

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЗАХИСТУ РОСЛИН

КОПЧА НЕЛЯ МИКОЛАЇВНА

УДК 631.95:632.95.02+579.64

**АСОЦІЙОВАНІ З РОСЛИНАМИ БАКТЕРІЇ – БІОДЕСТРУКТОРИ
ПЕСТИЦИДІВ У АГРОЦЕНОЗАХ ПЛОДОВИХ КУЛЬТУР**

03.00.16 – екологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті захисту рослин Національної академії аграрних наук України.

Науковий керівник: доктор сільськогосподарських наук,
академік НААН України
БОРЗИХ Олександр Іванович,
Інститут захисту рослин НААН, директор

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, професор,
ЛАВРОВ Віталій Васильович,
Білоцерківський національний аграрний університет
МОН України, завідувач кафедри загальної екології та
екотрофології

кандидат сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник,
ЛІЩУК Алла Миколаївна,
Інститут агроєкології і природокористування НААН,
завідувач лабораторії біоконтролю агроєкосистем і
органічного виробництва

Захист дисертації відбудеться “22” квітня 2021 р. о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.376.01 Інституту захисту рослин НААН України за адресою: 03022, м. Київ – 22, вул. Васильківська, 33, корпус № 1, зала засідань.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту захисту рослин НААН України за адресою: 03022, м. Київ – 22, вул. Васильківська, 33, корпус №1, кімната 65.

Автореферат розіслано “19” березня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Т.П. Панченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За сучасної агрокультури і постійно зростаючих потреб людства у продуктах харчування, з яких близько 80 % припадають на рослинництво, важливими є питання захисту агроценозів від шкідливих організмів, що ґрунтується, переважно, на застосуванні пестицидів (Федоренко, 2012; Рахманний, 2017). Щорічно у світі використовують понад 3 млн т пестицидів, в Україні – понад 24 тис. т на площі 27,5 млн га (Ямборко, 2005; Ящук, 2010). Цільових об'єктів, які повинні бути знищені пестицидами, досягає лише 1-3 % фунгіцидів та інсектицидів і тільки 5-40 % гербіцидів, інша частина пестицидів потрапляє у природне довкілля як антропогенний забруднювач (Круглов, 1991; Сметник, 2002; Ратука, 2003), що призводить до низки негативних наслідків: накопичення їх залишків, токсичність для біоти, скорочення біорізноманіття, розвиток резистентності у шкідників, створення загрози здоров'ю людини та ін. (Morgan, 1989; Lew, 2013; Алешня, 2016; Ткаленко, 2016). Масштаби забруднення природного середовища пестицидами порівнюють з глобальними екологічними проблемами (Карпенко, 2018).

Основним чинником знешкодження пестицидів у природному довкіллі є їх мікробіологічна деструкція. Розклад пестицидів відбувається за допомогою мікроорганізмів, які володіють багатофункціональним ферментативним апаратом і трансформують складові пестицидів у природному циклі колообігу речовин до повної їх мінералізації, не спричиняючи при цьому негативного впливу на екосистеми, чим забезпечують їх самовідновлення (Alexander, 1994; Bollag, 2000; Ананьева, 2003; Ксентофонова, 2007; Ашихмина, 2012, 2018). За даним напрямом наукові дослідження в Україні та світі присвячені вивченню взаємодії пестицидів із мікробіотою ґрунту (Rynk, 2000; Колупаєв, 2010; Ліщук, 2020). Проте, дослідження впливу пестицидів на асоційовані з рослинами мікроорганізми, що перебувають у тісній структурно-функціональній взаємодії з рослинами та відіграють важливу роль у їх живленні, забезпечують біологічно-активними речовинами, оптимізують умови вегетації, стимулюють розвиток, слугують первинним бар'єром захисту від фітопатогенів і, насамперед, зазнають негативного впливу пестицидів за сучасної системи захисту рослин, – у науковій літературі висвітлено не достатньо.

Садівництво – галузь, де інтенсивно застосовують хімічні засоби захисту рослин (Панченко, 2006; Борзих, 2014; Гаврилюк, 2017; Гунчак, 2018). Для вирішення питань екологічної стратегії щодо застосування пестицидів набувають актуальності комплексні дослідження екологічних особливостей взаємодії асоційованої з рослинами мікробіоти із пестицидами, асортимент яких значно змінився за останні 10-15 років, мікробіологічної деструкції та процесів самовідновлення агроценозів плодових культур за пестицидного навантаження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано згідно тематичних планів наукових досліджень Інституту захисту рослин НААН “Захист рослин та фітосанітарна безпека” за завданнями: “Вдосконалити методи виявлення, локалізації та ліквідації вогнищ карантинних шкідників, хвороб та бур'янів” (№ ДР 0101V003711, 2001-2005 рр.); “Розробити систему моніторингу, прогнозування появи і розвитку карантинних організмів, основи раціонального захисту від них, удосконалити методи їх виявлення,

ідентифікації та локалізації” (№ ДР 0109U004125, 2006-2010 pp.); “Мікроорганізми-антагоністи бактерій *Er. amylovora* (Burrill) Winslow et al. та наукове обґрунтування перспективи їх використання для фітосанітарного контролю бактеріального опіку плодових” (№ ДР 0111U004540, 2011-2015 pp.).

Мета та завдання досліджень. Метою роботи було з'ясувати вплив сучасних пестицидів різного призначення на асоційовану з рослинами мікробіоту як структурно-функціональну складову агроценозу плодових культур та розкрити участь бактерій-асоціантів рослин у мікробіологічній деструкції пестицидів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- встановити динаміку чисельності та таксономічний склад угруповань епіфітної мікробіоти яблуні та груші; проаналізувати вплив пестицидів та їх сумішей на формування природних угруповань епіфітної мікробіоти рослин;
- оцінити стійкість та деструктивну активність угруповань епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу плодових культур щодо сучасних пестицидів різного призначення;
- визначити рівні чутливості сапрофітних, умовно патогенних та фітопатогенних бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Erwinia* до дії пестицидів різного призначення;
- дослідити вплив пестицидів на процеси життєдіяльності, ферментативну та фітопатогенну активність бактерій-асоціантів рослин;
- дослідити участь позаклітинних метаболітів бактерій у деструкції пестицидів та зниженні пестицидного навантаження на агроценози;
- з'ясувати здатність бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* використовувати пестициди в якості джерела живлення;
- розкрити особливості деструкції пестицидів (ароматичних сполук та тіоціанатів) бактеріями родів *Pseudomonas* та *Klebsiella*, встановити вплив екологічних чинників на процеси біодеструкції пестицидів;
- оцінити показники економічної ефективності хімічної системи захисту яблуні та її вплив на угруповання епіфітної мікробіоти рослин.

Об'єкт дослідження – угруповання мікробіоти агроценозу плодових культур.

Предмет дослідження – мікробіологічна деструкція пестицидів; мікроорганізми, ізольовані з органів рослин (бруньок, квітів, листків), ризосфери та ґрунту; штами бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Erwinia*; пестициди (фунгіциди, інсектициди, акарициди, гербіциди, десиканти), хімічно чисті сполуки.

Методи дослідження: інформаційно-бібліографічні та аналітичні (огляд літератури, узагальнення результатів), польові (відбір зразків, оцінювання ефективності застосування пестицидів), лабораторні (мікробіологічні – визначення видового складу угруповань мікробіоти, впливу пестицидів на процеси життєдіяльності та ферментативну активність мікроорганізмів, процеси біодеструкції пестицидів; хіміко-аналітичні – визначення залишкових кількостей пестицидів), математично-статистичні (встановлення достовірності отриманих результатів, виявлення залежностей між показниками), системні та комп'ютерного моделювання (нормування та регламентація застосування пестицидів), розрахункові (визначення показників економічної ефективності системи захисту яблуні).

Наукова новизна отриманих результатів. Встановлено екологічні закономірності взаємодії асоційованої з рослинами мікробіоти як структурно-функціональної складової агроценозу плодових культур із пестицидами різного призначення, вплив пестицидів на процеси життєдіяльності мікроорганізмів. Розкрито механізми деструкції пестицидів та зниження пестицидного навантаження за участі бактерій-асоціантів рослин. Висвітлено принципи екологічно безпечного застосування пестицидів для захисту агроценозів плодових культур від шкідливих організмів, потенційні можливості біорегуляції процесів самовідновлення агроценозів та збереження біорізноманіття.

Вперше:

- визначено динаміку чисельності, таксономічну структуру і видовий склад угруповань епіфітної мікробіоти яблуні та груші впродовж вегетаційного періоду в умовах низинної агрокліматичної зони Закарпатської провінції Карпатської гірської області України за впливу екологічних (біотичних, абіотичних, антропогенних) чинників; встановлено особливості формування угруповань епіфітної мікробіоти агроценозу плодових культур за рекомендованого пестицидного навантаження;
- проведено оцінку стійкості та деструктивної активності угруповань епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу плодових культур щодо сучасних пестицидів різного призначення, встановлено частку резистентних мікроорганізмів (48,4-90,5 %), рівень деструктивної активності мікробіоти агроценозу (12,5-54,0 %);
- визначено рівні чутливості сапрофітних, умовно патогенних, фітопатогенних бактерій родів *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Erwinia* до дії експериментальних та рекомендованих норм витрат пестицидів (Ридоміл Голд, Курзат, Акробат, Хорус, Скор, Актара, Карате, Омайт, Фюзілад Форте, Гліфос);
- з'ясовано вплив сучасних пестицидів різного призначення на ферментативну активність, прояв фітопатогенних властивостей бактерій;
- встановлено збереження високого рівня фітостимулюючого біопотенціалу позаклітинних метаболітів сапрофітних бактерій роду *Klebsiella* (*Kl. planticola*, *Kl. terrigena*) за рекомендованого пестицидного навантаження;
- розкрито механізми деструкції пестицидів за участі бактерій-асоціантів рослин як складової природних процесів самовідновлення агроценозу; доведено, що один із способів руйнування пестицидів та зниження пестицидного навантаження на агроценоз має опосередкований характер та здійснюється за участі екзометаболітів бактерій; інший – завдяки здатності бактерій використовувати пестициди в якості джерела біогенних елементів, за рахунок чого відбувається їх ріст і розмноження;
- розкрито особливості деструкції ароматичних сполук та тіоціанатів бактеріями родів *Pseudomonas* та *Klebsiella*; визначено оптимальні умови перебігу процесу деструкції тіоціанату калію бактеріями роду *Klebsiella* за впливу низки екологічних чинників: біотичних (види бактерій, бактеріальне навантаження, адаптація), абіотичних (вміст токсиканта та NaCl, температура, рН середовища);
- доведено, що бактерії-асоціанти рослин, як складова гетеротрофної ланки агроценозів, можуть здійснювати деструкцію сучасних пестицидів до повної їх мінералізації та перспективність пошуку біодеструкторів пестицидів серед асоційованих з рослинами епіфітних бактерій;

- доведено високий рівень кореляційної залежності між стійкістю бактерій-асоціантів рослин до дії пестицидів, активністю їх ферментативної системи, швидкістю біодеструкції та рекомендованою нормою витрат пестицидів ($r = 0,81-0,99$), що є важливим для вирішення питань екологічної стратегії щодо застосування пестицидів для захисту агроценозів плодових культур від шкідливих організмів.

Запропоновано: нові підходи до визначення критеріїв оцінювання стійкості та деструктивної здатності бактерій-асоціантів рослин для формування екологічно безпечного асортименту пестицидів за врахування їх токсикологічного потенціалу, який залежить від норми витрат, що сприятиме збереженню біорізноманіття природних угруповань мікробіоти та самовідновленню агроценозів.

Удосконалено: систему захисту яблуні від шкідливих організмів, яку адаптовано до умов низинної агрокліматичної зони Закарпатської провінції Карпатської гірської зони України.

Практичне значення отриманих результатів. За результатами досліджень підготовлено практичні рекомендації, що впроваджено у Науково-виробничому підприємстві «Флора». Товаровиробникам запропоновано економічно обґрунтовану екологічно безпечну систему захисту яблуні за використання пестицидів сучасного асортименту. Застосування розробленої системи дало змогу захистити яблуневі насадження від шкідливих організмів та знизити розвиток поширених хвороб на 76,5-83,4 %, чисельність фітофагів – на 78,5-92,5 %. Приріст урожаю яблуні від розробленої технології досягав 13,1 т/га; рівень рентабельності – 87,25 %. З метою зниження токсикологічного навантаження на агроценози запропоновано надавати перевагу препаратам Хорус, Скор, Карате, Актара, ефективним з низькими нормами витрат (0,1-0,3 кг, л/га). Використані пестициди не здійснюють екологічно небезпечного впливу на угруповання епіфітної мікробіоти плодових культур, не зменшується чисельність, життєдіяльність і ферментативний потенціал корисних для рослин бактерій родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Pantthoea*, *Klebsiella*, що сприяє здійсненню процесів самовідновлення та збереженню біорізноманіття.

Виробникам запропоновано сапрофітні штами бактерій роду *Klebsiella* для створення на їх основі біопрепаратів; штами є перспективними в практиці екологічного землеробства, оскільки зберігають високий рівень фітостимулюючого біопотенціалу екзометаболітів за пестицидного навантаження. Бактерії роду *Klebsiella*, як потужна складова гетеротрофної ланки, є перспективними біоагентами для інтродукції на забруднені пестицидами агроценози, про що свідчить їх стійкість, ферментативна, біодеструктивна активність щодо сучасних пестицидів, та здійснюють деструкцію пестицидів з утворенням безпечних сполук без додаткових затрат.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням здобувачки. За темою дисертації авторкою особисто проведено аналіз наукової літератури, освоєно необхідні методи досліджень, виконано планування, підготовку та проведення польових і лабораторних досліджень, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написано висновки та рекомендації виробництву. Спільно з науковим керівником проведено вибір напрямку досліджень, постановку мети та завдань, обговорення результатів, сформовано основні положення роботи, визначено порядок викладення матеріалу.

Особистий внесок здобувачки у виконану роботу складає понад 90 %; підготовку до друку наукових праць і матеріалів дисертаційної роботи виконано особисто. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, права співавторів не порушені.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи представлено та обговорено на засіданнях вчених рад Інституту захисту рослин НААН України (2002-2018 рр.), Закарпатського територіального центру карантину рослин ІЗР НААН (2002-2011 рр.) та доповідались на всеукраїнських і міжнародних науково-практичних конференціях: “Засади сталого розвитку аграрної галузі” (Київ, 2002), “Інтегрований захист рослин на початку ХХІ століття” (Київ, 2004), “Екологічно обґрунтований захист рослин” (Київ, 2005), “Сучасні методи захисту рослин від шкідливих організмів” (Київ, 2006), “Інтегрований захист рослин. Проблеми та перспективи” (Київ, 2006), “Фітосанітарна безпека та біоекологія застосування пестицидів” (Бояни, 2010), “Біологія – наука ХХІ века” (Пушино, 2011), “Біологічні дослідження – 2017” (Житомир, 2017), “Біологічні дослідження – 2018” (Житомир, 2018), “Сучасні проблеми ведення сільського господарства та підготовки фахівців аграрного профілю” (Біла Церква, 2018), “Аграрна освіта та наука: досягнення і перспективи розвитку” (Біла Церква, 2021).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 18 наукових праць, із них: 7 статей у наукових фахових виданнях, 2 статті у наукових виданнях, 9 статей та тез в матеріалах всеукраїнських і міжнародних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступної частини, 6 розділів (огляду літератури; опису місця, об’єктів та методів досліджень; 4 розділів викладення експериментальних результатів з аналізом, обговоренням та узагальненням), висновків, рекомендацій виробництву, переліку використаних джерел літератури, який нараховує 357 найменувань, із них 119 латиницею, додатків. Робота викладена на 248 сторінках друкованого тексту, містить 27 таблиць, ілюстрована 24 рисунками, обсяг основного тексту складає 196 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

СУЧАСНИЙ СТАН ВИВЧЕННЯ ПРОБЛЕМИ

(аналітичний огляд)

На основі аналізу публікацій вітчизняних та зарубіжних авторів висвітлено особливості співіснування асоційованої мікробіоти і рослин, що відбувається впродовж усього життєвого циклу рослин, значення бактерій-асоціантів для рослин. Розкрито вплив пестицидів на мікробіоту, умови біодеструкції пестицидів.

Відмічено відсутність даних щодо взаємодії асоційованої з рослинами мікробіоти із пестицидами за сучасної агрокультури, участі бактерій-асоціантів рослин у деструкції пестицидів; необхідність вивчення особливостей самовідновлення агроценозів плодових культур за пестицидного навантаження, збереження біорізноманіття та принципів екологічно безпечного застосування пестицидів. На основі проведеного аналізу визначено мету, обґрунтовано актуальність досліджень за темою дисертаційної роботи.

УМОВИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В основу дисертаційної роботи покладено результати досліджень, які виконувались впродовж 2002-2018 років в Інституті захисту рослин НААН. Дослідженню підлягали угруповання мікробіоти агроценозів плодових культур (епіфітної, ризосферної, ґрунтової) та мікроорганізми, ізольовані із органів рослин яблуні, груші та ґрунту, колекційні штами бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia*, що слугували модельними зразками, на яких вивчали особливості взаємодії мікробіоти із пестицидами різного призначення (зареєстрованими та внесеними до “Переліку агрохімікатів, дозволених до використання в Україні,” а саме: *фунгіциди* (Хорус 75WG, в.р.г. (діюча речовина (далі д.р.) ципродиніл, 750 г/кг); Скор, 250 ЕС к.е. (д.р. дифеноконазол, 250 г/л); Ридоміл Голд МЦ 68WG, в.г. (д.р. металаксил-М, 40 г/кг + манкоцеб, 640 г/кг); Курзат Р, з.п. (д.р. цимоксаніл 4,2% + оксихлорид міді 39,75% (по міді)); Акробат МЦ, в.г. (д.р. диметоморф, 90 г/л + манкоцеб, 600 г/л); Купроксат, к.с. (д.р. сульфат міді триосновний, 345 г/л)); *інсектициди та акарициди* (Карате Зеон, 050 CS мк.с. (д.р. лямбда-цигалотрин, 50 г/л); Актара 25 WG, в.г. (д.р. тіаметоксам 250 г/кг); Омайт, 570, в. е. (д.р. пропар гіт, 570 г/л)); *гербіциди та десиканти* (Гліфос, 360, в.р. (д.р. кислота гліфосату, 360 г/л); Фюзилад Форте 150 ЕС, к.е.(д.р. флуазифоп-П-бутил, 150 г/л); Раундап, в.р. (д.р. ізопропіламінна сіль гліфосату, 482 г/л)).

Експериментальний матеріал відібрано за маршрутних обстежень насаджень плодових культур в Ужгородському районі Закарпатської області та у саду Науково-виробничого підприємства “Флора”, що належать до низинної агрокліматичної зони Закарпатської провінції Карпатської гірської області України, за характерних погодних умов м’якого помірно-континентального клімату. Ґрунт дерново-буроземно-опідзолений та супіщано-суглинковий, поверхнево оглеєний.

Впродовж вегетації загальноприйнятими методами здійснювали відбір зразків із модельних дерев: в фенофазі набухання бруньок, зелений конус відбирали бруньки рослин, в фенофазу цвітіння – суцвіття, в фенофазі формування, росту та дозрівання плодів – листки (Бельтюкова, 1968; Кондратенко, 1996). Виділення, облік та ідентифікацію епіфітних, ризосферних та ґрунтових мікроорганізмів здійснювали методом послідовних розведень з висівом на селективні середовища згідно зі загальноприйнятими методиками (Кирай, 1974; Герхардт, 1983; Теппер, 1993; Берджі, 1997). Для вивчення впливу пестицидного навантаження на угруповання епіфітної мікробіоти дерева (10 та 13 річні яблуні та груші (сорти “Голден Делішес”, “Лісова красуня”)) обробляли розчинами пестицидів та їх сумішами відповідно до рекомендованих в Україні норм витрат (далі НВ), контрольні дерева – водопровідною водою. Відбір зразків здійснювали через 1, 10, 20, 30 діб.

Лабораторні дослідження проводили за періодичного культивування бактерій на рідких та агаризованих живильних середовищах: органічних (МПБ, МПА, ПА), селективних, мінеральних (МС: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ – 2,0 г, K_2HPO_4 – 2,0 г, MgSO_4 – 0,5 г, NaCl – 5,0 г, глюкоза – 5,0 г, вода водопровідна – 1000 мл), модифікованих мінеральних (з яких вилучали біогенні сполуки, що містили С або N і заміняли внесеними пестицидами) (Перт, 1978; Теппер, 1993). Вміст пестицидів у середовищі розраховували відповідно до рекомендованих НВ; кількість бактерій, що вносились,

визначали за допомогою оптичних стандартів каламутності. Ферментативну активність бактерій визначали: каталазну – за Варвашевич (1989); фенолоксигеназну – за Sanaga Takashi (1972). Фітопатогенні властивості бактерій визначали в реакції надчутливості (РНЧ) на листі тютюну (*Nicotiana spp.*), обліки РНЧ – за 10-бальною шкалою (Гвоздяк, 2001). Вплив позаклітинних метаболітів на процеси росту рослин визначали за бактеризації насіння тест-рослин (кукурудза, сорту “Закарпатська жовта зубовидна” та огірки, сорт “Ніжинський”) суспензією бактерій, культивованих на ПА за 1,0 НВ пестицидів, на 3-ю добу визначали показники проростання насіння, на 7-у – довжину стебел і коренів (Klement, 1990).

Оцінку фунгіцидної дії препаратів здійснювали методом накладання дисків фільтрувального паперу (попередньо змочених у розчинах фунгіцидів після 48-годинної експозиції з бактеріями та у контрольних розчинах фунгіцидів) на газони міцеліального росту тест-культур *Fusarium oxysporum* Schel (Дудка, 1982).

Динаміку вмісту залишкових кількостей пестицидів у культуральному середовищі визначали фотоколориметричним методом на КФК-2 МП (Мазор, 1996), константу швидкості (K) та час напіврозпаду (T_{50}) токсикантів – за Бублик (2004).

Фітосанітарний моніторинг проводили за загальноприйнятими методиками (Омелюта, 1986), ефективність дії препаратів – за Трибель (2001), економічну ефективність системи захисту яблуні – за Кондратенко (2006), Тупчій (2013).

Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими методами (Доспехов, 1983) з використанням комп’ютерних програм Microsoft Excel 2003, Microsoft Office Excel 2010, Statistica – 5.5.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ПЕСТИЦИДНОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА **УГРУПОВАННЯ МІКРОБІОТИ АГРОЦЕНОЗУ ПЛОДОВИХ КУЛЬТУР**

Епіфітна мікробіота яблуні та груші впродовж періоду вегетації. На основі проведеного моніторингу вперше для низинної агрокліматичної зони Закарпатської провінції Карпатської гірської зони України визначено динаміку чисельності, таксономічну структуру та видовий склад угруповань епіфітної мікробіоти яблуні та груші впродовж вегетації, що залежить від низки екологічних чинників: абіотичних, біотичних та антропогенних. Встановлено, що загальна чисельність угруповань епіфітної мікробіоти яблуні та груші знаходиться в межах 10^4 - 10^6 кл/г бруньок, квітів, листків. Найбільша чисельність епіфітів спостерігається у фенофазу набухання бруньок та цвітіння (10^6 кл/г бруньок та суцвіть), значно менша – у період формування плодів (10^4 кл/г листків), у періоди росту та дозрівання плодів чисельність епіфітів зростає (до 10^5 кл/г листків) (табл. 1).

За визначення впливу абіотичних чинників на динаміку чисельності епіфітних мікроорганізмів філоплани рослин встановлено залежність між вологістю, середньодобовою температурою повітря та чисельністю мікроорганізмів ($r = 0,77$ - $0,83$). Найбільшу чисельність епіфітів на листках рослин (10^6 кл/г) відмічено за підвищення відносної вологості повітря до 85 % та зниження середньодобової температури до $13,3^\circ \text{C}$; найменшу (10^4 кл/г) – за зниження відносної вологості до 43 % та підвищення середньодобової температури понад 22°C .

Таблиця 1

Загальна чисельність та таксономічний склад угруповань епіфітної мікробіоти плодових культур впродовж періоду вегетації (2011-2013 рр.)

Плодові культури	Фенологічні фази розвитку у періоді відбору зразків	Середня кількість клітин, КУО/г зразку		
		загальна	бактерій	грибів
Яблуня	набухання бруньок, зелений конус	$7,2 \times 10^6$	$7,2 \times 10^6$	$4,0 \times 10^3$
	рожевий бутон, цвітіння	$3,2 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	-
	формування плодів	$4,8 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$4,5 \times 10^3$
	ріст плодів (розміром ліщини-грец. горіха)	$4,5 \times 10^4$	$4,3 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$
	ріст плодів	$5,8 \times 10^5$	$5,8 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$
	дозрівання плодів	$5,6 \times 10^5$	$5,1 \times 10^5$	$5,4 \times 10^4$
Груша	набухання бруньок, зелений конус	$1,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$2,6 \times 10^3$
	рожевий бутон, цвітіння	$3,1 \times 10^6$	$3,1 \times 10^6$	-
	формування плодів	$4,3 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	$3,4 \times 10^3$
	Ріст плодів (розміром ліщини-грец. горіха)	$4,7 \times 10^4$	$4,5 \times 10^4$	$1,9 \times 10^3$
	Ріст плодів	$5,2 \times 10^5$	$5,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^3$
	Дозрівання плодів	$3,1 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	$2,3 \times 10^4$

Результати досліджень свідчать, що епіфітна мікробіота плодових культур у різні фенологічні фази характеризується варіабельністю як за чисельністю, так за таксономічним, в т.ч. видовим складом. Впродовж вегетації епіфітна мікробіота представлена 2-7 різновидами бактерій та 0-4 різновидами міцеліальних грибів та дріжджів. Близько 90 % епіфітів складають бактерії, 80 % з них є рухомими Грам-негативними паличками (рис. 1). У фенофазу дозрівання плодів зменшується видова різноманітність епіфітних бактерій та збільшилась чисельність і різновидність міцеліальних грибів та дріжджів. Частка грибів не перевищує 10 %, найвища – у період дозрівання плодів, у період цвітіння гриби на суцвіттях дерев не виявлено.

Асоціативна взаємодія не є суворо специфічною, досліджувані рослини культивують подібні групи мікроорганізмів, переважна більшість з яких – неспеціалізовані сапрофіти. За сукупністю властивостей ізоляти бактерій віднесено до родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Panthoea*, ізоляти грибів – до родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*.

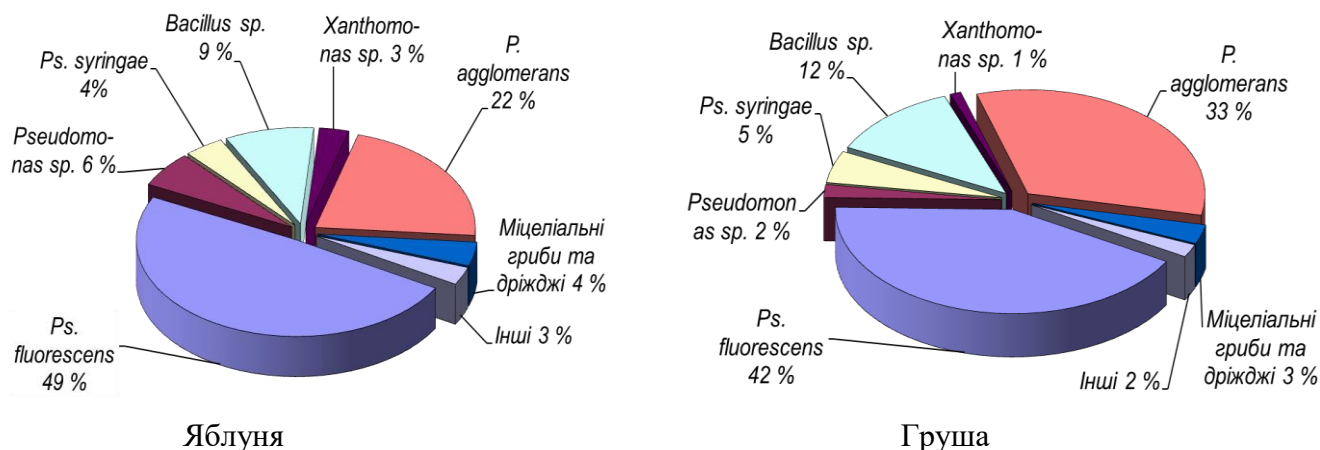


Рис. 1. Таксономічна структура епіфітної мікробіоти філоплани плодових культур (2011-2013 рр.)

Таксономічна структура епіфітної мікробіоти філоплани плодів культур у період формування та росту плодів: *Ps. fluorescens* (45,5 %) > *P. agglomerans* (27,5 %) > *Bacillus sp.* (10,5 %) > *Pseudomonas sp.* (7,5 %) > міцеліальні гриби та дріжджі (3,5 %) > *Xanthomonas sp.* (до 3,0 %) ≥ інші (2,5 %). Серед епіфітів філоплани домінують бактерії *Ps. Fluorescens* та *P. agglomerans* (рис. 1).

Особливості формування угруповань епіфітної мікробіоти плодів культур за рекомендованого пестицидного навантаження. Обробка дерев пестицидами є важливим антропогенним чинником, що значно змінює співвідношення речовин у середовищі існування епіфітних мікроорганізмів. За обприскування дерев пестицидами Карате та Скор встановлено, що епіфітна мікробіота філоплани яблуні та груші резистентна до інсектициду Карате: загальна чисельність мікроорганізмів впродовж усього періоду спостережень залишалась близькою до контролю, видовий спектр представлений бактеріями 4-х родів *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Xanthomonas*, *Bacillus* та міцеліальними грибами в невеликій кількості, що свідчить про відсутність інгібуючої дії препарату на угруповання епіфітних мікроорганізмів філоплани плодів культур (табл. 2).

Таблиця 2

Видовий склад епіфітної мікробіоти плодів культур через 1 добу після обробки пестицидами (Ужгородський р-н, Закарпатська обл., 2011-2013 рр.)

Використані пестициди (діюча речовина), призначення	Штами бактерій, ізольовані з листків*											
	груші						яблуні					
	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. agglomerans</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>P. syringae</i>	<i>Xanthomonas sp.</i>	<i>Inui</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. agglomerans</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>P. syringae</i>	<i>Xanthomonas sp.</i>	<i>Inui</i>
Контроль (вода стерильна водопровідна)	+	+	+	±	±	+	+	+	+	±	±	+
Скор (д.р. дифеноконазол), фунгіцид	+	+	-	-	-	-	+	+	±	-	-	±
Карате (д.р. лямбда-цигалотрин), інсектицид	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	±	+
Скор+Карате, суміш фунгіцид + інсектицид	+	+	±	-	-	-	+	+	±	-	-	-

Примітки*: “+” – розповсюджені; “±” – зустрічались поодинокі, “-” – не виявлені.

Через добу після обприскування фунгіцидом Скор, як окремо, так і в суміші з інсектицидом Карате, на листках дерев переважали бактерії 3-х родів: *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Bacillus spp.*; знижувалась загальна чисельність до 10^4 кл/г листків, проти 10^5 кл/г у контролі, відмічали інгібування росту міцеліальних грибів, фітопатогенних бактерій. На 10-ту добу загальна чисельність епіфітів зростає до 10^5 кл/г листків, як у контролі, що відмічали надалі на 20-30 добу спостережень.

Оцінка стійкості та деструктивної активності угруповань епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу плодів культур щодо дії пестицидів різного призначення. В дослідженнях використовували штами, ізольовані із наземних органів рослин яблуні та груші (178 шт.), з ризосфери рослин (64 шт.) та з ґрунту плодового саду (64 шт.). Відмічено високу стійкість мікробіоти до дії фунгіцидів Хорус та Скор, інсектициду Карате, гербіциду Раундап, частка стійких мікроорганізмів – 48,4-90,5 %. Найвищою стійкістю характеризується

епіфітна мікробіота (55,6-90,5 %); середньою – ризосферна (50,0-87,5 %), найменш стійкі – ґрунтові мікроорганізми (48,4-75,0 %) (рис. 2). Досліджувані ізоляти більш стійкі до дії фунгіциду Хорус та інсектициду Карате, більш чутливі – до фунгіциду Скор та гербіциду Раундап. Частка епіфітних бактерій, стійких до Хорусу та Карате, становить, відповідно, 90,5 та 88,8 %, стійких до Скору – 58,4 % епіфітів, до Раундапу – 55,6 %. Ризосферні та ґрунтові мікроорганізми теж більш стійкі до дії Хорусу та Карате, частка яких становить, відповідно, 84,4 % та 75,0 % і 87,5 % та 73,4 %; більш чутливі вказані бактерії до дії Скору, відповідно, – 50,0 % та 48,4 %, до Раундапу – 64,1 % та 59,4 %.

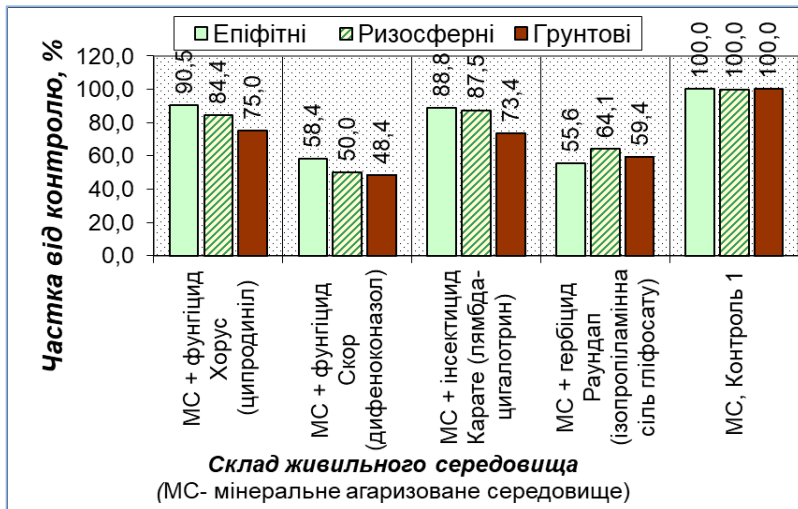


Рис. 2. Частка ізолятів епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу плодів культур, стійких до дії пестицидів різного призначення за рекомендованих норм (Ужгородський район, Закарпатська область, 2013-2015 рр.)

За визначення деструктивної активності угруповань епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу плодів культур встановлено, що частка мікроорганізмів, здатних розкласти пестициди та використовувати їх в якості джерела біогенних елементів (азоту та вуглецю), знаходиться у межах 12,5-53,9 % і є високою. Деструкторами пестицидів є 16,9-53,9 % епіфітних бактерій, 14,1-31,3 % – ризосферних та 12,5-20,3 % – ґрунтових (рис. 3).

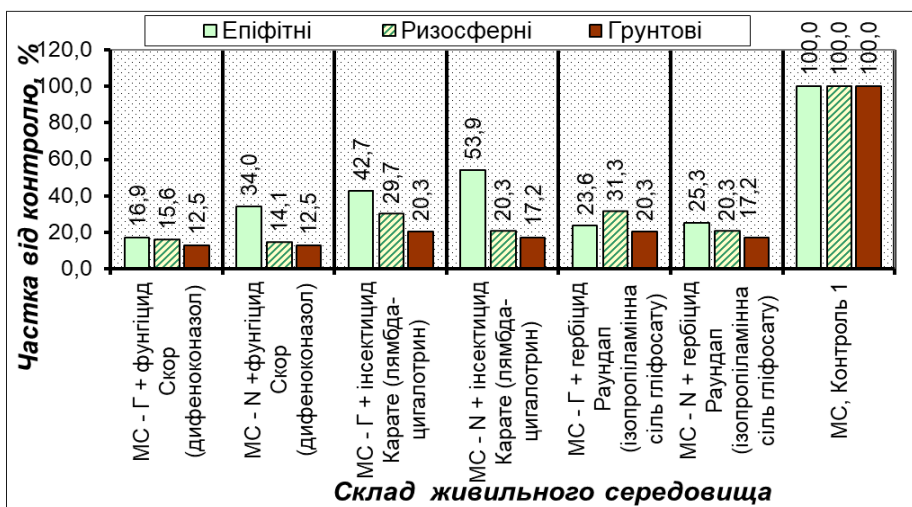


Рис. 3. Частка ізолятів епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу плодів культур, здатних засвоювати азот та вуглець пестицидів за рекомендованих норм (Ужгородський район, Закарпатська область, 2013-2015 рр.)

Примітки: МС – повноцінне мінеральне середовище (контроль); МС-Г + пестицид – модифіковане мінеральне середовище, з якого вилучено джерело вуглецю (глюкозу) та додано пестицид у кількості, що відповідала 1,0 НВ.; МС-N + пестицид – модифіковане мінеральне середовище, з якого вилучено азот ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) та додано пестицид у кількості, що відповідала 1,0 НВ.

Отримані результати підтверджують високу стійкість, адаптивну здатність та деструктивну активність природних угруповань епіфітної мікробіоти плодових культур до пестицидів, що зумовлено, на нашу думку, еволюційно сформованою пристосованістю до існування в екстремальних умовах на поверхні наземних органів рослин (з низьким потоком поживних речовин та доступності вологи, частою зміною температурного режиму, сонячного світла, дії ультрафіолету, тощо) і, як наслідок, підвищує шанси бактерій на виживання за пестицидного навантаження. Отже, за сучасних агротехнологій існування епіфітних бактерій, їх чисельність, видовий склад угруповань, співвідношення між окремими групами визначається конкурентоздатністю виживати за значних коливань складу середовища їх існування, що, насамперед, відбувається за застосування пестицидів. Тому епіфітна мікробіота рослин не є випадковим скупченням мікроорганізмів, а утворює мікробно-рослинні асоціативні угруповання, в середині яких існує видова специфічність. Серед природних угруповань мікробіоти агроценозу найбільша частка бактерій, здатних розкласти пестициди різного призначення та з різним ступенем небезпечності (за інтегральною класифікацією, Бублик, 1989) припадає на епіфітну мікробіоту (16,9-53,9 %), що вказує на важливу роль епіфітів у самоочищенні агроценозів від залишків пестицидів та дає змогу розглядати її як перспективне джерело для пошуку мікроорганізмів-деструкторів пестицидів.

ВПЛИВ ПЕСТИЦИДІВ РІЗНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ НА ПРОЦЕСИ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ БАКТЕРІЙ-АСОЦІАНТІВ РОСЛИН

Вплив сучасних пестицидів на процеси життєдіяльності бактерій-асоціантів рослин вивчали на прикладі бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia*, які широко розповсюджені у довкіллі та є типовими представниками популяцій, що колонізують фітосферу різних рослин. Дослідженню підлягали 24 колекційних штами (фітопатогенних – 6 шт., умовно патогенних – 11 шт., сапрофітних – 7 шт.), що належали до 10 видів. Отримані результати мали практичну цінність, враховуючи той факт, що серед бактерій є корисні та шкідливі для рослин.

Оцінка чутливості фітопатогенних, умовно патогенних та сапрофітних бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* до дії пестицидів. Визначали за здатністю виживати в присутності 0,25-2,0 НВ пестицидів, що стало першим етапом для визначення їх деструктивної активності. Встановлено, що тривалість виживання бактерій залежить від їх виду і штаму, діючої речовини та НВ пестицидів. Фітопатогенні бактерії більш чутливі до дії пестицидів, ніж сапрофітні та умовно патогенні (рис. 4). Не виявлено суттєвої різниці у стійкості до пестицидів між сапрофітними і умовно патогеними бактеріями родів *Klebsiella* та *Pseudomonas*. У порядку зменшення резистентності бактерії розподіляються: *сапрофітні* $\geq$ *умовно патогенні* $>$ *фітопатогенні*; за родами: *Klebsiella* $>$ *Pseudomonas* $>$ *Erwinia*.

За тривалістю виживання бактерії умовно були поділені на 3 групи: 1 – чутливі (не здатні до виживання за експериментальних НВ пестицидів); 2 – середньочутливі (тривалість виживання 1-7 діб), 3 – нечутливі (виживали до 30 діб). Встановлено, що за рекомендованих норм (1,0 НВ) усі фітопатогенні штами (100,0 %) були чутливі до

фунгіцидів Ридоміл Голд, Курзат Р, Акробат, з них 33,3-66,7 % середньочутливі до гербіцидів Фюзилад Форте, Гліфосат, акарициду Омайт, нечутливі до фунгіциду Хорус та інсектицидів Актара, Карате. Серед умовно патогенних і сапрофітних штамів до дії Ридомілу Голд, Курзату, Акробату чутливими є 72,7-100,0 % бактерій, середньочутливими – 0,0-27,3 %, вказані бактерії резистентні до Хорус, Актара, Карате, Омайт, Фюзилад Форте, Гліфос за рекомендованих норм.

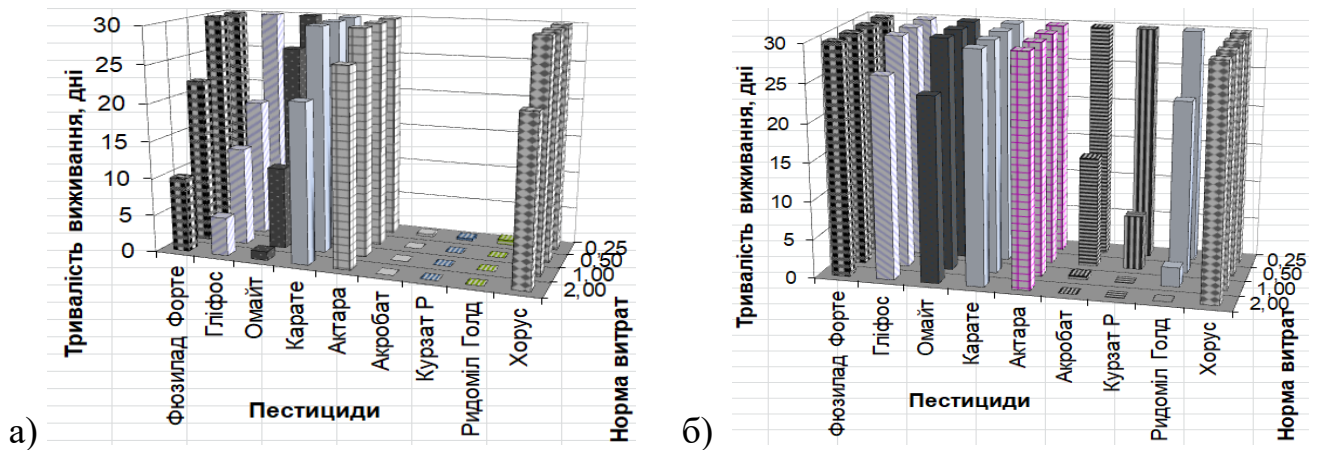


Рис. 4. Чутливість різних груп бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* до дії пестицидів (а – фітопатогенних; б – сапрофітних), (2002-2005 рр.)

Проаналізовано характер впливу 9 пестицидів за рекомендованих норм на життєдіяльність бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Erwinia* (табл. 3). Встановлено, що на фітопатогенні бактерії проявили бактерицидну дію 25 % пестицидів, інгібуючу – 24,1 %, не проявляли впливу 50,9 % пестицидів; на умовно патогенні та сапрофітні бактерії бактерицидну дію проявили відповідно 22,0 та 19,0 % пестицидів, інгібуючу – 8,6 та 6,0 %, не проявляли впливу – 69,4 та 75,0 % пестицидів. Пестициди різного призначення розміщено в порядку зменшення їх дії на бактерії родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* таким чином: фунгіциди > гербіциди та десиканти > акарициди та інсектициди.

Таблиця 3

Дія пестицидів різного призначення за рекомендованих норм на бактерії-асоціанти родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* (2002-2005 рр.)

Групи пестицидів		Характеристика дії пестицидів	Дія на бактерії (%)			
призначення	кількість, шт.		досліджувані групи	фіто-патогенні	умовно патогенні	сапро-фітні
фунгіциди	4	бактерицидна	25,0	75,0	65,9	57,1
		інгібуюча	9,0	0,0	9,1	17,9
		відсутність дії	66,0	25,0	25,0	25,0
інсектициди, акарициди	3	бактерицидна	0,0	0,0	0,0	0,0
		інгібуюча	8,4	22,3	3,0	0,0
		відсутність дії	91,6	77,7	97,0	100,0
гербіциди, десиканти	2	бактерицидна	0,0	0,0	0,0	0,0
		інгібуюча	21,2	50,0	13,7	0,0
		відсутність дії	78,8	50,0	86,3	100,0
Всього	9	бактерицидна	22,0	25,0	22,0	19,0
		інгібуюча	12,9	24,1	8,6	6,0
		відсутність дії	65,1	50,9	69,4	75,0

Тобто, досліджувані фунгіциди виявляють на бактерії більшу інгібуючу дію, ніж інсектициди та гербіциди, що підтверджують дані літератури (Андреюк, 2001). Проте, існує твердження, що 90 % пестицидів пригнічують життєдіяльність бактерій впродовж 30 діб (Круглов, 1991), за нашими узагальненими даними – не більше 35 % пестицидів. Встановлено кореляційну залежність між стійкістю бактерій до дії пестицидів та рекомендованою нормою витрат ($r = 0,84-0,99$), (рис. 5). Найбільшу бактерицидну дію на бактерії виявили фунгіциди Ридоміл Голд, Курзат, Акробат, рекомендовані норми витрат яких складають 2,0-3,0 кг/га (рис. 5). Пестициди Хорус, Актара, Карате з нижчими на порядок нормами витрат (0,14-0,3 кг/га) не проявляють бактерицидного впливу на сапрофітні бактерії-асоціанти рослин, що свідчить як про низький рівень початкового токсикологічного потенціалу цих пестицидів для мікроорганізмів, так і про високий рівень стійкості бактерій до них.

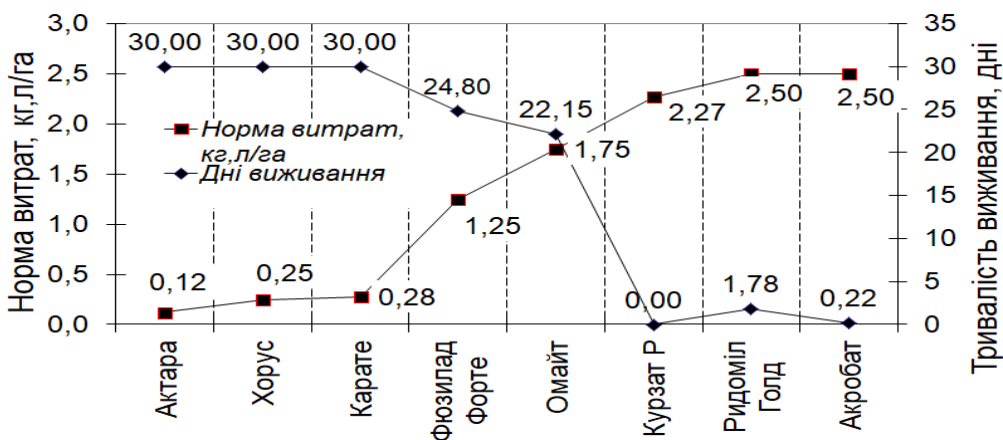


Рис. 5. Залежність стійкості бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* до пестицидів від рекомендованої норми їх витрат (2002-2005 рр.)

Вплив пестицидів на ферментативну активність бактерій. Вивчали на прикладі активності каталази, що входить до групи окисно-відновних ферментів, які беруть участь у процесах деструкції пестицидів. За 24-годинної експозиції у середовищі з фунгіцидами Ридоміл Голд, Акробат (1,0 НВ) спостерігається зниження загальної каталазної активності сапрофітних бактерій родів *Klebsiella* та *Pseudomonas* на 23,8-34,0 % і відсутність ферментативної активності фітопатогенів (0,0 %); за 1,0 НВ Хорусу, Карате відмічали зниження каталазної активності сапрофітів на 4,0-7,3 %; фітопатогенів – на 38,81-49,1 % (рис. 6). Встановлено, що ферментативна активність бактерій, яку віднесено до пріоритетних характеристик екологічного стану екосистеми, корелює з нормою витрат препаратів, $r = 0,82-0,99$.

Вплив пестицидів на прояв фітопатогенних властивостей асоційованих з рослинами бактерій. Вивчали в реакції надчутливості (РНЧ) на листі тютюну. Оскільки, асоціативну мікробіоту плодових культур складають як корисні, так і шкідливі для рослин мікроорганізми, дослідження були зосереджені на вивченні реакції бактерій, їх роль у РНЧ вивчено мало. Встановлено, що на протікання РНЧ впливають біотичні чинники (вид, штам та бактеріальне навантаження) та абіотичні (хімічний склад, навантаження пестицидів) (табл. 4). На оброблених фунгіцидами Ридоміл, Курзат, Хорус (1,0 НВ) листках тютюну інтенсивність прояву РНЧ за інфікування фітопатогенними бактеріями знижується на 1-3 бали (10-30 %), за 2,0 НВ – на 3-6 балів (30-60 %) щодо контролю. Спостерігали повне інактивування розвитку РНЧ за 2,0 НВ Курзату, що зумовлено дією оксихлориду міді (39,7 % за д.р.). Досліджувані інсектициди не інгібують прояв РНЧ.

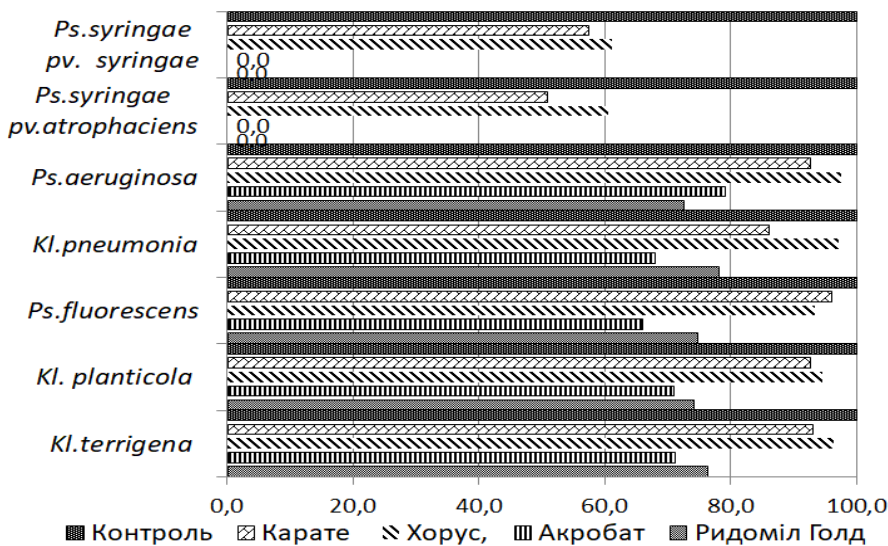


Рис.6. Каталазна активність бактерій родів *Klebsiella* та *Pseudomonas* за 24-годинної експозиції у живильному середовищі з пестицидами за рекомендованих норм (% щодо контролю), (2016-2017 рр.)

Тобто, за обробки листків рослин фунгіцидами, останні пригнічують прояв фітопатогенних властивостей збудників бактеріозів (*P. syringae* pv. *syringae*, *P. syringae* pv. *atrophaciens*, *R.(P.) solanacearum*, *Er. amylovora*) та процесів, які вони спричиняють.

Таблиця 4

Прояв реакції надчутливості на оброблених пестицидами листках тютюну сорту Вірджинія за інфекційного навантаження 10^9 кл/мл (2002-2005 рр.)

Пестициди		Види бактерій							
назва, призначення	вміст, НВ	фітопатогенні					умовно патогенні	сапрофітні	
		<i>Er. amylovora</i> 9057	<i>R. (P.) solanacear</i> 9049	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 8511	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrophacie</i> ns 7964	<i>Kl. pneumonia</i> 3785	<i>P. fluorescens</i> 8655	<i>Kl. terrigena</i> 8008	<i>Kl. planticola</i> 33531
		прояв реакції надчутливості (у балах)							
Хорус, фунгіцид	1,0	1,0	3,3	7,6	7,0	1,0	2,0	1,0	1,0
	2,0	0,0	1,0	4,0	2,0	1,0	2,6	1,0	1,0
Ридоміл Голд, фунгіцид	1,0	1,0	3,0	7,0	7,0	1,0	3,0	1,0	1,0
	2,0	1,0	3,5	6,0	9,0	1,0	2,0	1,0	1,0
Курзат Р, фунгіцид	1,0	1,0	2,5	7,0	7,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	2,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Актара, інсектицид	1,0	2,5	3,5	8,0	7,0	1,0	2,3	1,0	1,0
	2,0	1,5	2,0	8,0	7,0	1,0	2,6	1,0	1,0
Карате, інсектицид	1,0	3,0	4,0	9,0	8,0	2,0	4,0	2,0	1,0
	2,0	3,5	5,0	9,0	9,0	1,0	3,0	1,0	1,0
Контроль	-	3,5	5,0	9,0	8,0	1,0	3,0	1,0	1,0

Оцінка дії позаклітинних метаболітів бактерій родів *Pseudomonas* та *Klebsiella*, культивованих за пестицидного навантаження, на процеси росту рослин. Уперше встановлено збереження високого рівня фітостимулюючого біопотенціалу позаклітинних метаболітів сапрофітних бактерій-асоціантів роду *Klebsiella* за культивування у присутності 1,0 НВ Хорусу та Карате, що відмічали вже на ранніх стадіях онтогенезу тест-рослин. За бактеризації насіння кукурудзи та

огірків штамом *Kl. planticola* 33531 підвищувалася схожість насіння на 24,1-41,3 %, ріст стебел – на 29,4-70,0 %, коренів – на 77,6-120,0 % щодо контролю (рис. 7). Сапрофітні штами *Kl. terrigena* 8008, *Kl. planticola* 33531 є перспективними для подальших досліджень і створення на їх основі біопрепаратів.

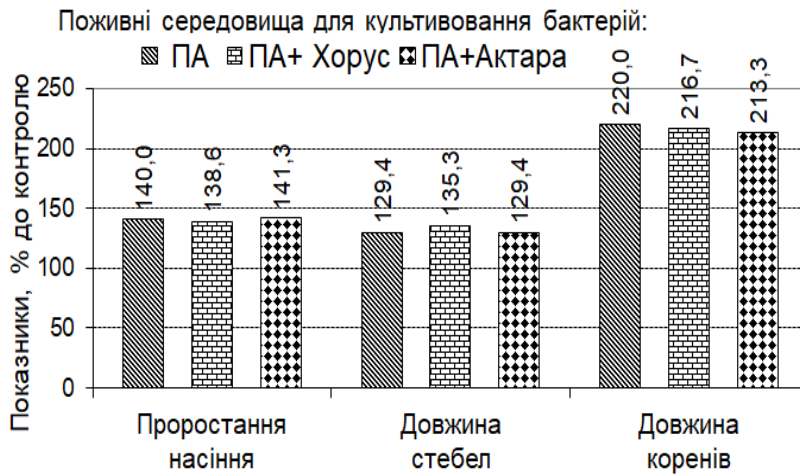


Рис. 7. Вплив бактерій *Kl. planticola* 33531, культивованих на ПА за 1,0 НВ Хорусу та Карате, на проростання насіння та показники росту кукурудзи (сорт Закарпатська жовта зубовидна, 2018)
 Примітка: у контролі довжина стебел $1,7 \pm 0,1$ см; довжина коренів $3,0 \pm 0,3$ см.

Отже, за вивчення впливу пестицидів на процеси життєдіяльності бактерій родів *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Erwinia* встановлено, що існування бактерій-асоціантів рослин та інтенсивність процесів, в яких вони беруть участь, визначається абіотичними (хімічний склад, навантаження пестицидів) та біотичними (вид, штам та бактеріальне навантаження) чинниками. З'ясування стійкості окремих видів та груп бактерій до дії пестицидів дає змогу передбачати їх поведінку в екосистемі агроценозу за пестицидного навантаження та є науковим підґрунтям для екологічно безпечного використання пестицидів. Аналіз результатів дає підставу стверджувати, що застосування пестицидів з низькими нормами витрат сприятиме зниження сезонного токсикологічного навантаження на агроценози та створенню екологічних умов для підтримки життєдіяльності корисних для рослин мікроорганізмів, збереженню біорізноманіття мікробіоти, здійсненню біорегуляції потенційної активності процесів, задіяних в біохімічному перетворенні пестицидів і самовідновленні агроценозу плодівих культур за пестицидного навантаження.

БАКТЕРІАЛЬНА ДЕСТРУКЦІЯ ПЕСТИЦИДІВ ЯК СКЛАДОВА ПРИРОДНИХ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ РЕЧОВИН ТА САМОВІДНОВЛЕННЯ АГРОЦЕНОЗІВ

Деструкція пестицидів за участі позаклітинних метаболітів бактерій.
 Вперше розкрито екологічні механізми деструкції пестицидів та зниження пестицидного навантаження на агроценози за участі бактерій-асоціантів рослин, що зумовлено наявністю еволюційно сформованої пластичної багатофункціональної ферментативної системи. Доведено, що один із способів деградації пестицидів здійснюється за опосередкованої участі позаклітинних метаболітів бактерій, має відношення до життєдіяльності мікроорганізмів як складової гетеротрофної ланки, яка виконує виняткову екологічну роль у самовідновленні агроценозів, здійснюючи деструкцію токсинів природного та антропогенного походження, в т.ч. пестицидів.

За участі екзометаболітів сапрофітних бактерій родів *Pseudomonas* та *Klebsiella* фунгіцидна дія препаратів Ридоміл, Акробат, Хорус у 1,0 НВ вже за 48-годинної експозиції з бактеріями знижується на 9,3-46,1 % щодо контролю, про що свідчить зменшення зони затримки росту міцелію фітопатогенних мікроміцетів *Fusarium oxysporum*. *Kl. terrigena* характеризуються вищою деструктивною активністю щодо металаксилу, манкоцебу, *Ps. fluorescens* – до ципродинілу (табл. 5). Результати досліджень дозволяють розглядати можливості біорегулювання процесів деструкції пестицидів за використання ферментативного потенціалу бактерій як перспективні. Внесок цього механізму в самовідновленні агроценозів досі належно не висвітлено.

Таблиця 5

Оцінка фунгіцидної дії препаратів після 48-годинної експозиції з бактеріями родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* (2002-2005 рр.)

Фунгіциди		Групи бактерій				
назва (діюча речовина)	вміст пестициду, норма витрат (НВ)	фітопатогенні		умовно патогенні	сапрофітні	
		<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 8511	<i>E. amylovora</i> 9057	<i>Kl. pneumonia</i> 3785	<i>Kl. terrigena</i> 8008	<i>P. fluorescens</i> 8655
		пригнічення росту тест-культур міксоміцетів <i>Fusarium oxysporum</i> порівняно з контролем, (%)				
Ридоміл Голд (металаксил)	0,25	99,79	100,44	74,53	72,46	79,09
	0,5	100,00	99,99	66,66	64,67	75,00
	1,0	99,08	100,00	84,62	76,92	90,77
	2,0	100,00	100,12	86,25	81,25	90,00
Акробат МЦ (диметоморф + манкоцеб)	0,25	99,43	100,00	75,47	74,52	73,58
	0,5	100,00	100,29	66,67	57,97	66,67
	1,0	99,72	100,00	68,96	66,48	82,65
	2,0	100,00	100,00	78,12	75,00	81,25
Хорус (ципродиніл)	0,25	90,56	99,62	0,00	0,00	0,00
	0,5	96,66	100,00	0,00	0,00	0,00
	1,0	99,23	100,76	54,96	54,20	53,89
	2,0	99,87	101,33	73,33	74,67	64,67
Контроль (без пестицидів)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Здатність бактерій-асоціантів використовувати складові пестицидів в якості джерела біогенних елементів як показник деструктивної активності. Визначали за інтенсивністю росту на модифікованому середовищі, де пестициди слугували джерелом живлення. Встановлено високий рівень деструктивної активності сапрофітних бактерії родів *Pseudomonas* та *Klebsiella*, які здатні використовувати фунгіцид Хорус, інсектициди Актара і Карате, гербіцид Гліфос за 1,0 НВ, фунгіцид Ридоміл – за 0,12-0,25 НВ як джерело біогенних елементів, за рахунок чого відбувався їх ріст і розмноження. Фітопатогенні бактерії не здатні використовувати досліджувані пестициди в якості джерела живлення. Отримані результати свідчать про ще один спосіб біодеградації пестицидів у агроценозах: бактерії здатні використовувати пестициди в якості джерела живлення, що вказує на важливу роль сапрофітів у самоочищенні агроценозів.

Особливості деструкції ароматичних сполук бактеріями родів *Klebsiella* та *Pseudomonas* (на прикладі карболової кислоти). Понад 90 % досліджуваних

пестицидів містять бензольне кільце, що є стійким до фізико-хімічних чинників довкілля, тому спричиняють забруднення. Встановлено, що деструкція ароматичних сполук бактеріями родів *Pseudomonas* та *Klebsiella* відбувається за дії екзоферменту фенолоксигенази, який виділяється в оточуюче середовище і каталізує окислення бензольного кільця з утворенням нетоксичних сполук (вуглекислоти та води), (2006-2010 рр.). Бактерії ефективно розкладають карболову кислоту в діапазоні 20-500 мг/л, що перевищує ГДК у тисячі разів, як у середовищі, збагаченому органічною речовиною, так і використовують в якості єдиного джерела живлення, ефективніше – в умовах кометаболізму. Загальні закономірності деструкції для бактерій вказаних родів подібні. Встановлено залежність між швидкістю розкладу та вмістом токсиканта ($r = 0,81-0,99$). Сапрофітні бактерії, що проявляють найвищу деструктивну здатність, можна розглядати як перспективні біоагенти для розробки безпечних методів очищення забруднених сполуками агроценозів (біоремедіації).

Особливості деструкції тіюціанатів бактеріями родів *Klebsiella* та *Pseudomonas* (на прикладі тіюціанату калію). Тіюціанати, як пестициди, високотоксичні для біоти, їх норми витрат високі (10-300 кг/га), тому пошук мікроорганізмів-деструкторів тіюціанатів є актуальним. Встановлено, що бактерії родів *Klebsiella* та *Pseudomonas* високотолерантні до тіюціанатів (20-2000 мг/л), а процес біодеструкції залежить від наявності додаткових біогенних речовин в середовищі (рис. 8). *Pseudomonas* здійснюють деструкцію тіюціанату калію в умовах кометаболізму. Бактерії роду *Klebsiella* здатні використовувати токсикант в якості джерела біогенних елементів. За 50-250 мг/л KSCN, що відповідає нормам витрат препарату в якості десиканта, деструкція здійснюється на 3-6 добу з утворенням нетоксичних сполук (амонійних і сульфатних іонів), ($K = 1,02-1,35$; $T_{50} = 0,51-1,05$).

Влив екологічних чинників на процес біодеструкції пестицидів. Дослідження є важливими для розуміння екологічних механізмів деструкції пестицидів, прогнозування їх вмісту в агроценозах за певних ґрунтово-кліматичних умов і негативних наслідків їх застосування, оскільки, знання в цій області є фрагментарними.

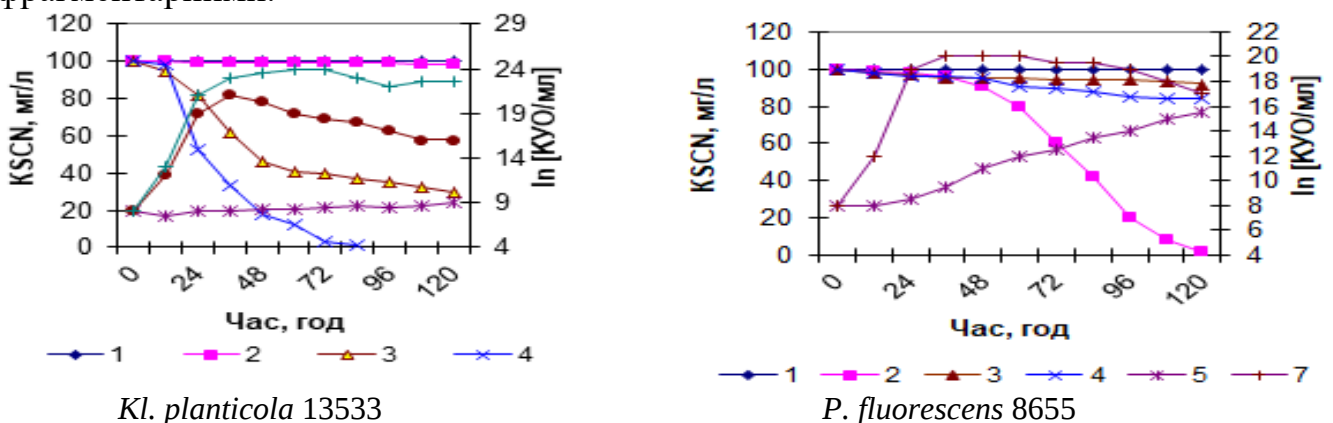


Рис. 8. Динаміка біодеструкції тіюціанату калію та чисельності бактерій у мінеральному рідкому середовищі (МС), (2002-2003 рр.)

Примітки: 1 – вміст KSCN у середовищі МС без бактерій (контроль); 2 – вміст KSCN у МС модифікованому – глюкоза + бактерії; 3 – вміст KSCN у МС повноцінному + 0,5 г/л глюкози + бактерії; 4 – вміст KSCN у МС повноцінному + 5,0 г/л глюкози + бактерії; 5 – чисельність бактерій у МС модифікованому – глюкоза + KSCN; 6 – чисельність бактерій у МС повноцінному + 0,5 г/л глюкози + KSCN; 7 – чисельність бактерій у МС повноцінному + 5,0 г/л глюкози + KSCN.

Встановлено, що ефективність розкладу тіоціанатів визначається біотичними та абіотичними чинниками. За використання попередньо адаптованих штамів в 2 рази зменшується тривалість розкладу 225 мг/л KSCN (рис. 9). Із збільшенням вмісту KCNS до 500-1000 мг/л деструктивна активність *Klebsiella* спостерігається по закінченню лаг-періоду, що триває 3-4 доби ($K = 0,05-0,10$; $T_{50} = 3,01-11,55$). На перебіг процесу впливає бактеріальне навантаження, оптимальними є температура 20-32 °С, концентрація NaCl 5,0-10,0 г/л, pH 6-7 (рис. 10). Встановлено кореляційну залежність між швидкістю деструкції та вмістом токсиканта ($r = 0,86-0,98$). Отже, сапрофітні бактерії роду *Klebsiella*, що проявляють здатність до деструкції, є перспективними для інтродукції на забруднені тіоціанатами агроценози.

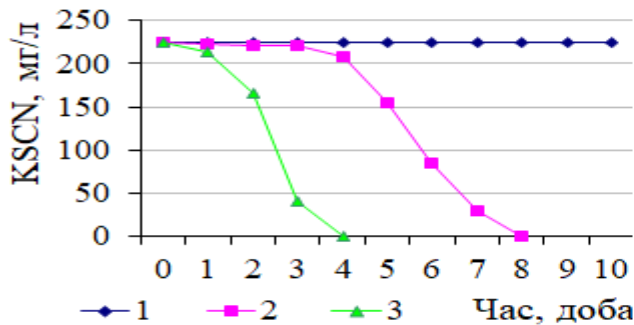


Рис. 9. Динаміка деструкції KSCN бактеріями *Kl. planticola* 33531 (1 – контроль (без бактерій); 2 – колекційним штамом; 3 – адаптованим штамом)

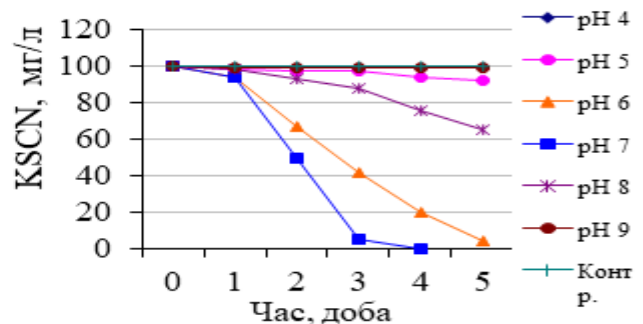


Рис. 10. Динаміка деструкції KSCN бактеріями *Kl. planticola* 33531 залежно від pH середовища

ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ХІМІЧНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ ЯБЛУНІ ВІД ШКІДЛИВИХ ОРГАНІЗМІВ

Результати досліджень свідчать, що для формування екологічно безпечного асортименту пестицидів важливим є розуміння особливостей взаємодії пестицидів з мікробіотою агроценозу, врахування їх токсикологічного потенціалу, що залежить від норми витрат. Застосування розробленої системи захисту яблуні дало змогу захистити насадження від шкідливих організмів. Використані фунгіциди Купроксат (в фазу зеленого конуса), Хорус (в фази рожевого бутону, росту плодів), Скор (в фази формування, росту плодів) знижують розвиток поширених хвороб (парші, борошнистої роси, моніліозу) на 76,5-83,4 %; інсектицид Карате Зеон (в фазу зеленого конуса, формування і росту плодів), Актара (в фазу росту плодів), акарициду Омайт (в фазу росту плодів) – чисельність фітофагів на 78,5-85,0 %, кліщів – на 92,5 %; гербіцид Фюзілад Форте забезпечує тривалу захисну дію проти поширених бур'янів. Технічна ефективність від розробленої технології становить 76,5-92,5 %; приріст урожаю яблуні – 13,1 т/га; рівень рентабельності – 87,25 %.

Використані пестициди Хорус, Скор, Карате, Актара з нормами витрат 0,1-0,3 кг, л/га ефективні, не мали негативного впливу на асоційовані з рослинами епіфітні бактерії (родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Panthoea*, *Klebsiella*), оскільки не знижується їх чисельність та ферментативний потенціал. Використання цих пестицидів сприяє збереженню біорізноманіття природних угруповань мікробіоти та створенню екологічних умов для здійснення процесів самовідновлення агроценозу.

ВИСНОВКИ

За результатами теоретичних узагальнень і експериментальних досліджень розкрито екологічні закономірності взаємодії асоційованої з рослинами мікробіоти, як структурно-функціональної складової агроценозу плодових культур, із сучасними пестицидами різного призначення, висвітлено вплив пестицидів на процеси життєдіяльності бактерій-асоціантів рослин, механізми біодеструкції пестицидів, роль асоціативної мікробіоти у зниженні пестицидного навантаження на агроценози плодових культур та їх самовідновленні, наведено нові підходи щодо критеріїв вибору пестицидів для формування екологічно безпечного асортименту.

1. Чисельність природних угруповань епіфітної мікробіоти яблуні та груші впродовж вегетації знаходиться в межах 10^4 - 10^6 кл/г бруньок, квітів, листків; найбільша чисельність епіфітних мікроорганізмів спостерігається у фенофазу набухання бруньок та цвітіння (10^6 кл/г зразку), найменша – у фенофазу формування плодів (10^4 кл/г зразку), у фенофазу росту та дозрівання плодів їх чисельність зростає (10^5 кл/г зразку). Встановлено кореляційну залежність між температурою, вологістю та чисельністю епіфітних мікроорганізмів філоплани плодових культур ($r = 0,77$ - $0,83$); за застосування пестицидів чисельність епіфітів відновлюється на 10-ту добу.

2. Таксономічну структуру, в т.ч. видовий склад епіфітної мікробіоти плодових культур у період росту та формування плодів представлено мікроорганізмами: *Ps. fluorescens* (45,5 %) > *P. agglomerans* (27,5 %) > *Bacillus sp.* (10,5 %) > *Pseudomonas sp.* (7,5 %) > гриби та дріжджі (3,5 %) > *Xanthomonas sp.* (до 3,0 %) ≥ інші (2,5 %).

3. Доведено високу стійкість і деструктивну активність угруповань мікробіоти агроценозу плодових культур щодо сучасних пестицидів різного призначення за рекомендованих норм. Частка мікроорганізмів, резистентних до дії пестицидів Хорус, Скор, Карате, Раундап, складає 48,4-90,5 %; найвищу стійкість проявляє епіфітна мікробіота (55,6-90,5 %); середню – ризосферна (50,0-87,5 %), найменшу – ґрунтова (48,4-75,0 %). Частка бактерій, здатних розкладати пестициди, знаходиться у межах 12,5-53,9 %; деструкторами пестицидів є 16,9-53,9 % епіфітних бактерій, 14,1-31,3 % – ризосферних та 12,5-20,3 % – ґрунтових.

4. Бактерії-асоціанти рослин родів *Pseudomonas*, *Klebsiella* та *Erwinia* резистентні і слабкочутливі до дії Хорусу, Актара, Карате, Омайту, Фюзіладу Форте, Гліфосу та чутливі – до Ридомілу Голд, Курзату, Акробату за рекомендованих норм. У порядку зменшення резистентності бактерії розміщено: сапрофітні ≥ умовно патогенні > фітопатогенні; за родами: *Klebsiella* > *Pseudomonas* > *Erwinia*.

5. На бактерії проявляють бактерицидну дію 22,0 % досліджуваних пестицидів, інгібуючу – 12,9 %, не проявляють впливу – 65,1 %. У порядку зменшення впливу на життєдіяльність бактерій пестициди різного призначення розміщено: фунгіциди > гербіциди та десиканти > акарициди та інсектициди.

6. Фунгіциди Ридоміл Голд, Курзат за рекомендованих норм на 10-30 % знижують фітопатогенну активність збудників бактеріозів рослин та патологічний процес, який вони спричиняють.

7. Фунгіциди Ридоміл Голд, Акробат за рекомендованих норм знижують каталазну активність бактерій родів *Klebsiella* та *Pseudomonas*, що бере участь у регулюванні процесів деструкції: сапрофітів – на 23,8-34,0 %, фітопатогенів – на

100 %; Хорус та Карате знижують ферментативну активність сапрофітів на 4,0-7,3 %, фітопатогенів – на 38,81-49,1 %, що корелює з нормою витрат ($r = 0,81-0,93$).

8. Встановлено збереження високого рівня фітостимулюючого біопотенціалу позаклітинних метаболітів сапрофітних бактерій роду *Klebsiella* за культивування в присутності пестицидів Хорус та Карате у рекомендованих нормах. За бактеризації насіння тест-рослин штамами *Kl. planticola* 33531, *Kl. terrigena* 8008 підвищується схожість насіння на 20,1-41,3 %, ріст коренів та стебел – на 17,7-120 %.

9. Розкрито механізми деструкції пестицидів за участі бактерій-асоціантів рослин, які відбуваються: 1) за здатності бактерій використовувати пестициди в якості джерела біогенних елементів, за рахунок чого відбувається їх ріст і розмноження; 2) за опосередкованої дії позаклітинних метаболітів бактерій, що має відношення до їх життєдіяльності, як складової гетеротрофної ланки агроценозу. За участі екзометаболітів бактерій фунгіцидна активність препаратів Хорус, Акробат, Ридоміл знижується на 9,33-46,11 % після 48-годинної експозиції з бактеріями.

10. Процес деструкції ароматичних сполук бактеріями родів *Pseudomonas* та *Klebsiella* здійснюється за дії екзоферменту фенолоксигенази, швидкість розкладу залежить від вмісту токсиканта, вищу здатність до деструкції 20-500 мг/л карболової кислоти проявляють сапрофіти *Ps. fluorescens*, *Kl. terrigena*.

11. Сапрофітні бактерії роду *Klebsiella* здатні до деструкції тіоціанату калію, використовують токсикант в якості джерела біогенних елементів. За 50-250 мг/л тіоціанату калію деструкція штамами *Kl. planticola* 33531, *Kl. terrigena* 8008 здійснюється за 3-6 діб ($K = 1,02-1,35$; $T_{50} = 0,51-1,05$). Оптимальними умовами для біодеструкції тіоціанату калію є температура 20-32° С, концентрація NaCl 5,0-10,0 г/л, рН 6-7, попередня адаптація культур.

12. Встановлено рівень кореляційної залежності між чутливістю бактерій до дії пестицидів, активністю їх ферментативної системи, швидкістю біодеструкції пестицидів та рекомендованою нормою витрат препаратів ($r = 0,81-0,99$).

13. Показники економічної ефективності за застосування розробленої хімічної системи захисту яблуні: технічна ефективність становить 76,5-92,5 %; приріст урожаю яблуні –13,1 т/га; рівень рентабельності – 87,25 %.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Під час планування та вибору хімічних препаратів з метою екологічно безпечного захисту агроценозів плодових культур від шкідливих організмів та збереження біорізноманіття надавати перевагу препаратам, ефективним за низьких норм витрат (фунгіцидам Хорус 75WG, в.р.г. (0,2-0,3 кг, л/га), Скор, 250 ЕС к.е. (0,2-0,3 кг, л/га), інсектицидам Карате Зеон, 050 CS мк.с.(0,15-0,3 кг, л/га), Актара 25 WG, в.г. (0,1-0,14 кг, л/га), гербіциду Фюзилад Форте 150ЕС, к.е.(0,5-1,0 кг, л/га), які не виявляють негативного впливу на асоційовану з рослинами корисну мікробіоту.

2. Виробникам пропонуються сапрофітні штами бактерій роду *Klebsiella* (*Kl. terrigena* 8008, *Kl. planticola* 33531) з високим фітостимулюючим біопотенціалом, які є перспективними для використання в практиці екологічного землеробства та створення на їх основі біопрепаратів.

3. Для деструкції залишків пестицидів у агроценозах плодових культур

інтродукувати сапрофітні бактерії роду *Klebsiella*, що дасть змогу попередити негативні наслідки застосування пестицидів, знизити токсикологічне навантаження та забезпечить самовідновлення агроценозу без додаткових енергетичних затрат.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз:

1. Копча Н.М. Стійкість та деструктивна активність мікробіоти плодового саду до сучасних пестицидів. *Агроекологічний журнал*. 2017. № 1. С. 101-106.

Статті у фахових виданнях України:

2. Копча Н.М., Садляк А.М., Лукач М.І. Деструктори тіоціанатів. *Захист рослин*. 2002. № 1. С. 10. (Опрацьовано джерела літератури, підготовано дослід, отримано й узагальнено результати, написано та підготовлено статтю до друку).

3. Копча Н.М., Садляк А.М. Деструкція тіоціанатів бактеріями роду *Klebsiella* за впливу різних абіотичних факторів. *Захист рослин*. 2002. № 3. С. 19. (Підготовано та проведено дослід, узагальнено результати, написано статтю).

4. Копча Н. М., Садляк А.М. Пестициди і життєдіяльність бактерій. *Захист рослин*. 2002. № 8. С. 12-13. (Опрацьовано джерела літератури, проведено дослідження, написано та підготовлено статтю до друку).

5. Копча Н.М. Вплив пестицидів на життєдіяльність бактерій. *Захист і карантин рослин*. 2003. Випуск 49. С. 223-232.

6. Копча Н.М., Садляк А.М. Вплив пестицидів на прояв патогенних властивостей деяких бактерій. *Захист і карантин рослин*. 2006. Випуск 52. С. 229-235. (Опрацьовано дані літератури, проведено дослідження, написано статтю).

7. Копча Н.М. Формування угруповань епіфітної мікробіоти плодів культур за рекомендованого пестицидного навантаження. *Захист і карантин рослин*. 2017. Випуск 63. С. 86-97.

Статті у наукових виданнях України:

8. Копча Н.М. Вплив пестицидів на збудників бактеріозів плодів. *Науковий вісник УжНУ. Серія: Біологія*. 2004. Випуск 14. С. 137-142.

9. Копча Н.М., Садляк А.М., Бокшан О.Я. Фенолоксидазна активність бактерій родів *Pseudomonas* та *Klebsiella*, їх здатність до детоксикації фенолу. *Науковий вісник УжНУ. Серія: Біологія*. 2010. Випуск 28. С. 19-22. (Опрацьовано джерела літератури, підготовано та проведено дослідження, написано статтю).

Тези доповідей за матеріалами наукових конференцій:

10. Копча Н.М. Вплив пестицидів на реакцію надчутливості на листі тютюну. *Засади сталого розвитку аграрної галузі: Мат. всеукр. конф. молод. вч. (Київ, 28-30 жовт. 2002 р.)*. Київ, 2002. С. 102-103.

11. Копча Н.М. Деструкція фунгіцидів бактеріями родів *Klebsiella* та *Pseudomonas*. *Інтегрований захист рослин на початку XXI століття: Мат. міжн. наук.-практ. конф. (Київ, 26 квіт. 2004 р.)*. Київ, 2004. С. 548-554.

12. Копча Н.М., Пал Д.І. Вплив бактерій на фунгіцидну активність препаратів. *Екологічно обґрунтований захист рослин: Тези доп. конф. молод. уч. (Київ, 4-7 жовт. 2005 р.)* Київ, 2005. С. 189-193.

13. **Копча Н.М.**, Садляк А.М., Бокшан О.Я. Стійкість до дії фенолу та фенолоксигеназна активність бактерій-асоціантів рослин. *Фітосанітарна безпека та біоекологія застосування пестицидів*: Тези доп. всеукр. конф. (Чернівці-Бояни, 14-17 вер. 2010 р.). Чернівці-Бояни, 2010. С. 63-67.
14. Копча Н.М. Экологическая оценка действия пестицидов на трофические группы почвенных микроорганизмов. *Биология – наука XXI века*: Мат. 15-й Межд. конф. молод. учен. (Пушино, 18-22 апр. 2011 г). Пушино, 2011. С. 236.
15. Копча Н.М. Вплив позаклітинних метаболітів бактерій роду *Klebsiella* на процеси росту рослин в умовах пестицидного навантаження. *Біологічні дослідження – 2017*: Збірн. наук. праць VIII всеукр. наук.-практ. конф. з міжн. уч. (Житомир, 14-16 бер. 2017 р.). Житомир, 2017. С. 169-171.
16. Копча Н.М. Ферментативна активність бактерій родів *Pseudomonas* та *Klebsiella* за пестицидного навантаження. *Біологічні дослідження – 2018*: Збірн. наук. праць IX Всеукр. наук.-практ. конф. з міжн. уч. (Житомир, 13-15 бер. 2018 р.). Житомир, 2018. С. 208-211.
17. Копча Н.М. Фітостимулююча та антагоністична дія екзометаболітів бактерій родів *Pseudomonas* та *Klebsiella* за інокуляції насіння штамми, культивованими в умовах пестицидного навантаження. *Сучасні проблеми ведення сільського господарства та підготовки фахівців аграрного профілю*: Тези наук.-практ. конф. (Біла Церква, 18 лют. 2018 р.). Біла церква, 2018. С. 11-12.
18. Копча Н.М. Екологізація системи захисту яблуні від шкідливих організмів в умовах низинної агрокліматичної зони Закарпаття. *Аграрна освіта та наука: досягнення і перспективи розвитку*: Тези наук.-практ. конф. (Біла Церква, 4-5 бер. 2021 р.). Біла церква, 2021. С. 253-255.

Подяки. Висловлюю глибоку подяку моєму науковому керівнику, д. с.-г. н., академіку НААН Борзих О.І.; д.с.-г.н., завідувачу лабораторії мікробіологічного методу захисту рослин ІЗР НААН Ткаленко Г.М; д.б.н., заступнику директора ІГБ НАНУ Юришинцю В.І. за консультації та підтримку.

АНОТАЦІЯ

Копча Н.М. Асоційовані з рослинами бактерії – біодеструктори пестицидів у агроценозах плодових культур. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.16 «Екологія». – Інститут захисту рослин Національної академії аграрних наук, Київ, 2021.

Дисертація присвячена вивченню екологічних особливостей взаємодії асоційованої з рослинами мікробіоти, як структурно-функціональної складової агроценозу плодових культур, із пестицидами різного призначення.

Визначено динаміку чисельності, таксономічну структуру, в т. ч. видовий склад епіфітної мікробіоти яблуні та груші впродовж вегетації в умовах низинної агрокліматичної зони Закарпатської провінції Карпатської гірської області України; вплив пестицидів на процеси життєдіяльності мікроорганізмів, стійкість та деструктивну активність угруповань епіфітної, ризосферної та ґрунтової мікробіоти агроценозу щодо дії пестицидів. Розкрито механізми деструкції пестицидів за участі

бактерій-асоціантів рослин, роль епіфітної мікробіоти у зниженні пестицидного навантаження. Висвітлено принципи екологічно безпечного застосування пестицидів, що сприяє збереженню біорізноманіття природних угруповань мікробіоти та створенню екологічних умов для самовідновлення агроценозів.

Ключові слова: бактерії-асоціанти рослин, угруповання, мікробіота, біодеструкція, пестициди, агроценоз, яблуня, груша, захист рослин.

АННОТАЦИЯ

Копча Н.М. Ассоциированные с растениями бактерии – биодеструкторы пестицидов в агроценозах плодовых культур. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.16 «Экология». – Институт защиты растений Национальной академии аграрных наук, Киев, 2021.

Диссертация посвящена изучению экологических особенностей взаимодействия ассоциированной с растениями микробиоты, как структурно-функциональной составляющей агроценоза плодовых культур, с пестицидами.

Изучено динамику общей численности, таксономическую структуру, в т. ч. видовой состав сообщества эпифитных микроорганизмов яблони и груши за период вегетации в низменной агроклиматической зоне Закарпатской провинции Карпатской горной области Украины; действие пестицидов на процессы жизнедеятельности микроорганизмов; устойчивость и деструктивную активность эпифитной, ризосферной и почвенной микробиоты агроценоза к пестицидам. Показаны механизмы деструкции пестицидов при участии бактерий-асоциантов растений, роль эпифитной микробиоты плодовых культур в снижения пестицидной нагрузки. Освещены принципы экологически безопасного применения пестицидов, что способствует сохранению биоразнообразия природных сообществ микробиоты и созданию экологических условий для самовосстановления агроценозов.

Ключевые слова: бактерии-ассоцианты растений, сообщества, микробиота, биодеструкция, пестициды, агроценоз, яблоня, груша, защита растений.

ABSTRACT

Kopcha N.M. Plant-associated bacteria are biodestructors of pesticides in agroecosystems of fruit crops. – On the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of candidate of agricultural sciences in the specialty 03.00.16 “Ecology”. – Institute of plant protection National Academy of Agrarian Sciences, Kyiv, 2021.

Modern intensive technologies in crop production involve the use of pesticides, some of which enter the environment as anthropogenic pollutants.

The thesis highlights the ecological features of the interaction of plant-associated microbiota, as a structural and functional component of fruit agroecosystem, with modern pesticides for various purposes, analyzes the impact of pesticides on the life of microorganisms, considers the role of microorganisms in reducing pesticide load and self-cleaning of agroecosystems from pesticide residues.

Based on the conducted monitoring, for the first time for the Transcarpathian region the dynamics of population, taxonomic structure, incl. species composition of epiphytic

microorganisms groups of apple and pear phyllophages during the growing season were determined, which depends on a number of factors: abiotic, biotic and anthropogenic.

It has been found that the total number of groups of epiphytic microbiota of apple and pear is in the range of 10^4 - 10^6 cells/g of buds, flowers, leaves. The largest number of epiphytic is observed in the phenophase of bud swelling and flowering (10^6 cells/g), much smaller number is observed during fruit formation (10^4 cells/g), during periods of fruit growth and ripening the number of microorganisms increases (10^5 cells/g). According to the set of properties, fungal isolates are assigned to the genera *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, bacterial – to the genera *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Pantoea*.

In the microbiota of the fruit agrocenosis, the proportion of pesticide-resistant bacteria is 48,4-90,5 %. The highest resistance to pesticides is shown by the epiphytic (55,6-90,5 %); the middle – rhizospheres (50,0-87,5 %), the smallest – soil microorganisms (48,4-75,0 %). It has been found that the share of microorganisms capable of decomposing pesticides and using them as a source of nutrients is in the range of 12,5-53,9 % and is high. On according to their resistance to pesticides, bacteria are distributed as follows: saprophytic $\geq$ opportunistic $>$ phytopathogenic; by genera: *Klebsiella* $>$ *Pseudomonas* $>$ *Erwinia*. According to the action on bacteria pesticides are distributed as follows: fungicides $>$ herbicides and desiccants $\geq$ acaricides and insecticides.

It has been found that the fungicides metalaxyl-M + mancozeb, cyprodinil, cymoxanil + copper oxychloride affect the pathogens of plant bacteriosis, inhibiting the manifestation of phytopathogenic properties of the bacterium (*P. syringae*, *R.(P.) solanacearum*, *Er. amylovora*) and the pathological processes they cause by 10-30 %.

The ecological ways of destruction of pesticides with the participation of bacteria-plant associates are revealed. It has been proven that one of the ways of degradation of pesticides and reduction of pesticide load on agroecosystems carried out with the participation of extracellular metabolites of bacteria. The fungicidal activity of cyprodinil, metalaxyl-M+mancozeb, dimetomorph+mancozeb is reduced by 9,33-46,11 % after 48 hours of action of extracellular metabolites of bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Klebsiella*. Another way of degradation is due to the ability of bacteria-associates to use pesticides as a source of nutrients, due to which they grow.

The research results confirm that plant-associated bacteria, as a component of the heterotrophic part of agrocenoses, can destroy modern pesticides in the natural cycle of substances, until their complete mineralization. The research results confirm that plant-associated epiphytic bacteria play an important role in cleaning agroecosystems from pesticide residues and allow us to consider them as a promising source of biodestructors. Environmentally prevalent bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Klebsiella* are promising for bioremediation as a biological factor in the detoxification of pesticides.

The thesis proposes principles of environmentally safe use of pesticides, contributing to the conservation of biodiversity of natural microbiota communities and the creation of environmental conditions for self-healing of agrocenoses. The conducted research is important for understanding the ecological mechanisms of biodegradation of pesticides in the environment, the possibilities of bioregulation of self-cleaning processes of agroecosystems.

Key words: plants associated bacteria, community, grouping of microorganisms, destruction, pesticides, agrocenosis, apple-tree, pear-tree, plant protection.