: Applied Biochemistry & Microbiology. 2019. 55(7):816–823. doi: 10.1134/S0003683819080027
8. Пати́ка В.Ф., Пати́ка Т.И. Екологія бактерій роду *Bacillus thuringiensis*. К.: изд-во ПГАА, 2007. 216 с.
9. Писаренко В.М., Писаренко Л.В. Захист рослин: екологічно обґрунтовані системи. Полтава: Інтер Графіка, 2002. 288 с.
10. Дядечко М.П. Біологічний захист рослин. М.П. Дядечко, О.І. Гончаренко, М.М. Падій та ін. К. : НАУ, 1998. 50 с.
11. Трибель С.О. Захист рослин. С.О.Трибель. Енциклопедія Сучасної України. К.: Ін-т енциклопед. досліджень НАНУ, 2010. Т.10. [наук. ред. С.І. Болтівець, С.Ю. Бортник, В.П. Буркат та ін.]. С. 388-389.

12. Писаренко В.М., Піщаленко М.А., Поспелова Г.Д., Горб О.О., Коваленко Н.П., Шерстюк О.Л. Інтегрований захист рослин. Полтава, 2020. 247 с.

13. Dunham W.C. Evolution & Future of Biocontrol, Basel, 2015. URL: <http://dunhamtrimmer.com/wp-content/uploads/2015/11/Bill-Dunham-2BMonthly-Evolutijn-Future-of-Biokontrol-Industriy-copy.pdf>

14. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика. Волкогон В.В., Надкернична О.В., Ковалевська Т.М. та ін. К.: Аграрна наука, 2006. 311 с.

15. Flozer-Vargas R.D. Isolation and characterization of rhizosphere bacteria with potential for biological control of weed on winejards. Flozer- Vargas R.D., O'Hara G.W. J. Appl. Microbiol. 2006. Vol. 100. P. 946954.

16. Glick B.R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria /Glick B.R. //Can. J. Microbiol. 1995. 41. P. 109-117.

17. Агромікробіологія з основами біотехнології: монографія / Я.М. Гадзало, М.В. Пати́ка, А.С. Зари́шняк, Т.І. Пати́ка. К.: Аграрна наука, 2019. 204 с.

18. Гадзало Я.М., Пати́ка Н.В., Зари́шняк А.С. Агробіологія ризосфери рослин: монографія. К.: Аграрна наука, 2015. 386 с.

19. Kriuchkova L.O., Patyka T.I. (2020). Efficacy of *Bacillus* spp. strains against barley diseases caused by bipolaris sorokiniana on cultivars of different resistance. Biological Systems: Theory And Innovation, 11(4): 66-75. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/biologiya/article/view/14553> <https://doi.org/10.31548/biologiya2020.04.006>

20. Kulimushi P.Z., Arias A.A., Franzil L., Steel S., Ongena M. (2017). Stimulation of fengycin-type antifungal lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* in the presence of the maize fungal pathogen *Rhizomucor variabilis*. Frontiers in Microbiol. 8, article 830. DOI 10.3389/fmicb.2017.00850

21. Newitt J.T., Prudence S.M.M., Hutchings M. I., Worsley S. F. (2019). Biocontrol of Cereal Crop Diseases Using *Streptomyces*. Pathogens, 8, 78. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020078>

22. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби: монографія Р.І. Гвоздяк, Л.А. Пасічник, Л.М. Яковлева та ін. К., 2011. в 2-т.

23. Choudhary D.K., Johri B.N. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – with special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiol. Res. 2008. 164(5):493–513.

24. Методологія і практика використання мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур. В.В. Волкогон, А.С. Заришнюк, І.В. Гриник [та ін.]. К.: Аграрна наука, 2011. 156 с.

25. Рекомендації по ефективному застосуванню біопрепаратів азотфіксуючих, фосфатмобілізуєчих мікроорганізмів і антагоністів фітопатогенних грибів при

вирощуванні пшениці озимої на чорноземних ґрунтах і фітомеліорованих гірських породах / В. П. Пагика, О. В. Шерстобоева [та ін.]. К., 2005. 15 с.

26. Деякі властивості штамів *Bacillus subtilis*, активних щодо збудників плодів та ягід. С.В. Лапа, О.М. Рева. Мікробіологічний журнал. 2005. 67:22-31.

27. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation additions. Cooper D.G., MacDonald C.R., Duff S.F.B., Kosaric N. Appl Environ. Microbiol. 1981. V.42. P. 408–412.

28. Kriuchkova, L., Patyka, T., Shmyhel, T. (2017). In vitro potential of two *Bacillus* strains as biocontrol agents against plant pathogenic fungi. VI annual scientific conference «Biotechnology: accomplishment and hopes». NULESDU, Kyiv. 24-25.

29. Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., Shirata, A. (2001) Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. Phytopathol., 91. 181-187.

<http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.2.181>

30. Федорчук С.В., Трембіцька О.І., Клименко Т.В. та ін. Розвиток фітопатогенних грибів *Alternaria solani* та *Phytophthora infestans* за впливу хімічних і біологічних препаратів. Агроєкологічний журнал. 2019. 4. С. 50–54. doi: 10.33730/2077-4893.4.2019.189453

31. Титова Л.В., Сергієнко В.Г. Ефективність комплексного застосування мікробних препаратів з фунгіцидами для контролю захворювань та підвищення

продуктивності овочевих культур. Мікробіологія і біотехнологія, 2018. 4. С. 30–43. doi: 10.18524/2304-4663

32. Metz N. Biologicals for the control of *Alternaria solani* under greenhouse and field conditions. Technische Universitet Munchen, chair of phytopathology, Weihenstephan, Germany. Pagv - special report. 2017. V. 18. P. 85–90.

33. Волкогон В.В. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика / В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська, Л.М. Токмакова, Є.П. Копилов, С.Ф. Козар, М.З. Толкачов, Т.М. Мельничук, Л.О. Чайковська, М.К.

Шерстобоев, А.М. Москаленко, Ю.М. Халеп // за ред. В.В. Волкогона. К.:

Аграрна наука, 2006. 312 с.

34. Луциська Г.О. Ґрунтова мікробіологія: Навчальний посібник. К.: Арістей, 2006. 284 с.

35. Сергійчук М.Г. Будова бактеріальної клітини та методи її дослідження. К.: Фітоцентр, 2001. 323 с.

36. Пересипкін В.Ф. Сельськохозяйственная фитопатология В.Ф. Пересипкин. К.: Урожай, 1989. Т.2. 248 с.

37. Doohan F.M. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals /F.M. Doohan, J. Brennan, B.M. Cooke. European Journal of Plant Pathology.

2003. 1097:755–768.

38. Билай В.И. Фузариин /В.И. Билай. К.: Наук. думка, 1977. 444 с.

39. Райлло А.И. Грибы рода фузариум /А.И. Райлло. Сельхозгиз, 1950. 416 с.

40. Кучер М. Ф. Стійкість зразків генофонду смородини проти збудників хвороб. Генетичні ресурси рослин. Х., 2013. 12:91 – 96.

41. Артамонова М.Н., Алексеева А.С., Иотагуркина-Нестерова Н.И. Антагонистическая активность ассоциативных ризобактерий. International Journal Of Experimental Education. 2013. 10:276-279.

42. Кіроянц М.О., Пати́ка М.В., Пати́ка Т.І. Філогенетичний аналіз домінантних мікроорганізмів родів *Bacillus* і *Phyllobacterium*, ізольованих з ризосфери ячменю ярого. Вісник аграрної науки, 2020, 5:48-53.

43. Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., Ongena, M. 2011. *Bacillus*-based biological control of plant diseases, in: Stoytcheva, M. (Eds.), *Pesticides in the Modern World: Pesticides Use and Management*. IntechOpen, pp. 273-302.

44. Пати́ка М.В. Консорціум ґрунтових мікрорганізмів для трансформації органічних речовин в гумусоподібну субстанцію та активізації трофічних зв'язків у системі "ґрунт-рослина" та спосіб отримання на його основі біологічного препарату. Патент України на винахід № 112403, від 25.08.2016, бюл. № 16.

45. Пати́ка Т.І., Бублик М.О., Пати́ка М.В. Спосіб трансформації органічних речовин в біогумус у садівництві. Патент України на корисну модель №95221/2014, від 10.12.2014, бюл. № 23.

46. Згуровский М.З. Основи системного аналізу. /М.З. Згуровский, Н.Д. Панкратова. К.: Видавнича група ВНУ. 2007. 546 с.

47. Пріоритетні завдання аграрної науки України. / М.В. Зубець, В.П. Ситник, М.Д. Безуплий. К., 2008. 18 с.

48. Сергійчук М.Г. Будова бактеріальної клітини та методи її дослідження /М.Г. Сергійчук. К.: Фітоцентр, 2001. 323 с.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України