

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

*Дипломна магістерська робота*

на тему: «Дослідження ріст-стимулювальних властивостей бактерій,  
асоційованих з судинними рослинами Антарктики»

Виконав: студент 2 курсу, групи МгБТ-21  
спеціальності 162 Біотехнології  
та біоінженерія  
освітньої програми Біотехнологія  
високомолекулярних сполук  
Ігор БОРТЯНИЙ  
Керівник: к.б.н., Ольга ЮНГІН  
Рецензент: к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА

Київ 2022

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій  
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра  
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія  
Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри  
біотехнології, шкіри та хутра

\_\_\_\_\_ Олена МОКРОУСОВА  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 року

**ЗАВДАННЯ**  
**НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**  
**Бортяного Ігоря Олеговича**

1. Тема роботи: Дослідження ріст-стимулювальних властивостей бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики  
Науковий керівник роботи Юнгін Ольга Сергіївна, к.б.н.  
затверджені наказом закладу вищої освіти  
від «04» жовтня 2022 року № 286.
2. Строк подання студентом роботи 10.11.2022 р.
3. Вихідні дані до роботи: завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо ріст-стимулювальних властивостей мікроорганізмів; матеріали та методи для дослідження ріст-стимулювальних властивостей бактерій; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.
4. Зміст дипломної роботи (перелік питань, які потрібно розробити): вступ, огляд літератури, об'єкт, мета та методи дослідження, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.

## 5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Ім'я, прізвище та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	Ольга Юнгін, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Розділ 2	Ольга Юнгін, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Розділ 3	Ольга Юнгін, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Висновки	Ольга Юнгін, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		

6. Дата видачі завдання 12.09.2022 р.**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	12.09.2022	
2	Розділ 1 Огляд літератури	20.09.2022	
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження	03.10.2022	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	17.10.2022	
5	Висновки	24.10.2022	
6	Оформлення дипломної магістерської роботи (чистовий варіант)	07.11.2022	
7	Здача дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування	10.11.2022	
8	Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату	16.11.2022	
9	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри	18.11.2022	

Студент \_\_\_\_\_

Ігор БОРТЯНИЙ

Науковий керівник роботи \_\_\_\_\_

Ольга ЮНГІН

Директор НМЦУПФ \_\_\_\_\_

Олена ГРИГОРЕВСЬКА

## АНОТАЦІЯ

**Бортяний І.О. Дослідження ріст-стимулювальних властивостей бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики.**

Дипломна магістерська робота за спеціальністю 162 – Біотехнології та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2022 р.

Дипломну магістерську роботу присвячено дослідженню ріст-стимулювальних властивостей бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики. У дипломній роботі обґрунтовано дослідження ріст-стимулюючих властивостей бактерій та показані перспективи їх використання в біотехнології. Представлено таблиці результатів, в яких чітко описані характеристики та властивості досліджуваних штамів бактерій. Дипломна робота включає літературний огляд сучасних уявлень щодо впливу ендofітних бактерій на ріст та розвиток рослин, методи визначення властивостей досліджуваних штамів бактерій, асоційованих з судинними рослинами Антарктики та середовища, на яких проводились дослідження.

*Ключові слова: Ріст-стимулюючі бактерії, антарктичні судинні рослини, ендofіти.*

## ABSTRACT

**Bortyanyi I.O. Study of plant growth-promoting bacteria associated with vascular plants of Antarctic region.**

Master's thesis in specialty 162 - Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2022.

The master's thesis is devoted to the research of growth-stimulating properties of bacteria associated with Antarctic vascular plants.

The thesis substantiates the study of the growth-stimulating properties of bacteria and shows the prospects of their use in biotechnology. Tables of results are presented, which clearly describe the characteristics and properties of the tested bacterial strains.

The thesis includes a literature review of modern ideas about the influence of endophytic bacteria on the growth and development of plants, methods of determining the properties of the investigated bacterial strains associated with Antarctic vascular plants and the environment on which the research was conducted.

*Key words: Plant growth-promoting bacteria, Antarctic vascular plants, endophytes.*

## ЗМІСТ

<b>СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....</b>	<b>7</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>9</b>
<b>РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....</b>	<b>12</b>
1.1 Вплив мікроорганізмів на ріст рослин.....	12
1.2 Механізми впливу RGPB на рослини.....	14
1.3 Мікробний метаболізм органічних азотовмісних речовин.....	18
1.4 Використання мікробних угруповань для стимуляції росту. Препарати та їх ефективність .....	20
<b>Висновок до розділу 1 .....</b>	<b>23</b>
<b>РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>24</b>
2.1 Досліджувані мікроорганізми.....	24
2.2 Поживні середовища, що використовували протягом дослідження .....	24
2.3 Визначення ріст-стимулювальних властивостей у досліджуваних мікроорганізмів .....	26
2.3.1 Фарбування за Грамом .....	26
2.3.2 Здатність синтезувати циклічні ліпопептиди.....	26
2.3.3 Кількісне визначення індол-3-оцтової кислоти (ІОК) .....	27
<b>Висновок до 2 розділу .....</b>	<b>27</b>
<b>РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....</b>	<b>28</b>
3.1 Опис та характеристика ізолятів .....	28
3.2 Здатність бактерій утилізувати вуглеводи. ....	31

3.3 Ріст-стимулювальні характеристики досліджуваних бактерій .....	32
3.4 Синтез індол-3-оцтової кислоти.....	36
<b>Висновок до розділу 3 .....</b>	<b>38</b>
<b>ВИСНОВКИ.....</b>	<b>39</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....</b>	<b>40</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>48</b>

## СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ACC – 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (1-аміноциклопропан-1-карбоксілова кислота)

CLP – cyclic lipopeptide (циклічні ліпопептиди)

ISR – induction system resistance

NA – nutrient agar (поживний агар)

NB – nutrient broth (поживний бульйон)

OD – optical density (оптична густина)

PGPR – plant growth promoting bacteria (стимулюючі ріст рослин бактерії)

PGPR – plant growth promoting rhizobacteria (стимулюючі ріст рослин ризобактерії)

Trp – tryptophan (триптофан)

БАР – біологічно активні речовини

КУО – колонієутворююча одиниця

ІОК – індол-3-оцтова кислота

ПАР – поверхнево-активні речовини



## ВСТУП

**Актуальність теми дослідження.** Успішна колонізація антарктичних земель за допомогою судинних рослин *Deschampsia antarctica* та *Colobanthus quitensis* та їх адаптація до стресових умов середовища пов'язана не лише зі зміною клімату, але і з функціонуванням мікробних груп філо- та ендосфери цих рослин. Загальновідомо, що бактерії відіграють важливу роль у рості, розвитку та адаптації рослин у екстремальних умовах. Одним із ключових факторів ефективності колонізації рослини бактеріями є здатність проявляти ріст-стимулювальні властивості для стимуляції росту і розвитку рослин у стресових умовах. Внесок ендofітної мікробіоти у стійкість та продуктивність рослин в умовах Антарктичного півострова та їх ріст-стимулювального потенціалу залишається недостатньо вивченими. Внаслідок зміни клімату, що відбувається на Антарктичному півострові, дослідження ендofітних бактерій, асоційованих із судинними рослинами в цьому регіоні, є актуальною проблемою.

**Практичне значення.** Антарктичний регіон вважається одним із найперспективніших з точки зору виділення нових мікроорганізмів з потужним біотехнологічним потенціалом. Результати нашого дослідження визначають бактеріальні ізоляти, асоційовані з судинними рослинами Антарктики, як RGPB і можуть бути використані для розробки аграрних біотехнологій. Крім того, результати роботи допоможуть покращити наше розуміння ролі досліджених мікроорганізмів у взаємодії з рослинами, оскільки це є важливим не лише для України, а й для світової науки в цілому.

**Наукова новизна.** Вперше показано наявність ряду ріст-стимулювальних властивостей у хемогетеротрофних ендofітних ізолятів, виділених з біомаси *D. antarctica*. Крім того, охарактеризовано мікробного суперпродуцента індол-3-оцтової кислоти з роду *Pseudomonas*, що може бути застосований у агробіотехнологіях.

**Мета дослідження** полягає у дослідженні ознак, що сприяють росту рослин, в ендofітних бактеріях судинних рослин Антарктики.

**Завданнями дослідження є:**

- здійснити огляд літературних джерел;
- описати матеріали та методи дослідження;
- оформити експериментальну частину.

**Об'єкт дослідження** – мікроорганізми, асоційовані з судинними рослинами Антарктики.

**Предмет дослідження** – рослинно-мікробні взаємодії на прикладі ендofітних мікроорганізмів з судинними рослинами Антарктики.

**Апробацію наукових результатів** здійснено на наукових конференціях: XV Всеукраїнська науково-практична онлайн-конференція “Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві” (26 жовтня 2022 року, м. Чернігів, Україна); VI Міжнародна науково-практична конференція “EURASIAN SCIENTIFIC DISCUSSIONS” (3-5 липня 2022, Барселона, Іспанія); міжнародна конференція ICAMS 2022 (26-28 жовтня 2022, Бухарест, Румунія); IV International Scientific Conference “Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21<sup>st</sup> century” (22-23 September 2022, Kyiv, Ukraine).

**Публікації.** Результати досліджень опубліковано у статті за матеріалами міжнародної конференції.

Біографія опублікованої роботи:

1. Iungin Olga, Prekrasna Ievgeniia, **Bortyanuy Ihor**, Maslak Valeriia, Mickevičius Saulius. Plant growth-promoting characteristics endophytic bacteria. ICAMS 2022. Proceedings (26-28 October 2022, Bucharest, Romania): CERTEX press, 2022. P. 00-00. (Стаття прийнята до друку).

2. **Bortyanuy I.O.**, Prekrasna I.E.P., Iungin O.S. Plant growth-promoting traits of Antarctic endophytic bacteria. Biotechnologia Acta. 2022. V 15, No. 4. С. 5-7. <https://doi.org/10.15407>.

3. **Бортяний І.О.**, Юнгін О.С. Біохімічна характеристика штамів ризосфери озимої пшениці. Proceedings of the 6<sup>th</sup> International scientific and practical conference. Barca Academy Publishing. Barcelona, Spain. 2022. P. 16. <https://sci-conf.com.ua/wp-content/uploads/2022/07/EURASIAN-SCIENTIFIC-DISCUSSIONS-3-5.07.22.pdf>.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Вплив мікроорганізмів на ріст рослин

Мікроорганізми відіграють дуже важливу роль для рослин. Рослини отримують поживні речовини не тільки за рахунок фотосинтезу, а й власне завдяки багатьом мікроорганізмам. Мікроорганізми в свою чергу складаються з ризобактерій, стимулюючих ріст рослин (plant growth-promoting rhisobacteria, PGPR). PGPR є бактерії, які виділені з ризо- та філосфери рослини та позитивно впливають на ріст та розвиток рослин, прямо та опосередковано полегшують різний біотичний та абіотичний вплив, а також пригнічують дію ґрунтових фітопатогенів та мобілізують рослинні поживні речовини, утворюючи при цьому міцний симбіотичний зв'язок. Вони належать до корисної та гетерогенної групи мікроорганізмів, які можна знайти в ризосфері, на поверхні кореня або в прикореневій зоні, і здатні посилювати ріст рослин та захищати їх від хвороб.

З літературних джерел відомо, що посилення росту рослин відбувається за рахунок різних механізмів: зниження негативної дії патогенів; конкуренції із патогенними мікроорганізмами за колонізацію еконіші; перетворення оксидів заліза та нерозчинних фосфатів у форми, придатні для засвоєння рослинами (солюбілізація); синтез фізіологічно активних речовин та гормонів (ауксини, цитокініни, гібереліни, активізації системної стійкості рослин) [1, 4, 5, 7]. Ауксини ініціюють подовження, розвиток бічних коренів та корневих волосків, що значно пришвидшує ріст, споживання поживних елементів, а також спостерігається значна морфологічна зміна корневих волосків – згибання, скручування та розгалуження. Цитокініни збільшують схожість насінин, позитивно впливають на рослини, які знаходяться в несприятливих умовах для росту і розвитку. Гібереліни стимулюють вегетативний ріст, активізуючи при цьому процеси розтягування та поділу клітин, прискорюють проростання насінин [10].

В результаті контакту з непатогенними бактеріями у рослин може розвинутих індукована стійкість до захворювань. Ризобактерії, асоційовані з рослинами утворюють саліцилову кислоту, ціаністий водень, ліпополісахариди, сіденофори, які відіграють роль сигнальних молекул для запуску певних захисних реакцій, направлених на підвищення стійкості до фітопатогенів. При цьому посилюється лігніфікація кореневої тканини та підвищення вмісту фітоалексинів.

Завдяки активному виділенню коренями рослин різних речовин, які в свою чергу є поживними субстратами для мікроорганізмів, внаслідок чого утворюється асоціація між кореневою системою рослин та мікроорганізмами як всередині корневих тканин, так і на поверхні. У зв'язку з цим, в ризосфері та ризоплані концентрація бактерій, грибів, актиноміцетів, водоростей та нематод значно вища, ніж у звичайному ґрунті [15].

Ризосферні аборигенні мікроорганізми виконують роль стимуляторів для багатьох видів рослин, але по-різному впливають на енергію проростання насіння. Найбільш ефективними мікроорганізмами є *Azotobacter chroococcum* та *Sphingobacterium multivorum*, які позитивно впливають на біомасу проростків рослин, а також показують найбільший стимулюючий ефект. Діазотрофи родів *Azospirillum* і *Azotobacter* створюють асоціації з пектинолітичними та целюлозодеструктивними бактеріями роду *Bacillus*, внаслідок чого діазотрофи поглинають продукти розкладу полімерів бацилами, постачаючи їх фіксуєчим азотом. Таким чином пришвидшується засвоєння полімерів та покращується фіксація азоту [12, 14-16].

Одним із найважливіших макроелементів, необхідних для росту рослин, є фосфор. Рослини зазвичай отримують розчинний фосфор у двох формах, одноосновній і двоосновній. Фосфор присутній у ґрунті у вигляді неорганічних мінералів, таких як апатит, або у вигляді однієї з кількох органічних форм, включаючи інозитолфосфат, фосфомоноєфіри та фосфотриєстери. Неорганічний фосфор використовується в полі як хімічне добриво разом з іншими елементами, такими як азот. Оскільки фосфор переважно нерозчинний, рослина його не

використовується, і, як наслідок, він просто вимивається, забруднюючи запаси ґрунтових вод. Звісно що запаси фосфору в ґрунті високі, проте фосфатовмісні мінерали є важкодоступними для рослин. Для цього в ґрунті є мікроорганізми, такі як *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* і *Serratia*, які солюбілізують фосфат за рахунок виділення ними кислих метаболітів та лужних фосфатаз, тим самим вилучають фосфор зі спільного ґрунтового пулу та перетворюють його з нерозчинного стану в розчинний для кращого засвоєння рослинами. Такі мікроорганізми покращують та прискорюють ріст і розвиток рослин, а також стимулюють імунний потенціал [2, 6, 41].

В процесі росту асоційовані мікроорганізми здатні виділяти антибіотичні гетерогенні низькомолекулярні речовини а також при низьких концентраціях знижувати активність інших мікроорганізмів і, таким чином впливати на життєдіяльність рослин. Бактерії роду *Pseudomonas* здатні продукувати чималу кількість вторинних метаболітів, в тому числі антибіотиків. Широкий спектр антифунгуючих антибіотиків створюють бактерії роду *Bacillus*, що має особливе значення для біоконтролю, оскільки гриби є найбільш шкідливими збудниками фітохвороб.

## **1.2 Механізми впливу RGPB на рослини**

У природі рослини зазнають різних абіотичних стресів, наприклад, екстремальних температур, посухи, засолення, важких металів, ультрафіолетового випромінювання та забруднення повітря, що призводить до зниження врожайності. Ці стреси часто взаємопов'язані та індукують загальні сигнальні шляхи, які регулюють клітинні відповіді, спрямовані на адаптацію, і, отже, викликають подібні морфологічні, фізіологічні, біохімічні та молекулярно-генетичні зміни в рослинах. Кілька досліджень показали, що різні види бактерій RGPB, що належать до різних родів, сприяють захисту рослин-господарів від різноманітних абіотичних стресів і сприяють росту рослин, поглинанню

поживних речовин і формуванню врожаю. Ці ефекти можуть бути наслідком запуску різноманітних захисних реакцій, які є різноманітними, переплетеними та часто специфічними.

Дослідження механізмів впливу RGPB на рослини є однією з найактуальніших проблем сучасної біології рослин. Наявні численні дані щодо різноманітності фізіологічного впливу корисного RGPB на різні рослинні організми, який можна розділити на виражену ріст-стимулюючу та захисну роль від широкого спектру несприятливих впливів. Зазвичай RGPB сприяють росту рослин двома способами: прямою стимуляцією та біоконтролем (інгібування патогенів-збудників хвороб, що передаються через ґрунт). Позитивний вплив багатьох ґрунтових бактерій на рослини опосередковується рядом механізмів, а саме покращення мінерального живлення, підвищення стійкості рослин до біотичного та абіотичного стресу, модифікацію розвитку коренів, а також біоконтролем.

Асоційовані з коренями бактерії відіграють важливу роль у захисті від небезпечних хвороб та синтезі фітогормонів, які стимулюють ріст коренів і збільшують загальну площу їхньої поверхні, що забезпечує живлення рослин та підвищенню життєздатності в стресових умовах, підвищують абсорбуючу здатність кореневої системи, що позитивно впливає на ступінь засвоєння рослинами поживних речовин з ґрунту. Також, не менш важливу роль відіграють амоніфікуючі бактерії (розкладають органічні нітрогеновмісні речовини із виділенням аміаку), діазотрофи (азот-фіксуючі бактерії, які фіксують атмосферний азот та перетворюють його в аміак) та бактерії-деструктори органічних залишків [9, 11, 13].

RGPR здатні виробляти фітогормони, які досить чітко впливають на розвиток рослин і архітектуру коренів та мають захисний ефект. Багато бактерій виробляють більше одного типу рослинних гормонів. У *Azospirillum* вироблення фітогормонів модуляції гормонального балансу рослин є основним механізмом, що сприяє його ефекту стимулювання росту рослин. Здатність *Azospirillum* синтезувати та виділяти такі фітогормони, як індол-3-оцтову кислоту (ІОК),

вважається основною властивістю, що сприяє стимулюванню росту рослин. ІОК є звичайним ауксином, який синтезується з триптофану та міститься в корневих ексудатах у різних концентраціях залежно від генотипу рослин. Виробництво ІОК за допомогою PGPR посилює розгалуження коренів, що призводить до збільшення поверхні кореневої системи. Таким чином коріння рослин може використовувати більшу площу ґрунту для покращення мінерального і водного живлення, а бактерії, в свою чергу, можуть колонізувати збільшену поверхню коренів і отримувати користь від потенційно посиленої кореневої ексудації.

Іншим ключовим стимулятором, який продукує, наприклад, *Azospirillum brasilense*, є етилен. Етилен бере участь у зменшенні стресу рослин та є необхідним для індукції системної резистентності (ISR) у рослин під час асоціативних та симбіотичних взаємодій між рослинами та бактеріями, а у більших концентраціях він бере участь у захисних шляхах рослин, індукованих на патогенні інфекції [3].

Застосування ризобактерій, що стимулюють ріст рослин (PGPB) є екологічно стійким варіантом зменшення впливу абіотичного та біотичного стресу на ріст і продуктивність рослин. PGPB вивільняють та збільшують доступність мінеральних елементів, таких як Cu, Fe, Mn, Zn тощо для рослин шляхом хелатування та підкислення ґрунту. Ендofітні PGPB є хорошими кандидатами на інокулянти, оскільки колонізують коріння та створюють сприятливе середовище для розвитку та функціонування. Вони використовують механізми, подібні до тих, що використовуються ризосферними мікробами для підтримки росту рослин і надання стресостійкості. Бактерії, виділені в умовах навколишнього середовища виявляють властивості стійкості до стресу засолення. Основним механізмом, за допомогою якого стійкі до солі бактерії процвітають у солоних середовищах існування, є уникнення від високих концентрацій солі всередині цитоплазми. Це досягається шляхом модифікації конструкції клітинної стінки, в якій утворюються специфічні мембранні білки, ліпіди та екзopolісахариди.



Синтез сидерофорів є однією з основних особливостей RGPB. Ендofіти *Streptomyces*, які продукують сидерофори, збільшують біомасу коренів і пагонів завдяки збільшенню надходження сполук феруму. Залізо є другим за поширеністю металом у земній корі. Він є необхідним для деяких ферментів залізо-сірчаного комплексу та білків, що містять залізо, і відіграє важливу роль у рості рослин, беручи участь у синтезі хлорофілу. Засолення посилює дефіцит заліза, викликаючи хлороз у рослин. Дослідження показали, що мікробна активність відіграє важливу роль у накопиченні заліза в коренях, а також його транспорт до листя. Збільшення корневих ексудатів внаслідок RGPB-індукованого росту коренів також підвищує доступність поживних речовин, таких як фосфор і мікроелементи.

З досліджень інших вчених відомо, що деякі мікробні ізоляти проявляють такі ознаки RGPB, як здатність фіксувати азот, утворювати сидерофори та солнобізувати фосфати, проте штами з вищою активністю АСС-дезамінази демонструють найбільший ефект. АСС-дезаміназа - це фермент, за участі якого відбувається відновлення етилену. Етилен є газоподібним гормоном, який накопичується в рослинах в умовах абіотичного стресу і бере участь у процесах росту і розвитку, таких як проростання насіння, розвиток і подовження корневих волосків, дозрівання плодів, опадання листя та старіння органів, через регуляцію певних генів, пов'язаних зі стресом. Тому етилен є необхідним для росту і розвитку рослин. RGPB регулюють рівень етилену в рослинах за допомогою АСС-деамінази, яка розщеплює попередник етилену АСС до аміаку та  $\alpha$ -кетобутирату, що сприяє росту рослин і забезпечує стійкість до стресу. RGPB з активністю АСС-дезамінази змінюють кількість кінчиків коренів та їх площу поверхні, сприяючи отриманню поживних речовин і виживання в умовах стресу. Однак виробництво ферменту АСС-дезамінази та зниження рівня етилену є основними причинами опосередкованого стимулювання росту рослин під впливом засолення. Бактерії, які виробляють АСС-дезаміназу у великих кількостях мають чудовий потенціал для покращення росту рослин пшениці в умовах зрошення та водного стресу.

До штамів з високою АСС-дезаміназною активністю відносять *Variovorax paradoxus* RAA3 та *Pseudomonas* spp. DPC9, DPB13, DPB15 та DPB16, які як в умовах зрошення, так і в умовах водного стресу значно покращили ріст рослин пшениці, концентрацію позакорневих поживних речовин і викликали значні зміни в антиоксидантних властивостях порівняно з рослинами без інокуляції. Було показано, що інокуляція насіння пшениці RGPB, що продукують АСС-дезаміназу, має значний вплив на всі параметри росту рослин, а саме на збільшення пагонів. В умовах водного стресу штам RAA3 показав найбільше збільшення пагонів на 27% порівняно з неінокульованими рослинами, а штам DPB16 та DPC12 на 22,7% і 20,7% відповідно. Щодо умов зрошення, то штам RAA3, DPB13 та DPB16 показали найбільше збільшення довжини пагонів на 20,7%, 18,2% та 13,9% відповідно з неінокульованими рослинами [33-39, 42]. Таким чином, експериментально показано перспективність застосування RGPB у сільському господарстві.

### **1.3 Мікробний метаболізм органічних азотовмісних речовин**

Рослини можуть поглинати лише мінеральну форму азоту протягом свого життєвого циклу. Органічний азот рослинних і тваринних білків мінералізується ґрунтовими мікроорганізмами шляхом утворення аміаку і, врешті решт, азоту. Цей процес називається амоніфікацією або гниттям, а мікроорганізми, які його викликають – амоніфікуючими. Речовини різної структури, такі як білки, аміноцукри, нуклеїнові кислоти та сечовина, зазнають впливу амоніфікації. В амоніфікації беруть участь багато видів мікроорганізмів, але найактивніше в розщепленні білкових речовин бере участь грампозитивна спороутворююча *Bacillus subtilis* (*B. Megaterium*). До групи амоніфікаторів також входять представники родів *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Arthrobacter* і *Mycobacterium*.

На першому етапі білки ззовні мікробної клітини розщеплюються на окремі фрагменти (пептиди) бактеріальним протеолітичним екзоферментом, який

каталізує розщеплення пептидних зв'язків. Останній поглинається клітинами і розщеплюється внутрішньоклітинними протеолітичними ферментами на окремі амінокислоти. Крім того, ці перетворення можливі двома способами: 1) амінокислоти використовуються безпосередньо в конструктивному метаболізмі для побудови білкових молекул; 2) амінокислоти виступають в якості основного матеріалу в енергетичному процесі. В останньому випадку метаболізм білка починається з дезамінування або декарбоксилювання.

При декарбоксилюванні амінокислот утворюється  $\text{CO}_2$  та первинні аміни. При дезамінуванні деяких амінокислот (аланін, аспарагінова та глутамінова кислоти) утворюється  $\alpha$ -кетокислота (піровиноградна, оксалоацетат). Більшість органічних кислот, що утворюються в цьому процесі, зазнають попередніх перетворень, що призводять до утворення сполук, які можуть бути безпосередньо задіяні в основному катаболітичному циклі клітини.

Амоніфікація нуклеїнових кислот викликається мікроорганізмами, які продукують нуклеази. Аміак також виділяється при розпаді нуклеїнових кислот. Амоніфікація сечовини здійснюється мікроорганізмами, які продукують фермент уреазу. Аміак, що виділяється під час мікробного розкладання азотистих сполук, частково з'єднується з кислотами, утворюючи солі амонію, частково використовується гетеротрофними мікроорганізмами для перетворення в мікробні білки. Частина аміаку потрапляє в атмосферу, а частина окислюється до азотної та азотистої кислоти.

Окислення до азотної та азотистої кислоти є процесом нітрифікації. Цей процес є досить складним та двоетапним, кожен з яких здійснюється специфічними групами бактерій. Першим етапом є окислення солей амонію до нітрату (нітриту) представниками родів *Nitrosomonas*, *Nitrosocystis*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosolobus*. Другий етап – окислення нітриту до нітрату бактеріями родів *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina*. Обидва етапи нітрифікуючих бактерій є основними аеробними або мікроаерофілами, які не потребують присутності органічної речовини, а оптимальна температура їхнього розвитку близько 28 °C.

При 30 °C вони самі синтезують органічні сполуки з неорганічних, що є результатом необхідних реакцій окиснення. Основним джерелом вуглецю для нітрифікуючих бактерій є CO<sub>2</sub> з повітря, який поглинається циклом Кальвіна, а енергія, необхідна для цього, надходить від окислення аміаку.

Нітрифікація відбувається в ґрунтах, озерах, морях та океанах. Нітрифікуючі бактерії широко поширені майже у всіх ґрунтах і багато їх в поверхневому горизонті. Динаміка нітрифікації в ґрунті на пряму залежить від аміачного процесу. Оскільки цей процес може відбуватися лише за наявності сполук амонію, тому будь-які ґрунтові умови, які перешкоджають утворенню аміаку також уповільнюють нітрифікацію. З одного боку, процес нітрифікації забезпечує азот у доступній для рослин формі, а з іншого, нітрати набагато легше вивільняються з ґрунту, ніж солі амонію, тому інтенсивна нітрифікація може призвести до дефіциту азоту в ґрунті [26-31].

#### **1.4 Використання мікробних угруповань для стимуляції росту. Препарати та їх ефективність**

Використання мікробних угруповань для стимуляції росту рослин виглядає дуже привабливо, оскільки воно дає змогу суттєво зменшити використання хімічних добрив і пестицидів (фактор взаємодії діючих речовин з мікробіоценозом ґрунту та прогнозування їх ефективності не враховується, що негативно впливає на природній мікробіоценоз, який забезпечує природній захист рослин від патогенів [18]), і кількість інокулянтів, які комерціалізуються для різних культур та стимулюють значне прискорення росту рослин, зараз зростає. В даний момент для широкого спектру сільськогосподарських культур найбільш актуальна розробка багатокомпонентних мікробних добрив на основі симбіотичних та асоціативних мікроорганізмів, що володіють комплексом господарсько цінних властивостей та фосфатної мобілізації [19].

Чимало досліджень показали, що ізоляти (зустрічаються як в коренях, так і в стеблах і листках рослин), які використовуються як основа для мікробних добрив,

володіють високими фосфат-мобілізуючими властивостями. Такі ізоляти максимально стимулюють проростання насіння, приблизно на 11-23%, та збільшення сухої маси на 15-45% [17].

На сьогодні існує чимало препаратів, які стимулюють ріст рослин. Як основний елемент для захисту та стимуляції росту використовують препарати біологічного походження на основі різного роду бактерій, які представляють собою живі клітини, селекційовані по корисним властивостям мікроорганізмів, а також продукти метаболізму, які знаходяться або в культуральній рідині, або адсорбовані на нейтральному носії, за рахунок чого створюється можливість утворення великої концентрації корисних форм мікроорганізмів для перспективної конкуренції з аборигенною мікрофлорою. Бактеріальні препарати створені для покращення азотного та фосфорного живлення рослин позитивно впливають на рослини, не приносять шкоду навколишньому середовищу та являються одними із складових сучасних технологій вирощування сільськогосподарських культур [20, 22, 24]. Препарати на основі азот-фіксуєючих мікроорганізмів нині є найбільш поширеними серед інших. Їхня особливість полягає в тому, що при внесенні їх в кореневу зону, вони забезпечують рослини біологічним азотом в достатній кількості, завдяки чому поліпшується живлення рослин, покращується та прискорюється їх ріст та розвиток. Використання такого роду мікробних препаратів є досить перспективним, оскільки це дає їм змогу перспективного впровадження в сільськогосподарське виробництво, зменшити обсяги використання мінеральних добрив, на виробництво яких витрачається чимало енергії. Дослідження показали, що при обробці перед посівом насіння гороху препаратом “Поліміксобактерин” відбувається збільшення ґрунтової мікробіоти, інтенсивний розвиток кореневої системи і показник чисельності бактерій значно перевищував контроль на 39%, мікроміцетів на 38% та актиноміцетів на 47% [23].

Використовують також мікробні азотні препарати, такі як “Діазобактерин”(основною якою є бактерії роду *Azospirillum*), які сприяють

активному розвитку та прискореному росту рослин жита озимого, що у свою чергу призводить до підвищення чисельності мікроорганізмів у ризосферному ґрунті. Діазобактерин значно зводить нінащо негативний вплив мінерального азоту, що позначається на зростанні кількості бактеріальних клітин не лише при застосуванні  $N_{30}K_{20}$ , але й більших доз добрив та дає змогу отримати більшу кількість врожаю. Діазобактерин є важливим чинником інтенсифікації продукційного процесу жита озимого. Використання даного препарату в технологіях вирощування жита дозволяє значно розширити діапазон екологічних доз мінерального азоту власне за рахунок стимуляції розвитку рослин та збільшення їх потреб у сполуках азоту для конструктивного метаболізму [21].

Комплексний препарат “Альбіт” опосередковано діє через ґрунтові мікробні угруповання, тим самим позитивно впливаючи на рослини. Препарат потрапляє в ґрунт, головним чином з поверхні обробленого насіння та викликає зміни у функціонуванні ґрунтової мікрофлори, в тому числі й мікробної популяції ризосфери. Під дією “Альбіту” значно підвищується загальна кількість мікроорганізмів в ґрунті і коренях, збільшується склад копіотрофів та азотфіксуючих мікроорганізмів в ризосферному мікробному середовищі. Таким чином, при опосередкованій дії даного препарату через ґрунтову мікробну спільноту, відновлюючи мікробіоценоз, порушений пестицидними обробками – “Альбіт” дуже позитивно впливає на рослини, посилює їх мінеральне харчування, знижує інфекційний фон та токсичність ґрунту [18].

Препарат “Азолек” є дуже ефективним і добре себе зарекомендував у сільськогосподарській промисловості. Його основу складає запатентований штам азотфіксуючих мікроорганізмів і комплекс протеїнів зародків пшениці, які сприяють реалізації потенціалу продуктивності зернових культур за рахунок посиленої взаємодії рослин з мікроорганізмами [25].

Використання рідких мікробних добрив є найбільш перспективним, оскільки приготування значно спрощує технологічний процес за рахунок виключення стадій підготовки субстратів та їх інокуляції. При приготуванні рідких мікробних

добрив використовується очищена озоном вода, а маса обробляється в електромагнітному полі, що обертається. Гумусовмісні речовини змішують з рідкою культуральною рідиною, яка містить живі культури мікроорганізмів в активній формі та їх метаболіти, які мають титр  $1 \cdot 10^4$  до  $1 \cdot 10^{10}$  КУО. При цьому відсоткове відношення складає від 0,5 до 99,5 % а все інше то є рідкою культуральною рідиною. Після ферментації загальний титр мікроорганізмів становить від  $1 \cdot 10^8$  до  $1 \cdot 10^{10}$  КУО. Далі вносять консервант з властивостями бактеріостатика в концентрації від 1 до 500 г сухого або рідкого препарату в перерахунку сухої речовини на літр маси, яку потім фільтрують, віджимають і готовий розчин нормалізують шляхом збільшення або зменшення масової частки БАР до заданих концентрацій [32].

### **Висновок до розділу 1**

Мікроорганізми є дуже важливими для життєдіяльності рослин. Вони захищають рослини від патогенів, забезпечують мінеральне живлення, їх адаптацію до стресових умов. Їх глобальна роль полягає у забезпеченні рослин азотом, мобілізації фосфору з органічних та неорганічних важкорозчинних сполук, що значно посилює ріст і розвиток рослин, збільшує врожайність. На основі мікроорганізмів виготовляють біологічні препарати, які є екологічно безпечними за хімічні, що дозволяє не завдавати шкоди навколишньому середовищу.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Об'єкт дослідження** – мікроорганізми, асоційовані з судинними рослинами Антарктики.

**Предмет дослідження** – рослинно-мікробні взаємодії на прикладі ендofітних мікроорганізмів з судинними рослинами Антарктики.

#### 2.1 Досліджувані мікроорганізми

В роботі досліджували 8 культур, виділені з *D. antarctica*, що були відібрані під час 25 Української антарктичної експедиції (січень-квітень 2020 р.) вздовж Західної частини Антарктичного півострова.

Культури вирощували на агаризованому середовищі NA (Nutrient Agar, HiMedia, Ltd.) методом виснажуючого штриха для отримання ізольованих колоній з метою перевірки чистоти культур. Всі дослідження проводили з використанням попередньо підготовлених добових культур.

Добові культури отримували в закритих мікрокосмах на рідкому розведеному середовищі 1/5 NB (Nutrient Broth, HiMedia, Ltd.), режим шейкеру 26 °C, 160 об/хв.

#### 2.2 Поживні середовища, що використовували протягом дослідження

Для підтримки ізолятів використовували багаті середовища: сухий поживний агар (СПА - ), Nutrient Agar (HiMedia, Ltd.) та поживний бульйон (Nutrient Broth, HiMedia Ltd.) такого складу, г/л: пептичний перевар тваринної тканини - 5,00; м'ясний екстракт - 1,50; дріжджовий екстракт - 1,50; натрію хлорид - 5,00. До агаризованого середовища додавали агар-агар у кількості 15,00 г/л. Кінцеве значення рН (при 25°C)  $7,4 \pm 0,2$ . Готове середовище стерилізували автоклавуванням при 1,1 атм (121°C) протягом 15 хв.

Для виявлення здатності використовувати атмосферний азот як єдине джерело Нітрогену використовували середовище Ешбі з цукрозою такого складу,



г/л: цукроза – 20,0;  $K_2HPO_4$  – 0,2; NaCl – 0,2;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  – 0,4;  $K_2SO_4$  – 0,1;  $CaCO_3$  – 5,0; агар – 15,0; дистильована вода – до 1 л. Кінцеве значення рН (при 25°C)  $7,0 \pm 0,2$ . Стерелізували автоклавуванням за 0,75 атм (116,7 °C) протягом 10 хв [42]. Середовище розливали на чашки, засівали штрихом культури та інкубували щонайменше 3 доби за температури 26°C. Рясний ріст на середовищі вважали ознакою використання атмосферного азоту як єдине джерело Нітрогену [44].

*Для виявлення здатності мобілізувати нерозчинні сполуки фосфору* використовували середовище Піковської (PKV) зі складом, г/л: глюкоза – 20,0;  $Ca_3(PO_4)_2$  – 5,0; NaCl – 0,2;  $MgSO_4$  – 0,1;  $MnSO_4$  – сліди;  $FeSO_4$  – сліди; агар – 20,0 [2]. Середовища розливали на чашки, витримували добу, інокулювали культури та інкубували щонайменше 5 діб за температури 26°C. Протягом культивування щоденно спостерігали за утворенням прозорої “зони гало” навколо колоній кожного ізоляту. Прозора зона навколо зростаючої колонії вказувала на солюбілізацію фосфату [46, 47].

*Для виявлення здатності синтезувати екзопротеази* використовували поживний агар з молоком (Sacherer et al., 1994) такого складу, г/л: поживний бульйон – 8,0 г; агар-агар – 15 г; вода дистильована – 500 мл; молоко стерильне знежирене – 500 мл. Окремо готували та автоклавували поживний агар подвійної міцності та розчин знежиреного молока. Змішували, коли температура розчину була приблизно 55°C. Наливати середовище, поки воно ще було достатньо теплим, щоб отримати гладеньку поверхню агару. Виробництво екзопротеази було оцінено на агарі зі знежиреним молоком у вигляді очищеної зони навколо росту бактерій після інкубації протягом 48 і 72 годин при 28°C.

*Визначення рухливості* у досліджуваних штамів проводили на середовищі NB (HiMedia, Ltd.) з концентрацією агару 0,7%. Середовище розливали стовбчиком і інокулювали уколом після повного охолодження середовища. Інокульовані пробірки інкубували добу за температури 26°C. Розповсюдження клітин у товщі середовища від місця уколу вважали ознакою рухливості.

## **2.3 Визначення ріст-стимулювальних властивостей у досліджуваних мікроорганізмів**

Досліджувані мікроорганізми перевіряли на наявність ріст-стимулювальних властивостей, що характерні для мікроорганізмів-ендофітів. До переліку властивостей входили здатність використовувати азот з повітря як єдине джерело Нітрогену, здатність мобілізувати нерозчинні сполуки фосфору, здатність синтезувати циклічні ліпопептиди, екзопроптази, а також індол-оцтову кислоту.

Крім того, до характеристики штамів входило визначення типу будови клітинної стінки за Грамом, морфологія клітин та рухливість.

### **2.3.1 Фарбування за Грамом**

Визначення типу клітинної стінки проводили з використанням набору фарбування за Грамом за протоколом. Готували мазки з добових культур, фіксували термічно над полум'ям пальника, наносили розчин кристалічного фіолетового і витримували 2-3 хв. Далі наносили розчин Люголя, витримували 2-3 хв і змивали спочатку водою, а потім проводили деколоризацію розчином етанолу. Контрастували клітини розчином фуксину. Знову промивали водою, висушували зразки та роздивлялися в полі зору оптичного мікроскопу на збільшенні  $\times 90$  з використанням імерсійної олії.

### **2.3.2 Здатність синтезувати циклічні ліпопептиди**

Цей метод ґрунтується на дестабілізації крапель рідини поверхнево-активними речовинами. Якщо рідина не містить поверхнево-активних речовин, полярні молекули води відштовхуються від гідрофобної поверхні, і краплі залишаються стабільними. Якщо рідина містить поверхнево-активні речовини, краплі розтікаються, оскільки сила або міжфазний натяг між краплею рідини та гідрофобною поверхнею зменшується. Стійкість крапель залежить від концентрації ПАР і корелює з поверхневим і міжфазним натягом [41].

Аліквоти добових культур (10 мкл) поміщали на парафільм, розтягнутий на твердій поверхні. Зменшення поверхневого натягу і розтікання краплі свідчило про наявність поверхнево-активних речовин.

### **2.3.3 Кількісне визначення індол-3-оцтової кислоти (ІОК)**

Відібрані штами були використані для визначення їхньої здатності синтезувати індол-3-оцтову кислоту. Ізоляти були оцінені на предмет їхнього потенціалу продукувати бактеріальну індол-3-оцтову кислоту у присутності триптофану.

Культивування мікроорганізмів здійснювали у скляних віалах на шейкері за режиму 28°C, 160 об/хв протягом 3 діб на середовищі з триптофаном. Далі культуральну рідину центрифугували за 4000 об/хв, відбирали 1 мл супернатанта і переносили в чисті пробірки. До супернатанта додавали 2 мл реактива Салковскі та інкубували протягом 25 хв у темному місці. Зміна кольору суміші на рожевий була ознакою наявності ІОК. Кількісне визначення проводили спектрофотометрично ( $\lambda=540$  нм), концентрацію перераховували за допомогою калібрувальної кривої отриманої з різними концентраціями ІОК аналітичного класу [45]. Далі концентрацію ІОК перераховували з урахуванням приросту біомаси кожної культури і нормалізували за значеннями 1 для OD 600 нм на спектрофотометрі [43].

Статистична обробка результатів. Всі дослідження виконувалися щонайменше у трикратній повторюваності. Показники стандартних відхилень і т. д. обчислювалися за загальноприйнятими формулами.

### **Висновок до 2 розділу**

У дослідженні було використано загальноприйняті мікробіологічні та біохімічні методи для визначення ріст-стимулювальних властивостей мікроорганізмів *in vitro*.

## РОЗДІЛ 3

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### 3.1 Опис та характеристика ізолятів

За досліджений період було відібрано та використано 8 штамів, морфологічна характеристика яких наведена в табл. 3.1.

*Таблиця 3.1*

#### Характеристика ізолятів

№ штаму	Морфологія колоній	Колір	Прозорість	Забарвлення за Грамом	Морфологія клітин	Розташування клітин
10.4	Форма округла з фестончастим краєм, напівпрозорі, поверхня гладка, профіль плоский, матова, край хвилястий, структура однорідна	біло-жовтий	непрозорий	Гр-	дрібні палички	в ланцюжках
15.6	Форма кругла, жовті, поверхня гладка, блискуча, профіль опуклий, край рівний, структура однорідна	жовтий	непрозорий	Гр+	вигнуті палички	поодинокі
24.4	Форма округла з	бежевий	напівпрозо-	Гр-	дрібні	поодинокі

	фестончастим краєм, напів-прозорі, поверхня гладка, профіль опуклий, тьмяні, край хвилястий, структура однорідна		рий		палички	
25.2	Форма округла з фестончастим краєм, напів-прозорі, поверхня гладка, глянцева, профіль конусовидний, структура однорідна, край хвилястий	жовтуватий, синьо-зелений пігмент флуоресцентний	напів-прозорий	Гр-	дрібні палички	поодинокі
26.2	Форма округла з фестончастим краєм, напів-прозорі, поверхня гладка, профіль плоский, блискучі, край зубчастий, структура крупнозерниста	жовтуватий	напів-прозорий	Гр-	дрібні палички	поодинокі

26.7	Білі, опуклі, глянцеві, утворюють одинокі колонії, край рівний, форма округла, структура однорідна	білий	непрозорий	Гр+	великі палички	в ланцюжках
39.12	Форма кругла, напівпрозорі, поверхня гладка, профіль опуклий, блискуча, край гладенький	жовтий	непрозорий			
40.1	Форма округла з фестончастим краєм, білі, поверхня гладка, профіль опуклий, блискучі, край круглий, структура однорідна	білий	непрозорий	Гр+	коки	диплококи та кластерами

Серед досліджуваних ізолятів присутні як пігментовані, так і не пігментовані форми. За характером росту культур (забарвлення за Грамом, морфологія колонії та клітин, синтез флуоресцентного пігменту) ізоляти 24.4, 25.2, 26.2 попередньо були віднесені до роду *Pseudomonas*.

### 3.2 Здатність бактерій утилізувати вуглеводи.

Виявлення здатності бактерій утилізувати вуглеводи допомагає як визначити їх таксономічне положення, так і описати можливі фізіологічні характеристики ізолятів, передбачити спектр їх субстратів та ферментів.

Таблиця 3.2

#### Здатність бактерій утилізувати вуглеводи

№ штаму	Гексози					Пентози		Дисахариди	
	<i>Glu</i>	<i>Fru</i>	<i>Man</i>	<i>Gal</i>	<i>Ara</i>	<i>Xyl</i>	<i>Ryb</i>	<i>Lac</i>	<i>Suc</i>
10.4	+	-	+	+	-	+	+	-	-
15.6	+	-	-	-	-	+	-	-	-
25.2	+	+	+	+	-	+	+	+	+
26.2	+	-	+	+	-	+	-	-	+-
26.4	+	-	+	+	-	+	-	-	+
26.7	+	+	+	-	-	-	+	+-	+
39.12	+	+	-	-	-	-	+	-	-
40.1	+	+	+	+	+	+	+	+-	+

«+» позитивна реакція; «+-» сумнівний результат; «-» негативна реакція

Найбільш вживаними субстратами були глюкоза, маноза та ксилоза. Маноза – ізомер глюкози, компонент багатьох полісахаридів і змішаних біополімерів рослинного, тваринного і бактеріального походження. Ксилоза як основний компонент полімерів у рослинах вважається одним із найпоширеніших вуглеводів на Землі після глюкози. Беручи до уваги, що досліджувані ізоляти асоційовані з рослинами, цілком очевидно, що ці вуглеводи можуть бути перспективними для

метаболічного використання бактеріями. Здатність мікроорганізмів метаболізувати широкий спектр джерел вуглецю та азоту, брати участь у глобальних циклах трансформації основних біогенних елементів і функціонувати в суворих середовищах може бути основою адаптації рослин до несприятливих факторів середовища [56].

### **3.3 Ріст-стимулювальні характеристики досліджуваних бактерій**

Ендofітні бактерії можуть безпосередньо сприяти росту рослин, як правило, сприяючи живленню рослин (включаючи поживні мікроелементи та мінерали), або опосередковано, зменшуючи інгібуючі ефекти різних патогенних агентів на ріст і розвиток рослин [57]. Пряма стимуляція росту рослин може бути наслідком фіксації азоту, солюбілізації фосфатів, секвестрації заліза, синтезу фітогормонів (таких як ауксини, цитокініни та гібереліни) або модуляції рівня етилену в рослинах [58], що допомагає рослинам подолати стрес і підтримати метаболізм клітин.

В умовах несприятливих кліматичних умов особливого значення набуває адекватне живлення рослин та системи захисту від численних патогенів [59]. Саме тому для тестування було обрано згаданий набір перевірених ріст-стимулювальних властивостей бактерій. Усі досліджені ізоляти показали наявність ріст-стимулювальних властивостей (Табл. 3.3).



**Ріст-стимулювальні характеристики ендofітних штамів антарктичних рослин**

№ штаму	Синтез циклічних ліпопептидів	Ріст на безазотному середовищі *	Солубілізація фосфатів	Рухливість	Синтез екзопротеаз
10.4	+	+++	++	-	-
15.6	-	+	+	+	-
24.4	+	+++	++	+	-
25.2	+	+++	++	+	-
26.2	+	+++	++	+	-
26.7	+	++	++	-	-
39.12	+	+++	++	+	-
40.1	+	-	++	-	-

\* + слабкий ріст, ++ помірний ріст, +++ яскравий ріст.

Найбільш поширеними характеристиками серед штамів були здатність рости на безазотному середовищі, солубілізація фосфатів та синтез циклічних ліпопептидів (CLP). Ці ознаки відіграють важливу роль у колонізації рослин і сприяють росту рослин у суворих умовах. Азот відомий як один із лімітуючих факторів росту рослин [60]. Біологічна фіксація азоту відіграє велику роль у субсидуванні рослин азотом у таких обмежених або маломобільних середовищах,

як Антарктичний регіон. Фосфор є одним із шести елементів, необхідних для росту рослин. Велика частина неорганічних фосфатів, що вносяться в ґрунт як добриво, швидко іммобілізується після внесення і стає недоступною для рослин [61]. Попередні експерименти показали, що ендofітні бактерії мають здатність розчиняти іммобілізовані мінеральні фосфати [50], що свідчить про те, що під час початкової колонізації ендofітні бактерії можуть значно підвищити доступність фосфатів для рослин. Більшість солюбілізуючих фосфати бактерій пов'язані з *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactococcus*, *Enterobacter* і *Alcaligenes*. У досліджуваних штамів не було виявлено ознак синтезу екзопротеаз.

Здатність синтезувати циклічні ліпопептиди була продемонстрована майже всіма ізолятами. Незважаючи на те, що CLP відомі як молекули біоконтролю, їхня роль вважається складнішою [62]. CLP демонструють цікаву біологічну активність, включаючи взаємодію з біоплівками [63], яка впливає не лише на патогени, але й може керувати активністю колонізації та балансом між самим ендofітним мікробним угрупованням.

Фосфор є одним із найважливіших елементів поживних речовин для рослин, і чимала частина неорганічних фосфатів, що вносяться в ґрунт як добриво, швидко іммобілізується після внесення та стає недоступною для рослин [61]. Попередні експерименти показали, що ендofітні бактерії мають здатність розчиняти іммобілізовані мінеральні фосфати [50, 64]. Мікроорганізми, що розчиняють фосфат, мають значний синергічний ефект на ріст і розвиток рослинних культур [65]. Солюбілізація неорганічного фосфату в ґрунті та підвищення його біодоступності рослинам за допомогою фосфат-солюбілізуючих мікроорганізмів сприяє стійкому становленню сільського господарства, покращує родючість ґрунту, збільшуючи врожайність [49]. Фосфат-солюбілізуючі мікроорганізми виробляють гормони (ауксини, цитокіни та гібереліни), що стимулюють ріст, сприяють поділу клітин та їх диференціації, росту пагонів, розвитку коренів, цвітінню, проростанню та диференціації ксилеми [51, 66].

Наступним, не менш важливим моментом є біосурфактанти, які володіють низькою токсичністю, біологічно легко розкладаються ніж синтетичні поверхнево-активні речовини (ПАР). Біосурфактанти посилюють біоремедіацію вуглеводнів шляхом підвищення біодоступності субстрату для мікроорганізмів а також шляхом взаємодії з поверхнею клітин, що підвищує гідрофобність поверхні, тим самим дозволяючи гідрофобним субстратам легше асоціюватися з бактеріальними клітинами [67]. Біосурфактанти зменшують поверхневий і міжфазний натяги, збільшуючи площу поверхні нерозчинних сполук, що призводить до підвищення мобільності та біодоступності вуглеводнів. Багато досліджень підтвердили здатність біосурфактантів і штамів бактерій, що продукують їх, підвищувати доступність органічних забруднень і швидкість їх біодеградації [68]. Obayori et al. (2009) досліджували властивості біодеградації біосурфактанту, що продукується *Pseudomonas s.p.* Kang et al. (2010) використовували софороліпід у дослідженнях аліфатичних і ароматичних вуглеводнів. При додаванні цього біосурфактанту безпосередньо у ґрунт також збільшує біодеградацію вуглеводнів зі швидкістю деградації від 85% до 97% від загальної кількості вуглеводнів. Їхні результати показали, що софороліпід може мати потенціал для полегшення біоремедіації ділянок, забруднених вуглеводнями з обмеженою розчинністю у воді, а також підвищення біодоступності консоціумів для біодеградації [53].

Окрім біосурфактантів, застосування ендofітних бактерій, що забезпечують рослини азотом, набуло високої популярності до підвищення врожайності різного роду сільськогосподарських культур. Деякі з перспективних ендofітних біодобрих включають члени родів *Azoarcus*, *Achromobacter*, *Burkholderia*, *Gluconoacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella* та *Serratia* [69]. Ефективне постачання азоту ендofітними бактеріями свідчить про можливі шляхи біологічної фіксації азоту у внутрішніх нішах рослин. За результатами багатьох досліджень, очевидно, що *Gluconoacetobacter diazotrophicus* (*Acetobacter diazotrophicus*) є основним учасником ендofітної біологічної фіксації азоту [70].

Всі ці дослідження показують, що ендofітні діазотрофи мають великий потенціал для підвищення продуктивності різного роду рослин, відіграючи ключову роль у фіксації азоту [52].

### 3.4 Синтез індол-3-оцтової кислоти

Індол-3-оцтова кислота є основним рослинним гормоном, що регулює їх ріст і розвиток. Більшість досліджень з минулих робіт показали, що мікроорганізми, які продукують синтезують ІОК, є грам-негативними [48]. Теперішнє дослідження показало, що три ІОК-позитивних штамів були грам-позитивними, а один штам ІОК-позитивний штам, який виявився супер-продуцентом, був грам-негативним. Відомо, що синтез індол-3-оцтової кислоти бактеріями може відрізнитись серед різних видів і штамів, а також залежати від умов культивування, їх стадії росту та наявності субстрату [71].

Деякі мікроорганізми виробляють ауксини в присутності L-триптофану. Триптофан збільшує синтез індол-3-оцтової кислоти у *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Tien et al. (1979) показали, що *Azospirillum* здатний виробляти ауксини при дії триптофану. Рослини, інокульовані ризобіями разом з іоном Ag<sup>+</sup> і L-триптофаном (Trp), дають найбільшу суху вагу коренів і значно підвищують поглинання азоту, фосфору та калію порівняно з неінокульованими рослинами. Karnwal (2009) перевіряв ізоляти *Fluorescent pseudomonas* на їх здатність продукувати індол-3-оцтову кислоту в чистій культурі за присутності Trp та виявив, що для обох штамів виробництво індолу посилюється зі збільшенням концентрації триптофану [48].

Ендofітні штами перевіряли на здатність синтезувати індол-3-оцтову кислоту (Рис. 3.1). Використання методики синтезу індол-3-оцтової кислоти з використанням реактиву Салковського є дуже важливим моментом якісного та напівякісного визначення, що забезпечує наявність гормону в супернатанті

бактеріальних культур. Зміну забарвлення, що свідчить про синтез ІОК, було помітно протягом хвилини.

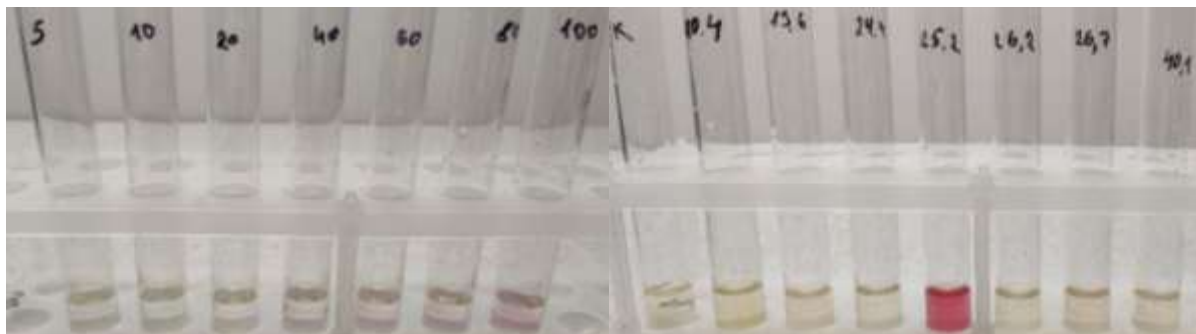


Рис. 3.1. - Визначення ІОК в культуральній рідині за допомогою реактива Салковскі: А - калібрувальні розчини 5-100 мкг/мл; Б - досліджувані штами.

Було показано, що досліджувані штами здатні синтезувати ІОК в різних концентраціях (Табл. 3.4).

Таблиця 3.4

### Синтез ІОК різними ендоефітними штамами антарктичних рослин

№ штаму	Концентрація ІОК, мкг/мл	OD600, од.опт.густ	Концентрація ІОК при нормалізації OD600, мкг/мл
15.6	40±5	1,12	35,7±3
25.2	680±12	1,25	544±7
26.7	60±5	1,33	46,1±2
40.1	40±5	1,88	21,3±2

Половина досліджуваних ізолятів синтезували ІОК на рівні продуцентів, що використовуються в технологіях сільського господарства. Серед них виділявся

ізолят 25.2, що попередньо був віднесений до роду *Pseudomonas* за сумарними морфологічними та культуральними ознаками. Ізолят 25.2 вважали супер-продуцентом, оскільки концентрація ІОК в середовищі досягала  $544 \pm 7$  мкг/мл за три доби культивування.

Ендофітні бактерії мають великий агро-біотехнологічний інтерес, оскільки вони посилюють ріст та покращують живлення рослин за допомогою фіксації азоту, солюбілізації іммобілізованого фосфору та інших механізмів [54]. Ендофіти здатні проникати в рослини через лінзи, рани (в місцях при появі бічних коренів та їх кінчиків), через судинну систему або проростаючі корінці, вторинні корені, продихи або через пошкоджене листя, а також насіння [72]. Всередині насіння вони присутні на ембріональній стадії через ендосперм, а вже згодом, коли насіння проростає, ендофіти вивільняються в зовнішнє середовище та проникають у внутрішні тканини рослин, що ростуть, передаючись з покоління в покоління [73]. Ендофіти, що надходять до рослин різними шляхами, можуть бути локалізовані в одній точці або поширюватись на всю рослину [74]. Експериментальні дослідження показують, що позитивний вплив окремого ендофіту можна посилити за допомогою спільної інокуляції з іншими мікроорганізмами, що значно підвищить ріст і розвиток рослин, врожайність, забезпечуючи рослини збалансованим та стабільним живленням, покращення засвоєння азоту, фосфору, а також мінеральних речовин [55].

### **Висновок до розділу 3**

Таким чином, всі досліджувані штами мали ознаки ріст-стимулювальних бактерій (ріст на безазотному середовищі, солюбілізація фосфатів, синтез циклічних ліпопептидів, синтез ІОК) та були здатні використовувати широкий спектр вуглеводів, що робить їх перспективними для подальшого використання для розробки агробіотехнологій. Крім того, було виявлено суперпродуцента ІОК, що також може бути застосований для направленої обробки рослин.

## ВИСНОВКИ

Дослідження показали, що найбільш поширеними ріст-стимулювальними характеристиками штамів ендofітних бактерій були здатність рости на безазотному середовищі, солюбілізація фосфатів, синтез циклічних ліпопептидів та індол-3-оцтової кислоти. Здатність рости на безазотному середовищі демонструє, що досліджувані ендofіти фіксують молекулярний азот з повітря, необхідного для росту і розвитку рослин. Завдяки солюбілізації фосфатів рослини можуть отримувати фосфор у доступній для них формі, що значно покращить ріст і розвиток. Циклічні ліпопептиди взаємодіють з біоплівками, які здатні керувати активністю колонізації мікроорганізмів та балансом між ендofітними угрупованнями. Індол-3-оцтова кислота є основним фітогормоном, що відповідає за регуляцію росту і розвитку рослин, і тий факт, що її синтезує лише 50% від досліджуваних штамів теж є непоганим результатом, оскільки дані ознаки є дуже важливими в колонізації рослин, оскільки вони сприяють росту та розвитку в суворих стресових умовах.

Використання ендofітних штамів все ж дає змогу прискорити ріст і розвиток, підвищити схожість рослин і енергію проростання насіння, сприяти формуванню добре розвиненої кореневої системи та посилити фотосинтетичні процеси рослин. Поліпшення загального імунітету за рахунок підвищення адсорбційної здатності та фотосинтетичної продуктивності коренів, підвищення стійкості рослин до хвороб за рахунок збільшення вмісту речовин, що мають бактерицидну та бактеріостатичну дію, покращує використання поживних речовин, та робить ці штами придатними для використання у агро-біотехнологіях.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Grobelak, A., Napora, A., & Kasprzak, M. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering*. 2015. 84. С. 22-28.
2. Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review. *Cogent Food & Agriculture*. 2016. 2(1). P. 1127500.
3. Пацко О.В., Воробей Н.А., Коць С.Я., Паршикова Т.В. Дослідження ефективності агроконсоціумів азотфіксувальних мікроорганізмів. *Физиология и биохимия культурных растений*. Київ, 2010. Т. 42, №2. С. 137–145.
4. Дацько О.М. Рослинні пробіотики: вплив на рослини в умовах стресу. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. Суми, 2021. №1. С. 10–18.
5. Коломієць Ю.В., Григорюк І.П., Буценко Л.М. Індукуючий вплив біодобриг на продуктивність рослин томатів і формування мікробіоти ризосфери. *Агроекологічний журнал*. 2017. №1. С. 75–82.
6. Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J Microb Biochem Technol*. 2015. 7(2). . 096-102.
7. Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*. 2021. 13(3). С. 1140.
8. Лисак П.Ю., Кричковська Л.В., Лисак М.С. Дослідження впливу стимулятора росту на основі відходів дріжджового виробництва на салат. 2021. 3 ст.



9. Жатова Г.О., Бондарєва Л.М., Коплик Я.В. Особливості ризосферної мікробіоти лікарських рослин. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. Суми, 2019. №4. С. 61–65.
10. Jha, S. K., & Saraf, M. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review. *Journal of Agricultural Research and Development*. 2015. 5(2). С. 108-119.
11. Панцирева Г.В., Паламарчук І.І. Формування симбіотичного потенціалу квасолі овочевої (*Phaseolus Vulgaris* L.) залежно від застосування біопрепарату в агроценозах правобережного лісостепу України. *Наук. доп.* №5, Київ, 2018. 15 ст.
12. Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*. 2012. №35. С. 1044-1051.
13. Білоус С.Ю., Марчук Ю.М., Бородай В.В., Ліханов А.Ф. Використання рослинно-асоційованих бактерій для підвищення стійкості рослин *Quercus* L. До стресорів: зб. тез. доп., Київ, 2021. С. 29–30.
14. Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology*. 2021. № 10(6). P. 475.
15. Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied Sciences*. 2022. № 12(3). P. 1231.
16. Bhat, M. A., Kumar, V., Bhat, M. A., Wani, I. A., Dar, F. L., Farooq, I., ... & Jan, A. T. Mechanistic insights of the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with plant roots toward enhancing plant productivity by alleviating salinity stress. *Frontiers in microbiology*. 2020. №11. P. 1952.
17. Kumari, B., Mallick, M. A., Solanki, M. K., Solanki, A. C., Hora, A., & Guo, W. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): modern prospects for

sustainable agriculture. *Plant Health Under Biotic Stress: Volume 2: Microbial Interactions*. 2019. P. 109-127.

18. Riaz, U., Murtaza, G., Anum, W., Samreen, T., Sarfraz, M., & Nazir, M. Z. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as biofertilizers and biopesticides. *Microbiota and biofertilizers: a sustainable continuum for plant and soil health*. 2021. P. 181-196.

19. Trabelsi D., Mhamdi R. Microbial Inoculants and Their Impact on Soil Microbial Communities: A Review. *BioMed Research International*. 2013. Vol. 2013. P. 1–11.

20. Муродова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельськохозяйственной практике. *Biotechnologia acta*. 2014. №7(6). С. 92–101.

21. Чучвага І.Г., Волкогон В.В., Волкогон К.І. Формування мікробного угруповання ризосфери рослин жита озимого за впливу мінерального удобрення та діазобактерину. *Саття*. 2012. С. 101–112.

22. Телекало Н.В. Ефективність використання бактеріальних препаратів при вирощуванні гороху посівного. *Збірник наукових праць ВНАУ*. Вінниця. 2019. №14. С. 127–140.

23. Карпенко В.П., Притуляк Р.М., Новікова Т.П. Активність мікробіоти в ризосфері сочевиці за дії біологічних препаратів. *Таврійський науковий вісник*. Таврія, 2018, №103. С. 56–62.

24. Циганкова В.А., Андрусевич Я.В., Бабаянц О.В., Пономаренко С.П., Галкін А.П., Медков А.І. Підвищення регуляторами росту імунітету рослин до патогенних грибів, шкідників і нематод. *Физиология и биохимия культурных растений*. Київ, 2013. Т. 45, №2. С. 138–147.

25. Моргун В.В., Коць С.Я. Роль біологічного азоту в азотному живленні рослин. *Вісник Національної академії наук України*. №1. 2018. С. 62–74.

26. Кривцова М.В., Ніколайчук М.В. Екологія мікроорганізмів: навч. посіб. 2011. 184 с.
27. Some aspects of the biology of nitrogen-fixing organisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*. 1987. Vol. 317, no. 1184. P. 111–129.
28. The importance of denitrification performed by nitrogen-fixing bacteria used as inoculants in South America / J. É. Zilli et al. *Plant and Soil*. 2019. Vol. 451, no. 1-2. P. 5–24.
29. Harrison, John Arthur. "The Nitrogen Cycle." (2010). P. 1-4.
30. Zainab, N., Khan, A. A., Azeem, M. A., Ali, B., Wang, T., Shi, F., ... & Chaudhary, H. J. PGPR-mediated plant growth attributes and metal extraction ability of *Sesbania sesban* L. in industrially contaminated soils. *Agronomy*. 2021. 11(9). P. 1820.
31. Kenneth, O. C., Nwadike, E. C., Kalu, A. U., & Unah, U. V. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a novel agent for sustainable food production. *Am J Agric Biol Sci*. 2019. №14. P. 35-54.
32. Malik, L., Sanaullah, M., Mahmood, F., Hussain, S., Siddique, M. H., Anwar, F., & Shahzad, T. Unlocking the potential of co-applied biochar and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture under stress conditions. *Chemical and biological technologies in agriculture*. 2022. 9(1). P. 1-29.
33. Comparative fertilizer properties of digestates from mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of dairy manure: focusing on plant growth promoting bacteria (PGPB) and environmental risk / G. Qi et al. *Journal of Material Cycles and Waste Management*. 2018. Vol. 20, no. 3. P. 1448–1457.
34. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants / A. Kumar et al. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11.
35. Evaluation of ACC-deaminase-producing rhizobacteria to alleviate water-stress impacts in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants / D.Chandra et al. *Canadian Journal of Microbiology*. 2019. Vol. 65, no. 5. P. 387–403.

36. Ruiu L. Plant-Growth-Promoting Bacteria (PGPB) against Insects and Other Agricultural Pests. *Agronomy*. 2020. Vol. 10, no. 6. P. 861.
37. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biotic Strategy to Cope with Abiotic Stresses in Wheat / O. Lastochkina et al. *Wheat Production in Changing Environments*. Singapore, 2019. P. 579–614.
38. The role of Plant Growth Promoting Bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat / N. Antonella Di Benedetto et al. *AIMS Microbiology*. 2017. Vol. 3, no. 3. P. 413–434.
39. Biopriming of durum wheat seeds with Newly halotolerant PGPB bacterial isolates for improving their potential of plant growth under stressful conditions / A. HADJ BRAHIM et al. *MOL2NET'21, Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 7th ed.*, Sciforum.net, 25 January 2021 – 30 January 2022. Basel, Switzerland, 2021.
40. Способ получения микробного органоминерального удобрения со свойствами иммуномодулятора и обладающего лечущим эффектом при поражении растений бактериальными болезнями: пат. Россия. № 2458028; заявл. 03.08.2010; опубл. 10.08.2012. Бюл. №22. 11 С.
41. Walter V., Syldatk C., Hausmann R. Screening Concepts for the Isolation of Biosurfactant Producing Microorganisms. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York, NY, 2010. P. 1–13.
42. Методичні вказівки до лабораторних робіт з дисципліни: “Основи технічної мікробіології”. Київ, 2007.
43. Козар С. Ф. Продукування фітогормонів *Bradyrhizobium japonicum* і *Azospirillum brasilense* за їх сумісного культивування. *Сільськогосподарська мікробіологія*, (28). 2018. С. 33–40.
44. Palyka V. P., Kyrychenko O. V., Kots S. Y. Screening and selection of the soil microorganisms on the ability of “nitrogen-fixing activity”. *Mikrobiolohichniy Zhurnal*. 2015. 77 (4). P. 2–7.

45. Park, J. H., Bolan, N., Megharaj, M., & Naidu, R. "Isolation of phosphate solubilizing bacteria and their potential for lead immobilization in soil". *Journal of Hazardous Materials*. 2011. 185 (2-3). P. 829–836.
46. El-Awady M. A. M., Hassan M. M., Al-Sodany Y. M. "Isolation and characterization of salt tolerant endophytic and rhizospheric plant growth-promoting bacteria (PGPB) associated with the halophyte plant (*Sesuvium Verrucosum*) grown in KSA". *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*. 2015. 3 (3). P. 552–560.
47. Dipak P., Sankar N. S. "Isolation and characterization of a phosphate solubilizing heavy metal tolerant bacterium from River Ganga, West Bengal, India". *Songklanakarinn Journal of Science & Technology*. 2015. 37 (6). P. 651–657.
48. Mohite B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of soil science and plant nutrition*. 2013. Ahead. P. 638–649.
49. Alori E. T., Glick B. R., Babalola O. O. "Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture". *Frontiers in microbiology*. 2017. Vol. 8.
50. Kuklinsky- Sobral, J., Araújo, W. L., Mendes, R., Geraldi, I. O., Pizzirani- Kleiner, A. A., & Azevedo, J. L. "Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion". *Environmental microbiology*. 2004. 6 (12). P. 1244–1251.
51. Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. "Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake". *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2020.
52. Gupta, G., Panwar, J., Akhtar, M. S., & Jha, P. N. "Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria as Biofertilizer". *Sustainable agriculture reviews*. Dordrecht, 2012. P. 183–221.
53. Shekhar S., Sundaramanickam A., Balasubramanian T. "Biosurfactant Producing Microbes and their Potential Applications: A Review". *Critical reviews in environmental science and technology*. 2014. Vol. 45, no 14. P. 1522–1554.

54. Lacava P. T., Azevedo J. L. “Endophytic Bacteria: A Biotechnological Potential in Agrobiological System”. *Bacteria in agrobiological systems: Crop Productivity*. Berlin, Heidelberg, 2013. P. 1–44.
55. Firdous, J., Mona, R., & Muhamad, N. “Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: A review”. *Indian Journal of Agricultural Research*, 53(1). 2019.
56. Singh V., Lehri A., Singh N. “Assessment and comparison of phytoremediation potential of selected plant species against endosulfan”. *International journal of environmental science and technology*. 2018. 16 (7). P. 3231–3248.
57. Glick B. R. “Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications”. *Scientifica*. 2012. P. 1–15.
58. Gamalero E., Glick B. R. “Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria”. *Bacteria in agrobiological systems: Plant Nutrient Management*. Berlin, Heidelberg, 2011. P. 17–46.
59. Pršić J., Ongena M. “Elicitors of Plant Immunity Triggered by Beneficial Bacteria”. *Frontiers in Plant Science*. 2020, 11: 594530.
60. Le, Xiuning, et al. “Landscape of EGFR-Dependent and -Independent Resistance Mechanisms to Osimertinib and Continuation Therapy Beyond Progression in EGFR-Mutant NSCLC”. *Clinical Cancer Research*. 2018. Vol. 24 (24). P. 6195–6203.
61. Fernández, L. A., Zalba, P., Gómez, M. A., & Sagardoy, M. A. “Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions”. *Biology and Fertility of Soils*. 2007. 43 (6). P. 805–809.
62. Wan, L. et al. “Translation stress and collided ribosomes are co-activators of cGAS”. *Molecular cell*. 2021. 81 (13). P. 2808–2822.
63. Balleza D., Alessandrini A., Beltrán García M. J. Role of Lipid Composition, Physicochemical Interactions, and Membrane Mechanics in the Molecular Actions of Microbial Cyclic Lipopeptides. *The Journal of membrane biology*. 2019. 252 (2). P. 131–157.

64. Alori E. T., Glick B. R., Babalola O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Frontiers in microbiology*. 2017, (8).
65. Tallapragada, P., & Gudimi, M. (2011). Phosphate solubility and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Turkish journal of Biology*, 35(5). P. 593-600.
66. Naha D., Kumar Dash S., Sathyakumar S. Inaccurate methods and erroneous conclusions drawn on human-leopard coexistence in India – Response to Puri et al., 2020 “The balancing act: Maintaining leopard–wild prey equilibrium could offer economic benefits to people in a shared forest landscape of central India”. *Ecological Indicators*. 2020, (117).
67. Wang S., Mulligan C. N. An evaluation of surfactant foam technology in remediation of contaminated soil. *Chemosphere*. 2004. 57 (9). P. 1079–1089.
68. Shekhar S., Sundaramanickam A., Balasubramanian T. Biosurfactant Producing Microbes and their Potential Applications: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2014. 45 (14). P. 1522–1554.
69. Franche C., Lindström K., Elmerich C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and soil*. 2008. 321 (1-2). P. 35–59.
70. N. Tejera et al. “Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere”. *Plant and soil*. 2005. 270 (1). P. 223–232.
71. Panigrahi S., Dash D., Rath C. C. “Characterization of endophytic bacteria with plant growth promoting activities isolated from six medicinal plants”. *Journal of experimental biology and agricultural sciences*. 2018. 6 (5). P. 782–791.
72. Mano H., Morisaki H. Endophytic Bacteria in the Rice Plant. *Microbes and Environments*. 2008. 23 (2). P. 109–117.
73. Johnston-Monje D., Raizada M. N. Conservation and Diversity of Seed Associated Endophytes in *Zea* across boundaries of evolution, ethnography and ecology. *Plos one*. 2011. 6 (6).
74. G. Strobel et al. “Natural Products from Endophytic Microorganisms<sup>1</sup>”. *Journal of Natural Products*. 2004. 67 (2). P. 257–268.



## ДОДАТОК А

**ABSTRACTS CONFERENCE**

UDC 579.266.2+579.222

<https://doi.org/10.15407/biotech15.04.005>**PLANT GROWTH-PROMOTING TRAITS  
OF ANTARCTIC ENDOPHYTIC BACTERIA***I. O. Bortyanuy<sup>1</sup>, Ie. P. Prekrasna<sup>2</sup>, O. S. Iungin<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine<sup>2</sup>Institution National Antarctic Scientific Center, Kyiv, Ukraine*E-mail: bortyanuy315@gmail.com*

Received 02.06.2022

Revised 15.07.2022

Accepted 31.08.2022

Successful colonization of Antarctic lands by vascular plants *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis* and their adaptation to stressful environments is associated not only with climate change but also with the functioning of microbial groups of phylo- and endosphere of these plants.

*The aim* of our study was to screen plant growth-promoting traits in endophytic bacteria of antarctic vascular plants.

*Materials and methods.* We have studied 8 bacterial cultures isolated from *D. antarctica* collected during the 25<sup>th</sup> Ukrainian Antarctic Expedition (January-April 2020) along the Western part of the Antarctic Peninsula.

Overnight liquid cultures were obtained on Nutrient Broth medium (HiMedia, Ltd.) in a shaking incubator (26 °C, 160 rpm). Bacterial isolates were grown on Ashby's combined-nitrogen-free medium with sucrose. Drop collapse assay for cyclic lipopeptide production (CLP), motility assay, exoprotease production and phosphate solubilizing ability were performed using generally accepted methods.

*Results.* All studied isolates have shown plant growth-promoting traits. The most abundant were nitrogen-fixing activity and motility. Both these play important role in plant colonization and promoting the growth of plants in harsh environments. The evidences of CLP were shown by two strains only. There was no notice of phosphate solubilizing ability and exoprotease production.

*Conclusions.* Endophytic bacteria of antarctic vascular plants could support the growth and nutrition needs of the plants.

**Key words:** PGPB, antarctic vascular plants, endophytes.

In both managed and natural ecosystems, beneficial plant-associated bacteria play a key role in supporting and/or increasing plant health and growth. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) seem to function as a «normoflora» of a plant, can be applied in agricultural production or for the phytoremediation of pollutants [1].

Plant growth-promoting bacteria facilitate plant growth in two ways, either by direct stimulation or by biocontrol (i.e., suppressive activity against soil-borne diseases). The direct stimulation of plant growth may be a consequence of nitrogen fixation, phosphate solubilization, iron sequestration, synthesis of phytohormones (such as auxins, cytokinins, and gibberellins), or modulation of plant ethylene

levels [2] helping plants to overcome stress and support cell metabolism. In fact, no single organism has the ability to make use of all the available mechanisms that could be used to promote plant growth. Various PGPB often possess one or more of the above mentioned traits [3].

Successful colonization of Antarctic lands by vascular plants *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis* and their adaptation to stressful environments is associated not only with climate change but also with the functioning of microbial groups of phylo- and endosphere of these plants [4].

The aim of our study was to screen plant growth-promoting traits in endophytic bacteria of antarctic vascular plants.



### Materials and Methods

We have studied 8 bacterial cultures isolated from *D. antarctica* collected during the 25th Ukrainian Antarctic Expedition (January-April 2020) along the Western part of the Antarctic Peninsula. Overnight liquid cultures were obtained on Nutrient Broth medium (HiMedia, Ltd.) in a shaking incubator (26 °C, 160 rpm). Nitrogen-fixing activity were checked on Ashby's combined-nitrogen-free medium with sucrose. Bacterial growth was determined by the change of optical density (OD<sub>600</sub>) and evaluated as + (weak growth), ++ (moderate growth), +++ (abundant growth) [5].

*Drop collapse assay for cyclic lipopeptides production (CLPs)* was performed onto Parafilm. The reduction of the surface tension and the collapse of the droplet (10 µL aliquots of bacterial overnight culture) indicated the presence of surfactants [6].

*Motility assay* was performed onto 1/5 Nutrient agar (0.3%). 10 µL aliquots of bacterial overnight culture were spot in medium surface. Colony diameter was measured in 24, 48 and 72 h after inoculation on 0.3% 1/5 NA [7].

*Exoprotease production* was tested using skim milk agar [8]. A cleared zone surrounding bacterial growth after incubation for 48 and 72 h at 28°C was the evidence of exoprotease production.

*Phosphate solubilizing ability* was tested on Pikovskaya (PVK) medium [9] incorporated with Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

All experiments were performed in triplicates.

Table. Plant growth-promoting traits of studied isolates

Isolate No.	CLPs	N <sub>2</sub> -fixing activity	Motility
10.4	+	+++	-
15.6	-	+	+
24.4	+	+++	+
25.2	+	+++	+
26.2	+	+++	+
26.7	+	++	-
39.12	+	-	+
40.1	+	-	-

\* Phosphate solubilizing ability and exoprotease production are no shown because it was not detected;

\*\* + weak growth, ++ moderate growth, +++ abundant growth in Ashby's medium.

### Results and Discussion

The mentioned set of screened plant growth-promoting characteristics was chosen based on the importance of adequate nutrition in low-temperature environment and defense system against numerous of pathogens [10].

All studied isolates have shown plant growth-promoting traits (Table).

The most abundant were nitrogen-fixing activity, cyclic lipopeptides production and motility. These traits play important role in plant colonization and promoting the growth of plants in harsh environments. Nitrogen is known as one of the limiting factors regarding plant growth [11]. Biological nitrogen fixation plays a great role in subsidizing plants with nitrogen in such limiting or low-mobility environments as Antarctic region. Phosphorus is one of the six elements essential for plant growth. The majority of phosphate solubilizing bacteria affiliates with *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactococcus*, *Enterobacter* and *Alcaligenes* [12]. Although there were *Bacillus* and *Pseudomonas* among studied isolates there was no evidences of phosphate solubilizing ability as well as exoproteases synthesis.

The evidences of CLPs were shown by almost all isolates. Despite the fact that CLPs are known as biocontrol molecules, their role is believed more complicated than this [13]. CLPs exhibit interesting biological activities including interactions with biofilms [14] which affect not pathogens only but could manage colonization activity and the balance among endophytic community itself.

#### Conclusions

Antarctic endophytic bacteria seem affect plants directly through nutrition facilitating and various colonization mechanisms which needed to be studied deeper.

*Funding.* The project was done in the frame of BF/19-2021 contract dated June 1, 2021 to fulfill the tasks of the perspective development plan of the scientific direction "Technical Sciences".



## REFERENCES

1. Compant S., Clément C., Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*. 2010, 42(5), 669–678. <https://doi.org/10.3390/biology10060475>
2. Gamalero E., Glick B. R. Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. In *Bacteria in agrobiology: plant nutrient management*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011, pp. 17–46.
3. Olanrewaju O. S., Glick B. R., Babalola O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017, 33(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110712>
4. Peixoto R. J. M., Miranda K. R., Lobo L. A., Granato A., de Carvalho Maalouf P., de Jesus H. E., Domingues R. M. C. P. Antarctic strict anaerobic microbiota from *Deschampsia antarctica* vascular plants rhizosphere reveals high ecology and biotechnology relevance. *Extremophiles*. 2016, 20(6), 875–884.
5. Mohite B. V., Patil S. V. Isolation and Identification of Nonsymbiotic *Azotobacter* and Symbiotic *Azotobacter Paspali-Paspalum notatum*. In *Practical Handbook on Agricultural Microbiology*. Humana, New York, NY. 2022, pp. 25–33).
6. De Souza J. T., De Boer M., De Waard P., Van Beek T. A., Raaijmakers J. M. Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology*. 2003, 69(12), 7161–7172. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7161-7172.2003>
7. Ha D. G., Kuchma S. L., O'Toole G. A. Plate-based assay for swimming motility in *Pseudomonas aeruginosa*. In *Pseudomonas methods and protocols*. Humana Press, New York, NY. 2014, pp. 59–65.
8. Vazquez S. C., Rios Merino L. N., MacCormack W. P., Fraile, E. R. Protease-producing psychrotrophic bacteria isolated from Antarctica. *Polar Biology*. 1995, 15(2), 131–135.
9. Pikovskaya R. I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*. 1948, 17, 362–370.
10. Pršić J., Ongena M. Elicitors of plant immunity triggered by beneficial bacteria. *Frontiers in Plant Science*. 2020, 11, 594530.
11. Puri A., Padda K. P., Chanway, C. P. Nitrogen-fixation by endophytic bacteria in agricultural crops: recent advances. *Nitrogen in agriculture*. IntechOpen, London, GBR. 2018, 73–94.
12. Li J. T., Lu J. L., Wang H. Y., Fang Z., Wang X. J., Feng, S. W., Liang J. L. A comprehensive synthesis unveils the mysteries of phosphate-solubilizing microbes. *Biological Reviews*. 2021, 96(6), 2771–2793. <https://doi.org/10.1111/brv.12779>
13. Wan C., Fan X., Lou Z., Wang H., Olatunde A., Rengasamy K. R. Iturin: Cyclic lipopeptide with multifunction biological potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021, 1–13.
14. Balleza D., Alessandrini A., Beltrán García M. J. Role of lipid composition, physicochemical interactions, and membrane mechanics in the molecular actions of microbial cyclic lipopeptides. *The Journal of membrane biology*. 2019, 252(2), 131–157. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1922355>



Taras Shevchenko National University of Kyiv  
Educational and Scientific Center "Institute of Biology and Medicine"  
Conference was organized with EFIS Meeting Support



IV International Scientific Conference  
"Microbiology and Immunology - the  
development outlook in the 21<sup>st</sup> century"

Kyiv, Ukraine  
22-23 September, 2022



**EFIS**

**Certificate of Participation  
awarded to  
IHOR BORTYANIY**



Chairman of the Organizing Committee  
Co-Chairman of the Organizing Committee



**Liudmyla OSTAPCHENKO**  
**Larysa SKIVKA**



ДОДАТОК Б

**SCI-CONF.COM.UA**

# **EURASIAN SCIENTIFIC DISCUSSIONS**



**PROCEEDINGS OF VI INTERNATIONAL  
SCIENTIFIC AND PRACTICAL CONFERENCE  
JULY 3-5, 2022**

**BARCELONA  
2022**

# **EURASIAN SCIENTIFIC DISCUSSIONS**

Proceedings of VI International Scientific and Practical Conference

Barcelona, Spain

3-5 July 2022

**Barcelona, Spain**

**2022**

**UDC 001.1**

The 6<sup>th</sup> International scientific and practical conference “Eurasian scientific discussions” (July 3-5, 2022) Barca Academy Publishing, Barcelona, Spain. 2022. 267 p.

**ISBN 978-84-15927-32-7**

The recommended citation for this publication is:

*Ivanov I. Analysis of the phaunistic composition of Ukraine // Eurasian scientific discussions. Proceedings of the 6th International scientific and practical conference. Barca Academy Publishing. Barcelona, Spain. 2022. Pp. 21-27. URL: <https://sci-conf.com.ua/vi-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferentsiya-eurasian-scientific-discussions-3-5-iyulya-2022-goda-barselona-ispaniya-arhiv/>.*

**Editor**

**Komarytskyy M.L.**

*Ph.D. in Economics, Associate Professor*

Collection of scientific articles published is the scientific and practical publication, which contains scientific articles of students, graduate students, Candidates and Doctors of Sciences, research workers and practitioners from Europe, Ukraine, Russia and from neighbouring countries and beyond. The articles contain the study, reflecting the processes and changes in the structure of modern science. The collection of scientific articles is for students, postgraduate students, doctoral candidates, teachers, researchers, practitioners and people interested in the trends of modern science development.

**e-mail:** [barca@sci-conf.com.ua](mailto:barca@sci-conf.com.ua)

**homepage:** <https://sci-conf.com.ua>

©2022 Scientific Publishing Center “Sci-conf.com.ua” ®

©2022 Barca Academy Publishing ®

©2022 Authors of the articles



## TABLE OF CONTENTS

### BIOLOGICAL SCIENCES

1. *Бабаханова Д. Б., Мирхамидова П., Хидоятов С. М., Баходирхонова М. М.* 9  
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ УЗИ И ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ
2. *Бортяний І. О., Юнгін О. С.* 16  
БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАМІВ РИЗОСФЕРИ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

### MEDICAL SCIENCES

3. *Riznychenko O., Ibrahimova O., Yeskin O., Khokhlov M.* 18  
EFFICACY OF AMINOPHENYLBUTYRIC ACID IN THE TREATMENT OF REBOUND HEADACHE
4. *Serheta I., Makarova O.* 21  
OPTIMIZATION OF MOTOR ACTIVITY OF STUDENTS AND ITS PLACE IN THE STRUCTURE OF HEALTH-SAVING TECHNOLOGIES
5. *Shamrai V. A., Misiurko O. I., Grebeniuk D. I.* 25  
CHANGES IN THE REPRODUCTIVE HEALTH OF PATIENTS AFTER CHEMOTHERAPY FOR BREAST CANCER
6. *Анохіна С. І.* 30  
ЗРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ТРОМБОСЛАСТОГРАФІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЗГОРТАННЯ КРОВІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕКЗО- ТА ЕНДОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ У ГІПОТИРЕОЇДНИХ ЩУРІВ
7. *Драчевська І. Ю.* 36  
ПРОЯВИ СТАТЕВОГО ДИМОРФІЗМУ В МОДЕЛЯХ ЦЕФАЛОМЕТРИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЗА МЕТОДАМИ STEINER, RICKETTS І DOWNS В УКРАЇНСЬКИХ ЮНАКІВ І ДІВЧАТ ІЗ ОРТОГНАТИЧНИМ ПРИКУСОМ ІЗ ШИРОКИМ ТИПОМ ОБЛИЧЧЯ
8. *Локота Є. Ю., Локота Ю. Є., Грицак М. Є., Вовчок Р. В.* 40  
АТРОФІЯ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ВІДРОСТКУ, У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ПОВНОЮ АДЕНТІСІЮ. СКАРГИ ТА ЗАХВОРЮВАННЯ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИНΙΚАТИ ПІД ЧАС ВИКОРИСТАННЯ ПОВНИХ ЗНІМНИХ ПРОТЕЗАЗІВ
9. *Мацюк Л. Л., Соловей В. М.* 42  
ЛІКУВАННЯ ЕНДОМЕТРІОЗУ
10. *Мороз Л. В., Шостацька М. О.* 48  
ФАКТОРИ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ВАЖКОГО ПЕРЕБІГУ COVID-19 У ПАЦІЄНТІВ ПОХИЛОГО ТА СТАРЕЧОГО ВІКУ З ГОСТРОЮ КИШКОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

## БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАМІВ РИЗОСФЕРИ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

**Бортяний Ігор Олегович,**

Студент

**Юнгін Ольга Сергіївна,**

к.б.н., доцент

Київський національний університет технологій та дизайну  
м. Київ, Україна

**Вступ.** Створення та застосування біопрепаратів на основі мікроорганізмів, що стимулюють ріст рослин – один з найбільш ефективних прийомів підвищення продуктивності рослин та якості їх урожаю, що дозволяє зберігати природну родючість ґрунтів та екологічну рівновагу навколишнього середовища (Kour et al., 2020). Основна біотехнологічна схема отримання таких препаратів передбачає пошук та виділення з довкілля мікробних популяцій з певними функціональними характеристиками, включаючи азотфіксацію, постачання рослин фосфором та іншими елементами, синтез фітогормонів, вплив на шкідників і т.д. Найбільш ефективними вважаються мікроорганізми, які були відселекціоновані з ризоплани або ризосфери того ж виду рослин, насіння яких піддають інокуляції (Singh et al., 2019, Riaz et al., 2020).

Нами було відібрано штами, виділені з ризосфери пшениці озимої, для подальшої характеристики та оцінки їх перспективності для включення до складу біодобрива.

**Мета роботи.** Визначення біохімічних показників штамів бактерій, ізольованих з ризосфери пшениці озимої, для подальшого створення біодобрива.

**Матеріали та методи.** Серед усіх біохімічних показників було обрано здатність синтезувати біосурфактанти, сидерофори, екзопротеази, індоліл-



оцтову кислоту та  $-HCN$ . Вказані показники визначали згідно з загальноприйнятими методиками (Tsegaye et al., 2019, Wu et al., 2019, Sehrawat et al., 2022).

**Результати та обговорення.** У досліджуваних штамів (*Pseudoarthrobacter oxidans* USM2, *Pseudomonas lini* USM3, *Pseudomonas putida* USM4, *Achromobacter xylosoxidans* LKM14, *Ensifer adhaerens* LKM16) були виявлені різні показники, які характеризують ріст-стимуловальні бактерії. Так, штам USM2 продукував ІОК у кількості  $99,2 \pm 0,77$  мкг/мл, що може позитивно впливати на ріст та розвиток рослин. У обох штамів роду *Pseudomonas* показана здатність продукувати біосурфактанти та сидерофори, що відповідає характеристикам роду. Мікроорганізми, що продукують сидерофори, відіграють важливу роль у виживаності рослин за забруднених ґрунтах та забезпечують рослини залізом (Ferreira et al., 2019). Крім того, штам USM3 продукував також  $-HCN$ , що може впливати на механізми біоконтролю патогенів (Rehman et al., 2020).

**Висновки.** Біохімічні показники досліджуваних штамів дозволяють розглядати їх як перспективні для створення на їх основі біодобрива.

**CERTIFICATE**  
is awarded to  
**Bortyaniy Igor**

for being an active participant in  
VI International Scientific and Practical Conference  
**“EURASIAN SCIENTIFIC DISCUSSIONS”**  
*24 Hours of Participation*  
*(0,8 ECTS credits)*



**BARCELONA**  
3-5 July 2022



**sci-conf.com.ua**