

УДК 579.64

Н.В. Титаренко, Н.І. Теслюк, В.О. Іваниця

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: tatti383@gmail.com

ВПЛИВ АКТИНОБАКТЕРІЙ НА АДАПТАЦІЮ ДО УМОВ *EX VITRO* ТА РІСТ МІКРОКЛОНОВАНИХ РОСЛИН *RUBUS FRUTICOSUS* L.

Мікроклонування є ефективним методом репродукції рослин, що активно розвивається в Україні для оздоровлення та масового розмноження таких цінних рослин, як Ожина звичайна. Проте, на стадії адаптації мікроклонуваних рослин до умов *ex vitro* часто виникає проблема втрати великої кількості мікроклонів. Інокуляція ризосфери таких рослин потенційно корисними мікроорганізмами може позитивно вплинути на приживлюваність та зовнішні характеристики адаптованих саджанців. **Метою** даного дослідження було визначити вплив ізолятів морських актинобактерій на мікроклонувани рослини Ожини звичайної під час адаптації до умов *ex vitro* та встановити ріст-стимулювальний і захисний потенціал даних бактерій для рослин. **Методи.** У дослідженні використовували міцеліальні актинобактерії, ізольовані із зразків обростань природного черепашику і бетонних поверхонь, зібраних в Одеській затоці Чорного моря та Куяльницькому лимані. Визначення антагоністичної активності дослідних мікроорганізмів проводили методом агарових блоків, і здійснювали інокуляцію коренів мікроклонів Ожини звичайної суспензіями бактерій перед висадкою у ґрунт. **Результати.** Встановлено наявність антагоністичних властивостей дослідних бактерій до фітопатогенних грибів *P. expansum*, *P. variotii*, *A. niger*, *C. cladosporioides*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *R. cerealis* та *A. tenuissima*. Виявлено позитивний вплив бактерій на мікроклонувани рослини ожини під час адаптації до умов *ex vitro*: підвищення приживлюваності мікроклонів у ґрунті до 34,8%, середньої висоти новоутворених пагонів дослідних рослин – до 2,0 см, кількості вузлів – до 3,4 вузлів, площі листа – до 0,4 см². **Висновок.** Ізоляти міцеліальних актинобактерій *Lim4*, *Mut7ch*, *Сопс32*, *Сопс4* є перспективними для інокуляції мікроклонуваних рослин на етапі адаптації до умов *ex vitro* і можуть бути рекомендовані для подальших досліджень з метою встановлення конкретних механізмів взаємодії даних бактерій та рослин.

Ключові слова: *Rubus fruticosus*, мікроклональне розмноження, адаптація *ex vitro*, морські актинобактерії, антагоністичні властивості

Ожина звичайна (*Rubus fruticosus* L.) – традиційна плодово-ягідна культура, що в останні роки стає все популярнішою для вирощування на території України. Це харчова, кормова, медоносна, танідоносна, лікарська, декоративна рослина і природний барвник [14]. Насадження ожини перешкоджають процесам ерозії ґрунту, а плоди використовуються у різноманітних сферах



виробництва: медичній, харчовій, косметичній промисловості. Ягоди ожини є джерелом цінних нутрієнтів, у тому числі, природних антиоксидантів. Флавоноїди та фенольні сполуки, виділені з ягід, мають антиканцерогенний та протизапальний ефект [36].

Популярними є безшипні сорти, культивування яких забезпечує зручність збору врожаю із відмінною якістю плодів. Традиційно ожину розмножують верхівковими відводами, корінними і зеленими черенками, відприсками, розділенням куща [7]. Але успішне застосування вегетативного способу розмноження обмежене потребою великих площ для саджанців, додаткових зусиль для боротьби з бур'янами та інфекційними хворобами рослин [5].

Для подолання зазначених обмежень, доцільно використовувати метод мікроклонального розмноження – швидкий та зручний спосіб репродукції рослин, що дозволяє отримувати велику кількість садивного матеріалу за короткий час. Розмножуючи рослини даним способом, можливо оздоровити саджанці від вірусних та бактеріальних інфекцій та, за потреби, налагодити цілорічне виробництво цільового рослинного матеріалу. Мікроклонування широко застосовується для масового розмноження багатьох цінних плодово-декоративних видів рослин та, зокрема, різних сортів Ожини звичайної [34].

Проте, у даного методу є особливості, що можуть значно обмежити його успішне використання. У першу чергу, це стосується постасептичної адаптації мікроклонів. У процесі адаптації зазвичай втрачається велика кількість рослинного матеріалу через знижену стійкість рослин до інфекцій та деякі фізіологічні особливості (недорозвинена кутикула, надмірна інтенсивність транспірації, недостатній рівень фотосинтезу і т.д.) та загальну недостатню стресостійкість порівняно до звичайних рослин [31]. Зменшення адаптаційного стресу для мікроклонуваних рослин є сьогодні однією з пріоритетних задач біотехнології рослин.

Враховуючи той факт, що мікроклони культивуються в асептичних умовах та не мають повноцінно сформованої мікробіоти, і знаючи про важливість взаємодії мікроорганізмів та рослин у природі, ми можемо припустити, що їх інокуляція корисними бактеріями на етапі адаптації до умов оточуючого середовища може підвищити приживлюваність саджанців у ґрунті та позитивно вплинути на зовнішні характеристики садивного матеріалу [2].

Як потенційно корисні мікроорганізми можуть бути актинобактерії – представники таксономічної групи мікроорганізмів, що сьогодні широко досліджується як можливий стимулятор росту та агент захисту рослин. Велике різноманіття актинобактерій населяють ризосферу рослин та тісно з нею взаємодіють, що дає можливість характеризувати їх як бактерії-стимулятори росту рослин. При цьому, вони мають як прямі, так і опосередковані механізми впливу на рослини. Серед відомих на сьогодні механізмів дії актинобактерій можна виділити: синтез антибіотичних речовин (у тому числі, летких) та ферментів, що викликають гідроліз клітинної стінки фітопатогенних грибів; синтез фітогормонів, 1-аміноциклопропан-1-карбоксилат дезамінази, сидерофорів; фіксацію азоту та сольобілізацію фосфатів у ґрунті, гіперпаразитизм, сприяння симбіозу рослин з іншими корисними мікроорганізмами [18, 26, 30, 13, 21].



Пошук та ідентифікація потенційно корисних для рослин бактерій є дуже актуальним напрямом досліджень, спрямованим на підтримку принципів сталого сільськогосподарського виробництва [8]. З використанням ріст-стимулювальних та захисних мікроорганізмів для культурних рослин стає можливим зменшення використання хімічних добрив, токсичних для тварин засобів захисту рослин, та підвищення врожайності важливих агрокультур. У тому числі, актинобактерії із зазначеними властивостями можуть бути використані також для мікроклонального розмноження, а саме під час адаптації рослин до умов *ex vitro* для підвищення рівня приживлюваності, захисту від патогенів та пом'якшення стресових умов вирощування у відкритому ґрунті [2].

Відомо, що більшість корисних для рослин актинобактерій виділяють зазвичай із ґрунту або із самих рослин, але пошук стимуляторів росту та антагоністів фітопатогенів у незвичних середовищах є перспективним напрямком досліджень, що тільки починає розвиватися по всьому світу. Екстремофільні актинобактерії, а також бактерії із незвичайних екологічних ніш (наприклад, морські мікроорганізми роду *Streptomyces*) зазвичай мають специфічні адаптації до екстремальних умов існування, що виявляється у продукуванні унікальних біологічних речовин [16]. Таким мікроорганізмам властива висока екологічна та фізіологічна пластичність, що дозволяє їм виживати у широкому діапазоні умов. Проте, доцільність використання таких мікроорганізмів для аграрного сектору чи біотехнології рослин ще недостатньо вивчена та потребує додаткових досліджень. Але результати певних небагаточисленних експериментів щодо скринінгу морських актинобактерій на ріст-стимулювальні властивості відкривають великий потенціал їх застосування для покращення росту та розвитку рослин як у звичайних, так і стресових умовах [27].

Таким чином, метою даного дослідження було визначити вплив ізолятів морських актинобактерій на мікроклоновані рослини Ожини звичайної під час адаптації до умов *ex vitro* та встановити ріст-стимулювальний і захисний потенціал даних бактерій для рослин.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал. Для введення в культуру *in vitro* проводили відбір молодих однорічних нездерев'янілих пагонів Ожини звичайної (*Rubus fruticosus* L. сорту Thornfree). Донорні рослини вирощувалися у відкритому ґрунті. Як ініціальні експланти виступали вузлові сегменти рослин із верхівковими або пазуховими бруньками. При цьому залишали частину стебла довжиною 0,3–0,5 см з обох боків від бруньки.

Відібрані пагони поверхнево стерилізували, розрізали та культивували вузлові сегменти на середовищі Мурасіге та Скуга (МС) [22] з 25 г/л цукрози. На етапі введення в культуру *in vitro* у середовище додавали фітогормон цитокінінового ряду 6-бензиламінопурин (6-БАП) в концентрації 1 мг/л. На стадії саме клонального мікророзмноження рослин застосовували фітогормональне середовище з таким складом: 1,5 мг/л 6-БАП та 0,5 мг/л нафтилоцтової кислоти. Культивування введених у культуру експлантів здійснювалося в умовах



культуральної кімнати за температури 25 °С, відносній вологості 55–70%, інтенсивності освітлювання 2500 лк, фотоперіоді 16/8 годин.

Для передадаптаційного періоду мікроклони пересаджували на середовище МС без гормонів. Для експериментів з адаптації мікроклонованих рослин до умов *ex vitro* відбирали мікроклони з розвинутою кореневою системою та висотою надземної частини в діапазоні 3,0–3,5 см.

Мікроорганізми та умови культивування. У дослідженні використовували ізоляти міцеліальних актинобактерій Conc2, Conc17, Conc11, Conc5, Conc18, Myt7b, Myt5, Myt4b, Myt7ch, Conc4, Conc32, Conc42, Myt8, Conc24, Lim4, Lim6.1, Conc10, Conc1, Conc8, Ku7, Ku8, Sea2, Conc9 [1]. Вони ізолювані із зразків біологічного обростання природного черепашнику і бетонних поверхонь, зібраних на глибині 0,2–1,0 м, а також із мушлі мідій, зібраних на глибині 5,0–6,0 м, у червні – липні 2020 р. в Одеській затоці Чорного моря та Куяльницького лиману. Бактерії культивували на середовищах Гаузе 1, Гаузе 2, вівсяному агарі або у рідкому середовищі Беннета впродовж 7–10 діб.

Як тест-штами для визначення антагоністичної активності використано штами міцеліальних грибів, отримані з колекції Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України: *Aspergillus niger* УКМ F-16706, *Paecilomyces variotii* УКМ F-424, *Cladosporium cladosporioides* УКМ F-2235, *Penicillium expansum* УКМ F-575, *Alternaria alternata* УКМ F-16866, *Fusarium oxysporum* УКМ F-54201, а також штами *Rhizoctonia cerealis* ОНУ F-30, *Alternaria tenuissima* ОНУ F-24 – з колекції кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І.І. Мечникова. Представники вибраних видів грибів можуть спричиняти захворювання рослин у природних умовах, а також є частими контамінантами культур рослин *in vitro* [25, 19, 35]. Гриби вирощували на картопляно-глюкозному агарі (КГА) у термостаті за температури 28 °С.

Визначення антагоністичної активності актинобактерій до фітопатогенних грибів. Антагоністичну активність ізолятів актинобактерій до міцеліальних грибів визначали методом агарових блоків, культивуючи бактерії на трьох варіантах середовищ. Бактерії вирощували суцільним газоном на середовищах Гаузе 1, Гаузе 2 та вівсяному агарі за температури 28 °С впродовж 7–10 діб. Після чого вирізаний з агарової пластинки блок з бактеріями поміщали в чашку Петрі на середовище КГА, щойно засіяне спорами гриба. Для отримання посівного матеріалу гриби *A. niger* УКМ F-16706, *P. expansum* УКМ F-575 та *F. oxysporum* УКМ F-54201 культивували впродовж 2 діб до стадії спороношення, *P. variotii* УКМ F-424, *C. cladosporioides* УКМ F-2235, *R. cerealis* ОНУ F-30 – 3 доби, а *A. alternata* УКМ F-16866 та *A. tenuissima* ОНУ F-24 – 5 діб. Суспензії спор грибів готували у стерильному фізіологічному розчині та засівали на середовище КГА, як описано [32]. Після нанесення блоків гриби культивували у термостаті впродовж 5 діб при 28 °С та вимірювали діаметр зони затримки росту.

Адаптація мікроклонованих рослин до умов ex vitro. Згідно із результатами попередніх скринінгових досліджень, було відібрано 5 ізолятів (Conc11, Myt7ch, Conc4, Conc32 та Lim4) міцеліальних актинобактерій, якими інокулювали мікроклоновані рослини під час адаптації до умов *ex vitro*. Актино-



бактерії вирощували в рідкому середовищі Беннета протягом 7 діб [12] в інкубаторі-шейкері при 30 °С та 180 об/хв, після чого центрифугували 30 хв при 10000 g, відмивали двічі у стерильній воді та готували суспензії біомаси концентрацією 10^7 КУО/мл, які використовували для інокуляції.

Адаптацію проводили у два етапи. Переадаптаційний етап мікроклонів проводили в умовах стерильного культурального боксу і він становив 5 діб, під час яких відкривали отвори у кришках ємностей з мікроклонами для встановлення газообміну із атмосферою (у перші три дні діаметр отвору складав 0,5 см, у наступні два дні – 1 см). Це сприяло налагодженню процесів транспірації у більш сухому повітрі порівняно до високої вологості в культурі *in vitro* [15]. Після 5 діб, рослини обережно виймали з середовища, а його залишки відмивали стерильною водою. Мікроклони розподіляли на 6 груп по 20 рослин у кожній. Корені мікроклонів інокулювали актинобактеріями, шляхом занурення їх на годину у суспензію мікроорганізмів. Корені рослин контрольної групи експонували годину у дистильованій воді. Потім рослини висаджували у простерилізований гарячим паром ґрунт «Універсальний» з додаванням агроперліту і культивували в умовах адаптаційного боксу за температури 22–24 °С, інтенсивності освітлення 2500 лк, відносній вологості 56–70% та фотоперіоді 16 год -день, 8 год – ніч.

Полив здійснювали стерильною водою з водогону 2 рази на тиждень впродовж перших двох тижнів, а потім – не стерильною водогінною водою. Спостереження після висадки проводили протягом 30 діб. На 7-му, 14-ту та 30-ту добу культивування вимірювали показники росту та розвитку досліджуваних рослин: приживлюваність, середню висоту надземної частини, середню кількість вузлів та площу листа.

Показник приживлюваності оцінювали у відсотках як долю життєздатних рослин від усіх висаджених у експериментальній групі. Середню висоту надземної частини та кількість вузлів вимірювали вручну. Для визначення середньої площі листа використовували програму ImageJ, як описано Cosmolescu та ін. [9].

Статистичне опрацювання результатів. Експерименти проведено у трьох повторях, дані представлено як середні значення плюс-мінус стандартні відхилення. Рослинний матеріал розподіляли шляхом випадкового відбору. Статистичне опрацювання результатів виконували шляхом дисперсійного аналізу з проведенням багатодіапазонного тесту Дункана (DMRT) у програмному забезпеченні IBM SPSS Statistics Grad Pack 29.0. Виявлену різницю середніх значень дослідних груп між собою вважали достовірною при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Антагоністична активність до фітопатогенних грибів. Для відбору антагоністично активних ізолятів актинобактерій було вивчено ступінь антагоністичної активності їх проти міцеліальних грибів, які в першу чергу призводять до загибелі мікроклонів у процесі адаптації до умов відкритого ґрунту. У результаті проведених експериментів встановлено, що досліджувані ізоляти актинобактерій виявили антагоністичні властивості до усіх тест-штамів міцеліальних грибів (рис. 1).



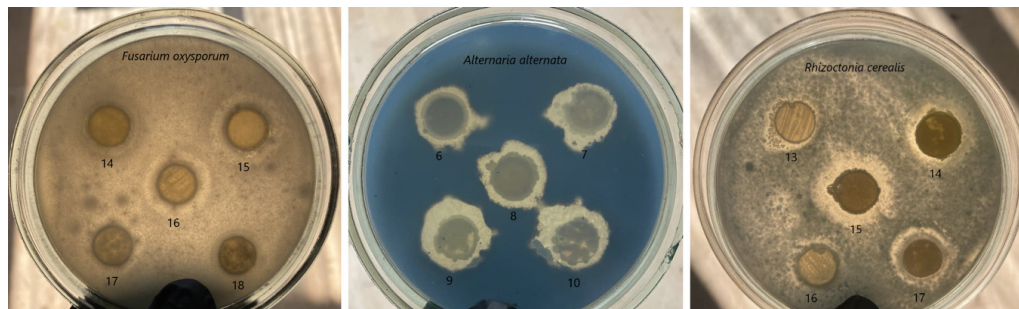


Рис. 1. Антагоністична активність ізолятів морських актинобактерій

Fig. 1. Antagonistic activity of the marine actinobacteria isolates

Активність різних ізолятів актинобактерій відрізнялася залежно від середовища, на якому вирощували актинобактерії (табл. 1 і табл. 2).

На усіх трьох випробуваних середовищах антагонізм до *A. tenuissima* показали ізоляти Conc2, Conc11, Myt4b, Conc 10, Conc 1, на двох середовищах – Conc18, Myt7ch, Conc4, Conc32, Conc42, Sea2, на одному – Myt7b, Myt8, Conc24, Lim4, Ku8, Conc9. Актинобактерії інших ізолятів не виявили антагоністичної активності проти даного гриба на жодному із середовищ.

Антагоністичні властивості до *R. cerealis* на Гаузе 1, Гаузе 2 та вівсяному агарі продемонстрували ізоляти Conc11, Myt7ch, Conc32, Lim4, Lim6.1, Conc10, на двох середовищах – Conc2, Conc42, Myt8, Conc24, Conc9, на одному Conc5, Conc18, Myt7b, Myt5, Myt4b, Conc4, Conc8. Інші ізоляти не показали антагонізму.

До *F. oxysporum* антагоністичну активність на усіх дослідних середовищах виявили актинобактерії Conc32 та Myt8, на двох – Conc2, Conc11, Myt5, Myt4b, Myt7ch, Conc4, Conc24, Lim4, Conc10, на одному – Conc5, Conc42, Lim6.1, Conc1, Conc9. Інші ізоляти не показали активності.

Антагоністичні властивості до *C. cladosporioides* на трьох середовищах мали ізоляти Conc18, Myt7b, Myt5, Myt7ch, Conc4, Conc32, Conc24, Lim 4, на двох – Conc11, Myt4b, на одному – Conc2, Conc42, Myt8. Антагонізму до *C. cladosporioides* у інших актинобактерій не виявлено.

Антагоністичну активність до *P. variotii* на середовищах Гаузе 1, Гаузе 2 та вівсяному агарі виявили актинобактерії Conc2, Conc11, Conc5, Conc18, Myt7b, Myt5, Conc4, Conc32, Conc24, Lim4, Conc10, Conc9. На двох із випробуваних живильних середовищ антагонізм було відмічено у ізолятів Myt4b, Myt7ch, Sea2. На одному – Conc42, Myt8, Conc 1. Інші ізоляти не демонстрували активність.

До *P. expansum* антагоністичні властивості були виявлені у актинобактерій Conc2, Myt7ch, Conc4, Conc42, Lim4 на усіх середовищах в експериментах, Conc11, Myt5, Myt4b, Myt8, Conc24 – на двох середовищах із трьох, та у Conc10 – тільки на одному середовищі.

Антагонізм до *A. alternata* показали ізоляти Conc4, Conc32, Conc42, Conc24, Lim4 на усіх випробуваних середовищах, на двох середовищах – Conc2, Conc11, Conc18, Myt7b, Myt5, Myt4b, Myt7ch, а на одному – Myt8, Conc10, Conc1. Антагонізму у інших актинобактерій до цього гриба не виявлено.



Таблиця 1

Антагоністична активність ізолятів актинобактерій проти міцеліальних грибів
A. tenuissima, *R. cerealis*, *F. oxysporum* та *C. cladosporioides*

Table 1

Antagonistic activity of actinobacteria isolates against mycelial fungi
A. tenuissima, *R. cerealis*, *F. oxysporum*, and *C. cladosporioides*

Ізолят	<i>A. tenuissima</i>			<i>R. cerealis</i>			<i>F. oxysporum</i>			<i>C. cladosporioides</i>		
	BA*	Г1	Г2	BA	Г1	Г2	BA	Г1	Г2	BA	Г1	Г2
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Conc2	14,0 ± 0,0	13,7 ± 0,6	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	13,3 ± 0,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	26,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0
Conc17	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Conc11	15,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	16,0 ± 2,0	16,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	20,0 ± 2,0	18,7 ± 1,2
Conc5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Conc18	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	21,3 ± 3,1	17,3 ± 1,2
Mut7b	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2
Mut5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	16,7 ± 3,1	17,3 ± 1,2
Mut4b	16,7 ± 1,2	16,7 ± 1,2	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0
Mut7ch	17,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	18,7 ± 1,2	18,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	18,7 ± 1,2	17,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	19,3 ± 1,2	20,0 ± 0,0
Conc4	13,7 ± 0,6	0,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	19,3 ± 1,2	20,7 ± 1,2	21,3 ± 1,2	22,7 ± 1,2
Conc32	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	17,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	18,7 ± 1,2	22,7 ± 1,2
Conc42	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,0 ± 2,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0



Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Myt8	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	17,3 ± 1,2	15,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone24	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	14,7 ± 1,2	16,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	21,3 ± 1,2	17,3 ± 1,2	14,7 ± 1,2
Lim4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	13,7 ± 0,6	16,0 ± 0,0	13,7 ± 0,6	20,7 ± 2,3	24,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	20,0 ± 3,5	24,0 ± 0,0	20,7 ± 2,3
Lim6.1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	20,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone10	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	14,7 ± 1,2	14,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone1	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	17,3 ± 2,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ku7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ku8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Sea2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Примітка – * ВА – вівсяний агар, Г1 – середовище Гаузе 1, Г2 – середовище Гаузе 2; показано середні діаметри (у мм) зон загримки росту грибів ± стандартні відхилення.

Note – * BA – oat agar medium, Г1 – Gauze 1 medium, Г2 – Gauze 2 medium; the average diameters (in mm) of growth inhibition zones were shown ± standard deviations.

Таблиця 2

Антагоністична активність ізолятів актинобактерій проти міцеліальних грибів
P. variotii, *P. expansum*, *A. alternata* та *A. niger*

Table 2

Antagonistic activity of actinobacteria isolates against mycelial fungi
P. variotii, *P. expansum*, *A. alternata*, and *A. niger*

Ізолят	<i>P. variotii</i>			<i>P. expansum</i>			<i>A. alternata</i>			<i>A. niger</i>		
	ВА*	Г1	Г2	ВА	Г1	Г2	ВА	Г1	Г2	ВА	Г1	Г2
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Conc2	18,7 ± 1,2	27,3 ± 1,2	21,1 ± 2,3	14,0 ± 0,0	14,3 ± 0,6	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	19,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2
Conc17	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,7 ± 0,6	0,0 ± 0,0
Conc11	17,3 ± 1,2	21,3 ± 1,2	23,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	18,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0
Conc5	17,3 ± 1,2	19,3 ± 1,2	21,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	18,7 ± 1,2
Conc18	16,7 ± 1,2	25,3 ± 1,2	23,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	21,3 ± 2,3	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Myt7b	20,7 ± 1,2	24,7 ± 1,2	29,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	18,7 ± 3,1	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0
Myt5	18,7 ± 1,2	19,3 ± 1,2	30,7 ± 1,2	16,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	18,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	19,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2
Myt4b	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	18,7 ± 1,2	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	17,3 ± 2,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Myt7ch	0,0 ± 0,0	26,7 ± 1,2	29,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	17,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	18,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	20,0 ± 0,0
Conc4	22,0 ± 0,0	26,0 ± 2,0	31,3 ± 1,2	16,0 ± 0,0	17,3 ± 1,2	17,3 ± 1,2	20,0 ± 0,0	18,7 ± 1,2	25,3 ± 3,1	15,3 ± 1,2	15,3 ± 1,2	18,7 ± 1,2
Conc32	22,7 ± 1,2	34,7 ± 1,2	32,7 ± 1,2	16,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	17,3 ± 1,2	21,3 ± 2,3	24,7 ± 1,2	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	20,0 ± 0,0
Conc42	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	19,3 ± 2,3	15,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0



Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Myt8	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	17,3 ± 2,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone24	17,3 ± 1,2	28,0 ± 0,0	26,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	17,3 ± 2,3	18,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Lim4	20,0 ± 0,0	30,7 ± 2,3	34,7 ± 1,2	15,3 ± 1,2	14,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	20,7 ± 1,2	22,7 ± 1,2	16,7 ± 1,2	15,3 ± 1,2	15,3 ± 1,2
Lim6.1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone10	20,7 ± 1,2	31,3 ± 3,1	29,3 ± 3,1	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,7 ± 2,3	0,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	24,7 ± 2,3	19,3 ± 3,1
Cone1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	23,3 ± 2,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ku7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	16,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0
Ku8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0
Sea2	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	14,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cone9	21,3 ± 1,2	18,7 ± 3,1	27,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	19,3 ± 1,2	22,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Примітка – * ВА – вівсяний агар, Г1 – середовище Гаузе 1, Г2 – середовище Гаузе 2; показано середні діаметри (у мм) зон загримки росту грибів ± стандартні відхилення.

Note – * BA – oat agar medium, Г1 – Gauze 1 medium, Г2 – Gauze 2 medium; the average diameters (in mm) of growth inhibition zones were shown ± standard deviations.

Антагоністичну активність до *A. niger* виявили актинобактерії Conс4, Conс32, Lim4, Conс10 на трьох середовищах, а Conс2, Myt7ch, Conс9 – на двох. Ізоляти Conс17, Conс11, Conс5, Myt7b, Myt5, Conс42, Ku7, Ku8 показали антагонізм на одному середовищі. Актинобактерії інших ізолятів не виявили антагоністичних властивостей проти даного гриба на жодному із середовищ.

Таким чином, найкращими антагоністами у рамках нашого експерименту були ізоляти Conс32, Conс10, Myt7ch, Conс4 та Lim4, що виявили здатність до антагонізму на максимальному різноманітті дослідних живильних середовищ та найбільші діаметри зон затримки росту міцеліальних грибів

В результаті, бактерії Conс32, Conс4, Myt7ch, Lim4 були відібрані для визначення їх дії на мікроклоновані рослини під час адаптації до умов *ex vitro*. Також, серед актинобактерій, що показали потенціал як стимулятори росту рослин в попередніх дослідженнях було обрано ізолят Conс11 для подальших експериментів.

Адаптація мікроклонів Ожини звичайної до умов ex vitro за інокуляції актинобактеріями. На етапі адаптації мікроклонованих рослин до нестерильних умов середовища відібрані ізоляти при інокуляції показали позитивний вплив на морфометричні показники саджанців, а також на рівень їх приживлюваності у ґрунті порівняно з контролем.

Приживлюваність. Результати обчислень приживлюваності показали, що, в середньому, для Ожини звичайної на 30-ту добу найбільшу кількість життєздатних рослин спостерігали у групі, в якій мікроклони інокулювали бактеріями Lim4 – $85,0 \pm 1,7\%$, що дозволило підвищити приживлюваність на $34,8\%$ порівняно з контролем. У групі мікроклонів, що експонували з Conс11, Myt7ch, Conс4, Conс32, приживлюваність збільшилася на $3,7\%$, $19,2\%$, $20,9\%$, $27,0\%$ відповідно на останню добу спостережень (табл. 3).

Під час досліджень також відмічали різницю впливу на рослини різних ізолятів. При адаптації мікроклонів виявлено, що на 7-му добу спостережень бактерії Conс11 та Myt7ch впливали однаково, як і ізоляти Conс4, Conс32. На 14-ту добу – тільки Conс32 та Conс4 мали однаковий рівень впливу, а на 30-ту добу – актинобактерії Myt7ch та Conс4. Протягом усіх днів спостережень за приживлюваністю мікроклонів ожини ефект від інокуляції з Lim4 був кращим не тільки за контроль, але і за всі інші ізоляти в експерименті.

Таким чином, дослідні актинобактерії за інокуляції підвищили приживлюваність мікроклонів Ожини звичайної порівняно з контролем.

Середня висота надземної частини рослин. Встановлено, що досліджувані ізоляти актинобактерій впливали на ростові процеси у мікроклонів. На рис. 2 відображено динаміку збільшення середньої висоти рослин ожини від дня висадки у ґрунт до 30-ї доби адаптації.

Висота рослин ожини закономірно зростала у часі, але найбільші значення показали мікроклони, інфіковані бактеріями Myt7ch – їх висота була, в середньому, на $2,0$ см більша за таку у контрольних рослин на 30-ту добу.

Вже з 7-ї і до останньої доби спостережень бактерії Myt7ch демонстрували відмінність у впливі на середню висоту рослин як від контролю, так і від інших актинобактерій. Також високі показники середньої висоти реєстрували у рослин, інокульованих бактеріями Conс32. Інші ізоляти також показали



Таблиця 3

Приживлюваність мікроклонованих рослин Ожини звичайної у ґрунті після інокуляції актинобактеріями

Table 3

The survival rate of *Rubus fruticosus* microclones in the soil after the inoculation with actinobacteria

Час культивування, доба	Ізолят	Приживлюваність, %
7	Conc11	86,7 ± 1,7 ^b
	Myt7ch	86,1 ± 1,9 ^b
	Conc4	91,7 ± 1,7 ^c
	Conc32	92,8 ± 1,0 ^c
	Lim4	100,0 ± 0,0 ^d
	контроль	81,1 ± 1,0 ^a
14	Conc11	79,4 ± 1,9 ^b
	Myt7ch	84,4 ± 2,5 ^c
	Conc4	88,33 ± 1,7 ^d
	Conc32	77,2 ± 1,7 ^d
	Lim4	96,7 ± 1,7 ^e
	контроль	71,7 ± 1,7 ^a
30	Conc11	53,9 ± 2,5 ^b
	Myt7ch	69,4 ± 1,0 ^c
	Conc4	71,1 ± 1,0 ^c
	Conc32	77,2 ± 1,0 ^d
	Lim4	85,0 ± 1,7 ^e
	контроль	50,2 ± 2,0 ^a

Примітка – * дані, позначені спільною літерою, статистично не відрізняються між собою згідно DMRT при $p < 0,05$.

Note – * means followed by a common letter are not significantly different by the DMRT at $p < 0.05$.

вплив, але значно менший. Conc11 виявив певний вплив на 14-ту добу адаптації, але вже на 30-ту висота цих рослин зрівнялася з контролем.

Середня кількість вузлів у рослин. На рис. 3 показано середню кількість вузлів у рослин ожини з дня висадки до 30-ї доби спостережень.

З одержаних результатів видно, що кількість вузлів співвідносилася з висотою рослин, і також планомірно зростала у часі. Різниця інокульованих рослин та контролю також ставала більшою протягом 30 днів спостереження. Врешті, на останню добу експерименту відмічали вплив усіх дослідних ізоля-



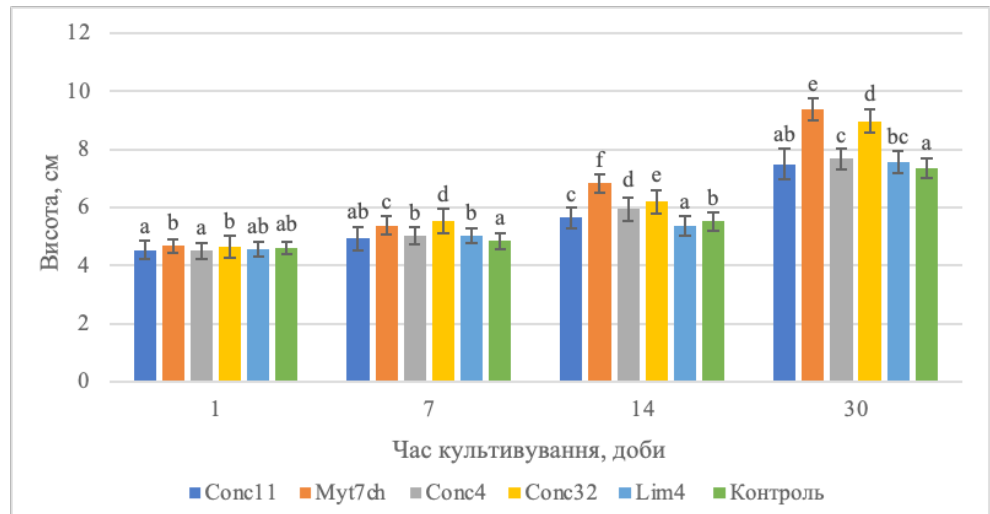


Рис. 2. Середня висота надземної частини рослин Ожини звичайної за інокуляції актинобактеріями
(дані, позначені спільною літерою, статистично не відрізняються між собою згідно із DMRT при $p < 0,05$)

Fig. 2. The average length of the *Rubus fruticosus* microclones after inoculation with actinobacteria
(means followed by a common letter are not significantly different by the DMRT at $p < 0.05$)

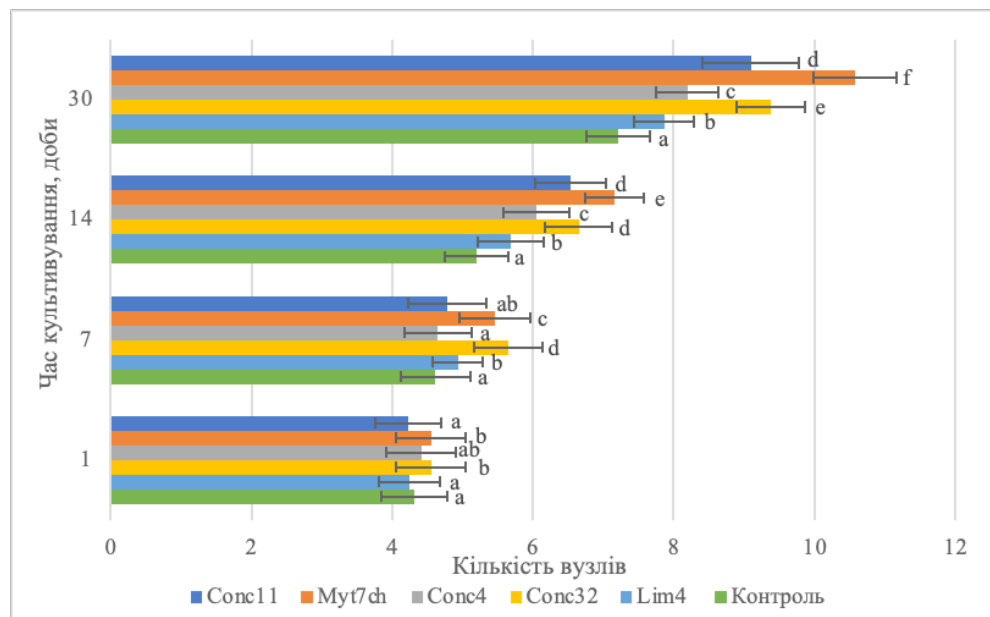


Рис. 3. Середня кількість вузлів у рослин Ожини звичайної за інокуляції актинобактеріями
(дані, позначені спільною літерою, статистично не відрізняються між собою згідно із багатодіапазонним тестом Дункана при $p < 0,05$)

Fig. 3. The average node number of the *Rubus fruticosus* microclones after inoculation with actinobacteria
(means followed by a common letter are not significantly different by the DMRT at $p < 0.05$)



тів на середню кількість вузлів у ожини, що відрізнялися за ступенем впливу не лише від контролю, але і між собою. Найбільшу кількість вузлів пагону на цей період мали мікроклони, інокульовані *Mut7ch* – $10,6 \pm 0,6$ вузлів.

Середня площа листа. Різниця між експериментальними та контрольними рослинами була помітна також і за середнім розміром листа ожини (рис. 4).

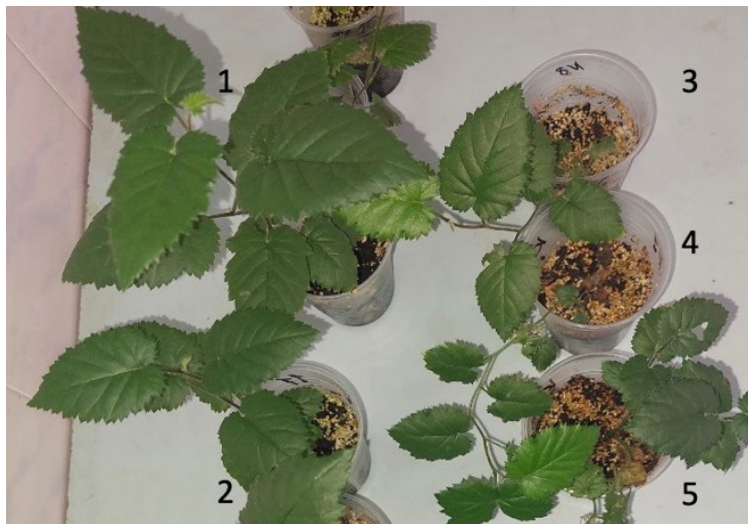


Рис. 4. Мікроклони Ожини звичайної на 30-ту добу адаптації за інокуляції ізолятом *Conc4*: 1–2 – інокульовані рослини; 3–5 – контрольні рослини

Fig. 4. *Rubus fruticosus* microclones on the 30th day of acclimatization after the inoculation with the *Conc4* isolate: 1–2 – inoculated plants; 3–5 – control plants

Заміри середньої площі листа у рослин Ожини звичайної протягом адаптаційного експерименту показали певні відмінності від контролю. При цьому, більшість дослідних актинобактерій на останню добу спостережень демонстрували позитивний вплив (рис. 5).

На 7-му добу адаптації статистично достовірну різницю з контролем у середній площі листа ожини спостерігали у груп мікроклонів, адаптованих за інокуляції *Lim4*, *Mut7ch*, *Conc32*. Для ізоляту *Conc11* було відмічено невелику затримку розвитку листової поверхні, що відображено у показнику середньої площі листа ожини.

На 14-ту добу, усі дослідні групи демонстрували відмінність від контролю та між собою за значеннями площі листа. На останню добу спостережень, для рослин, інокульованих *Conc11*, середній показник залишався меншим за контроль. Площа листа у мікроклонів, експонованих з *Mut7ch*, зрівнялася з контрольними значеннями. Для *Conc32* та *Lim4* вона була на одному рівні та більшою за контроль, а найбільшу площу листа показали рослини ожини, інокульовані *Conc4* – $2,6 \pm 0,1$ см².

Отже, актинобактерії дослідних ізолятів при інокуляції мікроклонів Ожини звичайної позитивно впливали на показники приживлюваності рослин у ґрунті, середньої висоти пагону, кількості вузлів та площі листа у по-

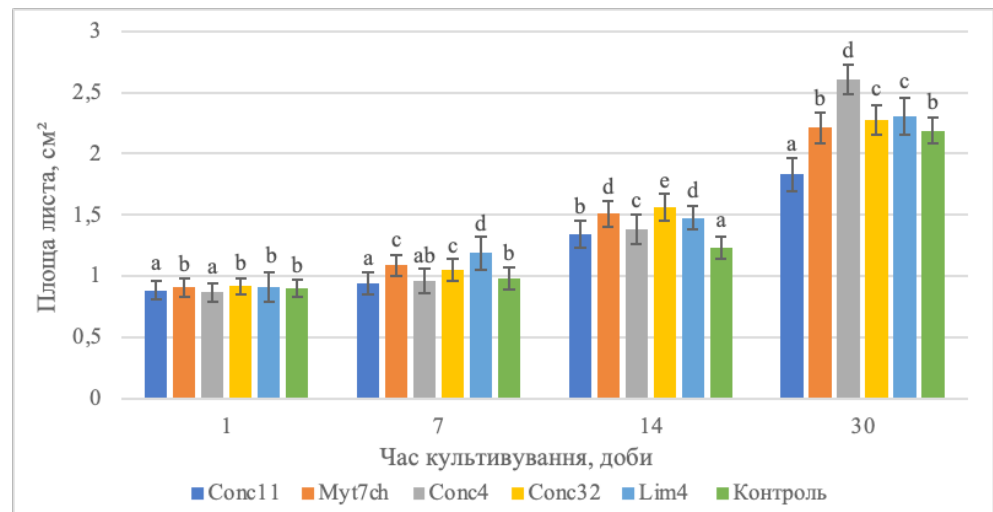


Рис. 5. Середня площа листа у рослин Ожини звичайної за інокуляції актинобактеріями

(дані, позначені спільною літерою, статистично не відрізняються між собою згідно із багатодіапазонним тестом Дункана при $p < 0,05$)

Fig. 5. The average leaf area of the *Rubus fruticosus* microclones after inoculation with actinobacteria

(means followed by a common letter are not significantly different by the DMRT at $p < 0.05$)

рівнянні з контролем. Але особливості впливу на різні показники у бактерій відрізнялися.

Так, наприклад, актинобактерії ізоляту Conc11 показали невелике підвищення приживлюваності (на 2,7%) та кількості вузлів (на 1,9 вузли), але не вплинули на висоту мікроклонів і продемонстрували зниження показника середньої площі листа адаптованих рослин на 0,3 см² на 30-ту добу адаптації в порівнянні з контролем.

Використання бактерій ізоляту Myt7ch сприяло покращенню приживлюваності адаптованих мікроклонів, що зросла на 19,2%. У цьому варіанті було найбільше серед усіх у досліді збільшення висоти та кількості вузлів мікроклонів ожини – на 2,0 см та 3,4 вузли, відповідно, хоча площа листа на останній день спостережень не відрізнялася від контролю.

Інокуляція актинобактеріями Conc32 покращила приживлюваність мікроклонів на 27,0%, висоту пагону – на 1,6 см, кількість вузлів – на 2,2 вузли, та площу листа – на 0,1 см².

У свою чергу, рослини, інокульовані бактеріями ізоляту Conc4, показали підвищення приживлюваності на 20,9%, висоти пагонів – на 0,3 см, кількості вузлів – на 1,0 вузла, а також найбільшу середню площу листа в експерименті – на 0,4 см² перевищує контроль.

Інокуляція актинобактеріями Lim4 забезпечила найвищий рівень приживлюваності мікроклонів (на 34,8% вище за контроль), але мінімально вплинула на інші показники: висота підвищилась на 0,2 см у порівнянні з контролем, кількість вузлів – на 0,7 вузли, а площа листа – на 0,1 см².



З огляду та аналізу отриманих результатів, оптимальними для інокуляції мікроклонів ожини є актинобактерії ізолятів Lim4, Myt7ch, Conc32, Conc4. Перспективною є ідея створення консорціуму із цих бактерій для досягнення максимального позитивного ефекту на приживлюваність у ґрунті та біометричні показники мікроклонованих саджанців ожини.

Отже, у даному дослідженні було встановлено потенційну можливість використання ізолятів морських актинобактерій як агентів, що сприяють адаптації, та стимуляторів росту рослин. Показано антагоністичну активність досліджуваних бактерій до міцеліальних грибів: *A. niger*, *F. oxysporum*, *C. cladosporioides*, *A. alternata*, *A. tenuissima*, *R. cerealis*, *P. variotii* та *P. expansum*. Дані результати співвідносяться з іншими роботами по виявленню антагоністичних властивостей актинобактерій проти фітопатогенних грибів [23, 3, 6, 4]. У тому числі, вже відомі також і експерименти зі встановлення антагоністичної активності саме морських актинобактерій проти фітопатогенів, де дослідні мікроорганізми показали високий рівень антагонізму проти *Penicillium digitatum*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* та *Fusarium solani* [33].

Також, інші дослідники відмічали, що актинобактерії здатні захищати рослини не тільки шляхом прямого пригнічення фітопатогенів, але і через стимуляцію Індукованої системної резистентності, тобто активацію власних захисних механізмів у рослин [10]. Дані особливості збільшують потенціал використання актинобактерій як агентів біоконтролю у ґрунті.

Окрім того, у цьому дослідженні показано, що актинобактерії дослідних ізолятів Lim4, Myt7ch, Conc32, Conc4 мали ріст-стимулювальні властивості для мікроклонів рослин Ожини звичайної при адаптації з умов *in vitro* до умов відкритого ґрунту. Виявлено, що за інокуляції коренів зростали середні показники приживлюваності, висоти пагонів, кількості вузлів, площі листа у адаптованих саджанців протягом 30 діб спостережень порівняно з контролем. У подібних експериментах із мікроклонами Маніоку їстівного (*Manihot esculenta* Crantz), інокуляція рослин на етапі адаптації сумішшю із мікоризних грибів та стрептоміцетів позитивно впливала на азотне живлення рослин, та дозволила знизити використання мінеральних добрив для вирощування – проте, впливу на біометричні показники виявлено не було [20]. А в експериментах *in vivo* із пророщування насіння пшениці та кукурудзи, інокульованих актинобактеріями у концентраціях 10^7 – 10^8 КУО/мл, інокульовані паростки обох видів рослин показали більшу довжину коренів, пагонів, більші свіжу та суху вагу [17]. Схожий ефект спостерігали Retnowati та ін. [29] за інокуляції проростків рослин рису актинобактеріями, виділеними із морських губок – це призводило до підвищення біометричних показників на 9,9–13,9% порівняно з контролем.

Також варто відмітити, що один з ізолятів не проявив ефекту у досліді за адаптації мікроклонованих рослин у ґрунті. Бактерії цього ізоляту показали невелике пригнічення росту середньої площі листа адаптованих мікроклонів під час спостережень. Дані результати потребують подальших досліджень, але подібні ефекти вже відомі для деяких бактерій, що за певних умов можуть стимулювати ріст рослин, а за інших – пригнічувати його [24]. Механізми



впливу при цьому дуже різноманітні: синтез летких фітотоксичних речовин, надлишкова продукція фітогормонів, пригнічення формування мікоризи, конкуренція за поживні речовини із рослиною і т.д. Також, важливий у цьому випадку і видовий чинник – саме для мікроклонів ожини, можливо, актинобактерії ізоляту Conc11 могли виявити пригнічувальний ефект.

Таким чином, різні дослідження демонструють, що діапазон впливу актинобактерій на рослини є широким, та здебільшого залежить як від умов культивування, особливостей конкретних бактерій-інокулянтів, так і від самої рослини.

Наші результати доповнюють і розширюють досвід використання актинобактерій, виділених із «екстремальних» екологічних ніш, для стимуляції росту та захисту рослин. З відомих на сьогодні наукових робіт у цьому напрямі можна виділити дослідження Retnowati та ін. [28], де було встановлено, що асоційованим із морськими губками актинобактеріям властиві широкий спектр корисних для рослин властивостей: синтез фітогормонів, здатність до солюбілізації фосфатів, фіксації азоту, пригнічення росту певних фітопатогенів. А у експериментах Rangseekeaw et al. [27], глибоководні морські бактерії позитивно впливали на ріст саджанців томатів та пом'якшували стрес у рослин за вирощування в умовах підвищеної солоності ґрунту.

Загалом, у нашій роботі показано вплив виділених із морського середовища актинобактерій на мікроклони ожини на етапі адаптації до умов *ex vitro*. Було виявлено 4 перспективні ізоляти Lim4, Myt7ch, Conc32, Conc4, що будуть у подальшому досліджуватися детальніше для встановлення конкретних механізмів взаємодії цих бактерій та рослин.

Таким чином, для актинобактерій 23 дослідних ізолятів актинобактерій визначено наявність антагоністичної активності проти фітопатогенних грибів *A. alternata*, *A. tenuissima*, *C. cladosporioides*, *A. niger*, *F. oxysporum*, *R. cerealis*, *P. expansum* та *P. variotii*.

Інокуляція ізолятами актинобактерій Lim4, Myt7ch, Conc32, Conc4 виявилася ефективною для успішної адаптації мікроклонів Ожини звичайної. Встановлено позитивний вплив визначених ізолятів на мікроклоновані рослини *Rubus fruticosus L.* у процесі адаптації до умов *ex vitro*: підвищення приживлюваності мікроклонів у ґрунті на 19,2–34,8%, середньої висоти рослин на 0,3–2,0 см, кількості вузлів – на 1,0–3,4 вузли, площі листа – на 0,1–0,4 см² на 30-ту добу постасептичної адаптації.

Враховуючи результати експериментів та аналізу різноманіття можливих механізмів впливу на рослинні тканини, встановлено, що ізоляти Lim4, Myt7ch, Conc32, Conc4 можуть бути рекомендовані для подальших досліджень та є перспективними для інокуляції мікроклонованих рослин ожини на етапі адаптації до умов *ex vitro*.



N. Tytarenko, N. Tesliuk, V. Ivanytsia

Odesa National I.I. Mechnykov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: tatti383@gmail.com

IMPACT OF ACTINOBACTERIA ON THE GROWTH AND ACCLIMATIZATION OF MICROPROPAGATED *RUBUS FRUTICOSUS* L. PLANTS TO *EX VITRO* CONDITIONS

Summary

Microcloning is an effective method of plant reproduction that is actively developing in Ukraine for the mass propagation of valuable food crops such as blackberries. However, the problem of losing a large number of microclones often arises during the ex vitro acclimatization stage. Inoculation of the rhizosphere with potentially useful microorganisms could have a positive impact on the survival rate and biometric characteristics of acclimatized seedlings. The aim of this study was to establish the impact of 23 actinobacteria isolates on blackberry microclones (Rubus fruticosus L.) during acclimatization to ex vitro conditions, and to determine the protective potential and plant growth-promoting effects of these bacteria. Methods. The antagonistic properties of the experimental microorganisms were determined using the agar block method. Bacteria were inoculated into the rhizosphere of blackberry microclones before planting in the soil. Results. The antagonistic activity of actinobacteria against phytopathogenic fungi P. expansum, P. variotii, A. niger, C. cladosporioides, F. oxysporum, A. alternata, R. cerealis, and A. tenuissima was established. The positive effect of bacteria on micropropagated blackberry plants during acclimatization to ex vitro conditions resulted in an increase in the survival rate of microclones in the soil by 34.8%, average height of experimental plants by 2.0 cm, node number by 3.4 nodes, and leaf area by 0.4 cm². Conclusion. It was established that isolates of mycelial actinobacteria Lim4, Myt7ch, Conc32, Conc4 were promising inoculants for ex vitro acclimatization of micropropagated plants and could be recommended for the subsequent research in order to establish the interaction mechanisms between these microorganisms and plants.

Key words: Rubus fruticosus, clonal micropropagation, ex vitro acclimatization, marine actinobacteria, antagonistic properties

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Коротаєва Н.В., Страшнова І.В., Васильєва Н.Ю., Потапенко К.С., Метеліцина І.П., Філіпова Т.О., Іваниця В.О. Характеристика актинобактерій, ізольованих із *Mytilus galloprovincialis* Одеської затоки Чорного моря // Мікробіологія і біотехнологія. – 2021. – № 3(53). – С. 84–98.
2. Титаренко Н.В., Теслюк Н.І., Іваниця В.О. Перспективи використання бактерій у культурі клітин та тканин рослин // Мікробіологія та біотехнологія. – 2020. – № 3. – С. 6–31.
3. Aallam Y., Maliki B.E., Dhiba D., Lemriss S., Souiri A., Haddioui A., Tarkka M., Hamdali H. Multiple Potential Plant Growth Promotion Activities of Endemic *Streptomyces* spp. from Moroccan Sugar Beet Fields with Their In-



- hibitory Activities against *Fusarium spp.* // Microorganisms. – 2021. – № 9. – Art. 1429.
4. *Alblooshi A.A., Purayil G.P., Saeed E.E., Ramadan G.A., Tariq S., Altaee A.S., El-Tarabily K.A., AbuQamar S.F.* Biocontrol Potential of Endophytic Actinobacteria against *Fusarium solani*, the Causal Agent of Sudden Decline Syndrome on Date Palm in the UAE. // J.Fungi. – 2023. – № 8. – Art. 8.
 5. *Baghdady G.* In Vitro Propagation of Blackberries (*Rubus sp.*) Prime-Ark 45 Cultivar // Annals of Agricultural Science, Moshtohor. – 2021. – 59, № 5. – P. 287–294.
 6. *Borah A., Hazarika S.N., Thakur D.* Potentiality of actinobacteria to combat against biotic and abiotic stresses in tea (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze) // J. Appl. Microbiol. – 2022. – 133, № 4. – P. 2314–2330.
 7. *Caldwell J.D.* Blackberry propagation // HortScience. – 1984. – № 2. – P. 193–195.
 8. *Cesa-Luna C., Baez A., Quintero-Hernandez V., De la Cruz-Enriquez J., Castaneda-Antonio M.D., Munoz-Rojas J.* The importance of antimicrobial compounds produced by beneficial bacteria on the biocontrol of phytopathogens // Acta biol. Colomb. – 2022. – 25, № 1 – P. 140–154.
 9. *Cosmulescu S., Scrieciu F., Manda M.* Determination of leaf characteristics in different medlar genotypes using the ImageJ program // Hort. Sci. (Prague). – 2020. – № 47. – P. 117–121.
 10. *Ebrahimi-Zarandi M., Saberi Riseh R., Tarkka M.T.* Actinobacteria as Effective Biocontrol Agents against Plant Pathogens, an Overview on Their Role in Eliciting Plant Defense // Microorganisms. – 2022. – № 10 – Art. 1739.
 11. *El-Baky N.A., Abdel Rahman R.A., Sharaf M.M., Amara A.A.A.F.* The Development of a Phytopathogenic Fungi Control Trial: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* Infection in Jojoba Tissue Culture as a Model // Sci. World J. – 2021. – Art. 6639850.
 12. *Errakhi R., Bouteau F., Lebrihi A., Mustapha B.* Evidences of biological control capacities of *Streptomyces spp.* against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – № 23. – P. 1503–1509.
 13. *Kaewkla O., Suriyachadkun C., Franco C.M.M.* *Micromonospora veneta* sp. nov., an endophytic actinobacterium with potential for nitrogen fixation and for bioremediation // Arch. Microbiol. – 2021. – № 203. – P. 2853–2861.
 14. *Kirina I.B., Belosokhov F.G., Titova L.V., Suraykina I.A., Pulpitow V.F.* Biochemical assessment of berry crops as a source of production of functional food products // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (IOP Publishing, August 2020). – 2020. – 548, № 8. – P. 082068.
 15. *Leite M.S., Furtado-Pinto T.E., Rabelo-Centofante A., Rubio-Neto A., Guimaraes-Silva F., Goncalves-Selari P.J.R., Martins P.F.* Acclimatization of *Pouteria gardeneriana* Radlk micropropagated plantlets: Role of *in vitro* rooting and plant growth-promoting bacteria // Curr. Plant Biol. – 2021. – № 27. – P. 121–138.
 16. *Li X., Zhao H., Chen X.* Screening of Marine Bioactive Antimicrobial Compounds for Plant Pathogens // Mar. Drugs. – 2021. – № 19. – Art. 69.



17. Liu D., Yan R., Fu Y., Wang X., Zhang J., Xiang W. Antifungal, Plant Growth-Promoting, and Genomic Properties of an Endophytic Actinobacterium *Streptomyces* sp. NEAU-S7GS2 // *Front. Microbiol.* – 2019. – № 10. – Art. 2077.
18. Liu X., Bolla K., Ashforth E.J., Zhuo Y., Gao H., Huang P., Stanley S.A., Hung D.T., Zhang L. Systematics-guided bioprospecting for bioactive microbial natural products // *Antonie Leeuw.* – 2012. – № 101. – P. 55–66.
19. Liu Z., Jiao R.L., Chen S.Y., Ren Y., Zhang L., Zhang D., Chen J.Y., Guoying L. First Report of Fruit Rot of Grapes (*Vitis vinifera*) Caused by *Cladosporium cladosporioides* in Xinjiang, China // *Plant Dis.* – 2022. – № 106. – Art. 315.
20. Lopes E., Silva A., Mergulhão A., Silva E., Santiago A., Figueiredo M. Co-Inoculation of growth promoting bacteria and glomus clarum in micropropagated cassava plants // *Revista Caatinga.* – 2019. – № 32. – P. 152–166.
21. Manigundan K., Radhakrishnan M., Kishore Kumar A., Jerrine J. Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bioorganic agriculture // *Journal of Applied Microbiology.* – 2022. – 134, № 2. – Art. lxac047.
22. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol Plant.* – 1962. – V. 8, № 4. – P. 473–497.
23. Musa Z., Ma J., Egamberdieva D., Abdelshafy Mohamad O.A., Abaydulla G., Liu Y., Li W.J., Li L. Diversity and Antimicrobial Potential of Cultivable Endophytic Actinobacteria Associated With the Medicinal Plant *Thymus roseus* // *Front. Microbiol.* – 2020. – № 11. – Art. 191.
24. Nehl D.B., Allen S.J., Brown J.F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective // *Applied Soil Ecology.* – 1996. – 5, № 1. – P. 1–20.
25. Omamor I.B., Asemota A., Eke C.R., Eziashi E. Fungal contaminants of the oil palm tissue culture in Nigerian institute for oil palm research (NIFOR) // *Afr. J. Agric. Res.* – 2007. – № 2. – P. 534–537.
26. Palaniyandi S.A., Yang S.H., Zhang L., Suh J.W. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2013. – № 97. – P. 9621–9636.
27. Rangseekaew P., Barros-Rodríguez A., Pathom-aree W., Manzanera M. Deep-Sea Actinobacteria Mitigate Salinity Stress in Tomato Seedlings and Their Biosafety Testing // *Plants.* – 2021. – № 10. – Art. 1687.
28. Retnowati D., Solihin D., Ghulamahdi M., Lestari Y. New information on the potency of sponge-associated actinobacteria as producer of plant growth-promoting bioactive compounds // *Malaysian Applied Biology.* – 2018. – № 47. – P. 127–135.
29. Retnowati D., Solihin D.D., Ghulamahdi M., Lestari Y. Characterization of sponge-associated actinobacteria with potential to promote plant growth on tidal swamp // *Journal of Biological Research – Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale.* – 2019. – 92, № 2. – Art. 8191.
30. Saravana Kumar P., Yuvaraj P., Gabriel Paulraj M., Ignacimuthu S., Abdullah Al-Dhabi N. Bio-prospecting of soil *Streptomyces* and its bioassay-guided isolation of microbial derived auxin with antifungal properties // *Journal De Mycologie Medicale.* – 2018. – 28, № 3. – P. 462–468.



31. Shekhawat M.S., Mehta S.R., Manokari M., Priyadharshini S., Badhepuri M.K., Jogam P., Dey A., Rajput B.S. Morpho-anatomical and physiological changes of Indian sandalwood (*Santalum album* L.) plantlets in *ex vitro* conditions to support successful acclimatization for plant mass production // Plant Cell Tiss. Organ. Cult. – 2021. – № 147. – P. 423–435.
32. Shobha G., Kumudini B.S. Antagonistic effect of the newly isolated PGPR *Bacillus spp.* on *Fusarium oxysporum* // Int. j. appl. sci. eng. res. – 2012. – 1, № 3. – P. 463–474.
33. Uba B., Okoye E., Anyaeji O., Ogbonnaya O. Antagonistic Potentials of Actinomycetes Isolated from Coastal Area of Niger Delta against *Citrus sinensis* (Sweet Orange) and *Lycopersicum esculentum* (Tomato) Fungal Pathogens // Research & Reviews: A Journal of Biotechnology. – 2019. – 9, № 1. – P. 4–15.
34. Vujovic T., Ruzic D., Cerovic R. Adventitious regeneration in blackberry (*Rubus fruticosus* L.) and assessment of genetic stability in regenerants // Plant Growth Regul. – 2010. – № 61. – P. 265–275.
35. Wang K., Ngea G.L.N., Godana E.A., Shi Y., Lanhuang B., Zhang X., Zhao L., Yang Q., Wang S., Zhang H. Recent advances in *Penicillium expansum* infection mechanisms and current methods in controlling *P. expansum* in postharvest apples // Crit. Rev. Food. Sci. Nutr. – 2021. – № 20. – P. 1–14.
36. Zia-Ul-Haq M., R. De Feo M., Vincenzo Z.E., Hawa J., Marius M. *Rubus fruticosus* L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses // Molecules. – 2014. – № 19. – P. 10998–11029.

REFERENCES

1. Korotaeva NV, Strashnova IV, Vasylieva NYu, Potapenko KS, Metelitsyna IP, Filipova TO, Ivanytsia VO Characteristics of actinobacteria from *Mytilus galloprovincialis* of Odessa gulf of the Black sea. Microbiology and biotechnology. 2021; 3(53):84-98 (in Ukrainian).
2. Tytarenko N, Tesliuk N, Ivanytsia V. Perspectives of using bacteria for cell and tissue plant culture. Microbiology and biotechnology. 2020; 3:6-31 (in Ukrainian).
3. Aallam Y, Maliki BE, Dhiba D, Lemriss S, Souiri A, Haddioui A, Tarkka M, Hamdali H. Multiple Potential Plant Growth Promotion Activities of Endemic *Streptomyces spp.* from Moroccan Sugar Beet Fields with Their Inhibitory Activities against *Fusarium spp.* Microorganisms. 2021; 9:1429.
4. Alblooshi AA, Purayil GP, Saeed EE, Ramadan GA, Tariq S, Altaee AS, El-Tarabily KA, AbuQamar SF. Biocontrol Potential of Endophytic Actinobacteria against *Fusarium solani*, the Causal Agent of Sudden Decline Syndrome on Date Palm in the UAE. J Fungi, 2022; 8:8.
5. Baghdady G. *In Vitro* Propagation of Blackberries (*Rubus sp.*) Prime-Ark 45 Cultivar. Annals of Agricultural Science, Moshtohor. 2021; 59(5):287-294.
6. Borah A, Hazarika SN, Thakur D. Potentiality of actinobacteria to combat against biotic and abiotic stresses in tea (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze). J Appl Microbiol. 2022; 133(4): 2314-2330.
7. Caldwell JD. Blackberry propagation. HortScience. 1984; 2:193-195.



8. Cesa-Luna C, Baez A, Quintero-Hernandez V, De la Cruz-Enriquez J, Castaneda-Antonio MD, Munoz-Rojas J. The importance of antimicrobial compounds produced by beneficial bacteria on the biocontrol of phytopathogens. *Acta biol. Colomb.* 2020; 25(1):140-154.
9. Cosmulescu S., Scricieiu F., Manda M. Determination of leaf characteristics in different medlar genotypes using the ImageJ program. *Hort. Sci. (Prague).* 2020; 47:117-121.
10. Ebrahimi-Zarandi M, Saberi Riseh R, Tarkka MT. Actinobacteria as Effective Biocontrol Agents against Plant Pathogens, an Overview on Their Role in Eliciting Plant Defense. *Microorganisms.* 2022; 10:1739.
11. El-Baky NA, Abdel Rahman RA, Sharaf MM, Amara AAAF. (2021) The Development of a Phytopathogenic Fungi Control Trial: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* Infection in Jojoba Tissue Culture as a Model. *Sci. World J.* 2021; 6639850.
12. Errakhi R, Bouteau F, Lebrihi A, Mustapha B. Evidences of biological control capacities of *Streptomyces spp.* against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 23:1503-1509.
13. Kaewkla O, Suriyachadkun C, Franco CMM. *Micromonospora veneta* sp. nov., an endophytic actinobacterium with potential for nitrogen fixation and for bioremediation. *Arch. Microbiol.* 2021; 203:2853-2861.
14. Kirina IB, Belosokhov FG, Titova LV, Suraykina IA, Pulpitow VF. Biochemical assessment of berry crops as a source of production of functional food products. In: IOP Conference Series «Earth and Environmental Science». IOP Publishing, 2020; 548(8):082068.
15. Leite MS, Furtado-Pinto TE, Rabelo-Centofante A, Rubio-Neto A, Guimaraes-Silva F, Goncalves-Selari PJR, Martins PF. Acclimatization of *Pouteria gardeneriana* Radlk micropropagated plantlets: Role of *in vitro* rooting and plant growth-promoting bacteria. *Curr. Plant Biol.* 2021; 27:121-138.
16. Li X, Zhao H, Chen X. Screening of Marine Bioactive Antimicrobial Compounds for Plant Pathogens. *Mar. Drugs.* 2021; 19:69.
17. Liu D, Yan R, Fu Y, Wang X, Zhang J, Xiang W. Antifungal, Plant Growth-Promoting, and Genomic Properties of an Endophytic Actinobacterium *Streptomyces sp.* NEAU-S7GS2. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2077.
18. Liu X, Bolla K, Ashforth EJ, Zhuo Y, Gao H, Huang P, Stanley SA, Hung DT, Zhang L. Systematics-guided bioprospecting for bioactive microbial natural products. *Antonie Leeuw.* 2012; 101:55-66.
19. Liu Z, Jiao RL, Chen SY, Ren Y, Zhang L, Zhang D, Chen JY, Guoying L. First Report of Fruit Rot of Grapes (*Vitis vinifera*) Caused by *Cladosporium cladosporioides* in Xinjiang, China. *Plant Dis.* 2022; 106:315.
20. Lopes E, Silva A, Mergulhão A, Silva E, Santiago A, Figueiredo M. Co-Inoculation of growth promoting bacteria and glomus clarum in micropropagated cassava plants. *Revista Caatinga.* 2019; 32:152-166.
21. Manigundan K, Radhakrishnan M, Kishore Kumar A, Jerrine J. Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bioorganic agriculture. *Journal of Applied Microbiology.* 2022; 134(2):lxac047.



22. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*. 1962; 8(4):473-497.
23. Musa Z, Ma J, Egamberdieva D, Abdelshafy Mohamad OA, Abaydulla G, Liu Y, Li WJ, Li L. Diversity and Antimicrobial Potential of Cultivable Endophytic Actinobacteria Associated With the Medicinal Plant *Thymus roseus*. *Front. Microbiol*. 2020; 11:191.
24. Nehl DB, Allen SJ, Brown JF. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. *Applied Soil Ecology*. 1996; 5(1):1-20.
25. Omamor IB, Asemota A, Eke CR, Eziashi E. Fungal contaminants of the oil palm tissue culture in Nigerian institute for oil palm research (NIFOR). *Afr. J. Agric. Res*. 2007; 2:534-537.
26. Palaniyandi SA, Yang SH, Zhang L, Suh JW. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2013; 97:9621-9636.
27. Rangseekaew P, Barros-Rodríguez A, Pathom-aree W, Manzanera M. Deep-Sea Actinobacteria Mitigate Salinity Stress in Tomato Seedlings and Their Biosafety Testing. *Plants*. 2021; 10:1687.
28. Retnowati D, Solihin D, Ghulamahdi M, Lestari Y. New information on the potency of sponge-associated actinobacteria as producer of plant growth-promoting bioactive compounds. *Malaysian Applied Biology*. 2018; 47:127-135.
29. Retnowati D, Solihin DD, Ghulamahdi M, Lestari Y. Characterization of sponge-associated actinobacteria with potential to promote plant growth on tidal swamps. *Journal of Biological Research - Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale*. 2019; 92(2):8191.
30. Saravana Kumar P, Yuvaraj P, Gabriel Paulraj M, Ignacimuthu S, Abdullah Al-Dhabi N. Bio-prospecting of soil *Streptomyces* and its bioassay-guided isolation of microbial derived auxin with antifungal properties. *Journal De Mycologie Medicale*. 2018; 28(3):462-468.
31. Shekhawat MS, Mehta SR, Manokari M, Priyadharshini S, Badhepuri MK, Jogam P, Dey A, Rajput BS. Morpho-anatomical and physiological changes of Indian sandalwood (*Santalum album* L.) plantlets in *ex vitro* conditions to support successful acclimatization for plant mass production. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult*. 2021; 147:423-435.
32. Shobha G, Kumudini BS. Antagonistic effect of the newly isolated PGPR *Bacillus spp.* on *Fusarium oxysporum*. *Int. j. appl. sci. eng. Res*. 2012; 1(3):463-474.
33. Uba B, Okoye E, Anyaeji O, Ogonnaya O. Antagonistic Potentials of Actinomycetes Isolated from Coastal Area of Niger Delta against *Citrus sinensis* (Sweet Orange) and *Lycopersicon esculentum* (Tomato) Fungal Pathogens. *Research & Reviews: A Journal of Biotechnology*. 2019; 9(1):4-15.
34. Vujovic T, Ruzic D, Cerovic R. Adventitious regeneration in blackberry (*Rubus fruticosus* L.) and assessment of genetic stability in regenerants. *Plant Growth Regul*. 2010; 61: 265-275.
35. Wang K, Ngea GLN, Godana EA, Shi Y, Lanhuang B, Zhang X, Zhao L, Yang Q, Wang S, Zhang H. Recent advances in *Penicillium expansum* infec-



- tion mechanisms and current methods in controlling *P. expansum* in postharvest apples. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 2021; 20:1-14.
36. Zia-Ul-Haq M, De Feo M, Vincenzo ZE, Hawa J, Marius M. *Rubus fruticosus* L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules.* 2014; 19:10998-11029.

Стаття надійшла до редакції 15.03.2023 р.

