

НУБІП України

НУБІП України

МАгіСТЕРСЬКА КВАЛіФіКАЦіЙНА РОБОТА

06.01 – МЗР. 203 «С». 2023.02.13.008 ПЗ

НУБІП України

ГОЛОВАЩІРИНА ОЛЕГІВНА

НУБІП України

2023

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 632.3:632.93:633.34

ПОГОДЖЕНО ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Декан факультету Завідувач кафедри

захисту рослин, біотехнологій та екології Фітопатології ім. акад. В.Ф.Пересипкіна

Коломієць Ю.В. Гентош Д.Т.
2023 р. 2023 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА
На тему: «Бактеріози насіння сої та заходи щодо їх обмеження»
Спеціальність 202 «Захист і карантин рослин»
(код і назва)

Освітня програма «Захист рослин»

(назва)

Орієнтація освітньої програми

освітньо-професійна

Керівник магістерської роботи

к. б. н., доцент

(науковий ступінь та вчене звання)

Башта О.В.

(підпис)

(ПІБ)

Виконав Головаш І.О.
(підпис) (ПІБ студента)

КМІВ-2023

Національний університет біоресурсів
і природокористування України

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

Кафедра фітопатології ім. акад. В.Ф.Пересипкіна

Освітній ступінь «Магістр»

Спеціальність 202 «Захист і карантин рослин»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри фітопатології
В.Ф.Пересипкіна

“ ” 2023 р.

ЗАВДАННЯ
НА ВИПУСКНУ

МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

Головаш Ірині Олегівні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Бактеріози насіння сої та заходи щодо їх обмеження»
керівник роботи к.б.н., доцент Башта Олена Валентинівна,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вченезвання)

2. Строк подання студентом роботи 1 листопада 2023 року

3. Вихідні дані до роботи: соя, бактеріози, ідентифікація бактерій,
фітопатогени, стійкість сортів, агресивність

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

4.1. Ознайомитися з проявом бактеріозів сої.

4.2. Оволодіти методиками виділення та ідентифікації збудників
бактеріозів.

4.3. Опанувати методику штучного зараження та підтвердження
фітопатологічних особливостей виділених ізолятів.

4.4. Застосування біологічних препаратів проти бактеріозів сої в умовах
in vivo та in vitro.

НУБІП України

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1			
2			
3			

6. Дата видачі завдання 1 листопада 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Вибір теми роботи. Робота з літературними джерелами. Складання схеми дослідів	Жовтень 2022	
2	Опанування методик, які будуть використані у подальшій роботі. Ознайомлення з сортами сої.	Листопад 2022	
3	Проведення досліджень	Грудень 2022 – серпень 2023	
4	Отримання результатів	Вересень 2023	
5	Оформлення та захист магістерської роботи	Жовтень 2023	

Студент
(підпис)

(прізвище та ініціали)

Головаш І.О.

Керівник роботи
(підпис)

(прізвище та ініціали)

Бацка О.В.

НУБІП України

Реферат

НУБІП України

Робота виконана на 77 сторінках, містить 4 розділи, 32 рисунків, 8 таблиць, 94 використаних джерел.

НУБІП України

Мета роботи: ознайомитися та вивчити прояви бактеріальних хвороб на сої. Оволодіти методиками виділення та ідентифікації збудників бактеріозів сої. Опанувати методику штучного зараження та підтвердження особливостей виділення ізолятів та отримання результатів по застосуванню біологічних препаратів проти бактеріальних хвороб сої в умовах *in vitro* та *in vivo*.

НУБІП України

Коротко результати: Дослідженні прояви бактеріальних хвороб сої. Також, отримання результатів по застосуванню мікроелементних препаратів проти бактеріальних хвороб сої.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

Вступ.....	12
Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	13
1.1. Ботанічна характеристика сої.....	15
1.2. Хвороби сої.....	21
1.3. Збудники бактеріальних хвороб сої.....	26
1.3.1. Симптоми бактеріальних хвороб сої.....	26
1.3.2. Фенотипові властивості бактерій, що уражують сою.....	30
1.4. Контроль розвитку бактеріальних хвороб.....	32
1.4.1. Препарати для захисту посівів.....	34
РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	39
2.1 Умови проведення досліджень.....	39
2.2. Методика проведення досліджень.....	40
2.2.1. Фітопатологічний огляд насіння і рослин.....	40
2.2.2. Виділення збудників з рослинного матеріалу.....	41
2.2.3. Перевірка патогенних властивостей ізолятів бактерій.....	41
2.2.4. Оцінка культурально-морфологічних властивостей отриманих ізолятів.....	41
2.2.5. Фарбування клітин бактерій за Грамом.....	42
2.2.6. Визначення рухливості.....	42
2.2.7. Визначення оксидазної активності.....	43
2.2.8. Визначення утилізації джерел вуглецевого живлення.....	43
2.3. Метод вологої камери.....	44
2.3.1. Рулонний метод.....	46
2.4. Схема дослід у теплиці.....	48
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	50
3.1. Фітопатологічний аналіз зразків насіння сої.....	50
3.2. Розсів у чисту культуру та перевірка патогенних властивостей.....	53
3.3. Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості.....	55
3.4. Фітопатологічний аналіз зразків насіння сої при пророщуванні його в умовах вологої камери.....	60
3.4.1. Метод вологої камери.....	61
3.4.2. Рулонний метод.....	62
3.5. Схема у теплиці.....	63
Розділ 4. Охорона праці.....	66
4.1. Техніка безпеки у лабораторії.....	67
Висновки.....	71
Список використаної літератури.....	72

НУВБІП України

Вступ

Со́я є важливою культурою в світовому сільському господарстві, як джерело білка, корм для тварин, фіксація азоту у ґрунті, біопаливо та багато інших чинників, що мають стратегічне значення.

Однак при вирощуванні сої всі стикаються з рядом проблем: хворобами та шкідниками, які можуть загрожувати врожаю. Однією з причин зниження врожайності є хвороби бактеріальної етіології.

Проблеми, пов'язані з бактеріозами насіння сої, залишаються актуальними та важливими для сільськогосподарського виробництва. Бактеріози можуть призвести до серйозних втрат врожаю сої, оскільки заражені рослини зазвичай не розвиваються як потрібно та гинуть раніше, ніж досягають повної зрілості. Заражене бактеріозами насіння сої менш якісне і не придатне для вирощування в наступному сезоні. Господарства, які займаються вирощуванням сої, втрачають прибуток через зменшення врожайності і якості насіння, що впливає на їхні доходи та економічну стійкість.

Тож, контроль та профілактика бактеріозів вимагають витрат на захист рослин та лікування. Але застосування хімічних препаратів для боротьби з бактеріозами має негативний вплив на навколишнє середовище.

Боротьба з бактеріозами може допомогти забезпечити стабільність виробництва сої та постачання на світовий ринок. Проведення досліджень та розробка стійких сортів сої до бактеріозів є актуальною темою для вчених та дослідників, оскільки це вимагає пошуку нових методів контролю над цими захворюваннями.

З огляду на ці фактори, боротьба з бактеріозами насіння сої залишається актуальною і є важливою темою для сільськогосподарського виробництва та глобальної продовольчої безпеки.

Розділ 1. Огляд літератури

НУБІП УКРАЇНИ

Соя – найважливіша білково-олійна рослина (рис. 1.1), стратегічна культура світового землеробства для розв'язання глобальної продовольчої проблеми. [36]

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ



Рис. 1.1. Соя [89]

НУБІП УКРАЇНИ

Соя – стратегічна культура, вона займає одне з провідних місць у забезпеченні білком та олією продуктів харчування[37]. Особливо в останньому десятилітті соя зростає у популярності через її роль, як альтернативи продуктам тваринного походження та здатність забезпечити повноцінне харчування. З сої виробляють: соєве м'ясо, соєве молоко, соєвий сир (тофу), боршчо, приправи, олію тощо. Виготовляють повноцінні поживні страви. Ця зернобобова культура засвоюється організмом на 98%.

НУБІП УКРАЇНИ

Також, соя є цінною кормовою культурою. З неї виготовляють: макуху, соєвий шпрат, дерть, молоко, зелений корм, сіно, силос, солом'я – все це для вигодовування тварин [38].

НУБІП УКРАЇНИ

Агротехнічне значення сої – досить значне. Це важлива культура у сівозміні для більшості сільсько-господарських культур. Однією з найголовніших рис цієї культури є те, що соя здатна фіксувати у ґрунті до 100-150 кг атмосферного азоту [11]. Така можливість до фіксування азоту у

НУБІП УКРАЇНИ

грунті, є завдяки симбіозу рослин сої із азотфіксуючими бактеріями. Центр формування комплексу корисних мікроорганізмів це – бульбочки, які наростають та розвиваються на коренях сої [90].

В 2003 році у світі вироблялося 189,2 млн т, наприкінці 2015 року виробництво сої досягло 268,8 млн т [37]. Як зазначає онлайн ресурс Kukkul.com, то на 2022 рік урожай зерна становить 3,6 млн т, середня урожайність становить – 2,4 т/га[81].

Посіви сої в нашій країні займають близько 64,3%, до військових дій на території нашої країни, більшість з них припадають на зону Лісостепу: Полтавська, Київська, Вінницька, Черкаська, Харківська, Сумська, Хмельницька, Чернівецька та Тернопільська області. У лісостепових умовах формується «Соевий пояс», де сконцентровано основне вирощування зернобобової культури [83].

Технологія вирощування сої в Україні.

Оптимізація мінерального живлення сої, яка є азотфіксуючою культурою, має вирішальне значення для створення сприятливих умов як для азотного забезпечення з повітря, так і для процесу фотосинтезу. Основний резерв для підвищення врожайності її виникає в обґрунтованому використанні поживних речовин, у створенні сприятливого середовища та використанні нових сортів. Фактичний врожай сучасних сортів може досягатися в межах 25-50% їх потенційних можливостей [3].

Зараз в Україні переважно практикують технологію посіву сої суцільним способом. Ця технологія включає в собі рекомендовану густоту посіву – 900-1000 тис. штук на гектар. Вагова норма коливається у межах 120-140 кг/га, при цьому соя не галузиться, швидше росте та дозріває [91].

Соя дуже чутлива до глибини загортання насіння, тому що під час проростання вона виносить свої сім'ядолі на поверхню ґрунту. Оптимальна глибина загортання 4-5 сантиметрів. На важких ґрунтах, за умов достатнього

зволоження сіють на глибину 3-4 см, в умовах недостатнього зволоження на 5-6 см. Як правило, сою сіють сівалками СЗ-3,6 або спеціальними соєвими сівалками УПС-12 [91].

Сіяти сою починають, коли ґрунт на глибині загортання насіння прогрівається до 12-14 градусів. Ранній висів культури є шкідливим, сходи затримуються у розвитку, знижується польова схожість, насіння більш активно пошкоджується шкідниками та хворобами. У кінцевому результаті урожай зерна зменшується. Оптимальний строк сівби сої – це кінець квітня – початок травня, іноді, під час холодної весни, допускається висів після 10 травня. [81; 91].

Після того, як провели сівбу поле потрібно прокотувати для того, щоб поліпшити проростання насіння та підвищити схожість [91].

За весь вегетаційний період на кожній фазі розвитку культури потрібно провести відповідну обробку препаратами аж до збору урожаю. Певна стиглість сої вважається тоді, коли листя починає опадати, підсихати та бурити стебла та боби. За цих умов проводять пряме комбайнування. Після збору урожаю насіння сої очищують та просушують. Для того, щоб насіння сої добре зберігалось його вологість має становити 10-14% [91].

1.1. Ботанічна характеристика сої.

Ботанічна класифікація *Glycine max*:

- Царство: Рослини;
- Відділ: Покритонасінні;
- Клас: Дводольні;
- Ряд: Горохоцвіті (*Fabales*);
- Родина: Бобові (*Fabaceae*);

Glycine max – однорічна трав'яниста культурна рослина (рис. 1.2) [89].
Період вегетації від 70 до 250 днів.

НУБ



НУБ

НИ

НИ

Рис. 1.2. Фаза наливу бобів сої [89]

НУБІП Українни

Соя – це бобова культура, корені якої відіграють важливу роль у забезпеченні росту та вирощення бобів. Культура має стрижневу кореневу систему з грубим, порівняно коротким головним коренем і великою

кількістю довгих бічних коренів, що проникають до 1,5-2 метри у глибину.

НУБІП Українни

Тонкі корені складають біля 60% від усієї кореневої системи. Через 7-10 днів після появи сходів на коренях сої в місцях проникнення бульбочкових бактерій *Rhizobium japonicum* починають формуватися бульбочки в яких фіксується вільний азот з повітря (рис. 1.3) [37].

НУБ



НИ

НУБІП Українни

Рис.1.3. Бульбочки азот фіксуючих бактерій на кореневій системі сої.[37]

Стебло грубе, циліндричне, опушене та сильно розгалужене (рис.1.4).

НУБІП Українни

Висота від 15 сантиметрів до 2 метрів та більше. Зазвичай, висота стебла у межах від 60-100 сантиметрів. Довжина міжвузлів 3-1 см, 2-4 гілочок, хоча

зустрічаються форми і з більшою кількістю гілок. Стебло прямостояче, але є форми, коли стебла в'ються та стеляться по землі. Усі частини рослини крім насіння та вінчика квітки вкриті волосками білого або рудого кольору різних відтінків та густоти. Зовні стебло вкрите одношаровим епітелієм з товстим шаром кутикули.



Рис. 1.4. Стебло сої з опушенням та без опушення. [37]

Листочки складні трійчасті (рис. 1.5), рідше з п'ятьма листочками. По стеблурозташовані чергово. Форма листківрізна: овальна, ланцетоподібна, округла та ін. Зазвичай у майже всіх сортів листки на верхівці дрібні. Але зустрічаються форми, у яких листки на усіх ярусах однакового розміру.

Пластинка листка гладка або пухирчата, м'яка або груба, світло- або темно-зелена, частіше вкрита з обох сторін волосками. При досяганні у більшості сортів листя опадає. Але існують такі сорти, у яких залишається зелене листя до самого досягання бобів [37]



Рис. 1.5. Листки сої [37]

Квітки дрібні, розміщені у пазухах листків, майже без запаху, білого кольору, квітконожки короткі (рис. 1.6). У основі квітконожки є опвіттина, біля основи чашечки – два маленьких прицвітника. Віничок метеликового типу, білого або фіолетового кольору. Тичинок 10 штук, 9 з яких зростаються разом, утворюючи ніби футляр для зав'язі. Цвітіння починається на головному стеблі з появою 5-14 справжніх листків. Залежно від сорту фаза цвітіння триває 15-40 діб, у деяких пізностиглих сортів – цвітіння може продовжуватися до 80-100 діб. Для сої характерне опадання квіток під час вегетації, що негативно позначається на урожайності [37].



Рис. 1.6. Квітка сої. [37]

Китиця – суцвіття сої. Вони розташовані в пазухах листків (рис. 1.7), іноді попарно. Кількість квіток у китиці сильно варіює. У багатоквіткових китицях – 15-26. У коротких мало квіткових – 2-4.[37]



Рис. 1.7. Суцвіття сої. [37]

Плід – багатогніздний біб, який складається з двох половинок, які з'єднані двома швами і містять 2-4 насінини (рис. 1. 8). Боби прямі зігнуті або проміжні з загостреним кінчиком, мають розмір від 3 до 6 сантиметрів, світлого, коричневого або бурого кольору. У мало квіткових китицях формується 1-3 боби, у багатоквіткових – 4-8 і більше.



Рис. 1. 8. Біб сої. [37]

Насіння сої жовте, коричневе, чорне, коричневе, світло-коричневе та зелене. Форма куляста, овальна, видовжена або овально-куляста. Насіння може мати плямистості різної форми та кольору, в залежності від сорту.

Інтенсивність забарвлення насінневої оболонки та пігментації, блиск насіння залежить від умов досягання та збереження. З часом насіння може втратити блиск та забарвлення. Маса 100 насінин від 50 до 425 грамів.

Насінина складається з оболонки та зародка, у якому є дві жовті або зелені сім'ядолі, вони становлять близько 90% від маси насінини [65].

Зовні насінина вкрита оболонкою. У місці з'єднання насінневого зачатка з сім'яніжкою на шкірці є рубчик лінійної, овальної або клиноподібної форми. Колір рубчика значно відрізняється кольором від всієї насінини (рис. 1.9). У насіння сої відсутній процес післязбирального дозрівання і його фізіологічна зрілість настає набагато раніше повної (збиральної) стиглості [42, 33].

НУБІП



НИ

НУБІП

Рис. 1.9. Насіння сої [37]

Насіння сої у своєму складі має білок (35-42%), ліпіди (13-27%) та крохмаль (20-32%). Також, у ньому багато калію, фосфору, кальцію та вітамінів (А, В₁, С, В₂, Е, К, D₁, D₃, РР) [38]. Соя це єдина культура у світі, яка за 4-5 місяців вегетаційного періоду може сформувати таку кількість білка та жиру

НУБІП

Оптимальна температура під час вегетації сої для росту 18-20 °С, для формування репродуктивних органів 21-23°С, цвітіння 22-25 °С, формування бобів 20-23°С, достигання 18-20°С. Температура 35-37°С негативно впливає на ріст/ Розвиток та утворення бульбочок. Сходи мають дві сім'ядолі, які проростаючи виходять на поверхню ґрунту. Температура -4.0 – 4.5 °С призводить до сильного промерзання листків, квітів та бобів, а особливо сім'ядолей (рис. 1.10). Після чого рослина гине [37].

НУБІП

НУБІП

НУБІП



НУБІП

Рис. 1.10. Сім'ядоля на поверхні ґрунту [37]

1.2. Хвороби сої

Сою уражається понад 50 збудників хвороб різного походження: гриби, бактеріальні, фітоплазми та віруси [38].

- Інфекційні хвороби:

- Мікроміцети (понад 30 хвороб) – фузаріоз, фузаріозне в'янення, аскохітоз, пероноспороз, антракноз, гнилі, пліснявіння насіння і т. д.

- Бактеріальні (близько 12 хвороб) – куста плямистість, пустульний бактеріоз, бактеріальний опік, бактеріальне в'янення, іржаво-бура та дрібна коричнева плямистість.

- Вірусні (близько 6 хвороб) – зморшкувата мозаїка, жовта мозаїка тощо.

- Не інфекційні хвороби, які спричинені несприятливими умовами для культури. Недостатнє освітлення, живлення, вологість, температура, а також механічні пошкодження. Все це може призвести до хвороби культури. Тим самим в подальшому втратою урожаю [37; 76].

- Комахи. Вони також можуть приносити великих збитків посівам сої у всі фази розвитку культури. Насіння та сходи можуть пошкоджувати личинки росткових мух, дріт'яники, личинки пластинчастовусих жуків та гусінь підгризаючих совок. Бурякові та бульбочкові довгоносики, личинки зеленого коника та саранові – пошкоджують сім'ядолі сої та перші пари справжніх листків. Трійчасті листки культури пошкоджують гусені з родини совок, вогнівок та листовійок. Кінець цвітіння – початок наливу бобів співпадає з льотом метеликів літнього покоління, які відкладають яйця на боби. Гусені, з відкладених яєць, проникають всередину бобів, де живуть та виїдають насіння протягом місяця. Загалом, шкідників на сої відомо дуже багато. Всі вони потребують моніторингу та особливих засобів захисту [93].

НУБІП України

З грибних хвороб найпоширенішими та шкодочинними є:

Альтернاریоз. Збудник *Alternaria alternata*. Одна з найагресивніших хвороб сої. У місцях ураження, з нижнього боку, з'являються дрібні, кутасті або округлі коричневі плями (рис. 1.11). Згодом плями збільшуються у розмірі, зливаються, темніють та стають чорно-бурими. Це може бути загрозою для врожаю та вимагає ефективного контролю [76].

НУБІП України

Хвороба на насінні, зазвичай, з'являється під час дозрівання сої, коли рослина починає засихати. Масово хвороба проявляється на зовнішній поверхні поживних бобів [92].

НУБІП України



НУБІП України

НУБІП України

Фиг. 1.11. Альтернاریоз сої [75]

Несправжня борошниста роса або пероноспороз. Збудник *Peronospora manshurica*, мікроміцет уражує сім'ядолі, де утворюється ніжний наліт спороношення. У результаті вони жовтіють та опадають. При локальному ураженні на верхній стороні листа формуються ясно-зелені плями (рис. 1.12), які з часом буріють.

НУБІП України

НУБІП України



Рис. 1. 12. Проявлення переноспорозу на листочку сої [75]

Хвороба проявляється також і на насінні сої у вигляді кремової плівки (рис. 1.13), яка вкриває внутрішні стінки ступок бобів та зовнішню оболонку насіння. Основним джерелом інфекції є заражене насіння та рослинні рештки сої [75].



Рис.1. 13. Проявлення переноспорозу на насінні сої[75]

Септоріоз. Збудник *Septoria podagriti*. Септоріоз починається з сім'ядольних листків, на яких утворюється червоно-коричневі плями з численними пікнідами. На справжній листках також утворюються плями різних типів (рис.1.14). Септоріоз може призвести до опадання листя, що веде за собою сильне зниження урожаю. Джерело інфекції рослинні рештки сої та насіннєвий матеріал. [75]



Рис. 1.14. Септоріоз сої. [75]

Аскохітоз. Збудник *Ascochyta sojaecola*. Хвороба проявляється на всіх

надземних органах рослин за час вегетаційного періоду. На уражених сім'ядолях (рис. 1.15) з'являються темно-коричневі вгнисуті плями з концентрованими зонами або наскрізні виразки.



Рис. 1.15. Прояв аскохітозу на сходах сої. [78]

На листочках плями округлі, до 1 см в діаметрі, світло-коричневі сіро-білі з темнішою облямівкою, а також з великою кількістю сильно помітних чорних крапок – пікнід, які розміщуються колами (рис. 1.16). На бобах плями сірі, часто перетворюються на заглиблені бурі виразки з численними пікнідами. За умов сильного ураження стулки бобів стають білуватими. У таких уворих бобах насіння не утворюється. Основне джерело інфекції – уражене насіння. [78]

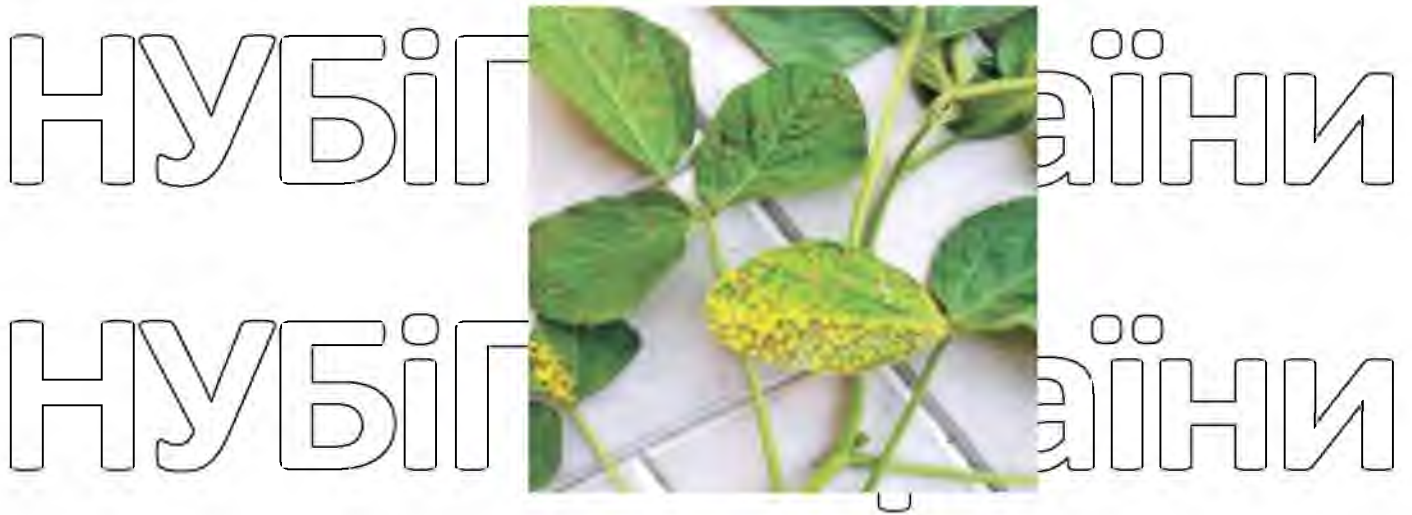


Рис.1.16. Прояв аскохітозу фази бутонізації. [78]

Фузаріоз. Збудник *Fusarium moniliforme*. На сходах проростки нерівно потовщуються та деформуються. На сім'ядолях з'являються глибокі бурі виразки (рис.1.17) з рожевим нальотом. Уражене насіння не пророщується, тобто не дає сходів. На ньому з'являється білувато-рожевий наліт. У фазу бутонізації культури та на початку утворення бобів фузаріоз призводить до пожовтіння, засихання та опадання листя. Стебло стає темніс-коричневого кольору і вся рослина в'яне. [78]



Рис.1.17. Прояв фузаріозу на сходах сої. [78]

НУБІП УКРАЇНИ

1.3. Збудники бактеріальних хвороб сої.

Всюди, де вирощують сою є зареєстровані випадки бактеріальних хвороб. Тобто по всій Україні можна зустріти бактеріози. Вивчення бактеріозів триває вже понад 100 років [36].

Збудники цих хвороб – бактерії, зберігаються вони на оболонці, у ендоспермі та зародку насіння. Первинне джерело зараження це насіння. На уражених рештках бактерії можуть жити до їх розкладання, після чого у ґрунті бактерії швидко гинуть [37].

Бактеріози краще та швидше розвиваються у теплі, підвищеній вологості та при гарній погоді.

Найпоширеніші бактеріальні хвороби на сої:[41]

- Кутаста плямистість сої. Збудник *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*
- Пустульний бактеріоз сої. Збудник *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*
- Дикий опік сої. Збудник *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*
- Бактеріальна смугастість стебла сої. Збудник *Pantoea agglomerans* Gavini
- Бактеріальне в'янення сої або вилт. Збудник *Ralstonia solanacearum*
- Іржаво-бура плямистість сої. Збудник *Curtobacterium flaccumfaciens*
- Чорна плямистість сої. Збудник *Xanthomonas heteroce*

1.3.1. Симптоми бактеріальних хвороб сої

Кутаста плямистість сої. Збудник *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*

Ця хвороба уражує на всіх фазах росту усі надземні органи рослини. Більш часто можна зустріти на листках у фазу цвітіння, на проростках та сім'ядолях. З самого початку сім'ядолі маслянисті сіро-коричневі або сіро-чорного забарвлення. Інколи край сім'ядолі може бути наче “поїдений”. Плями можуть бути гладкими, плоскими, щільними у центрі та по краях поверхні сім'ядолі або заглиблені на 1-3 мм. [38]

На листочках плями дрібні, кутасті, маслянисті та просвічуються на світлі. Уражена тканина жовтого кольору, надалі ці плями темніють і набувають жовтувато-оранжевий ореол. Зазвичай, плями знаходяться біля дрібних жилок, найчастіше по краю листа. З плином часу ділянки, що уражені, збільшуються у розмірах та темніють до коричнево-чорного кольору. Листочки набувають дрічкового вигляду (рис. 1.18), тому що уражена тканина випадає. [41]



Рис. 1.18. Кутаста плямистість сої [64]

На стеблі з'являються подовжені світло-коричневі плями приблизно 5-20 см, згодом вони стають темнішими. На бобах розвиваються округлі слабomasлянисті, темно-коричневі, чорнуваті та сухі плями. Якщо порівнювати уражене насіння зі здоровим, то воно має менші розміри та, зазвичай, тьмяну зморшковату поверхню. Сухі сіро-коричневі плями та тріщини також можуть з'являтися на насінні. [41]

Пустульний бактеріоз сої. Збудник *Xanthomonas axonopodis* pv.

glycines

Цю хворобу можна зустріти на всіх наземних органах сої, але листя уражується найчастіше. На листках спочатку утворюються червонувато-коричневі або зеленувато-коричневі плямки (рис.1.19). Вони трошки просвічуються і поступово ростуть. Тканина в місці ураження припіднята як пустули. Через деякий час пустули лопаються, тканина набуває сірого кольору і стає прозорою. На нижній частині листка плями мають коричневий

колір з темною облямівкою, а пустули відсутні. На пізній стадії розвитку хвороби плями взуально схожі на плями, які утворює збудник кутастої плямистості. У такому разі потрібно виділити паразита, аби провести правильну та якісну діагностику патогену. [44]

При ураженні сім'ядоль на них розвиваються коричневі подовжені поверхневі або глибокі ураження тканини. [8]

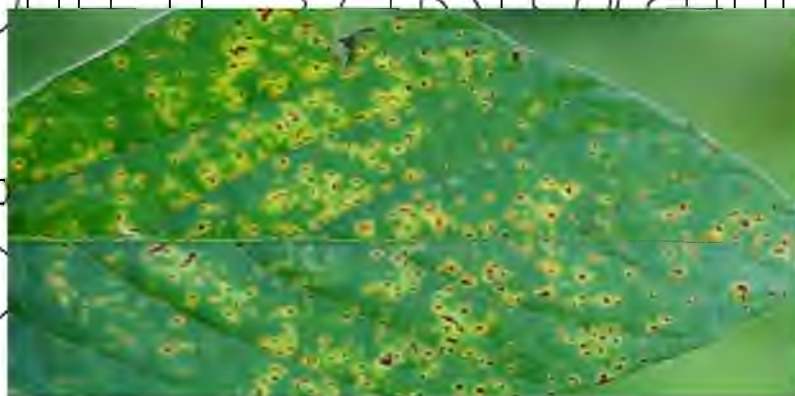


Рис. 1-19. Пустульний бактеріоз сої [64]

Стебло майже не уражується, якщо порівнювати з листям та бобами. Але при ураженні симптоми виглядають так: сухі коричнево-шоколадно-червоні смуги – це проявлення пустульного бактеріозу. У місці ураження стебло може зламатися. [41]

Дикій опік сої. Збудник *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*

На сім'ядолях та листках утворюються різні по формі світло-бурі некротичні плями з широким жовтим ореолом. Спочатку хвороба проявляється на нижньому листочку. У вологу погоду дуже швидко поширюється, тобто плями збільшуються у розмірі і утворюються великі ділянки ураженої тканини. Уражене листя опадає [38]. Джерело інфекції це бур'яни та рослинні рештки, у ґрунті патоген не виживає [10].

Бактеріальна смугастість стебла сої. Збудник *Pantoe agglomerans*

Савині

У фазу цвітіння у рослин з'являються червоно-червоні або пурпурові видовжені плями та смуги на нижній частині листка [53; 10]. Ураження на стеблі особливо виражені, з часом вони охоплюють усе стебло. Інфекція проникає у паренхіму при сильному розвитку хвороби. Паренхіма може набувати яскраво-червоного кольору. При цьому рослина гине [38].

Зрідка, на рослині, крім смугастості можуть утворюватися вологопрозорі плями, які можуть візуально нагадувати опік [10].

Pantoe agglomerans є поліфагом, тому окрім сої може уражувати майже всі сільськогосподарські зернові та бобові рослини [24].

Бактеріальне в'янення сої або вілт. Збудник *Ralstonia solanacearum*

Фітопатогенний поліфаг *Ralstonia solanacearum* спричиняє хворобу по типу в'янення або вілту. У результаті чого уражується судинний пучок, рослини раптово та швидко в'януть, листя зморщується (рис. 1.20), судинний пучок темнішає. Саме молоді рослинки більш уражуються, бо вони більше стійкі до вілту, ніж старі. На зрізі стебла під мікроскопом можна побачити судини, які заповнені бактеріями. [38; 41]



Фиг. 1.20. Бактеріальне в'янення сої [64]

Іржаво-бура плямистість сої. Збудник *Curtobacterium flaccumfaciens*

Збудник іржаво-бурої плямистості дуже стійкий до висушання, знаходиться як зовні, так і в середині насіння, може зберігати свою життєздатність у насінні до 24 років. А також чи не єдиний патоген, що може виживати у ґрунті до двох років [33; 49].

Збудник уражує судинну систему, тож рослина в'яне та помирає. Це може відбутися як зі сходами, так і з дорослою рослиною. Хворі рослини погано ростуть, стають карликовими, листя спадає, пагони відмирають, а стебло ломається. Проте, у деяких джерелах можна знайти, що ураженні рослини на ранніх стадіях можуть "перехворіти", але їхнє насіння стає джерелом розповсюдження інфекції [54].

На листках з'являються темно-зелені або зелено-коричневі ділянки всихаючої тканини (рис.1.21) [50; 52]. Хоча збудник і уражує всі частини рослини, але на бобах зустрічається рідко. Інколи, уражене насіння наче без ознак хвороби, але на стручці можна помітити потемніння шва [54].



Рис.1.21. Іржаво-бура плямистість сої [64]

1.3.2. Фенотипові властивості бактерій, що уражують сою

Збудники хвороб сої, що викликають бактеріози були відкриті наприкінці XIX - на початку XX століття. Після чого науковці почали досліджувати питання вивчення біологічних властивостей цих патогенів для систематизації, чіткої симптоматики, ідентифікації та відокремлення від

іншої мікробіоти. Основою ідентифікації усіх представників фітопатогенних бактерій – збудників бактеріозів сої різних родів та видів є визначення їх вірулентних, морфолого-культуральних, фізіологічних, серологічних, біохімічних та генетичних властивостей [10].

Всі відомі збудники бактеріальних хвороб сої це грамнегативні, аеробні, рухливі, мають два або більше джгутиків, неспорутворюючі палички розміром від 0,7 – 1,2 x 1,5 – 3,0 мкм, за виключенням грампозитивного *Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens*. Всі збудники оксидаzoneгативні, окрім *Ralstonia solanacearum* [41; 28; 46]

Фітопатогенні бактерії роду *Pseudomonas* являють собою палички шириною 1,2-1,5 мкм та довжиною 2,3-2,9 мкм, можуть рухатися завдяки полярному джгутику [41]. Вони здатні продукувати флуоресцентний пігмент, оксидазо-негативні, каталазо-позитивні. Оптимальна температура для культивування 25-28°C.

P. savastanoi pv. glycinea, як і всі фітопатогенні псевдомонади являють собою грам-негативні палички, рухливі завдяки полярному джгутику. Колонії на КА та МПА утворюються круглі, гладенькі, блискучі, краї яких в основному рівні, інколи слабо хвилясті [8]

Фітопатогенні бактерії роду *Xanthomonas* являють собою аеробні, аспорогенні із закругленими кінцями палички розміром 0,5-0,9 x 1,4-2,3 мкм, рухливі, мають полярний джгутик, грамнегативні, мають капсулу [29].

Штами збудника пустельного бактеріозу зброджують без утворення газу лактозу, манітол, декстрозу, мальтозу, сахарозу, рафінозу, ксилозу, арабінозу, фруктозу, галактозу, гліцерин, декстрин і не зброджують рамнозу, саліцин, дульцит, целюлозу, винну, саліцилову, бензойну кислоти. [29;45]

Фітопатогенні бактерії роду *Pantoe* являють собою невеликі клітини, еінсоїдні, неспорутворюючі, рухливі палички, грамнегативні, оксидаzoneгативні, каталазопозитивні. На МПА та КА виростає у вигляді

круглих, гладких, блискучих, жовто-золотого кольору з рівними краями, інколи слабохвилястими, колонії діаметром 4-7 мм [29].

За морфологією клітини бактерій невеликі, еліпсоїдні, неспороутворюючі, рухливі палички, з перетрихціальним розташуванням джгутиків. Культури грамнегативні, оксидазонегативні, каталазопозитивні,

штами ерологічно-неоднорідні [29;45]. Представники виду *P. agglomerans* здатні відновлювати нітрати, не ферментують желатин і не пептонізують, але поступово коагулюють молоко, за використанням індолу – варіабельні. В

якості джерела живлення здатні використовувати мальтозу, рамнозу, ксилозу,

дультит, манітол, вибірково засвоюють лактозу, саліцин, рафінозу; не ферментують гліцерин, інозит, етиловий спирт, вуглеводні. Не здатні утворювати амлазу, лецитиназу, левансахаразу, протопектиназу, целюлазу, уреазу. [5]

Фітопатогенні бактерії роду *Curtobacterium* – грампозитивні, неспороутворюючі палички розміром 0,3-0,5 x 0,6-3,0 мкм, найчастіше з закругленими кінцями, зустрічаються YIV – образні форми, рухливі за допомогою 1-3 джгутиків. На поживному середовищі – КА на другу добу

виростають округлі колонії з рівними краями, блискучі, напівпрозорі, гладкі,

світло-жовті, маслянистої консистенції, діаметром до 4 мм. Оптимальна температура росту – 28 °С, мінімальна – 4 °С, максимальна – 36 °С [10].

1.4. Контроль розвитку бактеріальних хвороб.

Методи боротьби з бактеріальними хворобами для зернобобових культур, особливо сої, можна розділити на заходи, які спрямовані на вдосконалення агротехнічних прийомів та виведення стійких до бактеріозів сортів. [54, 58]

Використання стійких сортів – це метод захисту сої від шкідливих об'єктів, який є ефективний, екологічно безпечний та економічно вигідний. Вирощування здорової культури за інтенсивної технології можливо лише тоді, якщо господарство має сорти інтенсивного типу, тобто ті, які мають

стійкість до найпоширеніших хвороб, які зустрічаються на сої, достатньої кількості мінеральних добрив, а також засобів захисту рослин. [72]

На сьогоднішній день, для того, щоб захистити посіви культур від бактеріозів найпопулярнішими методами захисту є обробка насіння та вегетуючих рослин хімічними або біологічними препаратами. Обов'язкове знезараження посівного матеріалу теж відбувається за допомоги хімічних препаратів (фунгіциди, інсектициди та гербіциди). Але, слід зазначити, що проти фітопатогенних бактерій не має у переліку зареєстрованих хімічних пестицидів[30]. Але пошуки таких препаратів тривають.

На жаль, у час бурхливого розвитку різних галузей сучасні методи захисту рослин не можуть вирішити всі проблеми контролю захворюваності рослин. Більш того, інколи ці методи можуть спричинюють нові проблеми:

велике використання хімічних препаратів; змінення співвідношення патогенної грибної та бактеріальної мікрофлори, що тягне за собою появу нових збудників хвороб, що призводить до змінення складових фотомунітету при взаємовідносинах рослини-хазяїна з патогенною і сапрофітною мікробіотою [29;62]. Широке використання пестицидів може викликати у шкідливих об'єктів, і також у фітопатогенних бактерій,

популяційну резистентність, що призводить до того, що спеціалісти з захисту рослин збільшують дозу і кратність застосування пестицидів, а це призводить до негативних наслідків. [32;43; 6] Хімічний метод захисту рослин потребує

пильного дослідження та чіткого відбору прийнятних препаратів хімічного походження для використання його на культурах. Але з кожним роком все більше починають цікавитися біологічним методом та залучають до інтегрованої системи захисту рослин, аби можна було потрошку зменшувати потенціал хімічних препаратів.

На жаль, використовуючи біометод для захисту рослин від хвороб сої, потрібно розуміти, що він має досить обмежене застосування через труднощі

з одержанням достатньої кількості препарату та відсутності надійних засобів збереження протонгованості їх дії [7, 19, 54]

1.4.1. Препарати для захисту посівів.

Біологічні препарати класифікують за видовою приналежністю, механізмом дії, кількістю штамів в препараті та спрямованістю [63].

За видовою приналежністю біопрепарати поділяються, в залежності від природи діючого агенту, на:

- Бактеріальні – препарати на основі різних видів бактерій;
- Грибні – препарати на основі грибів з широким спектром дії проти шкідників;
- Вірусні – препарати на основі ентомопатогенних вірусів.

Специфічність таких препаратів обумовлює їх дію переважно на одного шкідника.

За механізмом дії на шкідливі організм біопрепарати поділяють на:

- Препарати кишкової дії (бактеріальні та вірусні);
- Препарати контактної дії (грибні);
- Препарати комбінованої дії (грибні та деякі бактеріальні);

За кількістю штамів в біологічних препаратах поділяються на:

- Моноштамові (виготовлені на основі одного штаму);
- Препарати на основі двох та більше штамів мікроорганізмів, що належать до різних систематичних груп.

Більшість біопрепаратів є моноштамовими, але за останнє десятиліття в Україні та інших країнах був розроблений ряд ефективних біологічних препаратів на основі двох або декількох штамів мікроорганізмів.

По спрямованості дії біологічні препарати для захисту рослин діляться на такі:

Захищають рослини від фітофагів, фітопатогенних бактерій, мишкоподібних гризунів;

Підвищують стійкість рослин до шкідливих організмів;

Покращують живлення (азотне, фосфорне, калійне) і сприяють збільшенню врожайності рослин;

Стимулюють ріст і розвиток рослини завдяки вмісту біологічно-активних сполук;

Покращують структуру і родючість ґрунту.

Основною біологічного контролю від ураження фітопатогенами є природні явища надпаразитизму та антибіозу між мікроорганізмами, тобто сапрофітною, паразитичною та патогенною мікробіотою. Результатом цих регуляторних механізмів не завжди є повне знищення популяції фітопатогену, а істотне обмеження його розвитку та шкідливості [55].

Підбір найбільш перспективних штамів антагоністів є однією з найголовніших умов прогресу біологічного методу захисту рослин від хвороб [2].

Важливу роль у пригніченні розвитку хвороб сільськогосподарських культур відіграють мікроби-антагоністи, які включають бактерії родів *Pseudomonas* та *Bacillus*, рідше інші роди, серед яких молочнокислі, а також гриби роду *Trichoerma*. Мікроорганізми-антагоністи колонізують корені, стебла і листки рослин, а ефект захисної дії базується на спроможності клітин бактерій продукувати позаклітинні метаболіти (феназини, сідерофори та ін.), які пригнічують ріст фітопатогенних грибів і бактерій і підвищують імунітет рослин [1;47; 61].

На сьогоднішній день на основ перерахованих мікроорганізмів створено ряд біопрепаратів – Триходермін, Бактофіт, Алірін Б, Гаупсін.

Ризоплан, Фітоп, Фітоцид, Фітохелп і інші, які використовують для захисту рослин від грибних та бактеріальних хвороб, а також комах-шкідників [20;6]

Бактерії роду *Pseudomonas* є перспективними для біоконтролю широкого кола збудників сільськогосподарських культур. Застосовуючи для захисту рослин біопрепарати на основі бактерій роду *Pseudomonas* ураженість сільськогосподарських культур збудниками грибних та бактеріальних хвороб знижується в середньому у 2-3,5 т/га. [39]

Бактерії роду *Bacillus* – одні з найбільш відомих родів мікроорганізмів, види якого широко розповсюджені у природі. У різних галузях промисловості широко використовують представників роду *Bacillus*, тому що мають низьку патогенність та різноманітні метаболіти. Крім цього, бактерії не вибагливі до умов росту і здатні продукувати велику кількість біологічно активних речовин білкової природи (є продуцентами понад 70 антибіотиків) [25].

Штами мікроорганізмів-антагоністів роду *Bacillus* проявляють високу фунгіцидну активність фітопатогенних грибів роду *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, контролюють широке коло збудників бактеріозів, а також підвищують стійкість проростання насіння [18;21; 35].

Найпоширеніші препарати на основі *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus spolytura*, *Pseudomonas* та інші. Ці та схожі препарати використовуються для захисту рослин з 1928 року, вони мають інсектицидні властивості. Популярними є також фунгіциди на основі бактерій. Це препарати, які містять живі клітини *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas saureofaciens* або інших видів бактерій [10].

Мікробіологічний захист рослин обробка сільськогосподарських культур препаратами, які виготовлені на основі мікроорганізмів і продуктів їх метаболізму. Ці мікроорганізми виділяють з загинувших в природі шкідників.

Як правило, діючі речовини препаратів це живі віруси, гриби та бактерії. Також, біопрепарати можуть містити природні токсини, антибіотичні речовини та стимулятори росту, синтезовані користними організмами. Готові

засоби захисту є нешкідливими для людей, тварин, птахів, риб та екосистеми в цілому, оскільки всі мікроорганізми є природними компонентами біоценозу.

Мікробіологічні препарати для захисту рослин є безпечним елементом

системи захисту рослин, і вони грають ключову роль у здоровому господарстві.

Мікробіологічні засоби захисту рослин широко використовуються, оскільки мають ряд переваг:

- Високо ефективність та екологічність;
- Сумісність з біологічними та хімічними пестицидами;
- Вибіркова дія щодо доцільного спектру комах і рослиншкідників;

- Короткий термін очікування ефекту: збирати врожай можна через два місяці після фінальної обробки;

В цілому мікробіологічні засоби захисту рослин досить безпечні для людини та навколишнього середовища, що робить їх незамінним елементом системи захисту рослин. [6;17].

Використання біопрепаратів для захисту рослин стає нагальною проблемою в зв'язку з необхідністю екологізації землеробства.

На жаль, недоліками багатьох препаратів (передусім біологічного походження), які використовуються проти бактеріальних хвороб є:

- По-перше, значна різниця між їх ефективністю в умовах навколишнього середовища та лабораторії, в зв'язку з чим не завжди в польових умовах досягається бажаний результат;

- По-друге, препарати дуже часто з часом втрачають свою активність. Тому це потребує постійного пошуку нових активних бактерій-антагоністів та створення банків антагоністів [57].

Технологічні проблеми при виробництві бактеріальних і мікроміцетних препаратів для захисту рослин найчастіше пов'язані з отриманням, зберіганням та використанням фагостійких штамів бактерій продуцентів та створенням препаративних форм, які забезпечують тривале підтримання в активному стані клітин продуцента.

Таким чином, вивчення бактеріозів сої необхідно для розробки методів боротьби з ними, створення нових районуваних стійких та конкурентоздатних сортів, прогнозування розповсюдження епіфітотій.

Дослідження біології самих фітопатогенів сої дозволяє підійти до питань моніторингу на клітинному рівні та вивченню ряду загальнобіологічних питань хімічного і біологічного контролю [62].

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Умови проведення досліджень.

Матеріали для проведення подальших дослідів були отриманні в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України у відділі Фітопатогенних бактерій.

Для фітопатологічного аналізу були використанні зразки різних сортів насіння сої різного ступеня ушкодження фітопатогенними мікроорганізмами:

У даній роботі використані такі сорти сої:

- Ультра – відноситься до середньостиглих сортів. Має високий потенціал врожайності. Посухостійкий, тобто низька потреба у волозі під час формування генеративних органів. Рекомендована зона вирощування: Лісостеп. [77]

- Кіота – ранньостиглий сорт. Стійкий до вилягання, обсіпання та посухи. Має стійкість до бактеріозів 9 балів.

Рекомендована зона вирощування: Степ, Лісостеп та Полісся. [86]

- Титан – середньостиглий сорт. Стійкий до посухи, полягання, обсіпання. Має стійкість до бактеріозів 7-9 балів.

Рекомендована зона вирощування: Степ, Лісостеп та Полісся. [88]

- Діадема Поділля – ранньостиглий сорт сої. Стійкість до вилягання, посухи та обсіпання досить висока. 9 балів – стійкість до бактеріозів. Рекомендована зона вирощування: Полісся та Степ. [85]

- Панорма – відноситься до середньоранніх сортів. Стійкий до вилягання та осипання. Має стійкість до бактеріозів 9 балів.

Рекомендована зона вирощування: Лісостеп, Степ та Полісся. [87]

У якості тест-культур використовувалися такі тест-культури:

- 9283 – *Xanthomonas fuscans* pv
- 9190 – *Pseudomonas savastanoi* pv. *Glycinea*
- 9192 – *Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines*

2.2. Методика проведення досліджень

Визначення наявності фітопатогенних мікроорганізмів у наданих зразках сої проведено із застосуванням мікробіологічних, фітопатологічних та біохімічних методів.

Ізоляція фітопатогенів із дослідних зразків проведено у лабораторних умовах здійснена методом мацерації тканини насіння [26]

Посів вегетативного матеріалу для ізоляції фітопатогенних бактерій проведено на тверде поживне середовище картопляний агар (КА), мікроміцетів - сусло-агар (СА). Ідентифікація бактеріальних ізолятів

проведено за виконанням «триади Коха» (патогенні, культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості) за традиційними методиками. [26; 9]

2.2.1. Фітопатологічний огляд насіння і рослин

При фітопатологічному аналізі, проводили спочатку візуальний огляд дослідних зразків на ураженість бактеріями, тобто зовнішній огляд і визначення наявності характерних симптомів бактеріозів. Уражене насіння досить легко відрізнити від здорового. На ньому присутні плями і язви різного кольору, розтріскування, воно плоске та недорозвинене.

Таблиця 2.1

Оцінка ступеня ураження рослини *Pantoea agglomerans* [40]

Оцінка у балах	<i>Pantoea agglomerans</i> (збудник смугастості стебла)
-	Відсутність ураження або слідів і введення бактеріальної суспензії
+	Коричневі або чорні продовгуваті плями
2+	Початок розповсюдження чорних плям по стеблу 5-10 мм
3+	Подовжені чорно-коричневі некрози по всьому стеблу
4+	Розповсюдження некротичних смуг та переломів

Усі видимі симптоми заносилися у таблицю, а потім проводилося ізоляція збудника. [40]

2.2.2. Виділення збудників з рослинного матеріалу.

Ізоляцію збудників хвороб із зразків уражених частин рослин (насіння, лист, стебло) проводиться методом манерації тканини. Для цього шматочки ураженої тканини, яке було спеціально відібране до цього, промивають водогінною водою протягом семи хвилин та розтирають у ступці з краплинкою стерильної води. Після цього зразок потрібно висіяти у чашки

Петрі з поживним середовищем, а саме, на картопляний агар (КА) або LB. Чашки ставлять у термостат та інкубують при 28°C протягом 7 діб. Колонії, які вирости на чашках описують за морфологічними ознаками, відбирають та відсівають для подальшого вивчення та виділення чистої культури шляхом висівання на чашки Петрі. [27; 40]

2.2.3. Перевірка патогенних властивостей ізолятів бактерій.

Первинний скринінг патогенності виділених ізолятів проводили шляхом штучного зараження дорослих рослин під час вегетації. У листочки та стебло на всіх ярусах кожної досліджуваної рослини стерильним шприцом вводили суспензію бактерій у кількості 1×10^8 (у трьох повторах). Для контролю були взяті 3 рослини сої, які були інокульовані стерильною водогінною водою. Облік заражених рослин проводиться через 10-14 днів за 5-ти бальною шкалою. [40; 31; 27]

2.2.4. Оцінка культурально-морфологічних властивостей отриманих ізолятів

У виділених ізолятів оцінювали морфологію колоній та бактеріальних клітин. Колонії описували за такими критеріями, як форма, розмір, консистенція, колір, край. Також оцінювали здатність росту на твердих та

рідких поживних середовищах, такі як КА, LB та м'ясо-пептонний бульйон (МПБ).

Морфологію клітин вивчали за допомогою живих препаратів та фіксованих, пофарбованих за Грамом, і світлового мікроскопу. [27]

Для цього використовували мікроскоп марки Carl Zeiss S 15 A/G (виробник Німеччина), при збільшенні у 800-2000 разів.

2.2.5. Фарбування клітин бактерій за Грамом.

Фарбування клітин бактерій за Грамом проводили як позитивний і негативний контроль забарвлення використовували колекційні фітопатогенні бактерії.

Забарвлення за Грамом – спеціальний метод діагностування, за допомогою якого можна визначити грампозитивність чи грамнегативність бактерій. Грампозитивні бактерії за фарбування мазка кристал-фіолетом, з подальшим обробленням розчином йоду у йодистому калії і знебарвленням спиртом, міцно утримують фіолетову фарбу. Грамнегативні бактерії легко знебарвлюються спиртом, що пояснюється особливістю хімічного складу бактерій. У результаті фарбування за Грамом грампозитивні бактерії набувають темно-фіолетового кольору. Грамнегативні бактерії забарвлюються у червоний колір. [40]

2.2.6. Визначення рухливості

Рухливість перевіряли за допомогою світлового мікроскопу на живих препаратах, виконані за методикою «роздавлена крапля». Для цього брали добову культуру дослідних штамів, яку культивували у МПБ. Краплю культури в МПБ додавали на предметне скло та покривали покривним скельцем. [10]

2.2.7. Визначення оксидазної активності

Цитохром-с-оксидаза – це фермент, який належить до класу оксидоредуктаз та каталізує перенесення електронів на молекулу кисню у процесі окисного фосфорилування.

Для проведення реакції за методом Ковача використовують два розчини: перший із реагентів N, N – диметил-п-фенілендіаміну та 96%-им етиловим спиртом, та другий із нафтолу та 96%-им етиловим спиртом. Для досліду використовують добову культуру бактерій, що росли на поживному середовищі МПА та наносять безпосередньо на нею краплину реактиву і спостерігають подальшу реакцію. При позитивній реакції через пів хвилини рожеве забарвлення змінюється на темно-червоне [10]

2.2.8. Визначення утилізації джерел вуглецевого живлення

Тест на ферментацію вуглеводів використовується для визначення, чи може досліджуваний мікроорганізм утилізувати конкретний вуглевод. В результаті ферментації кінцевим продуктом буде або кислота, або луг.

Для досліду використовували середовище Омелянського із додаванням індикатору бромтимоловий синій, який при нейтральному рН має зелений колір. Якщо продуктом виділення внаслідок утилізації вуглеводу кислота, то колір змінюється на жовтий, якщо луг – синій. Дослідні культури перевірялися на здатність утилізувати таких вуглеводів, як глюкоза, рафноза, фруктоза, маноза, лактоза, ксилоза та інші. Окрім здатності утилізувати вуглеводи, ще перевірялась здатність ферментувати спирти: гліцерин, дульцит та маніт.

Для здатності розщеплювати білки та пептону до індолу і сірководню перевіряли за допомогою поживного середовища МПБ, куди вносили солі свинцю. Продукт реакції розпаду сірководень здатний взаємодіяти із іонами

свинцю і утворювати сіль чорного кольору, який можна виявити за допомогою спеціального фільтрувального паперу, просоченого свинцем. [40]

Проте олігитинні властивості бактерій вивчали на середовищі зі желатиною та молоком. Появу ознаки ферментативної активності

спостерігали візуально за розрідженням желатини та згортанням молока. [46]

2.3. Метод вології камери.

Для того, щоб створити ефект вології камери використовують чашки

Петрі, Коха або порцелянові кювети. На дно кладуть шар стерильної гігроскопічної вати, яку покривають двома шарами стерильного

фільтрувального паперу. Підготовлені чашки або кювети стерилізують у сушильній шафі за 130 °C протягом двох годин або в автоклаві за 2 атм 30-40

хвилин. Порцелянові кювети дезінфікують спиртом. Перед тим як розкласти

насіння потрібно змочити вату та фільтрувальний папір стерильною водою.

Розкласти насіння потрібно дотримуючись стерильності. А всі металеві інструменти (пінцети, голки та тд.), які задіяні у досліді, потрібно

фламінувати. [14]

Розклавши насіння у чашки Петрі, Коха або порцелянові кювети (рис.

2.1) їх розміщують у термостаті з температурою, яка є оптимальною для проростання досліджуваної культури.



Рис. 2.1. Насіння розкладене у порцелянові кювети на початку досліду

Для пророщування сої оптимальна температура 28°C. Облік результатів здійснюють згідно ДСТУ 4138 – 2002 для кожного виду насіння сільськогосподарських культур [23]. Одночасно з цим потрібно спостерігати прояв бактеріального ураження насіння та проростків. Згідно ДСТУ ураження насіння хворобами визначають після устанавленого строку їхнього проростання, з урахуванням кількості насінин уражених окремими видами хвороб і загальну кількість ураженого насіння в кожному повторенні [40]. Первинний облік прояву хвороби на насінні проводять на третій день, другий облік – на сьомий день.

Від другого-третього дня потрібно систематично спостерігати за розвитком та проявом хвороб на насінні та проростках (рис 2.3.). Також, варто звертати увагу на насіння, яке загнило, ослизнилося або зовсім не проросло, тому прояви можуть бути спричинені сильним ураженням бактеріями. [40]



a)

б)

Рис. 2.2. Пророщування насіння у порцелянових кюветах: а) На 3 день пророщування; б) На 7 день пророщування.

Буває таке, що на перший погляд насіння абсолютно здорова, тобто не має ніяких зовнішніх ознак прояву бактеріозу. Але інфекція може бути внутрішньою, тобто хвороба може проявитися на проростках у вигляді плям або виразок на колеоптилях, ростках або сім'ядолях, можуть бути ознаки мокрої гнилі на стеблі та корінцях тощо. Всі ці прояви, обов'язково, потрібно враховувати за фітопатологічною експертизою насіння.

При наявності ексудату на насінні не завжди є точно наслідком ураження збудником бактеріологічної хвороби. Тому для підтвердження природи збудника, крапельки слизу, які виступили на насінні висівають на тверде поживне середовище у чашки Петрі. Клонії, які виростили на чашках, потрібно аналізувати, висіяти у пробірки та в подальшому досліджувати з метою їх ідентифікації. [23]

2.3.1. Рулонний метод.

НУБІП УКРАЇНИ

Під час аналізування насіння у рулонах фільтрувального паперу використовують його два шари, які є досить добре зволожені. Відбирають чотири проби по 50 або 100 насінин. Для кожної проби використовують смужки фільтрувального паперу розміром відповідно 55 см × 10 см або 110 см × 10 см. Насіння розкладають в одну лінію з інтервалом 1 см на відстані 2-3 см від верхнього і бокових країв паперової смужки. Насіння кладуть зародками донизу. Розташоване на папері насіння накривають такою самою за розміром смужкою зволоженого фільтрувального паперу, на яку накладають смужку поліетиленової плівки, і скручують у рулон (рис.2.3).



Рис. 2.3. Рулон для пророщування насіння

НУБІП УКРАЇНИ

Рулони ставлять вертикально у посудини і поміщають у термостат за температури 22-25 °С. У процесі пророщування насіння не допускають підсихання рулонів. Воду в піддоні термостата міняють кожні 3- 5 діб.

НУБІП УКРАЇНИ

Насіння аналізують у строки, передбачені для визначання його схожості. Для сої це 8 діб та 23-28 °С. (рис.2.4.) [23]



а)



б)

Рис. 2.4. Етапи рулонного методу. а) Рулон на 4 день; б) Рулон на 7 день.

2.4. Схема досліду у теплиці

Дослід був проведений згідно схеми (рис. 2.5). Для початку відібравши 100 насінин сорту Ультра, їх розділили на дві рівні частини. Тобто, 50 насінин – контроль, а 50 насінин обробили сумішшю препаратів №3 (№3 - 2.4 л ОМД + 150 мл Комфорт + 500 мл Мікро) відповідно до розрахунку на 10 л т.

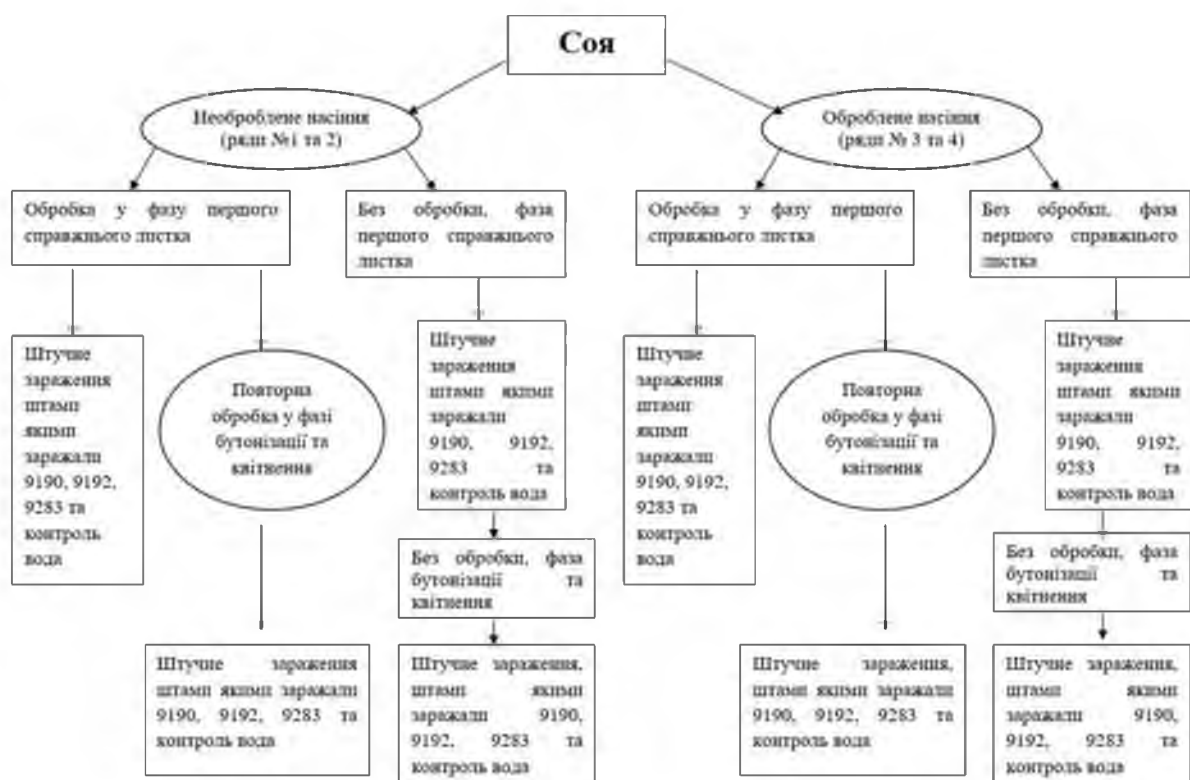
Маса не обробленого насіння 50 штук становить 5,88 грамів.
Оброблене насіння 50 штук – 5,34 грамів.

Отримані результати були занесені до таблиці 3.7.

НУ

НУ

НУ



НУБІП України

Рис. 2.5. Схеми дослідів.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Фітопатологічний аналіз зразків насіння сої.

Першим етапом при проведенні фітопатологічного аналізу зразків насіння сої різних сортів – це відбір ушкоджених фітопатогенами насінин сої з кожного досліджуваного варіанту та визначення симптомів зараження (табл. 3.1). Проаналізовано 67 зразків ушкодженого фітопатогенами насіння сої п'яти сортів.

При візуальному обстеженні зразків насіння сої (рис. 3.1) було виявлені різноманітні ознаки хвороб, які притаманні не лише фітопатогенним бактеріям, а й фітопатогенним грибам і вірусам.



Рис. 3.1. Насіння сорту «Ультра» з симптомами фітопатогенного ураження.

Окрім цього, при візуальному обстеженні зразків встановлено, що прояви ознак хвороб різнилися між варіантами і ушкоджене насіння кожного варіанту мало свої типові ознаки ураження, які були характерними лише для цього варіанту. Прояви ознак ураження фітопатогенами, типові для кожного з досліджуваних варіантів зразків насіння сої наведені нижче.

Результати, які були отримані в подальших дослідженнях підтвердили відповідність описаних симптомів з зараженням насіння певними патогенами грибного та бактеріального походження.

Прояви ознак хвороб на ушкодженому фітопатогенами насінні сої при візуальному обстеженні наступні:

Сорт Діадема Поділля

1. Насінина з маленькою сірою плямою 1 мм
2. На насінині по шву коричневі продовгуваті плями
3. Насінина жовто-зелено-коричневого кольору з білим нальотом

(надалі Д-1)

4. Вся насінина деформована
5. На насінині розтріскана верхня оболонка
6. Насінина з білим нальотом
7. На насінині багато маленьких чорних цяток
8. Насінина з білим нальотом
9. Насінина з сіро-попелястими не чіткими маленькими плямками
10. Від шва насінини відходять коричневі продовгуваті плями
11. Верхня оболонка насінини розтріскана
12. Біля основи насінина зеленувата та вкрита білим нальотом
13. Насінина зеленуватого кольору

Сорт Титан

1. Насінина з білим нальотом
2. Насінина з коричневою нерівномірною плямою навкруги шва
3. По насінині сіро-білий-попелястий наліт
4. Маленька щупла зеленувата насінина з білим нальотом
5. Вся насінина коричневого кольору
6. Верхня оболонка насінини щупла, біля шва світло-коричнева пляма
7. Тріснута насінина з сіро-фіолетовим нальотом
8. Біло-сірий наліт по всій поверхні насінини
9. Щупла деформована (втягнута) насінина. Активні коричневі та сіро-зелені плями. Є виразка біля основи насінини (надалі Т-9.1 та Т-9.2)
10. Насінина зеленуватого кольору з округлою світлою плямою
11. Коричневі плями від шва майже по всій насінині

12. Розтріскана зеленувато-жовта насінина, начебто з внутрішніми плямами
13. Пошкодження по середині насінини, не чітка біла пляма, а від цієї плями світло-коричневі розводи

Сорт Кіото

1. Насінина, яка має виражені три коричневі плями
2. Насінина з світло-коричневою-зеленуватою не суцільною, а

полосатою плямою

3. Насінина вкрита потовщеними наростами біло-сірого нальоту з чорними цятками
4. Від середини насінини “розходиться” коричнева пляма
5. Насінина щупла, “пом’ята” з темно-сірим нальотом у серединці
6. Насінина вкрита сіруватим нальотом, у середині наче лопається
7. Насінина має повністю коричневий колір
8. Насінина сильно щупла та пом’ята, має біло-сірий наліт
9. Насінина світло-коричневого кольору, а плями на ній світлі-бежеві
10. Насінина щупла, має пляму у середині, яка обведена світлим кольором

Соя Ультра

1. Насінина повністю чорна, розтріскана верхня оболонка

2. Світло-коричневі плями кутастої форми
3. Насіннина зелена із розривом у верхній оболонці, сіруватий наліт на насіннині (надалі У-3)
4. На насіннині є сліди ураження комахами. Колір сіро-коричнево-бежевий. Сірий наліт зверху
5. Розтріскування верхньої шкірки, сіро-брудні плями неначе наліт (надалі У-5)
6. Наполовину пuste насіння (одна половинка випала). Верхня оболонка розтріскана та з сіро-брудними плямами
7. Видовжена світло-коричневий колір, на верхній частині вм'ятина, як від гнилі або пошкодження комахами
8. Сірий брудний наліт по всій насіннині
9. Нерівне розтріскування верхнього краю насіннини, поруч світло-коричнева некротична пляма кутової форми
10. Відмінне забарвлення – бежево-розувате
11. Дрібні сірі цяточки
12. Сіро-коричневі плями як нарiст, також, дрібні сірі цяточки
13. Рожеве забарвлення, як пляма, покриває 70% насіннини (з такими симптомами відібрано 3 насіннини)
14. Насіннина видовженої форми, сіро-коричневого кольору, деформована
15. Насіннина зеленого кольору, але нормальної форми. Трошки розтріскана. Є пляма бежевого кольору
16. Насіннина має рожевий відтінок з однією знебарвленою плямою. Присутні маленькі сірі плями
17. Сіро-чорні маленькі плями по всій насіннині, неначе бруд, у вигляді павутинок
18. Видовжена форма, сіро-коричневий колір, деформована зі вм'ятинками. Розтріскана верхня оболонка. (У-18)
19. Пошкодження комахами. Верхня оболонка розтріскана, бура. (У-19)
20. Деформована насіннина, має тріщину вглиб та велику чорну пляму, яка розповсюджується по всій насіннині
21. На насіннині багато сіруватих плямок сіткою, неначе бруд. В одному місці шкірка тріснута та починає злущуватися
22. Дрібні темні плямки та одна розтягнута коричнева пляма, як опік
23. Видовжена та деформована, але нормального кольору
24. Зеленовата насіннина, яка розпалась навпіл
25. Дуже деформована насіннина. Напівзлущена шкірка
26. Видовжена форма насіннини жовто-зеленого кольору. Є декілька ямок. Присутня велика коричнева пляма та декілька маленьких схожих на гниль (надалі У-26.1 та У-26.2)
27. Зморшкувата насіннина з білуватим нальотом
28. Розтріскана насіннина, зморшкувата рожева пляма
29. Має розуватий колір. Є одна знебарвлена пляма та декілька маленьких сірих плямок (надалі У-29)
30. Деформована насіннина. Має тріщину вглиб велика чорна пляма, яка розповсюджується по всій насіннині (надалі У-31)
- Сорт Панорма**
1. Насіннина зморшкувата з розтріскуванням
2. Насіннина із вдавленням посередині 1 мм, присутні сірі та червоно-

коричневі плями

3. Насіннина зморщувата, сіре павутиння, посередині суха, вдавлена, сіро-коричнева пляма

4. Насіннина розтріскана з коричневою плямою

5. Насіннина з великими коричневими плямами

6. Насіннина з чорними плямами по 3-5 м, сірі плями та зморщуватість

7. На насіннині сіре павутиння та червонуваті плями

8. Насіннина частково зморщувата, уся з коричневими плямами

9. Насіннина з вдавненою сухою твердою половинкою. Чорні та коричневі плями.

Таким чином, при візуальному обстеженні відібраного насіння сортів

“Діадема Поділля”, “Титан”, “Ультра”, “Кіото” та “Панорма” відмічено, що

більшість симптомів хвороб в переважній своїй кількості насіння подібні до ушкодження фітопатогенними мікроміцетами: наявність коричневих вялоподібних плям з чіткими краями або насіннини, які вкриті білим

нальотом. Також, присутнє насіння, яке має ознаки бактеріальних хвороб –

вкрите повністю або частково сірою «павутинкою», з коричневими та сіро-зеленими плямами, деформовані насіннини. Але одних лише симптомів не достатньо щоб точно встановити фітопатогена, тому тільки ізолювання та лабораторне дослідження може підтвердити природу збудника інфекційних хвороб рослини.

Було проведене виділення ізолятів із ураженого насіння методом мацерації тканин насіння сої. Загальна кількість ізолятів що відібрано для дослідження та ідентифікації – 12.

3.2. Розсів у чисту культуру та перевірка патогенних властивостей

У ході виділення з дослідного матеріалу отримали 12 ізолятів. Так з різних сортів виділено такі насіннини під варіантом №3 сорту Діадема

Поділля було отримано на чашці Петрі колонію (надалі Д1), яка схожа на

жовтопігментну фітопатогенну бактерію (рис. 3.2) роду *Curtobacterium flaccumfaciens* або *Pantoea agglomerans*.

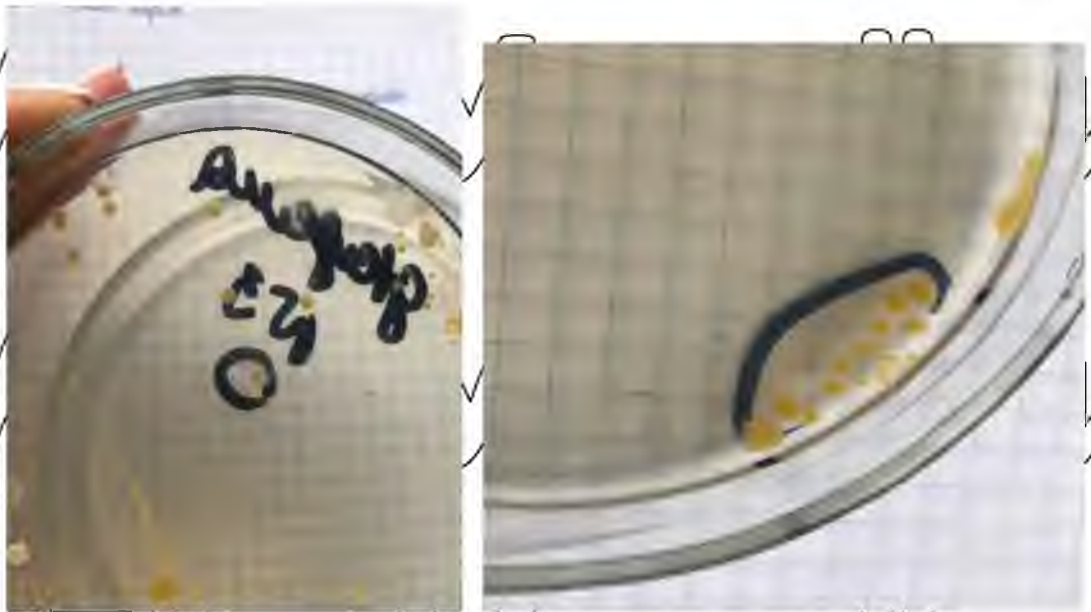


Рис. 3.2. Бактерії роду *Curtobacterium flaccumfaciens* або *Pantoea agglomerans*.

Також, з насіння під варіантом №9 сорту Титан (надалі Т-9.1 та Т-9.2) на поживному середовищі виділено бактеріальні колонії, жовтого кольору, округлі, але нерівні краї, які подібні до дисоціативних *Curtobacterium flaccumfaciens* або *Pantoea agglomerans*.

З сорту Ультра було виділено ізоляти: з насіння під варіантом №2 (надалі У-2). У-3 – світло-жовті, маслянисті з рівними краями, блискучі колонії, типові для роду *Curtobacterium*. У-5 – рожеві, маслянисті з рівними краями, блискучі колонії, подібні до колоній бактерій роду *Curtobacterium*. У-18 – жовті, ледь випуклі напівпрозорі, блискучі з гладкою поверхнею колонії, краї яких були або рівні, або злегка хвилясті. У-19 – маслянисті з рівними краями, блискучі колонії жовта та рожева (далі У-19.1 - жовта та У-19.2- рожева). У-26.1 – колонія жовтопигментних бактерій, край не рівний, злегка хвилястий, напівпрозорі, блискучі з гладкою поверхнею. У-26.2 – світло-жовті, маслянисті з рівними краями, блискучі колонії, типові для роду *Curtobacterium*. У-29 – дві жовті колонії: 1 - світло-жовті, маслянисті з рівними краями, блискучі колонії, типові для роду *Curtobacterium*, 2 (У-29.1) – жовті колонії, гляцеві, не слизові, плоскі. У-31 – колонії схожі на *Curtobacterium*, але не слизові, жовті з білуватого облямівкою

Визначення фітопатогенних властивостей досліджуваних
новоізольованих штамів з сої

Таблиця 3.1

Номер ізоляту	Оцінка зараження (0-4)	
	Стебло	Листок
Контроль (вода)	0	0
Д-1	2	2 00
Т-9.1	3	2
Т-9.2	1	3
У-2	2	3
У-3	2	2
У-5	3	4
У-18	2	1
У-19.1	2	3 00
У-19.2	2	3
У-26.1	2	3-4
У-26.2	1-2	2-3
У-29	2	3

Примітка: оцінювання агресивності ізолятів по 5-ти бальній шкалі, де 0

– відсутність агресивності; 1-2 – слабо агресивні; 2-3 – середньо агресивні; 3-4 – високо агресивні.

Отже, найбільший бал спостерігався на листку ізоляту У-26.1 та У-5.

Середньо агресивні на стеблах та листках виявилися: Д-1; Т-9.1; Т-9.2 (тільки

на листку); У-2; У-3; У-19.1; У-19.2 та У-29. На всіх інших ізолятах

проявилась слабка агресивність.

3.3. Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості

Встановлення патогенних ознак при дослідженні фітопатогенних мікроорганізмів є пріоритетним, оскільки морфолого-культуральні властивості фітопатогенних та сапрофітних бактерій часто збігаються, тому їх складно розрізнити за цими показниками.

Провівши мікроскопіювання отриманих ізолятів з ураженого насіння сої. Були отримані з насіння сорту Ультра-3 варіантів грам-позитивні палички подібні до бактеріальних клітин *Curtobacterium* (рис.3.3)

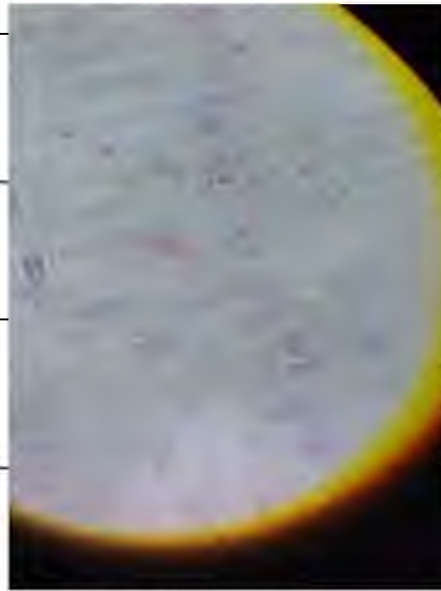


Рис. 33. Бактерії роду *Curtobacterium*

Провівши ідентифікацію збудників хвороб сої за морфолого-

культуральними ознаками (табл. 3.2) можна побачити що колір колоній у ізоляту Д-1 молочно-білий. Жовтуватий колір мають Т-9.1 та Т-9.1 жовтий - У-5, У-18; У-26.1 та У-29, а світло-жовтого кольору - У-19.1 та У-26.2

Рожеві колонії вирости з ізолятів У-5 та У-19.2. Рухливість клітин

проявилась у всіх ізолятів. Під час проведення методики фарбування за

Грамом проявилися як "+" так і "-". Грамнегативних ізолятів виявилось 6.

Грампозитивних також 6.

Таблиця 3.2

Ідентифікація збудників хвороб сої за морфолого-культуральними ознаками

Культурально-морфологічні ознаки	Дослідні ізоляти											
	Д-1	T-9.1	T-9.2	У-2	У-3	У-5	У-18	У-19.1	У-19.2	У-26.1	У-26.2	У-29
Колір колоній	Моло-біла	Жовтувата	Жовтувата	Сіро-біла	Жовта	Рожева	Жовта	Світло-жовта	Рожева	Жовта	Світло-жовта	Жовта
Рухливість клітин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Фарбування за Грамом	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+

Таблиця 3.3

Фізіолого-біохімічні властивості дослідних ізолятів

Фізіологічно-біохімічні тести	Дослідні ізоляти											
	Д-1	Т-9.1	Т-9.2	У-2	У-3	У-5	У-18	У-19.1	У-19.2	У-26.1	У-26.2	У-29
Оксидаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Глюкоза	-	+К	+К	+К	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Галактоза (анейробно)	-	+К	-	-	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Сорбітол	-	+К	-	-	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Дольцитол	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Рамноза	-	+К	-	-	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Галактоза	-	-	+К	+К	-	-	-	-	-	-	-	-
Маноза	-	+К	+К	+К	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Саліцин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ксилоза	-	+К	+К	+К	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Сахароза	-	+К	+К	+К	-	-	+К	-	-	+К	-	-
Лактоза	-	-	+К	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Мальтоза	-	+К	+К	-	-	-	+К	-	-	+К	-	-

Примітка: “-” - відсутність ознаки, “+” - наявність ознаки, “+к” - утворення кислоти

НУБІП України

Таблиця 3.4

Фізіолого-біохімічні властивості колекційних штамів фітопатогенних представників

Фізіологічно-біохімічні тести	Штами			
	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	<i>Curtobacterium</i> <i>flaccumfaciens</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>
Глюкоза анаеробно	-	-	+К	-
Глюкоза	+К	-	+К	-
Арабіноза	+К	-	-	-
Рафіноза	+К	-	-	-
Фруктоза	+К	-	+К	-
Лактоза	-	-	+К	-
Сахароза	+К	-	+К	-
Маніт	+К	-	+К	-
Галактоза	+К	-	+К	-
Ксилоза	+К	-	+К	+К
Дульцит	-	-	-	-
Мальтоза	-	-	-	-
Сорбіт	-	-	-	-

Примітка: “-” - відсутність ознаки; “+” - наявність ознаки; “+К” - утворення кислоти.

Отже, отримавши результати по фізіолого-біохімічним властивостям дослідних ізолятів (табл. 3.3), можна побачити, що ізоляти під назвою Т-9.1; Т-9.2; У-18 та У-26.1 утворили кислоту. Дослідні ізоляти Д-1; У-3; У-5; У-19.1; У-19.2; У-26.2 та У-29 не здатні використовувати ряд цукрі, спиртів та органічний кислот, а це свідчить про спорідненість даних збудників з представниками виду *Curtobacterium flaccumfaciens*. Також, тести на оксидазу та пероксидазу показали негативний результат у всіх дослідних ізолятів.

Також, перевіривши фізіолого-біохімічні властивості колекційних штамів (табл. 3.4), можна зробити висновки: за культурально-морфологічними та фізіолого-біохімічними властивостями штами Т-9.1, У-18, У-26.1 можна віднести до *Pantoea agglomerans*, У-2 - *P. savastanoi* pv. *glycinea*, Т-9.2 - *X. axonopodis* pv. *glycines*, Д-1, У-3, У-5, У-19.2, У-19.1, У-26.2 та У-29 до *C. flaccumfaciens*. Як відомо з літератури основне забарвлення колоній *C. flaccumfaciens*рв. *flaccumfaciens* світло-жовте, але зустрічаються і біло, рожево та помаранчево пігментовані колонії. Раніше в Україні [10] виявлялись в основному жовтопігментні *Curtobacterium*, в ході нашого ж дослідження вперше з рослинного матеріалу виділено біло та рожево пігментовані колонії цього виду (які за всіма біологічними властивостями відповідають колекційним тест-культурам *C. flaccumfaciens*рв. *flaccumfaciens*).

3.4. Фітопатологічний аналіз зразків насіння сої при пророщуванні його в умовах вологої камери.

Для перевірки та підтвердження симптоматики ураження насіння сої різними фітопатогенними мікроорганізмами були проведені досліди по пророщуванню насіння сої у порцелянових кюветах (растильнях) в умовах вологої камери, а також був використаний рулонний метод. Результат цих досліджень занесені до таблиці № 3.5.

3.4.1. Метод вологої камери

Для досліджу відбирали по 100 насінин на варіант сорт ультра. Середня маса 100 насінин становила 15,7 гр. Контролем до досліду слугувало не оброблене насіння. Обробка препаратами тривала три дні, на 4-й день насіння із обробкою та контрольне розкладали у вологій камері.

Результати аналізу

Таблиця 3.5

Показники	Насіння							
	Не оброблене				Оброблене			
	5 день		8 день		5 день		8 день	
	шт	%	шт./мм	%	шт	%	шт./мм	%
Схожість	87	87	87	87	81	81	82	82
Нормальні проростки	-	-	44	50,5	-	-	46	56,1
Аномальні проростки	-	-	43	49,5	-	-	36	43,9
Не проросле насіння	13	13	13	13	19	19	18	18
Насіння із ураженнями	51	58,6	76	87,3	43	53	65	79
Симптоми ураження мікроміцетами (грибами)	17	33,3	27	35,5	14	32,5	23	35,3
Симптоми бактеріального ураження	10	19,6	16	21,1	15	34,8	24	37
Зміщана інфекція	13	25,5	19	25	6	14	8	12,3
Симптоми вірусного чи не типового бактеріального ураження	11	21,6	14	18,4	8	18,7	10	15,4

Отже, загальна зараженість насіння фітопатогенами становить 87,3%. За обробки сумішшю препаратів уражених рослин становив 79%. Також кількість нормальних проростків на 5,6% більша, ніж у контролі.

3.4.2. Рудонний метод

Для визначення морфометричних показників проростків сої за обробки препаратами, як другий етап дослідження проводився дослід “Рудонним методом”. Для досліду відбирали по 100 насінин на варіант. Середня маса 100 насінин становила 67,33 гр. Контролем до досліду слугувало не оброблене насіння 100 штук – 75,72 грами.

Результати аналізу

Таблиця 3.6.

Показники	Насіння							
	Не оброблене				Оброблене			
	5 день		8 день		5 день		8 день	
	шт	%	Шт./мм	%	шт	%	Шт./мм	%
Схожість	81	81	82	82	95	95	95	95
Нормальні проростки	39	48,1	48	58,5	50	52,6	67	70,5
Аномальні проростки	35	43,2	30	36,5	41	43,1	28	29,4
Не проросле насіння	19	23,4	18	21,9	5	5,2	5	5,2
Насіння із ураженнями	80	98,7	80	97,5	65	68,4	90	94,7
Симптоми ураження мікроміцетами (грибами)	42	51,8	49	59,7	33	34,7	60	63,1
Симптоми бактеріального ураження	13	16,0	13	15,8	23	24,2	16	16,8
Змішана інфекція	14	17,2	11	13,4	6	6,3	10	10,5
Симптоми вірусного чи не типового бактеріального ураження	11	13,5	7	8,5	3	3,1	4	4,2
Середня довжина коріння	-	-	10,3 мм	-	-	-	9,6 мм	-
Середня довжина стебла	-	-	9,1мм	-	-	-	8,5 мм	-
Маса 100 проростків	-	-	67,33 гр	-	-	-	75,72 гр	-

Отже, морфометричні показники проростків сої у рулонах: середня довжина корінців не обробленого насіння становить 10,3 мм, стебла – 9,6 мм. Середня довжина коріння насіння, яке було попередньо оброблено сумішшю препаратів №3 (№3 - 2.4 л ОМД + 150 мл Комфорт + 500 мл Мікро), становить 9,6 мм, а стебел – 8,5 мм. Але при тому, що коріння та стебла не обробленого насіння по довжині є кращими показниками, але оброблене насіння має меншу кількість уражень хворобами. Маса 100 проростків необробленого насіння – 75,72 грамів, Оброблене насіння – 67,33 грам.

3.5. Схема у теплиці

Проведено дослідження по визначенню активності проти фітопатогенних бактерій (на прикладі представників трьох колекційних найбільш поширених збудників бактеріозів сої) комплексу мікроелементних препаратів лінії «Добродій» в тепличних умовах за такою схемою рис 2.5.

Дослідження були розпочаті з обробки насіння з послідуочною обробкою рослин по вегетації у двох фазах розвитку сої (табл.3.7). Усі етапи обробки супроводжувались контролями. Спостереження за розвитком ураження вели протягом 3-4х тижнів, що дозволило нам спостерігати як динаміку поширення ураження так і його затримки, поступового або стрімкого зниження після спалаху симптому бактеріозу. А також впевнитися у відсутності реакції рослини на інокуляцію патогеном у ряді варіантів досліду. Слід зазначити, що позитивна або менш позитивна реакція рослини була в цілому однакова на зараження патогенами, які відносяться до двох різних систематичних груп роду *Pseudomonas* (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* шт. 9190) та *Xanthomonas* (*Xanthomona saxonopodis* pv. *glycines* шт. 9192, *Xanthomonas fuscans* sp. *fuscans* шт. 9283).

Визначення чутливості сої (сорт Ультра) до фітопатогенних бактерій за умови обробки її інноваційним мікроелементним препаратом

Таблиця 3.7

Штам	Варіанти обробки							
	Не оброблене насіння				Оброблене насіння			
	обробка по вегетації, ряд № 1		2 ряд		обробка по вегетації, ряд № 3		4 ряд	
	Лист	Стебло	Лист	Стебло	Лист	Стебло	Лист	Стебло
Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0
9190	1	2(3)	2-3	3	2	2	2	1
9192	3	3	3	3	2	1	2-3	2
9283	2	2	2	2	2	1	2	0

Штам	Варіанти обробки							
	Не оброблене насіння				Оброблене насіння			
	Перша обробка по вегетації та повторна обробка у фазу бутонізації та квітнення, ряд № 1		2 ряд		Перша обробка по вегетації та повторна обробка у фазу бутонізації та квітнення, ряд № 3		4 ряд	
	Лист	Стебло	Лист	Стебло	Лист	Стебло	Лист	Стебло
Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0
9190	1	1	3	2	0	0	2	3
9192	2	2-3	3	3	0	0	2	2
9283	1	1	2-3	3	0	0	2-3	3

Примітка: 0 – здорова рослина; 1 – прояв симптомів незначний; 2 – прояв симптомів середній; 3 – сильно уражена рослина.

Така реакція на бактеріальні збудники є певним підтвердженням наших результатів досліджень в умовах тепличних стаціонарів.

Отже отримані результати свідчать перш за все, що найкращий варіант досліду обробка насіння сої експериментальною сумішшю препаратів лінії «Добродій» (2.4 л ОМД + 150 мл Добродій Комфорт + 500 мл Добродій Мікро), з послідуною обробкою по вегетації рослин у фазах першого

справжнього листка і квітнення та зав'язі. Зменшення ураження на 1 або 2 бали спостерігається також і при обробці насіння і початку вегетації, що позитивно але не гарантує подальшу стійкість рослини. Варіант обробки тільки насіння (табл. 3.7) демонструє його недостатність. Адже як в тепличних, так і в польових умовах на рослину і застосовані заходи її захисту впливає велика кількість біотичних і абіотичних чинників навколишнього середовища.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

Розділ 4. Охорона праці

Охорона праці – це система правових, соціально-економічних, організаційно-технічних, санітарно-гігієнічних та лікувально-профілактичних заходів та засобів, спрямованих на збереження життя, здоров'я та працездатності людини у процесі трудової діяльності. (Закон України “Про охорону праці” від 14.10.1992 №2694-ІІ) [71].

Існують основні законодавчі акти, пов'язані з охороною праці в Україні.

- Закон про охорону праці: Цей закон встановлює загальні принципи та норми, що стосуються охорони праці в Україні. Він визначає права та обов'язки роботодавців та працівників у сфері охорони праці та встановлює вимоги до створення безпечних умов праці.

- Кодекс законів про працю в Україні: Цей кодекс містить норми, що регулюють трудові відносини в Україні, включаючи важливі аспекти охорони праці, такі як робочий час, відпустки, оплата праці, колективні договори і т. д.

- Закон України “Про загальнообов'язкове державне соціальне страхування від нещасного випадку на виробництві та професійного захворювання, які спричинили втрату працездатності”: Цей закон встановлює правила страхування працівників від нещасних випадків на виробництві та професійних захворювань, а також визначає порядок виплати компенсацій та пенсій у разі втрати працездатності через такі події.

Забезпечення безпеки при роботі з пестицидами - це спільна відповідальність виробників, споживачів, робітників та регулюючих органів. Лише у разі суворого дотримання вищезазначених інструкцій та нормативів можна досягти мінімізації ризиків, пов'язаних із застосуванням пестицидів, і забезпечити безпеку для всіх.

В Україні існують різні законодавчі та нормативно-правові акти, що регулюють використання пестицидів і агрохімікатів у сільському господарстві та забезпечують безпеку праці в цій галузі.

• **Закон України “Про забезпечення санітарного і епідеміологічного благополуччя населення”**. Цей закон встановлює загальні принципи санітарно-епідеміологічної безпеки населення, включаючи контроль за використанням пестицидів та агрохімікатів.

• **Закон України “Про пестициди і агрохімікати”**. Цей закон визначає правила та вимоги до обігу пестицидів і агрохімікатів на українському ринку, а також встановлює вимоги щодо їх використання та безпеки.

• **Закон України “Про захист рослин”**. Цей закон визначає основні принципи та вимоги до захисту рослин від шкідників і хвороб, включаючи застосування пестицидів.

• Кабінет Міністрів України видавав ряд постанов, які містять норми та правила щодо використання пестицидів та агрохімікатів, а також норми безпеки праці при їх застосуванні.

Ці законодавчі акти і нормативно-правові документи спрямовані на забезпечення безпеки праці при роботі з пестицидами та агрохімікатами, а також на контроль якості та обіг у цих речовин на території України [66].

4.1. Техніка безпеки у лабораторії.

Лабораторія - це спеціально обладнане приміщення або місце, де здійснюються наукові, дослідницькі, аналітичні, експериментальні або вимірювальні роботи. Їх основна мета - дослідження, аналіз, вимірювання, тестування та експерименти з метою розвитку нових знань або розв'язання

конкретних завдань у науці, технологіях, медицині, промисловості, екології та інших галузях. У лабораторіях часто використовуються спеціалізовані прилади, обладнання та хімічні речовини для проведення і вимірювань. [73]

Бактеріологічна лабораторія - це спеціалізоване приміщення, де проводиться дослідження бактерій, мікроорганізмів та інших мікробіологічних об'єктів. Робота в бактеріологічній лабораторії вимагає підтримки високих стандартів безпеки та гігієни, після чого може виникнути ризик інфікування персоналу та поширення інфекційних агентів [74].

Для облаштування бактеріологічної лабораторії потрібно:

- Кімнати-бокси: Ці кімнати повинні бути розділені на окремі облаштовані робочі зони з передбосниками. Це допомагає уникнути перенесення фітопатогенів між різними пробами та дослідженнями.

- Ультрафіолетові промені (УФП) це настільні бокси з індивідуальною системою знезараження. УФП допомагають знищувати бактерії та інші мікроорганізми на робочій поверхні та інструментах.

- Стіни та підлога: Важливо, щоб вони були непроникними для вологи та легко мились. Це дозволяє легко дезінфікувати приміщення та забезпечити безпечну робочу обстановку.

- Вентиляція: Централізоване опалення та витяжна система вентиляції допомагають забезпечити стабільні температурні та вентиляційні умови, що важливо для лабораторної роботи.

- Умивальники та засоби для дезінфекції: Умивальники повинні бути обладнані змішувачами холодної і гарячої води для забезпечення належної гігієни. Наявність бутелів з дезрозчином.

Ці заходи забезпечують необхідні умови для безпечної та ефективною бактеріологічної роботи, зменшуючи ризики забруднення та зберігаючи якість та точність досліджень. [82].

Загальні правила та вимоги для бактеріологічної лабораторії

- Захист від інфекції. Персонал повинен бути вакцинованим проти найпоширеніших інфекційних хвороб.

- В лабораторії слід підтримувати жорсткі правила асептики та антисептики для запобігання інфекціям.

- Персональний захист. Усі працівники повинні використовувати відповідний захисний одяг, такий як медичні костюми, рукавички, маски, захисні окуляри та фартухи.

- Безпека лабораторних процедур. Проведення досліджень має проходити в спеціальних біологічних склянках або ізоляторах.

•Робота з виявлено небезпечними матеріалами (наприклад, патогенними бактеріями) повинна проводитися в кабінетах з класами безпеки, які відповідають рівню безпеки.

•Правила використання відходів. Усі біологічні відходи повинні оброблятися та утилізуватися відповідно до вимог безпеки та екології.

•Контроль доступу. Обмежений доступ до лабораторії та контроль над тим, хто має доступ, для запобігання несанкціонованому входу.

•Освітлення та вентиляція. Відповідне освітлення і повітряні системи повинні забезпечити комфортні та безпечні умови для роботи.

•Регулярна дезінфекція. Лабораторні приміщення повинні регулярно піддаватися дезінфекції для забезпечення чистоти та зниження ризику інфекцій.

•Освіта та навчання. Усі працівники лабораторії повинні отримувати відповідне навчання та інструкції з правил безпеки та протидії інфекціям [74].

Загальні правила та вимоги для лаборантів лабораторії мають на меті забезпечення безпеки та здоров'я працівника під час роботи в лабораторії:

•Особистий захист. Під час роботи завжди необхідно використовувати засоби індивідуального захисту, такими як лабораторний фартук, рукавички, захисні окуляри або маска, залежно від характеру досліджень.

•Гігієна рук. Завжди потрібно руки перед початком роботи в лабораторії та після завершення. Використовувати антисептики для рук, коли це необхідно.

•Безпека лабораторних приладів. Обов'язково необхідно перевіряти стан лабораторного обладнання перед використанням і відразу повідомляти про будь-які пошкодження чи несправності. Вимикайте та відключайте прилади після завершення роботи.

•Робоче місце в лабораторії необхідно тримати чистим і організованим. Не залишати робочі поверхні забрудненими.

• Розуміння реагентів та матеріалів. Потрібно докладно ознайомитися з властивостями та характеристиками реагентів і матеріалів, які використовуються.

НУБІП УКРАЇНИ

Слід правильно обробляти відходи відповідно до інструкцій та правил

обробки в лабораторії [74].

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

Висновки

НУБІП України

Отже, під час виконання та написання магістерської дипломної роботи я ознайомила та вивчила прояви бактеріальних хвороб на насінні та рослинах сої.

НУБІП України

Змогла оволодіти методиками виділення та ідентифікації збудників бактеріозів сої, такими як: виділення збудників з рослинного матеріалу; перевірка патогенних властивостей ізолятів бактерій; фарбування клітин бактерій за Грамом; визначення рухливості та оксидазної активності

НУБІП України

бактерій. А також опанувала метод вологої камери та рулонний метод. Змогла вивчити методику штучного зараження та підтвердження особливостей виділених ізолятів.

НУБІП України

Отримані результати фітопатологічного дослідження насіння сої та вивчені джерела літератури підтверджують можливість зараження та поширення бактеріальних патогенів сої найбільш за все через насіння. Отже, обеззараження насіння є, безперечно, складовою обмеження бактеріозів.

НУБІП України

Однак, тільки обробка насіння не може попередити подальше ураження рослин при вегетації. Потрібні і інші захисні заходи впродовж вегетації рослин. Необхідне застосування препаратів, які б не порушували фізіологічний гомеостаз рослини, підтримували б її імунітет, активно діяли б проти фітопатогенних мікроорганізмів, водночас мали б як складову добриво

НУБІП України

і не викликали б пестицидних проблем. Такими препаратами можуть бути сучасні мікроелементні системи, які отримані методом електро імпульсної абляції. Їх можливе застосування обумовлюється ще й тим, що фітопатогенні бактерії не чутливі до пестицидів хімічного походження.

НУБІП України

НУБІП України

Список використаної літератури

1. Алексеева К, Борисова И. Применение Фитолавина и Фитоплазмина против бактериальных болезней овощных культур. Вестниковошевода. 2012; 48(2):19-21.
2. Ахмеджанов Г. Біотехнологія в сільському господарстві. Молодий вчений. 2015;17(6): 339-342.
3. Бабиц А О. Сучасне виробництво і використання сої / А. О. Бабиц. К. : Урожай, 1993. – 432 с.
4. Биков Г, Иванова Г, Борисова И. Микробиологические препараты для защиты тепличных культур от бактериальных болезней. Главный агроном. 2012;23(6): 42-43.
5. Билай ВИ, під ред. Микроорганизмы возбудители болезней растений. Київ: Наук. Думка; 1988. 550 с.
6. Буценко Д, Пирог Т. Біотехнологічні методи захисту рослин. Підручник. Київ: Ліра. 2018, с. 345.
7. Буценко ЛМ, Пасічник ЛА, Булеца НМ., Патики ВП. Вплив інсектициду Альфа супер на фітопатогенні бактерії *Pseudomonas syringae* агрофітоценозу пшениці. Вісник аграрної науки. 2017;(3): 18–22.
8. Гвоздяк Р.І., Пасічник Л.А., Яковлева Л.М., Мороз С.М., Литвинчук О.О., Житкевич Н.В., Ходос С.Ф., Буценко Л.М., Данкевич Л.А., Гриник І.В., Патики В.П. Фітопатогенні бактерії. актеріальні хвороби рослин Т.1. – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.
9. Гвоздяк РІ, Пасічник ЛА, Яковлева ЛМ, Мороз СМ, Литвинчук ОО, Житкевич НВ. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби росл. під. ред. Патики В.П. Київ: ТОВ «Науково-виробниче підприємство Інтерсервіс»; 2011. Том 1; 442с.
10. Гнатюк Т.Т. Біологічні властивості і діагностика збудників бактеріальних хвороб сої (2010-2017 рр.)

11. Григорчук Н.Ф. Использование сои в вопросе совершенствования структуры посевных площадей. Корми і кормовиробництво. 2011. Вип. 69. С. 162–166.

12. Грицай РП, Варбанець ЛД, Броварська ОС, Житкевич НВ, Олійник ТМ. Оцінка генетичної гетерогенності штамів *Ralstonia solanacearum* на основі RAPD ПДР аналізу. Мікробіологія і біотехнологія. 2011; 2: 23-33.

13. Данкевич ЛА. Фенотипові та генотипові характеристики збудника у бактеріальної коричневої плямистості люпину. Мікробіологічний журнал. 2006; 68 (6): 20 - 27

14. Діагностика фітопатогенних бактерій. Методичні рекомендації В.П. Патики, Л.А. Пасічник, Л.А. Данкевич та ін., за ред. В.П. Патики. –Київ, 2014. – 76 с.

15. Житкевич НВ, Жмурко ЛГ, Михайлов ВГ, Поліщук СВ. Реакція сортів та перспективних ліній сої на інокулювання фітопатогенними бактеріями - Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Аллелопатія; 2005 октябр 4-6; Київ. Житомир: Издательство «Державний агроекологічний університет»; 2005, с.52-54.

16. Житкевич НВ, Жмурко ЛГ. Розповсюдження бактеріальних захворювань сої у Київській області. Вісник Одеського Національного Університету (Біологія). 2005;10(7). – 200.:244 – 248.

17. Козирівська НО. Молекулярно-генетичні аспекти зовнішньої та внутрішньої колонізації рослин корисними бактеріями. Біополімери і клітина. 2001;17(1):20-29.

18. Косилович Г, Коханець О. Інтегрований захист рослин навч. посіб. Львів: Львівський національний аграрний університет. 2010

19. Курдіш ІК. Інтродукція мікроорганізмів у агроєкосистеми. Київ: Наукова Думка; 2010. 254с.

20. Допухов ЛВ, Эйдельштейн МВ. Полимеразная цепная реакция в клинической микробиологической диагностике.

Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.

2000;2(3):96-105.

21. Люта ВА, Кононов ОВ. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Київ: Здоров'я, 2006. 510 с.

22. Михайлов В.Н. Охрана труда в сельском хозяйстве. Справочник. М., Агропромиздат, 1989.

23. Національний стандарт України. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. ДСТУ 4138 – 2002. Під ред. Н. Кіндрук. – Київ: ДП УкрНДНЦ, 2003. – 173с.

24. Пасічник ЛА, Буценко ЛН, Гвоздяк РИ, Ходос СФ, Карева ІА.

Жирнокислотный состав эндоситных бактерий пшеницы.

Материалы VI Международной конференции: Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии. 2008; Минск, с.30 – 33.

25. Патица В, Пасічник Л. Фітопатогенні бактерії: фундаментальні і прикладні аспекти. Вісник Уманського національного університету садівництва. 2014; 11(2). 7-11

26. Патица В.П., Пасічник Л.А., Данкевич Л.А., Мороз С.М., Буценко Л.М., Житкевич Н.В., Гнатюк Т.Т., Захарова О.М., Савенко

О.А., Шкатула Ю.М., Кириленко Л.В., Алексеев О.О. Диагностика

фітопатогенних бактерій. Методичні рекомендації. За ред. акад. НААН В.П. Патики. – К., 2014. – 75 с.].

27. Патица ВП, Житкевич НВ, Гнатюк ТТ, Алексеев ОО. Бактериальні хвороби сої. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. Тернопіль: ТНПУ, 2012; 4 (53):9–14.

28. Пати́ка В.Н., Пасі́чник Л.А., Гвоздяк Р.І., Петри́ченко В.Ф., Кали́ниченко А.В., Бу́ценко Л.М. Фітопатогенні бактерії. Методи дослідження. за ред. В. П. Пати́ки [монографія: 3 т.]. Вінниця: ТОВ «Віндрок», 2017. Т.2:432 с

29. Пати́ка В.П., Тарарі́ко О.Г. Агроекологічний моніторинг та паспортизація сільськогосподарських земель. Київ, 2007. 136–141 с.

30. Пати́ка, В., Пати́ка, Т. Екологія *Bacillus thuringiensis*. Київ: ІПТІА. Пестициди та агрохімікати України: Практик. довід. для фахівців сільськогосподарства. Д.: АРТ-ПРЕС; 2006. 319 с.

31. Поліщук С.В. Бактеріальні хвороби сої в умовах Лісостепу України та обґрунтування заходів обмеження їх розвитку [автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук]; 2011. 22 с.

32. Рой А.А., Залоило О.В., Чернова Л.С., Курдиш І.К. Антагонистическая активность фосфат мобилизирующих бактерий к фитопатогенным бактериям. Агроэкологический журнал. 2005; 1:50-55.

33. Рослинництво: лаб.-практ. заняття: навч. посіб. для вищ. агр. закл. освіти II–IV рівнів акредитації з напрямку «Агрономія» / [Д. М.

Алі́мов, М.А., Білоно́жко, М.А., Бобро та ін.]; под ред. М. А. Бобро. – К.: Урожай, 2001. – 392 с.

34. Сакун М.М., Нагорнюк В.Ф. «Охорона праці при вирощуванні сільськогосподарських культур» – Одеса, 2009.

35. Смирнов В.В., Киприанова Е.А., Гвоздяк О.Р. Украинская коллекция микроорганизмов. Каталог культур. Ин-т микробиологии и вирусологии НАНУ Киев, 1998. 414 с.

36. Соя – стратегічна культура світового землеробства : бібліогр. покажч.

/ Полтав. держ. аграр. акад., б-ка ; [уклад. І. І. Фі́ненко ; наук. ред. Л. Г. Білявська ; відп. за вип. Л. О. Сні́тко]. – Полтава : ІДДАА, 2017. – 100 с. іл.

37. Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) / В. В. Кириченко, С. С. Рябуха, Л. Н.

Кобизьва, О. О. Посилаєва, Л. В. Чернищенко / монографія / НААН,
Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. – Х., 2016. – 400 с.

38. Соя: монографія / В. Ф. Петриченко, В. В. Лихочвар, С. В. Іванюк та ін.

– Л 65 Вінниця: “Діло”, 2016. – 400 с.

39. Фитонциди. Бактериальные болезни растений, Ужгород, 1985, ч. 2: С. 9.

40. ФИТОПАТОГЕННІ БАКТЕРІЇ. БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ

РОСЛИН: Монографія. Том. 2./ В. П. Патики, Л. А. Пасічник,

Р. І. Гвоздяк, В. Ф. Петриченко, О. В. Корнійчук, А. В. Калініченко,

Л. М. Буценко, Н. В. Житкевич, Л. А. Данкевич, О. А. Литвинчук,

Л. В. Кириленко, С. М. Мороз, Г. Б. Гуляєва, Т. Т. Гнатюк, М. А. Хархота,

О. В. Томашук; За ред. В. П. Патики – Вінниця: ТОВ “Віндрук”, 2017. –

432 с.

41. ФИТОПАТОГЕННІ БАКТЕРІЇ. БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ

РОСЛИН: Монографія/ Р. І. Гвоздяк, Л. А. Пасічник, Л. М. Яковлева,

С. М. Мороз, О. О. Литвинчук, Н. В. Житкевич, О. Ф. Ходос,

Л. М. Буценко, Л. А. Данкевич, І. В. Гриниш, В. П. Патики; За ред.

В. П. Патики – К.: ТОВ “НВП “Інтерсервіс”, 2011. – 444 с.

42. Фурсова Г. К. Рослинництво: лабораторно-практичні заняття

(Зернові культури) : навчальний посібник / Г. К. Фурсова, Д. І.

Фурсов, В. В. Сергєєв ; под ред. Г. К. Фурсової. – Харків : ТО

Ексклюзив, 2004. – 380 с.

43. Хохряков МН, Доброзракова КМ, Степанов КМ, Лєтова МФ.

Определитель болезней растений. Ленинград: Колос; 1966. 592 с.

44. Anees M, Tronsmo A, Steinberg C.

Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizocto*

niasolanii. J. Fungal Biology. 2010; 111(9):691-701.

45. Beji AM, Gavini D, Izard D, Leclerc H. Subjective synonymy of

Erwinia herbicola, *milletiae* and *Enterobacter agglomerans* and

redification of the taxon by genotypic and phenotypic data. Int. J. Syst. Bacteriol. 1988;38:77 – 88.

46. Bergey's manual of systematic bacteriology. – 9th ed. – Baltimore: Wil and Wilk., 1984;(1). 964 p

47. Bressan W, Bressan W, Figueiredo J., Fontes E. Chitinolytic *Bacillus* spp. isolates antagonistic to *Fusarium moniliforme* in maize. J. Plant Pathol. 2010; 92(2):343–347.

48. Cook A.A., Hardaningsih Sri, Yusmani L. An inoculation campestris sp. glycines // Plant Dis. – 1990. – 74, N 4. – C. 309 – 310.

49. Delétoile A, Dominique D, Courant S, Passet V, Audo J, Grimont P, Arlet G, Brisse S. Phylogeny and Identification of *Pantoea* Species and typing of *Pantoea agglomerans* strains by multilocus. Journ. Clin. Microbiol. 2009;47(2):300 – 310.

50. Dijkshoorn I, Towner KJ, Struelens M. New approaches for the generation and analysis of microbial typing data. Amsterdam: ELSAMIER, 2004. – 371 p. ;

51. Dunleavy JM. Spread of bacterial tan spot of soybean in field. Plant Disease. 1985;69(12):1036 – 1039.]

52. Dunleavy JM. Spread of bacterial tan spot of soybean in field. Plant Disease. 1985;69(12):1036 – 1039

53. Fulbright DW, Louws FJ, Stephens CT, deBruijn F. Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathogens and strains generated with repetitive sequences and PCR. Appl. Environ. Microbiol. 1994, 60(7):2286-2295.

54. Hedges FA. A bacterial wilt of the bean caused by *Bacterium flaccumfaciens* nov. sp. Science. 1922;55:433.]

55. Hirano SS, Clayton MK, Upper CD. Estimation of and temporal changes in means and bean leaflets. Phytopathology. 1994, 84(9): 934 – 940.

56. Hwang I, Lim S, Shaw P. Use of detached soybean cotyledons for testing pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *Glycines*. Plant Disease. 1992.

57. Jin Koh, Nou III Sup. DNA markers for identification of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Molecules and Cells. 2002; 13(2):309–314.

58. Kelman A, Person ZH. Strainsof *R. Solanacearum* differinsipathognitytobacco. Phytopath. 1961;51(3):158–161

59. Klotz MG, Novacky A. The critical role of the hydroxyl radical in the bacteria-induced hypersensitive reaction and pathogenesis. Plant Pathogenic Bacteria: Proc. 7th Int. Conf. 1990. Budapest, 1989; p.105-110.

60. Leben G., Rush V., Schmitthener A.F.
The colonization of soybean buds by *Pseudomonas glycinea* and other bacteria // *Phytopathology*. 1968. — 58, N 12. — P. 1677.

61. Patyka V, Pasichnyk L. Phytopathogenic bacteria in the system of modern agriculture. *Мікробіологічний журнал*. 2014;76(4):21-26.

62. Patyka W, Gnatiuk T, Zhytkevich N, Kalilnichenko A, Fraczek K.
Occurrence of the pathogenic bacteria *Pantoea agglomerans* in soybean cultivation. *Progress in Plant Protection*. 2015; 55(3): 280–285.

63. Бактеріальні хвороби сої. Доступно на: <https://agro-business.com.ua/agro/ahronomiia-sohodni/item/10320-bakterialni-khvoroby-soi.html>

64. Бактеріальні хвороби сої. Доступно на: <https://agroel.ta.info/bakterialni-hvoroby-soji>

65. Ботанічна характеристика сої. Доступно на: <https://agrosience.com.ua/plant/botanichna-kharakterystyka-soji#:~:text=%D0%A1%D0%BE%D1%8F%20%2D%20%D1%81%D0%B0%D0%BC%D0%BE%D0%B7%D0%B0%D0%BF%DC%B8%D0%BB%D1%8C%BD%D0%B0%20%D1%80%D0%BE%D1%81%D0>

<http://www.oprb.com.ua/news/vymogy-bezpek-y-pid-chas-roboty-z-pestycydamy-v-agrokompleksi>

66. Вимоги безпеки під час роботи з пестицидами в агрокомплексі.

Охорона праці і пожежна безпека: веб-сайт. URL:

<http://oprb.com.ua/news/vymogy-bezpek-y-pid-chas-roboty-z-pestycydamy-v-agrokompleksi>

67. Вірусні, грибкові та бактеріальні хвороби насіння сої. Як аналізувати насіння сої? Доступно на:

<https://superagronom.com/blog/774-virusni-gribkovi-ta-bakterialni-hvorobi-nasinnya-soyi-yak-analizuvati-nasinnya-soyi>

68. Доступно на: <https://agrarij-razom.com.ua/culture-variety/es-mentor>

69. Доступно на: <https://agrarij-razom.com.ua/culture-variety/titan-3>

70. За вирощування сої в монокультурі бобби мають більший розмір і масу, – фермер. Доступно на:

<https://agrotimes.ua/agronomiya/za-vyroshhuvannya-soyi-v-monokulturi-boby-mayut-bilshyj-rozmir-i-masu-fermer/>

71. Закон «Про охорону праці». Профспілка працівників освіти і науки

України : веб-сайт. URL: <https://pon.org.ua/ohorona-praci/72-zakon-pro-okhoronu-praci.html>

72. Інтегрований захист сої від хвороб. Доступно на:

<https://www.agronom.com.ua/integrovani-zahyst-soyi-vid-hvorob/>

73. Лабораторія. Доступно на:

<https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B0%D0%B1%D0%BE%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%96%D1%8F>

74. Медична лабораторія. Доступно на: https://medical-enc.com.ua/bacteriological_laboratory.htm#~:text=%D0%91%D0%B0

[%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D1%96%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%B0%D0%B](#)
[B%D0%](#)

75. Найнебезпечніші хвороби сої у 2023 році. Доступно на:

<https://kurkul.com/spetsproekty/1466-navnebezpechnishi-hvorobi-soyi-u-2023-rotsi>

76. Найнебезпечніші хвороби сої. Доступно на:

<https://propozitsiya.com/ua/navnebezpechnishi-hvorobi-soyi>

77. Насіння сої Ультра. Доступно на: https://agro-

kras.com.ua/index.php?route=product/product&product_id=2288#:~:text=
=%D0%A1%D0%BE%D1%80%D1%82%D1%81%D0%BE%D0%

78. Основні хвороби сої на початкових етапах органогенезу в Україні.

Доступно на: <https://agrotimes.ua/article/osnovni-hvoroby-soyi-na-pochatkovyh-etapah-organogenezu-v-ukravini/>

79. Охорона праці під час роботи з пестицидами. *Пропозиція*; веб-сайт.

URL: <https://propozitsiya.com/ua/ohorona-praci-pid-chas-roboti-z-pesticidami>

80. Охорона праці під час роботи з пестицидами. *Офіційний веб-сайт*

Олександрівської районної державної адміністрації; веб-сайт URL:
[http://olex.kr-admin.gov.ua/index.php?option=com_k2&view=item&id=10047:охорон
а-праці-під-час-роботи-з-пестицидами&Itemid=299](http://olex.kr-admin.gov.ua/index.php?option=com_k2&view=item&id=10047:охорона-праці-під-час-роботи-з-пестицидами&Itemid=299)

81. Підбито підсумки збору соняшника та сої у сезоні 2022. Доступно

на: <https://kurkul.com/news/32019-pidbito-pidsumki-zboru-sonyashnika-ta-soyi-u-sezoni-2022>

82. Про затвердження Правил охорони праці під час роботи в хімічних

лабораторіях. Доступно на:

<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1648-12#Text>

83. Соевий пояс і розміщення виробництва сортів сої в Україні.

©Пропозиція - Головний журнал з питань агробізнесу. Доступно на:

<https://propozitsiya.com.ua/soeviy-poyas-i-rozmishchennya-virobnytva-sortiv-sovi-v-ukravini>

84. Сорт Горлиця. Доступно на: <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety/gorlycy>

85. Сорт ДІАДЕМА ПОДІЛЛЯ. Доступно на <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety/diadema-podillya>

86. Сорт Кіото. Доступно на: <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety/kioto-0>

87. Сорт ПАНОРМА. Доступно на: <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety/panorama>

88. Сорт Титан. Доступно на: <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety/diadema-podillya>

89. Соя звичайна. Доступно на:

https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BE%D1%8F_%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%87%D0%B0%D0%B9%D0%BD%D0%B0

90. СУЧАСНЕ ВИРОБНИЦТВО СОЇ ЯК ЕЛЕМЕНТ РОЗВ'ЯЗАННЯ ПРОБЛЕМИ ХАРЧОВОГО БІЛКА: СВІТОВІ ТРЕНДИ ТА ВІПЧИЗНЯНІ РЕАЛІЇ. Доступно на: http://www.frv-agro.ksauniv.ks.ua/archives/116_2020/part_1/9.pdf

91. Технології вирощування сої. Доступно на:

<https://agroexp.com.ua/uk/tehnologiya-vviraschivaniva-soi-pod-raundap-ukraina#:~:text=%D0%92%20%D0%A3%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D1%96%20%D0%BF%D1%80%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B8>

92. Хвороби вегетативної маєнсої а засоби їх контролю. Доступно на:

<https://www.syngenta.ua/korvsna-agronomiczna>

informaciya/maysternya-agrariya/hvoroby-vegetativnovi-masy-sovi-ta-zasoby-yih#:~:text=%D0%86%D0%B7%20%D0%B3

93. Шкідники сої: захист посівів від ворожих комах. Доступно на:

<https://superagronom.com/articles/254-shkidniki-soyi-zahist-posiviv-vid-voroiih-komah>

94. Як безпечно без шкоди для здоров'я виконувати роботи, пов'язані із застосуванням пестицидів та агрохімікатів. Управління Держпраці у Тернопільській області : веб-сайт. URL:

<https://te.dsp.gov.ua/yak-bezpechno-bez-shkody-dlya-zdorov-ya-vikonuvaty-roboty-pov-vazani-iz-zastosuvannjam-pestytsidiv-ta-agrokhimikativ/>

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України