

БУЗІАШВІЛІ А. Ю.<sup>1✉</sup>, БЛЯВСЬКА Л. О.<sup>2</sup>, ЦИГАНКОВА В. А.<sup>3</sup>, ІУТИНСЬКА Г. О.<sup>2</sup>, ЄМЕЦЬ А. І.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Україна, 04123, м. Київ, вул. Байди-Вишневецького, 2а, ORCID: 0000-0002-8283-5401, 0000-0002-8785-4361, 0000-0001-6887-0705

<sup>2</sup> Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154, ORCID: 0000-0002-8785-4361, 0000-0001-6692-2946

<sup>3</sup> Інститут біорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України, Україна, 02094, м. Київ, вул. Академіка Кухаря, 1, ORCID: 0000-0002-8036-6488

✉ [buziashvili.an@gmail.com](mailto:buziashvili.an@gmail.com), (095) 302-89-30

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АВЕРМЕКТИН-ВМІСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА СТІЙКІСТЬ ДО ФУЗАРІОЗУ У ЛІНІЙ ТОМАТІВ В УМОВАХ *IN VITRO*

**Мета.** Дослідження впливу авермектинвмісних поліфункціональних препаратів Аверком та Аверком Нова на підвищення стійкості до фузаріозу рослин томатів, вирощених *in vitro*. **Методи.** Рослини томатів культивували *in vitro* протягом 30 діб у присутності 25 мкл/л препаратів Аверком та Аверком Нова. Аналіз на стійкість до фузаріозу здійснювали шляхом обприскування суспензією конідії *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* та *F. solani*. Стійкість до фузаріозу оцінювали протягом 15 діб після інокуляції за 9-бальною шкалою. **Результати.** У результаті проведеного дослідження було встановлено, що культивування *in vitro* рослин томатів сорту Money Maker у присутності препаратів Аверком та Аверком Нова у концентрації 25 мкл/л призводить до підвищення стійкості відібраних рослин до фузаріозу, спричиненого *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* та *F. solani*. Стійкість до цих фітопатогенів підвищувалась у середньому з 4 до 6 балів на 10 день після інокуляції та до *F. solani* – з 2 до 6 балів на 6 день після інокуляції. **Висновки.** Результати дослідження показують підвищення стійкості рослин томатів, вирощених у присутності препаратів Аверком та Аверком Нова, до збудників фузаріозу томатів, що вказує на перспективність використання біопрепаратів для захисту рослин від біотичного стресу.

**Ключові слова:** *Solanum lycopersicum*, *Streptomyces avermitilis*, авермектин, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium solani*.

Хвороби рослин виникають у результаті складних взаємозв'язків між біотичними та абіотичними факторами, які впливають на чутли-

вий рослинний організм. Серед різних груп патогенних організмів, важливу роль як збудники хвороб рослин відіграють гриби, бактерії, віруси та нематоди. Фітопатогени радикально знижують об'єм та якість врожаю, продуктивність рослин. Зокрема, тривала присутність фітопатогенів може знижувати якість ґрунту, що створює хронічний стресовий фон для рослин, сприяє інтенсивному розмноженню мікроорганізмів та масштабним розповсюдженням на нові території. Хвороби культурних рослин і на сьогодні залишаються важливим фактором, який впливає на продуктивність сільськогосподарських рослин та соціальний розвиток [1].

Таким чином, пошук методів біологічного контролю хвороб рослинних культур є надзвичайно актуальною проблемою. Агротехнологічні заходи є превентивними методами контролю, що не забезпечують достатній рівень захисту, в той час як використання хімічних речовин пов'язане із небажаними ефектами, такими як токсичність, поява стійких штамів патогенів та забруднення навколишнього середовища. Ефективними та економічно вигідними підходами є культивування сортів, стійких до широкого спектру фітопатогенів і використання безпечних біопрепаратів, які мають селективну антагоністичну активність проти фітопатогенних мікроорганізмів та здатні стимулювати механізми росту й захисту рослин [2, 3].

В останні роки увагу дослідників все більше привертає біосинтетична активність мікроорганізмів, зокрема, їх здатність синтезувати різні біологічно активні сполуки для потреб промисловості та сільського господарства. Так, наприклад, авермектин-вмісним біотехнологіч-

© БУЗІАШВІЛІ А. Ю., БЛЯВСЬКА Л. О., ЦИГАНКОВА В. А., ІУТИНСЬКА Г. О., ЄМЕЦЬ А. І.

ним препаратам Аверком та Аверком Нова властива комбінована біологічна активність, яка спрямована безпосередньо на різноманітні фітопатогени та на підвищення стійкості рослин до біотичних і абіотичних стресів [4]. Тому, нами було досліджено стійкість відселектованих *in vitro* за дії цих препаратів ліній рослин томатів сорту Money Maker до грибних патогенів *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* та *Fusarium solani*, що викликають фузаріозне в'янення томатів.

### Матеріали і методи

**Поліфункціональні біостимулятори мікробного походження.** Препарати Аверком та Аверком Нова було люб'язно надано Білявською Л. О., д. б. н., с. н. с. відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Препарати одержували відповідно до методики, описаної у [4–6], на основі етанольного екстракту біомаси штаму *Streptomyces avemitilis* IMV Ac-5015. Препарати Аверком та Аверком Нова містять 100 мкг/мл авермектину; також, Аверком Нова містить супернатант культуральної рідини та 0,01 мМ хітозану [4].

**Визначення стійкості до фузаріозу рослин томатів, вирощених у присутності препаратів.** Штами *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* та *F. solani* було люб'язно надано кафедрою екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнології та екології Національного університету біоресурсів і природокористування [7]. Міцелій зазначених фітопатогенів культивували у термостаті при 28°C на середовищі КДА (картопляно-декстрозний агар), яке містило 200 г/л картоплі, 20 г/л декстрози, 15 г/л агару [8]. Стійкість рослин томатів сорту Money Maker до *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* та *F. solani* визначали за методикою, описаною у [9]. Для біотестів використовували рослини томатів, які вирощували *in vitro* та мікроклонально розмножували на середовищі МСТ [10] у присутності 25 мкл/л препаратів Аверком та Аверком Нова. Для дослідження фітопротекторного впливу препаратів відбирали 30-добові рослини із добре сформованими пагонами, листками та корінням. Лінії томатів, які культивували у присутності біопрепаратів, обприскували інокулятом *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* або *F. solani* за допомогою ручного обприскувача. Інокулянт готували шляхом змивання стерильною дистильованою водою конідій із культур *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* або *F. solani*; у дослідженні ви-

користували суспензію в концентрації  $3-3,5 \times 10^4$  конідій/мл. Як контроль використовували рослини, які вирощували на середовищі МСТ без додавання препаратів. Результати зараження фіксували щоденно впродовж 15 діб; стійкість ліній томатів оцінювали за інтенсивністю проявів симптомів за 9-бальною шкалою: 9 балів – відсутність ураження рослини, 8 – відсутність ураження на стеблах та поодинокі плями на 5 % листків, 6–7 – відсутність симптомів на стеблах та ушкодження 5–25 % листків, 4–5 – ознаки в'янення, некрозу та наявності міцелію фітопатогенів на 25 % стебел та на 25–50 % листків, 2–3 – в'янення, некроз та міцелій покривають 25–50 % поверхні стебел та 50–75 % листків, та 1 бал – ушкодження більш ніж 75 % поверхні всієї рослини.

**Статистична обробка даних.** Дослідження проводили не менше 3 разів, достовірність отриманих результатів підтверджували за допомогою t-критерію Ст'юдента для 5 % рівня значущості. Обробку цифрових даних проводили за допомогою програм ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>) та Microsoft Office Excel 2019.

### Результати та обговорення

**Аналіз стійкості до фузаріозу ліній томатів, вирощених у присутності біопрепаратів.** У результаті проведеного дослідження було виявлено, що, загалом, лінії томату сорту Money Maker, культивовані за дії 25 мкл/л Аверкому та Аверкому-Нова, були більш стійкими до *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ніж до *F. solani*, оскільки при однаковому навантаженні інокулянту симптоми фузаріозу аж до повної загибелі рослини розвивались протягом 15 діб при зараженні *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* та протягом 7 діб при зараженні *F. solani*. Також, було з'ясовано, що вирощені в присутності препарату Аверком лінії томатів були більш стійкими до фузаріозу, ніж у присутності Аверкому Нова, порівняно з контролем (рис. 1, рис. 4).

Симптоми зараження *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* стали помітними на 5 добу після інокуляції і стійкість ліній томатів до *F. oxysporum* у присутності Аверкому та Аверкому Нова становила 7 балів, контрольних ліній – 6 балів. На 10 та 15 добу після інокуляції у присутності препарату Аверком стійкість ліній томату знизилась у середньому з 6 до 3,5 балів, у присутності Аверкому Нова – із 5,7 до 3 балів, та контрольних ліній – із 4 до 2 балів (рис. 1, рис. 2).

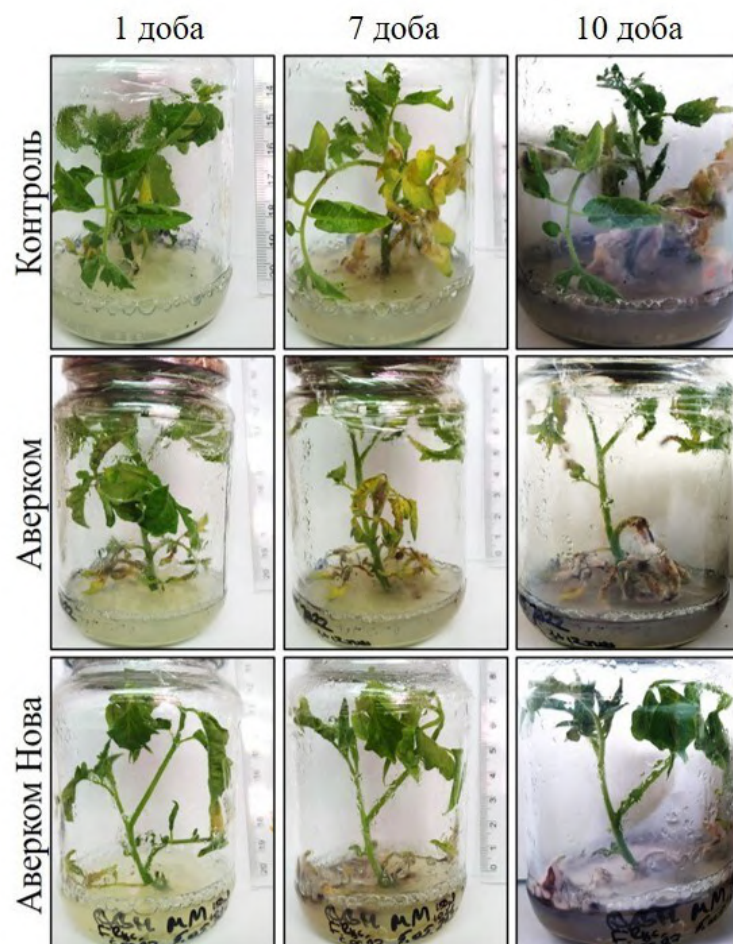


Рис. 1. Результати біотесту на стійкість до *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* рослин томату, вирощених у присутності Аверкому та Аверкому Нова.

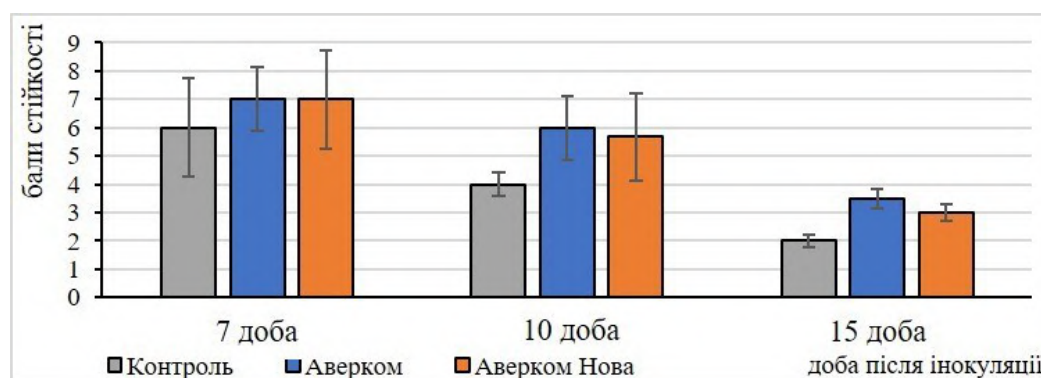


Рис. 2. Оцінка стійкості до *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* рослин томатів вирощених у присутності Аверкому та Аверкому Нова.

Симптоми зараження *F. solani* з'явилися на 3 добу після інокуляції, а стійкість ліній томату до *F. solani* становила у середньому 8,3 та 8,2 балів, відповідно для Аверкому та Аверкому Нова; стійкість контрольних ліній – на рівні 8 балів.

Протягом наступних 3 днів після інокуляції

симптоми фузаріозу стрімко розвивались на заражених лініях томатів. У присутності Аверкому чутливість ліній томату на 4, 5 та 6 добу після інокуляції становила 7,5, 6,9 та 6,16 балів, у присутності Аверкому Нова – 6, 5,3 та 4 бали, у контрольних ліній – 5,3, 5,0 та 2,0 бали відповідно (рис. 3 рис. 4).



Рис. 3. Результати біотесту на стійкість до *F. solani* рослин томату, вирощених у присутності Аверкому та Аверкому Нова.

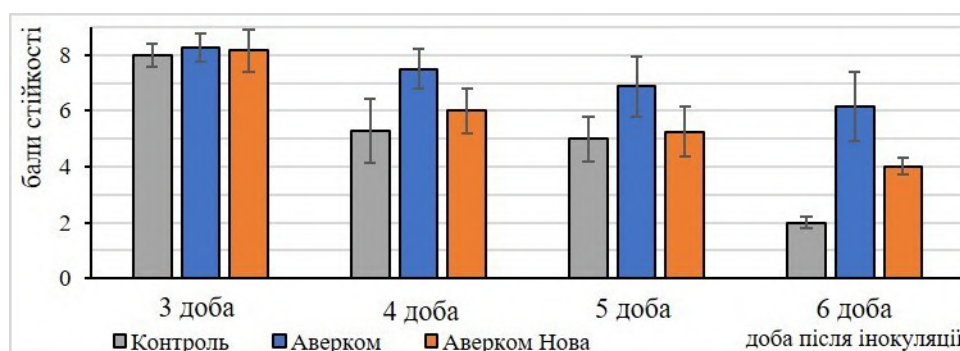


Рис. 4. Оцінка стійкості до *F. solani* рослин томатів, вирощених у присутності Аверкому або Аверкому Нова.

Відомо, що сорт томатів Money Maker широко використовується у біотехнологічних дослідженнях, у тому числі у дослідженнях механізмів стійкості до фітопатогенів та як модельний сорт, толерантний до багатьох хвороб томатів [11]. У цій роботі за використання препаратів Аверком та Аверком Нова було показано підвищення стійкості ліній томату сорту Money Maker до фузаріозу, спричиненого *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* з 4 до 6 балів на 10 день після інокуляції та до *F. solani* – з 2 до 6

балів на 6 день після інокуляції. В інших дослідженнях [12–14] також було показано, що препарати на основі різних штамів *Streptomyces* підвищують стійкість рослин і томатів зокрема, як до біотичного, так і до різних абіотичних стресів.

Результати попередніх досліджень показали, що обробка насіння біопрепаратами Аверком та Аверком Нова позитивно впливає на розвиток взаємодії рослини із рістстимулюючими мікроорганізмами. Важливим

наслідком використання біопрепаратів є позитивний вплив на ґрунтову мікробіоту, яка є одним із факторів, що забезпечує родючість ґрунту, а також стримує розвиток та накопичення у ґрунті фітопатогенів. Більше того, було показано, що в результаті обробки насіння біопрепаратами на 10–33 % підвищується врожайність культур та біохімічні характеристики харчових продуктів, створених на їх основі. Зокрема, після обробки насіння томатів препаратами вміст цукрів у сухій масі плодів томатів збільшився у 1,6 разів,  $\beta$ -каротину і вітаміну С – вдвічі, а вміст нітратів зменшився у 2–3 рази. Також, у нещодавніх дослідженнях було показано сайленсинг мРНК із личинок нематод *H. schachtii* та *H. avenae*, опосередкованого імунопротекторними si/miРНК у клітинах оброблених препаратами рослин [4, 14].

Отже, отримані результати свідчать про те, що завдяки присутності комплексу біологічно активних сполук, зокрема, фітогормонів і вторинних метаболітів, препарати Аверком та Аверком Нова підвищують стійкість рослин до небезпечних фітопатогенних грибів *Fusarium*

*oxysporum* f. sp. *lycopersici* та *F. solani*, що викликають фузаріозне в'янення томатів.

### Висновки

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що культивування *in vitro* рослин томатів сорту Money Maker у присутності препаратів Аверком та Аверком Нова у концентрації 25 мкл/л призводить до підвищення стійкості відібраних рослин до фузаріозу, спричиненого *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Стійкість до цих фітопатогенів підвищувалась у середньому з 4 до 6 балів на 10 день після інокуляції та до *F. solani* – з 2 до 6 балів на 6 день після інокуляції. Отримані результати свідчать про перспективність використання цих біопрепаратів на мікробній основі для захисту рослин томатів від фітопатогенів, зокрема, збудників фузаріозу.

*Роботу виконано за фінансової підтримки проекту «Отримання рослин зі стійкістю до фузаріозу за допомогою поліфункціональних біостимуляторів на основі авермектину» (№ 0120U103109) цільової програми наукових досліджень НАН України «Геномні, молекулярні та клітинні основи розвитку інноваційних біотехнологій» (2020–2022 рр.).*

### References

1. Agrios G. N. Plant Pathology. 5th ed. San Diego : Elsevier Academic Press, 2005.
2. Hariharan G., Sivasubramanian N., Prasannath K. Chapter 6. RNA interference as a promising strategy for plant disease management. In: Kumar A., Droby S. (editors) Food Security and Plant Disease Management. Elsevier: Woodhead Publishing; 2021. P. 95–126. doi: 10.1016/B978-0-12-821843-3.00008-8.
3. Kolomiets Y. V., Grygoryuk I. P., Butsenko L. M., Kalinichenko A. V. Biotechnological control methods against phytopathogenic bacteria in tomatoes. *Appl. Ecol. Env. Res.* 2019. Vol. 17. P. 3215–3230. doi: 10.15666/aer/1702\_32153230.
4. Iutynska G. O., Biliavska L. O., Kozyriska V. Y. Development strategy for the new environmentally friendly multifunctional bioformulations based on soil streptomycetes. *Microbiol. Jour.* 2017. Vol. 79 (1). P. 22–33. doi: 10.15407/microbiolj79.01.022.
5. Biliavska L. O., Kozyriska V. Ye., Valagurova Ye. V., Iutynska G. O. Biologically active substances of preparation Avercom. *Microbiol. Jour.* 2012. Vol. 74. P. 10–15. [in Russian]
6. Tsyhankova V. A., Andrusyevych I. V., Biliavska L. O., Kozyriska V. I., Iutynska H. O., Halkin A. P., Halahan T. O., Boltovska O. V. Growth stimulating, fungicidal and nematicidal properties of new microbial substances and their impact on si/miRNA synthesis in plant cells. *Microbiol. Jour.* 2012. Vol. 74 (6). P. 36–45. [in Ukrainian]
7. Kolomiets Yu. V., Grygoryuk I. P., Butsenko L. M., Boroday V. V. Antifungal activity of the representatives of epiphyte microflora of the tomato seeds. Materials of the IV International scientific-practical conference of young scientists and specialists “Selection, genetics and technologies of the growth of agriculture plants, (Tsentralne village, 21 April 2016). 2016. P. 57–58. [in Ukrainian]
8. Podgorskiy V. S., Kotsolyak O. I., Kiprianova Ye. A., Gvozdyak O. R. (editors). Ukrainian collection of microorganisms. Catalog of cultures. 2 ed. Kyiv : Nauk. Dumka, 2007. 270 p. [in Ukrainian]
9. Tkachyk S. O. (editor). Methodology of the phytopathological studies under conditions of artificial infection of plants. Kyiv : Nilan-LTD, 2014. 76 p. [in Ukrainian]
10. Buziashvili A., Cherednichenko L., Kropyvko S., Yemets A. Transgenic tomato lines expressing human lactoferrin show increased resistance to bacterial and fungal pathogens. *Biocat. Agric. Biotechnol.* 2020. Vol. 25. 101602. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101602.
11. Tsutomu A., Hideki T., Motoichiro K., Tohru T. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnol.* 2007. Vol. 24 (1). P. 135–147.
12. Abbasi S., Naser S., Sadeghi A., Shamsbakhsh M. *Streptomyces* strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 in tomato through different molecular mechanisms. *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10. 1505. doi: 10.3389/fmicb.2019.01505.
13. Passari A. K., Upadhyaya K., Singh G., Abdel-Azeem A. M., Thankappan S., Uthandi S. et al. Enhancement of disease resistance, growth potential, and photosynthesis in tomato (*Solanum lycopersicum*) by inoculation with an endophytic actinobac-

terium, *Streptomyces thermocarboxydus* strain BPSAC147. *PLoS ONE*. 2019. Vol. 14 (7). e0219014. doi: 10.1371/journal.pone.0219014.

14. Blyuss K., Fatehi F., Tsygankova V. A., Biliavska L., Iutynska G., Yemets A., Blume Ya. RNAi-based biocontrol of wheat nematodes using natural poly-component biostimulants. *Front. Plant Sci.* 2019. Vol. 10. 483. doi: 10.3389/fpls.2019.00483.

**BUZIASHVILI A. Yu.<sup>1</sup>, BILIAVSKA L. O.<sup>2</sup>, TSYGANKOVA V. A.<sup>3</sup>, IUTYNSKA G. O.<sup>2</sup>, YEMETS A. I.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Baidy-Vyshnevet'skogo str., 2a*

<sup>2</sup> *Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Acad. Zabolotnogo str., 154*

<sup>3</sup> *V. P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 02094, Kyiv, Acad. Kukhar str., 1*

## **INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF AVERMECTIN-CONTAINING PREPARATIONS ON THE RESISTANCE OF TOMATO LINES TO FUSARIUM BLIGHT *IN VITRO***

**Aim.** Studying of the influence of avermectin-containing polyfunctional preparations Avercom and Avercom Nova on the enhancement of the resistance to fusarium wilt of tomato plants *in vitro*. **Methods.** Tomato plants were cultivated *in vitro* for 30 days in the presence of 25 µl/l of preparations Avercom and Avercom Nova. Analysis of the resistance of tomato plants to fusarium wilt was carried out by spraying with a conidia suspension of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *F. solani*. Resistance to fusarium wilt has been evaluated for 15 days after inoculation with the use of a 9-point scale. **Results.** It was established that cultivation *in vitro* of tomato plants cv. Money Maker in the presence of preparations Avercom and Avercom Nova at concentration 25 µl/l enhances the resistance of the selected plants to fusarium wilt caused by *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *F. solani*. In particular, resistance to these phytopathogens increased on average from 4 to 6 points on the 10<sup>th</sup> day after inoculation with *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, and from 2 to 6 points on the 6<sup>th</sup> day after inoculation with *F. solani*. **Conclusions.** The results of the study show the enhancement of the resistance of tomato plants grown in the presence of Avercom and Avercom Nova preparations to the causative agents of the tomato fusarium wilt which indicates the prospects and promising opportunities of the use of microbial biopreparations for the protection of plants against biotic stress.

**Keywords:** *Solanum lycopersicum*, *Streptomyces avermitilis*, avermectin, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium solani*.