

ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ БІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ЗА ЗАСТОСУВАННЯ СТИМУЛЮЮЧИХ ТА ДОПОМІЖНИХ РЕЧОВИН

А.Т. ГАВРИЛЮК¹, М.П. СОЛОМІЙЧУК¹, О.В. КУШНІР²

¹Українська науково-дослідна станція карантину рослин ІЗР НААН
вул. Наукова, 4, с. Бояни 60321, Чернівецький р-н, Чернівецька область
e-mail:allona_melnik@ukr.net

²Чернівецький національний університет імен Юрія Федьковича
Вул. Коцюбинського 2, Чернівці, Україна, 56012

Проведена перевірка токсичності комплексів стимулюючих речовин та похідних амонійних солей дигідропірімідину на бактерії штаму AP-33 *Pseudomonas fluorescens*. Відібрано комбінації які не проявили зниження концентрації життєздатних клітин бактерій нижче норми. Застосування комплексу речовин, що включав 0,1% р-н ксимедона, 0,2% р-н буриштинової кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО забезпечило титр життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* в рекомендованих межах і складав на 15 день $2,98 \cdot 10^9$ КОУ/см³.

В роботі представлені дослідження ефективності дії біопрепаратів на основі *Pseudomonas fluorescens* штаму AP-33 у поєднанні з системою мікроелементного підживлення та стимулюючих речовин на насадженнях картоплі. В результаті використання біокомплексів, у поєднанні з хелатами спостерігається підвищення вегетаційних показників картоплі. Вага та кількість бульб картоплі в одному куці у ряді комбінацій були вищими за показники без хелатів. Найкращий результат проти альтернаріозу картоплі показала комбінація *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + буриштинова кислота + ДМАЕ + ДМСО хелат 1 (3,6%), забезпечивши фунгіцидну ефективність в межах 66,4%. Проти фітофторозу, кращі показники забезпечила комбінація *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + буриштинова кислота + ДМАЕ + ДМСО хелат 2 (3,6%) з фунгіцидною ефективністю 84,8%.

Ключові слова: біологічні агенти; шкідники; біологічний препарат; стимулятор, ефективність препарату

Вступ. Концепція фітосанітарної оптимізації агроєкосистем ґрунтується на принципах максимальної активізації біоценотичних елементів регуляції чисельності популяцій шкідливих організмів на основі використання природних ресурсів корисних мікроорганізмів. Використання ентомопатогенів і мікробів-антагоністів, а також пошук методів їх активізації в системах захисту рослин в даний час набуває широкого поширення (Hardoim P.R., van Overbeek L.S., Berg G., Pirttilä A.M. et al. 2015; Борзих О.І., Шита О.В., Сергієнко В.Г., Ткаленко Г.М. 2020).

Систему біологічного контролю шкідливих організмів необхідно розглядати, як сукупність захисних заходів з використанням стійких сортів, випуску ентомоакарифагів і застосування біопрепаратів на основі фітосанітарного моніторингу і обліку діяльності корисних видів, що сприяє досягненню гомеостазу в штучних екологічних системах (Solomiichuk M., Gavriluck A., Píkovsky M. 2024). Біологічний метод ґрунтується на тому, що зниження чисельності будь-якого небажаного для людини виду мікроорганізму, рослини чи тварини можна

здійснити за використання його паразитів та антагоністів. Глибокі знання біологічних особливостей основних живих компонентів конкретних біоценозів та закономірностей їх функціонування є основою оптимального регулювання складу та чисельності окремих видів з урахуванням багатоцільових потреб людини, зокрема, економічних, природоохоронних, санітарно-гігієнічних (Карпенко В.П. 2012; Борзих О.І., Сергієнко В.Г., Ткаленко Г.М. 2021).

В даний час дуже активно пропагується система органічного землеробства. Тобто біологічний метод захисту рослин, як альтернатива хімічним методом, є невід'ємним компонентом системи для контролю шкідників і збудників захворювань сільськогосподарських культур. У захисті рослин від шкідників і хвороб широко застосовують мікробні препарати на основі різних видів мікроорганізмів і метаболітів, які вони синтезують. Біопрепарати застосовуються як інсектициди, фунгіциди і протруєвачі для захисту рослин від шкідників і хвороб. Слід зазначити, що біологічний метод ефективний за постійного поповнення

агроценозів біологічними агентами (Кирик Н. Н., Пиковский М. Й., Азаики С. 2016; Köhl J., Kolnaar R., Ravensberg W. J. 2019).

Важливу роль у пригніченні розвитку хвороб сільськогосподарських культур відіграють мікроби-антагоністи, які включають бактерії родів *Pseudomonas* sp. і *Bacillus* sp., а також гриби роду *Trichoderma* sp. Вони колонізують корені, стебла і листки рослин, а ефект захисної дії базується на спроможності клітин продукувати позаклітинні метаболіти (феназіни, сидерофори і ін.). Вони пригнічують ріст фітопатогенних грибів і бактерій, підвищують імунітет рослин (Mercado-Blanco J. 2007; Демидів О. А., Гаврилюк М. М., Бондарчук А. А. 2010; Ghadamgahi F., Tarighi S. 2022).

В світовій практиці створені і застосовуються понад 50 біологічних препаратів на основі вказаних антагоністів, що свідчить про перспективність і розширення сфери їх застосування для біоконтролю поширених патогенів із родів *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Xanthomonas* spp., *Alternaria* spp., *Botrytis* sp., *Colletotrichum* spp., *Helminthosporium* spp., *Phoma* spp., *Phytophthora* spp., *Verticillium* spp. та ін. виділених з сільськогосподарських культур. Варто зазначити, що ця група антагоністів істотно відрізняється від інших груп мікроорганізмів, які регулюють щільність шкідливих організмів в агроєкосистемах. Переважно це вільно живучі види, які належать до різних систематичних і еколого-фізіологічних груп і широко представлені в усіх екологічних нішах: ґрунті, ризо- і філосфері рослин. За умов високої щільності популяцій мікроби-антагоністи забезпечують стійкість екологічних зв'язків в мікробіоті рослин і здатні ефективно захистити їх від ураження збудниками хвороб різної етіології. Існує два основних способи використання природних ресурсів мікробів-антагоністів в захисті рослин від фітопатогенів: перший – створення умов для масового спонтанного розвитку мікроорганізмів за внесення органічних і мінеральних добрив, застосування оптимальних агротехнічних прийомів. Часткове збереження фізіологічної активності мікроорганізмів дає змогу їм за наявності сприятливих умов (надходження джерел живлення) швидко включатися в процеси життєдіяльності і здійснювати свої екологічні функції в ґрунтовому ценозі, в т. ч. і регуляцію щільності інших мікробних видів, включаючи і фітопатогенні. Другий спосіб – штучне внесення різних біопрепаратів для поповнення корисної мікробіоти. Тут провідне місце і займають

біопрепарати, які не тільки впливають на збудників хвороб різної етіології за рахунок комплексу антибіотиків і гідролаз, але і опосередковано захищають рослини за рахунок фіторегуляторної активності або методом підвищення його хворобостійкості (Петриченко В.Ф., Тихонович С.Я., Коць М.В. 2012; Мельник А. Т. 2014; Köhl, J., Kolnaar, R., Ravensberg W. J. 2019; Solomiichuk M., Gavrilluck A., Pikovsky M. 2024).

В останні роки увагу дослідників привернуто до використання живих культур неспоривих бактерій роду *Pseudomonas* spp., як засобу контролю збудників хвороб рослин. Аеробні бактерії цього роду широко населяють біосферу і беруть активну участь в процесах мінералізації органічних речовин, очищенні довкілля від забруднення. Доведено, що псевдомонади можуть позитивно або негативно впливати на розвиток сільськогосподарських рослин, оскільки деякі види з них патогенні, інші – сапрофіти, які відіграють важливу роль у захисті рослин від бактеріальних і грибних захворювань. Встановлено, що захисна дія псевдо монад зумовлена їхньою властивістю до активної колонізації кореневої системи і синтезом різноманітних антифунгальних сполук. Для захисту рослин широко застосовуються бактеріальні препарати на основі псевдомонад (Ризоплан, Бинорам, Планриз), спектр дії яких досить широкий: на зернових проти корневих гнилей, помідорах і огірках проти бактеріозу, фузаріозу, вертицильозу, риктоніозу, корневих гнилей, на капусті проти чорної ніжки, бактеріозів; в саду проти парші (Pham, J. V., Yilma, M. A., 2019; Ghadamgahi F., Tarighi S. 2022). Бактерії добре засвоюють різні органічні субстрати, швидше інших мікроорганізмів колонізують всю поверхню, продукують антибіотики і сидерофори, пригнічуючи розвиток фітопатогенних грибів.

Важливим аспектом в застосуванні біологічних препаратів є їх можливість поєднань з речовинами стимулюючої дії, для підвищення вегетаційних показників рослин та збільшення конкурентоспроможності з хімічними засобами захисту. Дане питання впродовж останніх років вивчалось колективом дослідників Української науково-дослідної станції карантину рослин ІЗР НААН.

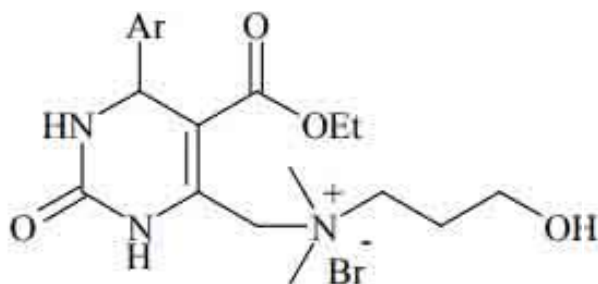
Матеріали і методи. Похідні 3,4-дигідропіримідин-2(1H)-ону привертають увагу дослідників як антиоксиданти та речовини які мають стимулюючий ефект на рослину (Вовк М.В., Кушнір О.В. 2010; Kushnir O.V., Voloshchuk O.N., 2014). В першу чергу це

відноситься до нових похідних, екзофункціоналізованих онієвими угрупованнями, оскільки відома висока фізіологічна активність гетероциклічних амонієвих та фосфонієвих сполук.

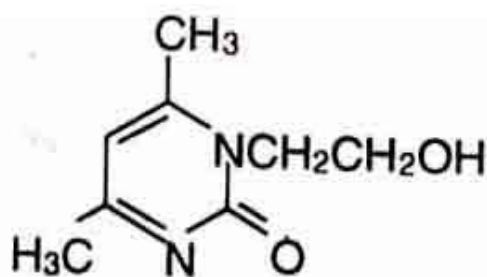
В співпраці з Чернівецьким національним університетом установою проведено роботу по випробуванню синтетичних антиоксидантів та стимулюючих речовин та визначення їх токсичності на бактеріях *Pseudomonas fluorescens*. Досліджуваними катіогенними

похідними метоксикарбонілдігідропіримідину були:

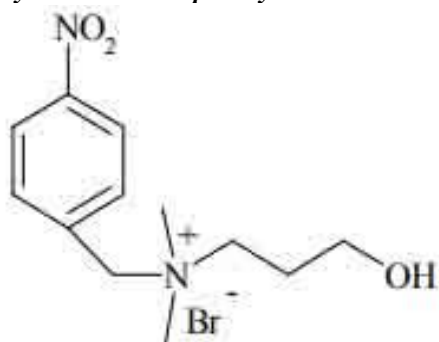
- похідні групи амонійних солей дігідропіримідину, які включають в шостому положенні циклу четвертинного амонійного угруповання і відрізняються природою заступника в четвертому положенні (амін 1, амін 2, амін 3);
- з'єднання дігідропіримідину синтезовані на основі реакції циклоконденсації Біджінеллі;
- ксемидон - гідроксіетилдіметилдігідропіримідін.



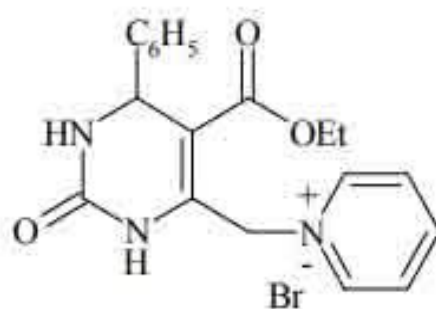
Сполуки, що містять в шостому положенні дігідропіримідинового циклу четвертинну амонійну групу і відрізняються природою заступника в четвертому положенні



Ксемидон



З'єднання дігідропіримідину синтезовані на основі реакції циклоконденсації Біджінеллі



Було сформовано серію дослідів з поєднанням стимулюючих речовин та похідних амонійних солей дігідропіримідину, після чого визначали їх токсичний вплив на бактерії штаму AP-33 *Pseudomonas fluorescens*. Концентрацію життєздатних клітин (колонієутворюючі одиниці) КУО/см³ визначали за методом Коха. Контролем виступало середовище на м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) та препарат на основі бактерії *Pseudomonas fluorescens* згідно ТУ 20.15-00717867-006:2013. Аналіз титру препарату проводили на 5 день після його приготування, та 10, 15 день збереження. Оптимальний титр застосування препарату при використанні в польових дослідженнях становить (3,0-2,7) 10⁹ КУО/см³.

Серед стимулюючих речовин, досліджувалися: бурштинова кислота (етан-1,2-дикарбонова кислота НООС(СН₂)₂СООН) та

сечовина або карбамід (CO(NH₂)₂, діамід вуглецевої кислоти).

Для покращення ефективності комбінацій були використані допоміжні речовини:

Диметилсульфоксид (ДМСО) - хімічна речовина з формулою - (СН₃)₂SO. Біполярний розчинник. Використовується для збільшення трансканевого перенесення діючих речовин

Диметиламіноетанол (DMAE) - імунопротектор, який впливає на різні трансмембранні функції.

У польових умовах також були проведені досліді з вивчення поєднання біологічних комплексів з хелатованими мікроелементами:

Хелат 1. Мо+Со+В (Мо-100г/л, Со-10г/л, В-8г/л)

Хелат 2. Fe+Mn+Zn+Мо+Со+В (Fe-40г/л, Mn-40г/л, Zn-15г/л, Мо-5г/л, Со-1г/л, В-8г/л).

Визначення ефективності препаратів проводили за загально прийнятими методиками (С.О. Трибель, 2001, Чабанюк Я.В. 2013).

Всі статистичні обрахунки проводили із використанням пакету прикладних програм STATISTICA 6.0. Проведено роботу з аналізу можливості впливу поєднання препарату на основі бактерій *Pseudomonas fluorescens* з речовинами групи амонійних солей дигідропіримідину та речовин стимулюючої природи (мікроелементи) на вегетаційні

показники картоплі, а також їх ефективність для забезпечення фітосанітарного стану посівів.

Результати та обговорення. За результатами досліджень відмічено, що концентрація життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* в приготованих препаратах не приводили до значного зниження їх титру нижче норми (табл.1). Проте слід відмітити, що на 10 та 15 день аналізу деякі комбінації показали зниження титру життєздатних клітин в препараті в порівнянні з контролем.

Таблиця 1.

Вплив препаратів групи амонійних солей дигідропіримідину на титр бактерій Pseudomonas fluorescens (лабораторний, УкрНДСРП ІЗР, 2021-2022)

Table 1.

Effect of dihydropyrimidine ammonium salts on the drug titer Pseudomonas fluorescens bacteria (laboratory, USRPQS IPP, 2021-2022)

Варіанти	Концентрація життєздатних клітин в препараті (10^9 КОУ/см ³)		
	5 доба	10 доба	15 доба
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3,06	3,02	3,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідину (0,5 % р-н ксемидону)	3,12	2,91	2,88
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідину (0,5 % р-н ксемидону) + 1мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,10	2,98	2,92
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідину (амін 1 – 0,5 % р-н) + 1мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,08	2,96	2,85
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідину (амін 2 – 0,25 % р-н) + 1мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	2,90	2,75	2,52
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідину (амін 3 – 0,05 % р-н) + 1мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	2,91	2,82	2,64
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідину (амін 4 – 0,05 % р-н) + 1мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	2,98	2,81	2,62
НР ₀₅	0,095	0,13	0,14

Так використання ксемидону як азотовмісної речовини при додаванні у препарат на основі бактерії *Pseudomonas fluorescens*, навіть на 15 день експерименту забезпечувало титр в межах $(3,0-2,7)10^9$ КОУ/см³. Що свідчить про відсутність їх токсичного впливу на бактерії. При додаванні диметилсульфоксиду (ДМСО) та диметиламіноетанолу (ДМАЕ) в досліджуваних нормах, не приводило до зниження концентрації життєздатних клітин бактерії *Pseudomonas fluorescens*.

Застосування похідних групи амонійних солей дигідропіримідину, які містять в шостому положенні циклу четвертинне амонійне угруповання і відрізняються природою

заступника в четвертому положенні (амін 1, амін 2, амін 3) знизило титр життєздатних клітин бактерій нижче норми рекомендованого застосування при 15-ти денному зберіганні препарату.

З огляду на дослідження попередніх років, було проведено подальше вивчення поєднань речовин стимулюючої природи та їх комплексного впливу на життєздатність бактерії *Pseudomonas fluorescens* при зберіганні (табл. 2). А також для забезпечення кращих показників ефективності препаратів було розглянуто поєднання трьох складових, що включало стимулюючу речовину, допоміжну речовину та похідну амонійних солей дигідропіримідину. У

всіх комбінаціях на 15 день контролю зафіксовано титр концентрація життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* в межах $(3,0-2,7)10^9$ КОУ/см³. Це свідчить, що підібрані комбінації в визначених концентраціях не мають токсичної синергії та негативного ефекту на бактерії.

Для узагальнення отриманих результатів в 2023 році було проведено вивчення показника титру бактерії *Pseudomonas fluorescens* штаму AP-33 у поєднанні з найефективнішими похідними групи амонійних солей дигідропіримідину з стимулюючими та допоміжними речовинами (табл. 3).

Таблиця 2.
Вплив препаратів групи амонійних солей дигідропіримідину у поєднанні з речовинами стимулюючої природи на титр бактерій *Pseudomonas fluorescens* (лабораторний, УкрНДСКР ІЗР, 2022)

Table 2.
Effect of drugs of the group of ammonium salts of dihydropyrimidine in combination with stimulant substances on the titer of the drug *Pseudomonas fluorescens* bacteria (laboratory, USRPQS IPP NAAS, 2022)

Варіанти	Концентрація життєздатних клітин в препараті (10 ⁹ КОУ/см ³)		
	5 доба	10 доба	15 доба
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3,2	3,09	3,2,97
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,1	3,04	3,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,1% р-н сечовини + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,09	3,01	2,92
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,2% р-н бурштинова кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,07	3,03	2,97
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,1% р-н ксимедону + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,10	3,06	2,98
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,1% р-н ксимедону + 0,2% р-н бурштинової кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,06	3,04	2,97
НІР ₀₅	0,013	0,009	0,011

У всіх комбінаціях, окрім препаратів які містили сполуки Біджинелі, на 15 день контролю зафіксовано титр концентрація життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* в межах $(3,0-2,7) 10^9$ КОУ/см³. Застосування комплексу речовин, що включав 0,1% р-н ксимедона, 0,2% р-н бурштинової кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО забезпечило титр життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* в рекомендованих межах і складав на 15 день 2,98 10⁹ КОУ/см³.

Здійснено польові дослідження щодо вивчення впливу поєднань препарату на основі

бактерій *Pseudomonas fluorescens* з речовинами групи амонійних солей дигідропіримідину, допоміжних речовин, стимулюючої природи та мікроелементами на вегетаційні показники картоплі, а також розраховано їх ефективність для забезпечення фітосанітарного стану посівів.

У досліді використовувалися середні показники концентрацій досліджуваних речовин, які були перевірені на токсичність по відношенню до бактерій *Pseudomonas fluorescens*.

Таблиця 3.

Вплив препаратів групи амонійних солей дигідропіримідину у поєднанні з речовинами стимулюючої природи на титр бактерій *Pseudomonas fluorescens* (лабораторний, УкрНДСКР ІЗР, 2023р.)

Table 3.

Effect of dihydropyrimidine ammonium salts in combination with stimulant substances on the drug titer *Pseudomonas fluorescens* bacteria (laboratory, USRPQS IPP NAAS, 2023)

Варіанти	Концентрація життєздатних клітин в препараті (10 ⁹ КОУ/см ³)		
	5 доба	10 доба	15 доба
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3,1	3,02	2,95
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,09	3,06	3,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Сполуки Біджінелі 0,00025% + ДМАЕ + 2 мл ДМСО	2,93	2,81	2,66
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,2% р-н бурштинової кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,11	3,07	2,91
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідина (амін 1–0,5 % р-н) 0,2% р-н бурштинова кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО;	3,02	2,91	2,78
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + похідні дигідропіримідина (амін 3–0,5 % р-н) 0,2% р-н бурштинова кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО;	2,98	2,86	2,75
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,1% р-н ксимедона + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,14	3,08	2,92
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + 0,1% р-н ксимедона + 0,2% р-н бурштинової кислоти + 2 мл ДМАЕ + 2 мл ДМСО	3,08	3,01	2,98
НІР ₀₅	0,011	0,008	0,009

Дослідження ефективності різних поєднань в комплексах обробки картоплі показали, що використання майже всіх комбінацій призвело до підвищення ряду вегетаційних та фізіологічних показників в різній мірі (табл. 4). Так найбільший показник висоти рослин (61,8 см) зафіксовано при застосуванні комбінації *Pseudomonas fluorescens*, ксимедону, бурштинової кислоти, ДМАЕ та ДМСО, разом з хелатом 1 у концентрації 3,6 %; максимальна кількість бульб в кущі (2,4 шт) та вага бульб (455 г/рослину) зафіксована при застосуванні комбінації *Pseudomonas fluorescens*, ксимедону, бурштинової кислоти, ДМАЕ та ДМСО, разом з хелатом 2 у концентрації 2,8 %. За сукупністю показників, найефективнішою комбінацією є *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + бурштинова кислота + ДМАЕ + ДМСО, разом з

хелатом 2 у концентрації 2,8 %. Ця комбінація була кращою за контроль 1,9 рази по висоті рослин, у 1,9 рази за кількістю стебел, у 2,67 рази за кількістю бульб та у 1,48 рази за показником ваги бульб.

У період дослідження рівень розвитку альтернаріозу для сорту Глазурна становив 21,7 %, а для фітофторозу 38,3 %. Використання всіх комбінацій біокомплексів показало ефективність препаратів проти альтернаріозу в межах 41,1 – 66,4%, натомість для фітофторозу картоплі цей показник мав наступні результати 65,2 – 84,8 % (табл. 5). Найкращий результат проти альтернаріозу картоплі показала комбінація *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + бурштинова кислота + ДМАЕ + ДМСО хелат 1 (3,6 %), забезпечивши ефективність в межах 66,4 %.

Таблиця 4.

Дослідження ефективності препаратів на основі бактерій *Pseudomonas fluorescens* у поєднанні з речовинами групи амонійних солей дигідропіримідину, стимулюючих речовин та хелатів на вегетаційні показники картоплі (польовий дослід, сорт Глазурна, 2023 рік)

Table 4.

Investigation of the effectiveness of preparations based on *Pseudomonas fluorescens* bacteria in combination with substances of the group of ammonium salts of dihydropyrimidine, stimulants and chelates on the vegetative parameters of potatoes (field experiment, Glazurnaya variety, 2023)

Варіанти дослідів	Висота рослини, см	Середня кількість стебел, шт	Кількість бульб в куші(шт./м ²)			Вага бульб, г/рослину
			товарна фракція	насінна фракція	дрібна фракція	
Контроль (без обробок)	31,1	2,8	1,3	3,6	4,8	184
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , 3x10 ⁹ КУО/см ³ – 5л/га	30,8	2,9	1,8	3,5	3,9	201
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + ксимедон, 1г/л+бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2мл/л + ДМСО, 2мл/л – 5л/га	38,3	3,4	1,5	2,7	2,9	354
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 1 (1,2%) – 5л/га	31,0	2,9	2,9	4,6	5,9	204
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 1 (2,8%) – 5л/га	31,9	2,8	3,4	4,8	6,3	246
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 1 (3,6%) – 5л/га	36,5	2,9	7,0	7,9	7,7	289
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 2 (1,2%) – 5л/га	31,7	3,2	3,7	5,7	6,4	257
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 2 (2,8%) – 5л/га	32,4	3,7	4,9	4,9	8,6	263
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 2 (3,6%) – 5л/га	30,6	3,4	5,8	11,3	7,4	289
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + ксимедон, 1 г/л + бурштинова кислота, 2 г/л + ДМАЕ 2 мл/л+ ДМСО, 2 мл/л + хелат 1 (1,2%) – 5	50,2	4,6	0,7	4,3	7,5	367

л/га						
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон, 1г/л + бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2 мл/л + DMSO, 2 мл/л + хелат 1 (2,8 %) – 5 л/га	56,8	6,7	0,9	3,1	6,3	325
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + ксимедон, 1 г/л+ бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2 мл/л + DMSO, 2 мл/л+ хелат 1 (3,6 %) – 5 л/га	61,8	4,9	1,9	3,7	5,6	385
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон, 1г/л + бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2мл/л + DMSO, 2мл/л+ хелат 2 (1,2%) – 5 л/га	53,9	3,7	1,3	5,2	7,2	424
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон 1г/л+ бурштинова кислота, 2 г/л + ДМАЕ, 2мл/л + DMSO, 2 мл/л + хелат 2 (2,8 %) – 5 л/га	54,9	4,8	2,4	4,7	5,8	455
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон, 1г/л + бурштинова кислота, 2 г/л + ДМАЕ, 2 мл/л + DMSO, 2 мл/л+ хелат 2 (3,6 %) – 5 л/га	49,8	3,2	1,3	5,3	3,8	464

Проти фітофторозу, кращі показники забезпечила комбінація *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + бурштинова кислота + ДМАЕ + DMSO хелат 2 (3,6 %) з ефективністю 84,8 %. Отже, результати показують, що ефективність обробки картоплі залежить від складу використаних препаратів, їх концентрації та

можливих взаємодій між ними. Деякі комбінації можуть бути більш ефективними у боротьбі з хворобами, ніж інші, тому для вирішення проблеми захворювання картоплі важливо вибирати оптимальні стратегії обробки з урахуванням цих факторів.

Таблиця 5.

Дослідження ефективності препаратів на основі бактерій *Pseudomonas fluorescens* у поєднанні з речовинами групи амонійних солей дигідропіримідину, стимулюючих речовин та хелатів на інтенсивність прояву грибних хвороб картоплі (польовий дослід, сорт Глазурна, 2023)

Table 5.

Investigation of the effectiveness of preparations based on *Pseudomonas fluorescens* bacteria in combination with substances of the group of ammonium salts of dihydropyrimidine, stimulants and chelates on the intensity of fungal diseases of potatoes (field experiment, Glazurnaya variety, 2023)

Варіанти дослідів	Подільнянка					
	Альтернатив картоплі			Фітофтороз картоплі		
	Ураженн я рослин, %	Розвиток хвороби, %	Ефектив ність, %	Ураження рослин, %	Розвиток хвороби, %	Ефектив ність, %
Контроль (без обробок)	60,9	21,7	-	75,2	38,3	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , 3x10 ⁹ КУО/см ³ – 5л/га	42,3	12,8	41,0	46,6	13,3	65,2
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + ксимедон, 1г/л+бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2мл/л + ДМСО, 2мл/л – 5л/га	38,5	11,5	47,0	43,9	9,8	74,4
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 1 (1,2 %) – 5л/га	35,2	12,8	41,1	33,9	10,8	71,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 1 (2,8 %) – 5л/га	37,3	12,2	43,7	31,5	11,5	70,0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 1 (3,6 %) – 5л/га	36,9	11,9	45,2	32,3	10,9	71,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 2 (1,2 %) – 5л/га	36,5	12,4	42,8	30,9	11,2	70,7
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 2 (2,8 %) – 5л/га	35,9	12,3	43,3	31,5	10,8	71,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + хелат 2 (3,6 %) – 5л/га	35,4	11,9	45,2	31,3	10,9	71,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³	32,6	9,4	56,7	28,3	6,3	83,0

+ксимедон, 1 г/л + бурштинова кислота, 2 г/л + ДМАЕ 2 мл/л+ ДMSO, 2 мл/л + хелат 1 (1,2%) – 5 л/га						
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон, 1г/л + бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2 мл/л + ДMSO, 2 мл/л + хелат 1 (2,8 %) – 5 л/га	25,3	8,8	59,4	24,5	6,2	83,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ + ксимедон, 1 г/л+ бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2 мл/л + ДMSO, 2 мл/л+ хелат 1 (3,6 %) – 5 л/га	27,5	7,3	66,4	27,9	5,9	84,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон, 1г/л + бурштинова кислота, 2г/л + ДМАЕ, 2мл/л + ДMSO, 2мл/л+ хелат 2 (1,2%) – 5 л/га	29,7	8,9	59,0	28,6	6,5	83,0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон 1г/л+ бурштинова кислота, 2 г/л + ДМАЕ, 2мл/л + ДMSO, 2 мл/л+ хелат 2 (2,8 %) – 5 л/га	26,9	8,7	60,0	25,5	5,9	84,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 3x10 ⁹ КУО/см ³ +ксимедон, 1г/л + бурштинова кислота, 2 г/л + ДМАЕ, 2 мл/л + ДMSO, 2 мл/л+ хелат 2 (3,6 %) – 5 л/га	26,3	8,4	61,3	26,3	5,8	84,8

Висновки. Перевірка токсичної дії на бактерії *Pseudomonas fluorescens* штаму AP-33 комплексів які склалися з стимулюючих речовин та похідних амонійних солей дигідропіримідину не показало зниження концентрації життєздатних клітин нижче норми. Титр концентрація життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* був в межах $3,0 \times 10^9$ КОУ/см³ при застосуванні комплексу речовин, що включав 0,1% р-н ксимедона, 0,2% р-н бурштинової кислоти, 2 /л ДМАЕ, 2 мл/л ДМСО.

В результаті використання біокомплексів, їх фунгіцидній, імунопротекторній та стимулюючій дії, у поєднанні з хелатними комплексами, зафіксовано підвищення вегетаційних показників та характеристик бульбового складу при зборі урожаю. За сукупністю показників, найефективнішою комбінацією є *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + бурштинова кислота + ДМАЕ, 2мл/л + ДМСО, 2 мл/л, разом з хелатом 2 у концентрації 2,8 %. Ця комбінація була кращою за контроль по висоті рослин в 1,9 рази, за кількістю стебел у 1,9 рази, за кількістю бульб у 2,67 рази та у за показником ваги бульб 1,48 рази.

Найкращий результат проти альтернаріозу картоплі показала комбінація *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + бурштинова кислота + ДМАЕ, 2мл/л + ДМСО, 2 мл/л, хелат 1 (3,6 %), забезпечивши ефективність проти патогену в межах 66,4 %. Проти фітофторозу, кращі показники забезпечила комбінація *Pseudomonas fluorescens* + ксимедон + бурштинова кислота + ДМАЕ, 2мл/л + ДМСО, 2 мл/л, хелат 2 (3,6 %) з фунгіцидною ефективністю 84,8 %.

Фінансування. Дослідження проводили в рамках ПНД 12 «Наукові основи сучасних технологій прогнозу і управління фітосанітарним станом агроценозів» (Захист рослин); ДР №0119U100234.

Конфлікт інтересів. Автори декларують про відсутність конфлікту інтересів.

Список літератури:

1. Борзих, О.І., Сергієнко, В.Г., Ткаленко, Г.М. (2021). Вплив комплексного застосування біологічних і хімічних препаратів на розвиток хвороб та врожайність картоплі. *Вісник аграрної науки*. 8. 15–25 <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202108-02>.
2. Борзих, О.І., Шита, О.В., Сергієнко, В.Г., Ткаленко, Г.М. (2020). Контроль хвороб і шкідників картоплі за використання сучасних інсектофунгіцидних протруйників *Захист і карантин рослин*. 66. 45–57 <https://doi.org/10.36495/1606-9773.2020.66.45-57>;
3. Демидів, О. А., Гаврилюк, М. М., Бондарчук, А. А. (2010). Промислова технологія виробництва картоплі в Україні. Київ: КИТ. 104 с.
4. Карпенко, В.П. (2012). Біологічні основи інтегрованої дії гербіцидів і регуляторів росту рослин. Умань: Сочинський. 357 с.
5. Кирик, Н.Н, Пиковский, М.И., Азаики, С. (2016). Болезни овощных культур и картофеля. Монография. Київ: «ЦП КОМПРИНТ», 2016. 434 с.
6. Мельник, А.Т. (2014). Відбір сортів картоплі із господарсько-цінними ознаками стійких проти альтернаріозу. *Захист і карантин рослин*. 60. С. 220–225.
7. Патент України на корисну модель № 48943 від 12.04.2010р. Спосіб одержання 1,6-діоксо-8-арил-1,3,4,6,6,7,8-гексагідро-2 Н-піразино (1,2-с)-піримідин-9-карбоксилатів / Вовк М.В., Кушнір О.В. *Офіційний бюлетень. Промислова власність*. Бюл. 7
8. Петриченко, В.Ф., Тихонович, С.Я., Коць, М.В. (2012). Сільськогосподарська мікробіологія і збалансований розвиток агроєкосистем. *Вісник аграрної науки*. 8. 5–11.
9. Трибель С. О., Сігарьова Д. Д., Секун М. П. (2001). Методики випробування і застосування пестицидів ін. Київ: Світ. 448 с.
10. Чабанюк, Я.В., Шерстобоева, О.В., Ткач, Є.Д Бунас, А.А., Стародуб, В.І. (2013). Визначення біологічної ефективності пестицидів і агрохімікатів. Методичні вказівки. Київ. 36 с.
11. Ghadamgahi, F., Tarighi, S., Taheri, P., Saripella, G.V. (2022). Plant Growth-Promoting Activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and Its Ability to Act as a Biocontrol Agent against Potato, Tomato and Taro Pathogens. *Biology* 11(1) <https://doi.org/10.3390/biology11010140>
12. Haroim, P.R., van Overbeek, L.S., Berg, G., Pirttilä, A.M. et al. (2015). The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microb. Mol. Biol. Rev.* (V.79) 3. 293–320.
13. Köhl, J., Kolnaar, R., Ravensberg, W. J. (2019). Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. REVIEW article. *Front. Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
14. Kushnir, O.V., Voloshchuk, O.N., Eften'eva, R.I., Marchenk, M.M. (2014). Syntesis and oxidant activity of 2-thioxo-1.2.3.4-tetrahydropyrimidine-5-carbamides. *Pharm. Chem. J.* (V.48) 4. 246–248.
15. Mercado-Blanco, J., Bakker, P. (2007). Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. 92. 367–389. <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9167-1>
16. Pham, J. V., Yilma, M. A. Feliz, A. A. (2019). Review of the Microbial Production of Bioactive Natural Products and Biologics. REVIEW article. *Front. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01404>.
17. Solomiichuk M., Gavrilluck A., Pikovskiy M. (2024). Reducing Potato Alternaria Blight: Biological

Approaches. Phytosanitary Safety. Monograph. LAP LAMBERT Academic Publishing. 108 p. <https://morebooks.de/shop-ui/shop/product/9786207465668>

References:

1. Borzykh O.I., Serhienko V.H., Tkalenko H.M. (2021) Vplyv kompleksnoho zastosuvannya biolohichnykh i khimichnykh preparativ na rozvytok khvorob ta vrozhainist kartopli [The influence of the complex application of biological and chemical preparations on the development of diseases and yield of potato.] *Visnyk ahrarnoi nauky*, [Bulletin of Agricultural Science] Vol. 8. 15-25. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202108-02> (in Ukrainian)
2. Borzykh O.I., Shyta O.V., Serhienko V.H., Tkalenko H.M. (2020) Kontrol khvorob i shkidnykiv kartopli za vykorystannya suchasnykh insektofunhitsydneykh protruinykiv.[Control of potato diseases and pests using modern insecto-fungicidal products]. *Zakhyst i karantyn roslyn*. [Plant protection and quarantine]. Issue 66. 45–57. <https://doi.org/10.36495/1606-9773.2020.66.45-57> (in Ukrainian)
3. Demydiv O. A., Havryliuk M. M., Bondarchuk A. A. (2010) Promyslova tekhnolohiia vyrobnytstva kartopli v Ukraini. Kyiv, KYT, P.104. (in Ukrainian)
4. Karpenko V.P. (2012) Biolohichni osnovy intehrovanoi dii herbitsydiv i rehuliatoriv rostu roslyn.[Biological foundations of integral impact of herbicides and growth plant regulators.] Uman: Sochinsky, 357. [In Ukrainian]
5. Kyryk N. N., Pykovskiy M. Y., Azayky S. (2016) Bolezny ovoshchnykh kultur y kartofelia. Monogrpah. [Diseases of vegetable crops and potatoes]. Kyiv, «TsP KOMPRYNT». 434. (in Ukrainian)
6. Melnyk A. T. (2014) Vidbir sortiv kartopli iz hospodarsko-tsinnymy oznakamy stiikykh proty alternariozu. [Selecting potato varieties with economically valuable traits, resistant to alternaria disease] *Zakhyst i karantyn roslyn*. [Plant protection and quarantine]. Issue 60. 220–225. (in Ukrainian)
7. Vovk M.V., Kushnir O.V. (2010) Patent Ukrainy na korysnu model № 48943 vid 12.04.2010r. Sposib oderzhannia 1,6-diookso-8-aryl-1,3,4,6,6,7,8-heksahidro-2 N-pirazyno (1,2-s)-pirymidyn-9-karboksylativ [Patent of Ukraine on useful model № 48943 dated 12.04.2010 Way for receiving 1,5-dioxo-8-aryl-1,3,4,6,6,7,8-hexahydro-2 N-pirazyno (1,2-s)-pyrimidin-9-carboxylates] Ofitsiynyi biuleten. Promyslova vlasnist. Biul. №7 [Official bulletin. Industrial property. No.7] (in Ukrainian)
8. Petrychenko V.F. Tykhonovych, S.Ia. Kots, M.V. (2012). Silskohospodarska mikrobiolohiia i zbalansovanyi rozvytok ahroekosystem [Agricultural microbiology and balanced development of agroecosystems]. *Visnyk ahrarnoi nauky*, [Bulletin of Agricultural Science] Issue 8. 5–11
9. Trybel S. O., Siharova D. D., Sekun M. P. (2001) Metodyky vyprobuvannia i zastosuvannia pestytsydiv. [Techniques of pesticides testing and usage] Kyiv: Svit. 448p. (in Ukrainian)
10. Chabaniuk Ya.V., Sherstoboieva O.V., Tkach Ye.D Bunas A.A., Starodub V.I. (2013) Vyznachennia biolohichnoi efektyvnosti pestytsydiv i ahrokhimikativ. Metodychni vkazivky [Determining of biological efficiency for pesticides and agrochemicals, Manual] Kyiv. 36.
11. Ghadamgahi F., Tarighi S., Taheri P., Saripella G.V. (2022). Plant Growth-Promoting Activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and Its Ability to Act as a Biocontrol Agent against Potato, Tomato and Taro Pathogens. *Biology* 11(1) <https://doi.org/10.3390/biology11010140>
12. Haroim P.R., van Overbeek L.S., Berg G., Pirttilä A.M. et al. (2015). The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microb. Mol. Biol. Rev.* (V.79) 3. 293–320.
13. Köhl, J., Kolnaar, R., Ravensberg, W. J. (2019). Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. REVIEW article. *Front. Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
14. Kushnir O.V., Voloshchuk O.N., Eften'eva R.I., Marchenko M.M. (2014). Synthesis and oxidant activity of 2-thioxo-1.2.3.4-tetrahydropyrimidine-5-carbamides. *Pharm. Chem. J.* (V.48) 4. 246–248.
15. Mercado-Blanco J., Bakker P. (2007). Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. 92. 367–389. <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9167-1>
16. Pham J. V., Yilma M. A. Feliz A. A. (2019). Review of the Microbial Production of Bioactive Natural Products and Biologics. REVIEW article. *Front. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01404>.
17. Solomiichuk M., Gavriluck A., Pikovsky M. (2024). Reducing Potato Alternaria Blight: Biological Approaches. Phytosanitary Safety. Monograph. LAP LAMBERT Academic Publishing. 108 p. <https://morebooks.de/shop-ui/shop/product/9786207465668>

INCREASING THE EFFICIENCY OF BIOLOGICAL PREPARATIONS BASED ON PSEUDOMONAS FLUORESCENS USING STIMULANTS AND AUXILIARY SUBSTANCES

A.T. Gavryliuk¹, M.P. Solomiychuk¹, O.V.Kushnir²

¹Ukrainian Research Station of Plant Quarantine of the Institute of Plant Protection of NAAS
Naukova str. 4, Boyany village 60321, Chernivtsi district, Chernivtsi region
e-mail: allona_melnik@ukr.net

²Chernivtsi National University named Yury Fedkovich
St. 2 Kotsyubynskogo, Chernivtsi, Ukraine, 56012

The complexes of stimulating matters and derivatives of ammonium salts of dihidropirimidine in bacterium strain AP-33 Pseudomonas fluorescens conducted testing toxicity. The concentration chosen which did not decrease the less than rate viability cells. The matters complex consisted of 0,1 xymedon, 0,2% succinic acid+ 2ml DMAE+2ml DMSO. It provided viability titer of bacterium cells Pseudomonas fluorescens in recommended scope. It was consisted of 2,98 10⁹ CFU/cm³ on 15th day.

The paper showed results of biological preparations active efficiency. They based upon the Pseudomonas fluorescens strain AP-33 in combination with microelement plant nutrition and stimulating matters on potato plantations. The yield increase recorded as a result of biological complexes usage in combination with chelate complexes. The yield and growing indexes of mentioned combinations were higher than in cases without chelates. The combination Pseudomonas fluorescens +xymedon +succinic acid+DMAE+DMSO chelate1 (3,6%) showed the best result against Alternaria blight. It's efficiency was in scope 66,4%. The best indexes showed combination Pseudomonas fluorescens+ ksymedon +succinic acid+DMAE+DMSO chelate 2 (3,6%) against late blight. It's efficiency was 84.8%.

Keywords: biological agents; pests; biological preparation; stimulant, drug effectiveness

Отримано редколегією 18.04.2024 р.

ORCID ID

Альона Гаврилюк: <https://orcid.org/0000-0002-7982-4365>

Михайло Соломіячук: <https://orcid.org/0000-0001-7394-0333>

Олег Кушнір: <https://orcid.org/0000-0001-5431-857>