

УДК 631.8:632.3:635.64

КОЛОМІСЦЬ Ю.В., канд. біол. наук

ТАРГОНЯ В.С., д-р с.-г. наук

ГРИГОРЮК І.П., д-р біол. наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

СИСТЕМНИЙ ПІДХІД ДО РОЗРОБЛЕННЯ КОМПЛЕКСНИХ ЗАХОДІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН ТОМАТІВ НА ОСНОВІ ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ АЛЬТЕРНАТИВ

Запропоновано принципову схему системного підходу до комплексного використання біотехнологічних альтернатив та алгоритм розроблення заходів захисту рослин для біологічного вирощування томатів. Методом клітинної селекції перевірено стійкість 16 детермінантних сортів томатів української селекції до найпоширеніших збудників *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* та *Xanthomonas vesicatoria*. Рекомендовано біопрепарати на основі бактерій родів *Azotobacter*, *Bacillus*, *Streptomyces* застосовувати для обмеження розвитку збудників бактеріального раку, чорної бактеріальної плямистості та крапчастості рослин томатів.

Ключові слова: захист рослин, біотехнологічні процеси, алгоритм розроблення.

Постановка проблеми. Томат – одна з найпопулярніших овочевих культур в Україні, яку вирощують у відкритому і закритому ґрунті. Головною причиною зниження врожаю і погіршення якості плодів є ураження томата хворобами, які зумовлюються різними видами патогенних мікроорганізмів (грибами, бактеріями) і здатні поширюватися від однієї рослини до іншої, спричинюючи протягом короткого часу масове ураження. Ідентифікація збудників хвороб і прийняття рішень щодо контролю за ними є досить складним завданням. Проте, знаючи життєвий цикл збудника, симптоми хвороб, а також кліматичні умови, можна оперативно вживати профілактичних і захисних заходів для зниження ризику виникнення багатьох захворювань [1]. Особливу небезпеку для рослин томата становлять бактеріальні захворювання, які мають повсюдне поширення і розвиваються в умовах відкритого і закритого ґрунту. Джерело інфекції – заражені залишки рослин і насіння. Бактерії проникають в листки через продири, а в плоди – через ранки від механічних пошкоджень [2, 3]. За умов ураження рослин фітопатогенами, особливо на ранніх етапах онтогенезу, спостерігається порушення обміну речовин, блокування процесів біосинтезу цукрів і зміни хімічного складу речовин плодів томатів. За таких умов відбуваються втрати врожаю до 40 %, зниження продуктивності й зменшення харчової цінності плодів томатів [4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На сьогодні для захисту рослин від шкочочинних організмів використовують пестициди іноземного виробництва. В перевиданні офіційного «Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні на 2010 рік», відсутня інформація стосовно наявності вітчизняних препаратів, які рекомендовано застосовувати для боротьби з бактеріальними ураженнями рослин томата [5]. Крім того, тривале внесення отрутохімікатів зумовлює адаптацію до них патогенів або комах, що потребує швидкої зміни препаратів, тобто додаткових затрат засобів. Нині одним з перспективних наукових напрямів вирішення проблеми зменшення енергетичних витрат і забезпечення отримання високоякісної продукції рослинництва є біологізація захисту сільськогосподарських культур від шкідників та хвороб [6]. Біопрепарати на основі живих бактеріальних культур відзначаються низькою токсичністю відносно рослин і широким спектром впливу на фітопатогени. За умов підбору культур для моно- або композиційних препаратів віддають перевагу штамам, які продукують біологічно активні речовини, проявляють фосфатазну активність, фіксують азот атмосфери, гальмують розвиток фітопатогенів і стимулюють системи життєдіяльності рослин [7]. У зв'язку з цим, застосування бактеріальних препаратів нового покоління комплексної пролонгованої дії, які поєднують властивості біодобрив, фунгіцидів та інсектицидів, дозволяє вирішувати низку проблем біологічного захисту рослин, підвищувати якість продукції (овочів, плодів) та родючість ґрунтів [8].

Мета досліджень – встановити доцільність розроблення високоефективних комплексних біотехнологічних засобів захисту рослин томатів для конкретного сільськогосподарського виробництва шляхом використання багатofакторного аналізу та відповідних алгоритмів.

Методика досліджень. Алгоритм розроблення комплексних біотехнологічних заходів захисту рослин на основі біологічних препаратів створено з використанням системних методологічних підходів академіка Л. В. Погорілого [9]. Для цього використано матеріали та вербальну інформацію фахівців-експертів ІПІ «Біотехніка» і НУБіП України. Критерієм вибору експертів слугувала наявність розробок технологій і технічних засобів біологічного захисту рослин, які реально функціонують та успішно пройшли державні випробування. Оцінювали лише вітчизняні розробки, для яких освоєно промислове виробництво. Об'єктами досліджень слугували 16 детермінантних сортів томатів української селекції, які внесено до Державного реєстру сортів рослин, що придатні для поширення в Україні на 2016 рік, і стійкі до основних грибкових захворювань, зокрема Чайка, Малиновий дзвін, Флора, Клондайк, Елеонора, Оберіг, Атласний, Зореслав, Господар, Кіммерієць, Дама, Легінь, Любимий, Талан, Фландрія та Кумач. В роботі використовували фітопатогенні бактерії *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge 1920) Vauterin et al. 1995, штам 9098 з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis et al. 1984, штами P8, P12, P73, P110, P115, CFBP 4999 і *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe 1933) Young et al. 1978, штами Darrg-4 213, Pst-2, Psr-120, PstBB-9, які отримано з Інституту пестицидів та захисту рослин, Сербія. Виділення збудника і вивчення морфологічних ознак ізолятів проводили стандартними мікробіологічними та фітопатологічними методами [10]. Системну дію біопрепаратів на бактерії досліджували методом лунок [11]. Відбір калюсних колоній з підвищеною стійкістю до збудників бактеріозів здійснювали за допомогою клітинної селекції методом змішування з агаром в триразовій повторності [12].

Основні результати дослідження. Нами запропоновано принципову схему системного підходу до комплексного використання біотехнологічних альтернатив для біологічного вирощування томатів (рис. 1). Основними факторами системи для прогнозування рівня показників якості використання біопрепаратів ми визначили ідентифікацію збудника, відбір генотипів з підвищеною стійкістю та вибір препаратів біологічного захисту рослин томата. Ідентифікація збудника базується на вивченні морфологічних та культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей збудника із застосуванням серологічних, молекулярно-біологічних методів діагностики.

Головною перевагою клітинної селекції є можливість вести цілеспрямований добір генотипів у контрольованих умовах, зокрема на селективному фоні, який створюють за участі токсичних продуктів життєдіяльності фітопатогенних бактерій. За допомогою методу клітинної селекції нами перевірено стійкість 16 детермінантних сортів томатів української селекції, які внесено до Державного реєстру сортів рослин, що придатні для поширення в Україні на 2016 рік, до найпоширеніших збудників, а саме бактеріального раку *S. michiganensis* subsp. *michiganensis*, бактеріальної крапчастості *P. syringae* pv. *tomato* та чорної бактеріальної плямистості *X. vesicatoria*. Визначено максимально критичні концентрації фітотоксичних речовин і встановлено, що сорти томатів Чайка, Клондайк й Зореслав стійкі до збудників бактеріального раку, бактеріальної крапчастості та бактеріальної плямистості; Фландрія, Легінь – бактеріальної плямистості, а Оберіг, Атласний, Господар і Кіммерієць – бактеріальної крапчастості. Наявні сорти томатів відзначалися високими якісними і смаковими властивостями за вмістом сухої речовини (5–5,37 %), нітратів (1,73–3,85 мг/кг сирої маси), цукрово-кислотним коефіцієнтом (5,78–8,95).

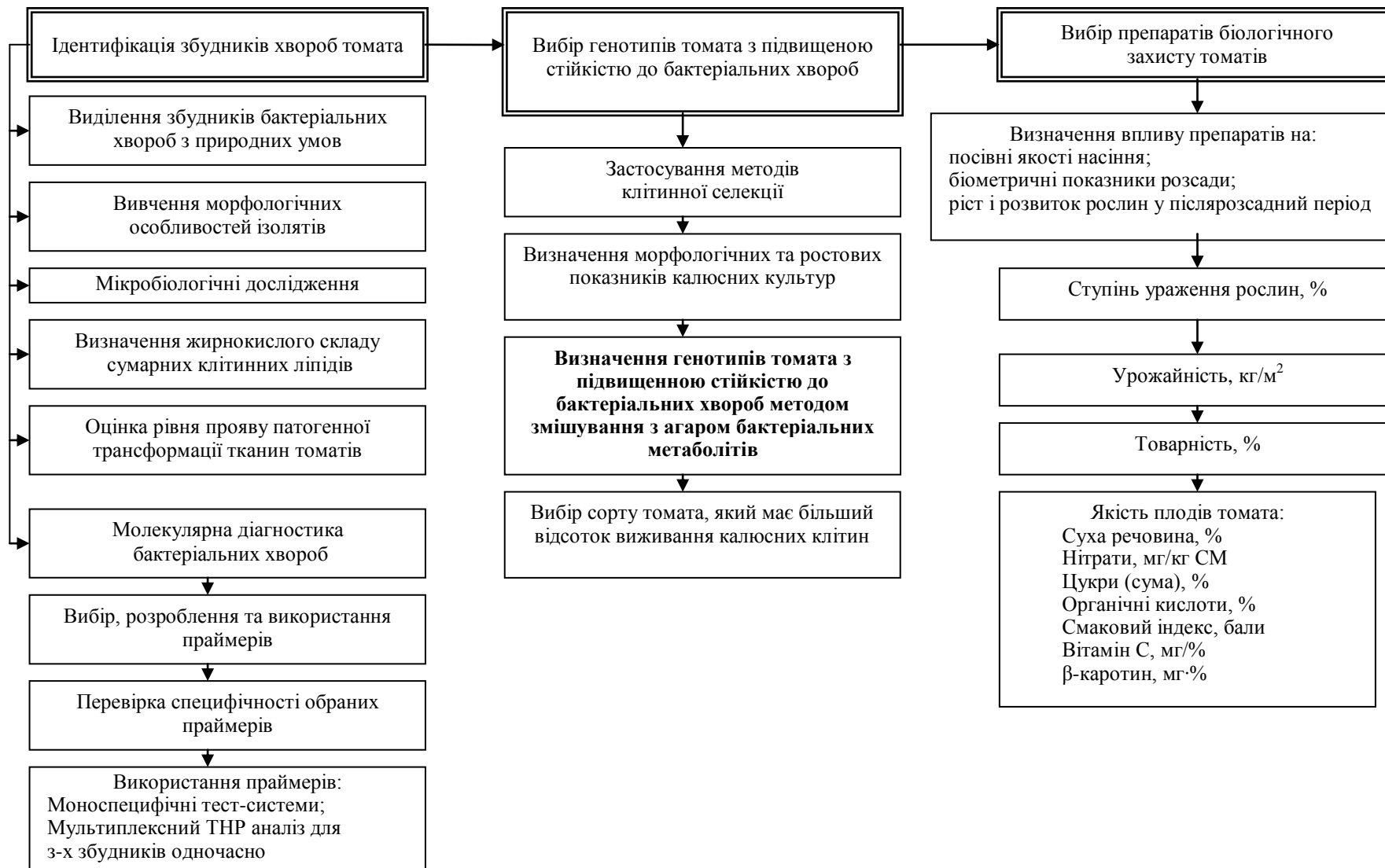


Рис. 1. Принципова схема системного підходу до комплексного використання біотехнологічних альтернатив для біологічного вирощування томатів.

Для отримання бактеріальних препаратів з метою оптимізації продукційного процесу сільськогосподарських культур використовують мікроорганізми родів *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* та *Azospirillum*, які є антагоністами щодо фітопатогенів.

Перелік і загальна характеристика біопрепаратів для комплексного захисту рослин томатів наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Застосування біопрепаратів для комплексного захисту рослин томатів

Назва препарату	Діючий організм	Механізм дії	Застосування проти
Ентафаг	<i>П'ять штамів бактеріофагів</i>	Паразитизм	Збудника крапчастості томатів
ВТМ-V-69	<i>Вірус тютюнової мозаїки</i>	Індукція імунітету	Вакцина стримує розвиток різних плямистостей у томатів
Фітофлавін-300	<i>Streptomyces lavandula</i>	Фітобактеріоміцин – антибіотик стрепто-трицинового ряду	Збудників бактеріального раку, некрозів пагона томата
Тріходермін	<i>Trichoderma lignorum</i>	Конкурентний антагонізм, антибіоз, гіперпаразитизм	Фітопатогенних грибів родів: <i>Fusarium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i>
Азотофіт	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Асоціативна азотофіксація	Збудника бактеріального раку
Фітохелп	<i>Bacillus subtilis</i>	Антибіоз і антагонізм	Збудників грибкових та бактеріальних хвороб, збудника бактеріального раку
Фітоцид	<i>Bacillus subtilis</i>	Антибіоз і антагонізм	Грибкових та бактеріальних хвороб, збудника чорної бактеріальної плямистості
Планріз	<i>Pseudomonas fluorescens AP-33</i>	Антагонізм (утворюють сидерофори)	Грибкових та бактеріальних хвороб, збудника бактеріального раку
Гаупсин	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	Антибіоз	Гусениць лускокрилих комах-шкідників, збудника бактеріального раку
Аверком	<i>Streptomyces avermitilis</i>	Антипаразитарний антибіотик авермектин	Фітофтороза, нематод, бактеріальної крапчастості
Лепідоцид	<i>Bacillus thuringiensis var. kurstaki</i>	Антифідантна дія	Гусениць більше 40 видів лускокрилих комах-шкідників, бактеріального раку, чорної бактеріальної плямистості
Бітоксинацилін	<i>Bacillus thuringiensis var. thuringiensis</i>	Антифідантна дія	Колорадського жука і його личинок, кліщів та гусениць лускокрилих комах-шкідників, бактеріального раку

В наших дослідженнях експериментально доведено, що біопрепарати Азотофіт, на основі бактерій *Azotobacter chroococcum*, і Фітохелп – *Bacillus subtilis*, проявляли високу антибактеріальну активність до збудника бактеріального раку *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* з діаметром зони відсутності росту 77–80 мм. Авермектинвмісний біопрепарат Аверком проявляв антибактеріальну активність до збудників бактеріального раку, чорної бактеріальної плямистості та крапчастості рослин томатів. За умов вивчення ефективності дії біопрепарату Аверком встановлено стимулювальну його дію на розвиток і активність мікроорганізмів у ризосфері, зниження чисельності фітонематод у ґрунті та рівня захворювання рослин томатів фітофторозом. Визначено підсилення процесів росту, розвитку і підвищення урожайності та якості продукції рослин томатів [13]. Найактивнішими до збудника чорної бактеріальної плямистості *Xanthomonas vesicatoria* були біо-препарати Фітоцид і Фітохелп на основі бактерій *Bacillus subtilis*. Нами підтверджено антагоністичну активність бактерій родів *Bacillus*, *Streptomyces* до фітопатогенних бактерій, а біопрепарати на їх основі рекомендовано застосовувати для обмеження розвитку збудників бактеріального раку, чорної бактеріальної плямистості та крапчастості рослин томатів.

Принципова схема алгоритму розроблення комплексних заходів захисту рослин на основі використання біотехнологічних альтернатив наведена на рисунку 2. Визначальним моментом алгоритму є мета, а саме вирощування біологічної продукції, отримання високоякісного садивного матеріалу, мінімізація витрат на захист рослин, зменшення негативного впливу на довкілля. Даний алгоритм складається з наступних етапів. Збір і аналіз початкових показників: якість садивного матеріалу, санітарна характеристика ґрунту, регіональний агрометеорологічний прогноз, регіональний фітосанітарний прогноз, базові мікробіологічні

препарати (етап 1). Проведення багатофакторного аналізу вхідних показників для розроблення комплексу біотехнологічних заходів у взаємозв'язку з комплексом агротехнічних заходів (етап 2). Аналіз результатів використання та внесення коректив у базові біотехнологічні процеси: визначення реальних показників ефективності використання біологічного захисту, внесення технологічних і технічних коректив у біотехнологічні процеси (етап 3).

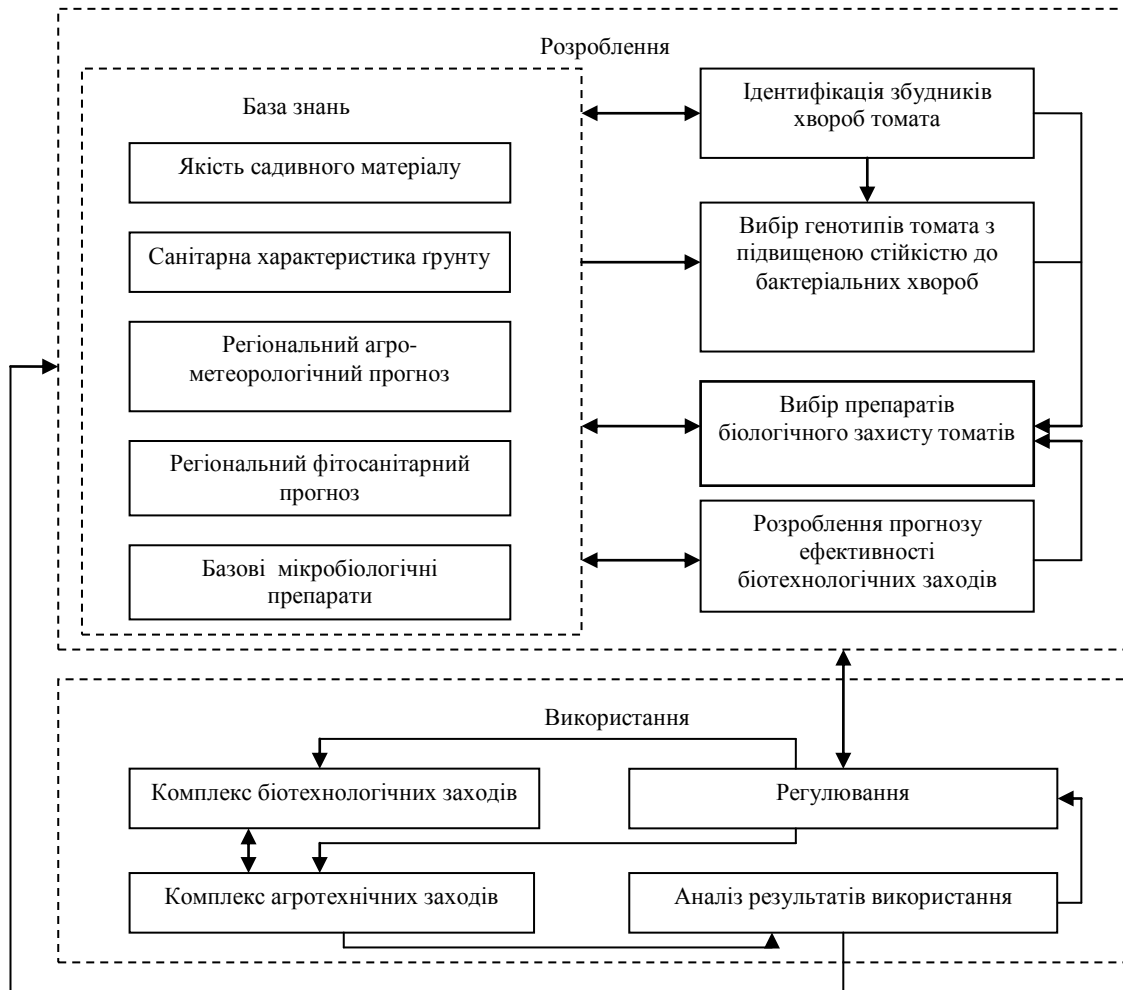


Рис. 2. Принципова схема алгоритму розроблення комплексних заходів захисту рослин на основі використання біотехнологічних альтернатив.

Висновки. Таким чином, комплексне використання біотехнологічних альтернатив, зокрема біологічних препаратів захисту, ДНК-технологій ідентифікації збудників та селекції, разом з іншими агротехнічними прийомами надає перспективи високопродуктивного біологічного вирощування томатів. В НУБІП України розпочата експериментальна перевірка виробничого використання біотехнологічної системи вирощування томатів.

Результати аналітичних та експериментальних досліджень підтверджують можливість та доцільність створення таких комплексних екологізованих та біологізованих технологій вирощування томатів на основі комплексного науково обґрунтованого використання вітчизняних біотехнологічних розробок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ахатов А. К. Мир томата глазами фитопатолога / А. К. Ахатов. – М.: КМК, 2010. – 288 с.
2. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин: монографія / Р.І. Гвоздяк, Л.А. Пасічник, Л.М. Яковлева [та ін.]; за ред. В. П. Патики. – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.

3. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas* spp. on tomato // EPPO Bulletin. – 2011. – Vol. 41. – P. 269–271.
4. Ткаленко Г. М. Захист томатів від хвороб у закритому ґрунті / Г. М. Ткаленко // Агробізнес сьогодні. – 2012. – № 23. – С. 27–31.
5. Перевидання офіційного Переліка пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні на 2010 рік. – К.: Юнівест Медіа, 2010. – 544 с.
6. Екологічна безпека агропромислового виробництва: монографія / За науковою редакцією акад. О. І. Фурдичка, А. Л. Бойка. – К.: ТОВ ДІА, 2013. – 146 с.
7. Perez-Garcia A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture / A. Perez-Garcia, D. Romero, A. de Vicente // Current Opinion in Biotechnology. – 2011. – Vol. 22. – P. 187–193.
8. Kyrychenko O. V. Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine / O. V. Kyrychenko // Biotechnologia Acta. – 2015. – Vol. 8, №4. – P. 40–52.
9. Погорілий Л. В. Шляхи стабілізації та відтворення потенціалу агроєкосистем / Л. В. Погорілий, В. С. Таргоня // Вісті Академії інженерних наук України. – 2003. – № 2. – С. 15–20.
10. 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.
11. Основы учения об антибиотиках: учебник. 6-е изд., перераб. и доп. / Н.С. Егоров. – М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. – 528 с.
12. Біотехнологія рослин: практикум / М. Д. Мельничук, О. Л. Кляченко, Ю. В. Коломієць [та ін.]. – К.: Аграр Медіа Груп, 2012. – 120 с.
13. Фітозахисні та ристрегулювальні властивості метаболітичних препаратів на основі ґрунтових стрептоміцетів / Л. О. Білявська, В. С. Козирицька, Ю. В. Коломієць та ін. // Доп. НАН України. – 2015. – № 1. – С. 131–137.

REFERENCES

1. Akhatov A. K. Mir tomata glazami fitopatologa / A. K. Akhatov. – М.: KMK, 2010. – 288 s.
2. Fitopatohenni bakterii. Bakterialni khvoroby roslyn: monohrafiia / R.I. Hvozdiak, L.A. Pasichnyk, L.M. Yakovleva [ta in.]; za red. V. P. Patyky. – К.: TOV «NVP «Interservis», 2011. – 444 s.
3. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas* spp. on tomato // EPPO Bulletin. – 2011. – Vol. 41. – P. 269–271.
4. Ткаленко Н. М. Zakhyst tomativ vid khvorob u zakrytomu hrunti / Н. М. Tkalenko // Ahrobiznes sohodni. – 2012. – № 23. – S. 27–31.
5. Perevydannia ofitsiinoho Perelika pestytsydiv i ahrokhimikativ, dozvolenykh do vykorystannia v Ukraini na 2010 rik. – К.: Yunivest Media, 2010. – 544 s.
6. Ekolohichna bezpeka ahropromyslovoho vyrobnytstva: monohrafiia / Za naukovoio redaktsiieiu akad. O. I. Furdychka, A. L. Boika. – К.: TOV DIA, 2013. – 146 s.
7. Perez-Garcia A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture / A. Perez-Garcia, D. Romero, A. de Vicente // Current Opinion in Biotechnology. – 2011. – Vol. 22. – P. 187–193.
8. Kyrychenko O. V. Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine / O. V. Kyrychenko // Biotechnologia Acta. – 2015. – Vol. 8, №4. – P. 40–52.
9. Pohorilyi L. V. Shliakhy stabilizatsii ta vidtvorennia potentsialu ahroekosystem / L. V. Pohorilyi, V. S. Tarhonia // Visti Akademii inzhenernykh nauk Ukrainy. – 2003. – № 2. – S. 15–20.
10. Diahnostyka fitopatohennykh bakterii: metodychni rekomendatsii / V. P. Patyky, L. A. Pasichnyk, L. A. Dankevych [ta in.]. Za red. V. P. Patyky. – Kyiv, 2014. – 76 s.
11. Osnovy ucheniya ob antibiotikakh: uchebnik. 6-e izd., pererab. i dop. / N.S. Egorov. – М.: Izd-vo MGU; Nauka, 2004. – 528 s.
12. Biotekhnolohiia roslyn: praktykum / M. D. Melnychuk, O. L. Kliachenko, Yu. V. Kolomiiets [ta in.]. – К.: Ahrar Media Hrup, 2012. – 120 s.
13. Fitozakhysni ta ristrehuliivalni vlastyvosti metabolitnykh preparativ na osnovi hruntovykh streptomitsetiv / L. O. Biliavska, V. Ye. Kozyrytska, Yu. V. Kolomiiets ta in. // Dop. NAN Ukrainy. – 2015. – № 1. – S. 131–137.

Системный подход к разработке комплексных мероприятий защиты растений томатов на основе использования биотехнологических альтернатив

Ю. В. Коломиец, В. С. Таргоня, И. П. Григорюк

Предложена принципиальная схема системного подхода к комплексному использованию биотехнологических альтернатив и алгоритм разработки мер защиты растений для биологического выращивания томатов. Методом клеточной селекции проверено устойчивость 16 детерминантных сортов томатов украинской селекции против распространенных возбудителей *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* и *Xanthomonas vesicatoria*. Рекомендовано биопрепараты на основе бактерий родов *Azotobacter*, *Bacillus*, *Streptomyces* применять для ограничения развития возбудителей бактериального рака, черной бактериальной пятнистости и крапчатости растений томатов.

Ключевые слова: защита растений, биотехнологические процессы, алгоритм разработки.

A systematic approach to the development of tomato plant integrated protection measures based on biotech alternatives**J. Kolomiets, V. Targonya, I. Grygoryuk**

The interest in biological methods of plant protection, based on using microorganisms or their metabolic products to inhibit the development of pathogens has been renewed in Ukraine recently. Biologicals based on live bacterial cultures are characterized by low toxicity and a broad spectrum of activity against plants and pathogens. Using combined biologicals comprising properties of bio-fertilizers, fungicides, and insecticides makes it possible to solve a large number of problems of crops biological protection and improve the quality of final products (vegetables, fruits) as well as soil fertility. Due to the heavy infestation of tomato with bacteriosis, the aim of our study was to search for protection remedies against pathogens of tomato bacterial diseases under conditions of open and covered ground.

The method of cell selection was used to test the resistance of 16 determinant tomato varieties of Ukrainian selection against common pathogens of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas vesicatoria*. We have found that tomato varieties of Chayka, Klondike and Zoreslavare resistant to pathogens of bacterial cancer, bacterial speck and bacterial black spotting; Flanders and Legen varieties – to bacterial black spotting, Oberig, Atlasnuy, Gospodar and Cimmerian varieties – to bacterial speck.

Phytohelp and Phytocide biologicals, based on the bacteria *Bacillus subtilis*, showed different antibacterial activity to phytopathogens, due to the peculiarities of the used strains, their cells titer and concentration of biologically active products of microorganisms. Phytohelp and Phytocide biologicals showed high antibacterial activity against the agents of bacterial cancer *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* and bacterial black spotting *X. vesicatoria*, and the no-growth zone diameter ranged from 73 to 80 mm. Bacilli antagonistic activity against the phytopathogens associates with the synthesis of antibiotics, toxins, volatile organic compounds, phytohormones, and other exometabolites of different chemical nature.

In our study we examined the antibacterial activity of Azotofit biological based on nitrogen-fixing bacteria, and Planriz and Haupsyn biologicals based on plant growth promoting bacteria (plant growth-promoting rhizobacteria – PGPR-bacteria). Application of PGPR-bacteria is one of biological methods of crops yield increase. Azotofit biological based on cells of *Azotobacter chroococcum* nitrogen-fixing bacteria showed high antibacterial activity against the agent of bacterial cancer *C. michiganensis* subsp. *Michiganensis* with the no-growth zone diameter of 78 ± 2.0 mm. This preparation was middle-active against the agent of bacterial black spotting *X. vesicatoria* and showed no activity against the agent of *P. syringae* pv. *tomato* bacterial speck of tomato.

Planriz and Haupsyn biologicals based on *Pseudomonas* bacteria were middle-active against the strains of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* and subactive against the strains of *P. syringae* pv. *tomato* and *X. vesicatoria*. Antagonist impact of PGPR *Pseudomonas* on phytopathogens occurs both through the synthesis of siderophore, antibiotics and other secondary metabolites, and the simple competition between for *pseudomonas* and phytopathogens for the sources of nitrogen and carbon supply.

Thus, the integrated use of biotechnological alternatives, including biological protection products, DNA identification techniques of pathogens and breeding, along with other cultural practices provides high prospects for biological cultivation of tomatoes. We suggested the schematic diagram of a systematic approach to the integrated use of biotechnological alternatives and the algorithm of plant protection measures development for biological cultivation of tomatoes.

Key words: plant protection, biotechnology processes, algorithm of the development.

Надійшло 21.09.2016 р.