

Н.І. Теслюк, О.Ю. Зінченко, М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: natalana@onu.edu.ua

УДОСКОНАЛЕННЯ ПРОЦЕСІВ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ *CHRYSANTHEMUM* × *KOREANUM* HORT. З ВИКОРИСТАННЯМ *BACILLUS MEGATERIUM* ONU500

Метою роботи було удосконалення процесів мікроклонального розмноження хризантеми в культурі *in vitro* з використанням бактерій штаму *B. megaterium* ONU500 під час постасептичної адаптації. **Матеріали і методи.** На первинних етапах мікроклонального розмноження було протестовано дві схеми поверхневої стерилізації експлантів хризантеми з використанням фунгіцидних препаратів. Визначали вплив концентрації агару у середовищі на розвиток та ріст експлантів. На етапі адаптації до умов *ex vitro* здійснювали інокуляцію коренів мікроклонів бактеріями штаму *B. megaterium* ONU500. **Результати.** Встановлено найбільш ефективну схему поверхневого знезараження рослинного матеріалу з використанням розчину фунгіциду Хінозол. Визначено, що використання живильного середовища Мурасіге та Скуга (МС) з 0,4% агару на етапі введення ініціальних експлантів хризантеми в культуру *in vitro* підвищувало приживлюваність на 9,3% та прискорювало проліферацію на 1 добу. Виявлено, що інокуляція ризосфери мікроклонів хризантеми позитивно впливала на ріст адаптованих мікросаджанців, підвищуючи їх приживлюваність у ґрунті на 20,4–22,2%, висоту надземної частини – на 1,8–1,9 см, середню кількість вузлів – на 2,0–2,2 вузли. **Висновок.** Було визначено дієвість використання фунгіцидів для обробки рослинного матеріалу хризантеми під час введення в культуру *in vitro*, та вплив консистенції живильного середовища на розвиток експлантів, що є новим та актуальним для підвищення ефективності мікроклонального розмноження цієї рослини. Також, вперше були здійснені експерименти з інокуляції мікроклонів хризантеми на етапі адаптації *ex vitro*, та показана позитивна дія такої інокуляції на морфометричні характеристики саджанців та їх приживлюваність. Надано рекомендації використовувати фунгіцид Хінозол для поверхневої стерилізації ініціальних експлантів хризантеми та проводити культивування на напіврідкому живильному середовищі МС із 0,4% агару. На етапі постасептичної адаптації мікроклонів доцільно проводити інокуляцію коренів бактеріями штаму *B. megaterium* ONU500 у концентраціях 10^8 – 10^9 КУО/мл.

Ключові слова: мікроклональне розмноження, експлант, інокуляція, *Bacillus*, адаптація.



Розмноження декоративних рослин на сьогодні є однією з перспективних та прибукових галузей сільського господарства. Найбільшими виробниками квітково-декоративних культур на сьогодні є Нідерланди, Польща, США, Італія, Німеччина, Бельгія, Японія та Канада [13]. У світі постійно зростає попит на нові рослини для використання у внутрішньому і зовнішньому озелененні. Тому актуальною стає проблема масового розмноження однорічних і багаторічних декоративно-квіткових культур. Декоративні хризантеми є одними з перших по популярності вирощування квіткових культур на світовому ринку [15]. В даний час тільки в Японії налічується понад 15 000 сортів хризантем [11]. Традиційні способи розмноження хризантем не задовольняють потреби ринку. Біотехнологічні методи широко застосовуються при розмноженні хризантем в культурі *in vitro*, про що свідчать багаточисленні публікації [12, 16, 17]. Мікроклонування дозволяє налагодити процес цілорічного отримання великої кількості генетично однорідних, оздоровлених від інфекцій саджанців навіть за наявності невеликих потужностей виробництва, у той час як традиційне вегетативне чи статеве розмноження не мають даних переваг [15].

Хризантема корейська *Chrysanthemum* × *Koreanum* Hort. (надалі – хризантема) відноситься до групи багаторічних дрібноквіткових сортів хризантеми садової гібридного походження. Цей вид відрізняється стійкістю до низької температури повітря, через що широко культивується у відкритому ґрунті на території України [5].

Біотехнологічні методи клонального мікророзмноження хризантем активно розвиваються, але багато етапів цього процесу потребують суттєвих оптимізацій. Так, актуальною проблемою є скорочення термінів вирощування хризантем в культурі *in vitro* до стандарту продукції *ex vitro*. Важливим аспектом є також здешевлення виробництва садивного матеріалу без зміни його якості. Тому, для успішного використання методів мікроклонального розмноження хризантем у комерційній сфері питання підбору ефективних та недорогих речовин та живильних середовищ потребують суттєвої корекції та удосконалених підходів.

Дуже перспективним є використання мікробних препаратів як допоміжних засобів у біотехнології рослин. Особливо це стосується адаптації рослин до нестерильних умов середовища після мікроклонування, оскільки у цей період спостерігаються значні втрати садивного матеріалу.

Бацили є одними з найбільш широко вивчених рістстимулювальних бактерій для рослин, проте на ринку біопрепаратів постійно з'являються нові штами з іншими особливостями та вираженістю дії, тому дана тема залишається актуальною вже довгий час. Біопрепарати на основі бацил дозволяють знизити рівень використання пестицидів та хімічних добрив, оскільки являють собою їх екологічну та економічно вигіднішу заміну. Завдяки численним прямим та непрямим механізмам впливу на рослини, бактерії роду *Bacillus* стимулюють їх ріст, захищають від фітопатогенів та сприяють отриманню більших об'ємів врожаю високої якості [8, 10]. Можливо, штучна інокуляція корисними мікроорганізмами на етапі адаптації здатна покращити приживлюваність мікроклонів та зовнішні характеристики рослин, але даній темі присвячена обмежена кількість наукових публікацій.



Метою даного дослідження було удосконалення процесів мікроклонального розмноження хризантеми в культурі *in vitro* з використанням бактерій штаму *B. megaterium* ONU500 під час постсептичної адаптації.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження слугували молоді пагони та мікроклони хризантеми корейської *Chrysanthemum × Koreanum* Hort., а також бактерії штаму *B. megaterium* ONU500, який задепоновано у колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету [4, 6].

Донорні рослини хризантеми вирощувалися у відкритому ґрунті. Як ініціальні експланти використовували одновузлові відрізки пагонів рослин із пазуховими або верхівковими бруньками. Їх поміщали у скляну ємність для стерилізації та накривали двома-трьома шарами стерильної марлі. Перша експериментальна схема стерилізації включала такі етапи:

1. Промивання мильним розчином (10 хвилин);
2. Обробка розчином фунгіциду Хінозол 2 г/л (15 хвилин);
3. Експозиція у 3,5% розчині гіпохлориту натрію (8 хвилин);
4. Витримання у 70% етанолі (20 секунд) [3].

Друга схема стерилізації була наступною:

1. Промивання мильним розчином (10 хвилин);
2. Обробка розчином фунгіциду Хорус 1,4 г/л. (15 хвилин);
3. Експозиція у 3,5% розчині гіпохлориту натрію (8 хвилин)
4. Витримання у 70% етанолі (20 секунд) [3].

Експланти після стерилізації переносили у ламінар-бокс, де і проводили введення хризантеми в культуру *in vitro*. Для цього у одновузлових стерильних експлантів оновлювали зрізи і висаджували їх на середовищі Мурасіге та Скуга (МС) [14] із 1 мг/л 6-бензиламінопурину (6-БАП).

У наступному експерименті, середовище МС для введення готували напіврідким (0,4% агару) або твердим (0,8% агару). На твердому середовищі експлант знаходився на поверхні, а на напіврідкому – перебував у напівзануреному стані.

Життєздатні експланти дорощували до формування 5–6 вузлів та живцювали з метою отримання великої кількості ідентичних мікроклонів. На другому етапі мікроклонального розмноження хризантеми як регулятор росту використовували 1,5 мг/л 6-БАП та 0,5 мг/л індолілоцтової кислоти.

Культивування мікроклонів хризантеми здійснювали у культуральному боксі при температурі 22–24°C, освітлення 1800–2000 лк, відносній вологості повітря 70%, та 16 год фотоперіоді.

Для вивчення процесів адаптації рослин до умов *ex vitro* було випробувано суспензії бактерій штаму *B. megaterium* ONU500 у концентраціях 10^8 та 10^9 КУО/мл. Суспензії отримували шляхом культивування бактерій протягом 24 год у рідкому середовищі LB (від англ. Lysogeny broth), після чого центрифугували при 3000 g, двічі відмивали у стерильному дистилаті та готували інокулят.



Для етапу адаптації відбирали мікроклони хризантеми з розвинутою кореневою системою та висотою пагону приблизно 3 см. Величина вибірки для однієї повторності експерименту становила 30 мікроклонів, на 10 шт. з яких тестували 10^9 КУО/мл бактерій, на інших 10 мікроклонах – 10^8 КУО/мл бактерій, а останні 10 рослин були контрольними.

Адаптацію починали із передадаційного етапу, коли мікроклонам поступово відкривали доступ до повітря протягом 7 діб, розширюючи отвори у кришках лабораторних ємностей із культивованими рослинами [3].

Після даного етапу мікроклони було розділено на три групи, у двох з яких ризосферу інокулювали бактеріями *B. megaterium* ONU500 у концентраціях 10^8 КУО/мл та 10^9 КУО/мл протягом 30 хвилин, а третя група експонувалася той самий час із стерильною дистильованою водою. Потім проводили висадку рослин у підготовлений субстрат – простерилізований гарячою паром під тиском 0,5 атм ґрунт «Універсальний» та агроперліт у співвідношенні 10:1.

Полив здійснювали 2 рази на тиждень стерильною дистильованою водою протягом перших 14 діб, а після – звичайною водопровідною водою.

За рослинами після висадки спостерігали протягом 30 діб. На 14-ту та 30-ту доби культивування вираховували приживлюваність – її оцінювали як відношення кількості життєздатних саджанців до усіх висаджених рослин. На 7-му, 14-ту та 30-ту добу вимірювали морфометричні показники росту та розвитку мікроклонів – висоту пагонів та кількість утворених вузлів.

Досліди здійснювали у трьох повторностях. Статистичне опрацювання даних проводили шляхом дисперсійного аналізу із застосуванням апостеріорного тесту найменшої значимої різниці (за наявності більше, ніж двох порівнюваних середніх). Значення, що достовірно відрізняються від контролю, у таблицях та рисунках позначені зірочкою «*». У випадку, якщо значення показника достовірно відрізняються не тільки від контролю, а і між собою, то кількість знаків «*» у позначеннях відрізняється. Розрахунки проводили за допомогою програм Microsoft Excel та IBM SPSS Statistics. Виявлена різниця між середніми значеннями вважалася достовірною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

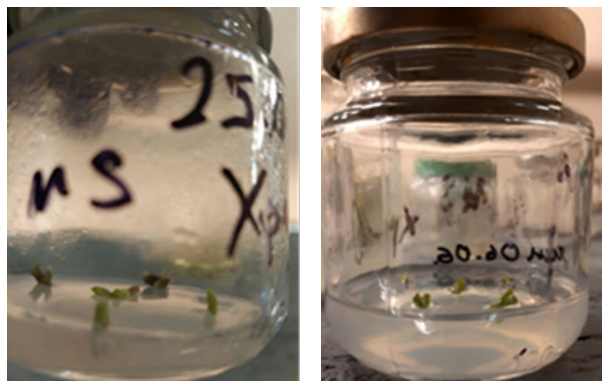
Успішне введення ініціальних експлантів хризантеми залежало від таких чинників, як ефективність поверхневої стерилізації рослинного матеріалу, дотримання асептичних умов роботи, а також від підбору оптимальної концентрації желювального компоненту у живильному середовищі (рис. 1).

Під час введення хризантеми в культуру *in vitro* було протестовано дві різні схеми стерилізації рослинного матеріалу з метою виявлення найбільш ефективної для даного виду рослин. Перша схема включала обробку розчином фунгіцидного препарату Хінозол. Друга схема містила обробку розчином фунгіциду Хорус.

Найвищі значення показника приживлюваності було відмічено за проведення стерилізації із використанням препарату Хінозол (табл. 1).

За однакових умов приживлюваність експлантів через два тижні культивування у схемі із використанням препарату Хорус була на 14,7% меншою



Рис. 1. Введення ініціальних експлантів хризантеми в культуру *in vitro*Fig. 1. *In vitro* culture establishment of chrysanthemum initial explants

Таблиця 1

Приживлюваність ініціальних експлантів хризантеми на середовищі МС за використання різних схем поверхневої стерилізації

Table 1

The survival rate of the *Chrysanthemum* × *Koreanum* initial explants on the MS medium under different surface sterilization conditions

Тип стерилізації	Приживлюваність, %		
	3 доби від початку культивування	7 днів від початку культивування	14 днів від початку культивування
Схема стерилізації I	65,4±3,2*	62,2±3,3*	60,4±3,7*
Схема стерилізації II (контроль)	55,5±3,6	52,1±4,1	45,7±4,8

Примітка – *різниця з контролем є статистично достовірною при $p < 0,05$

Note – *the difference with the control is statistically significant at $p < 0,05$

порівняно до схеми із розчином Хінозолу. Візуальні спостереження показали, що при використанні препарату Хінозол ініціальні експланти були зеленого кольору, без ознак некрозу.

Також, нами було встановлено, що для культивування експлантів хризантеми на первинних етапах ефективнішим було напіврідке середовище МС. У цьому випадку, експланти зависали у товщі середовища, що допомогало створювати більшу площу живлення – а це, у свою чергу, покращувало приживлюваність та проліферацію бруньок (табл. 2).

Використання напіврідкого середовища (0,4% агару) забезпечило підвищення приживлюваності на 9,3%, та прискорення проліферації пазухової бруньки на 1,0 доби. Завдяки даному удосконаленню вдалося зробити процес мікροклонального розмноження хризантеми більш економічно ефективним,

Таблиця 2

**Введення хризантеми в культуру *in vitro* на середовищах МС
різної консистенції**

Table 2

***In vitro* culture establishment of *Chrysanthemum* × *Koreanum* on the MS
medium of different consistency**

Концентрація агару	Приживлюваність, %	Проліферація бруньки, доба від початку культивування**
0,4% (напіврідке середовище)	65,0±3,7*	6,2±0,4*
0,8% (тверде середовище - контроль)	55,7±4,3	7,2±0,3

Примітка – * різниця з контролем є статистично достовірною при $p < 0,05$

** кращими вважали менші значення показника

Note – * the difference with the control is statistically significant at $p < 0,05$

** the smaller values were considered as better

оскільки краща приживлюваність забезпечувала в подальшому отримання більшої кількості садивного матеріалу, а прискорена проліферація пазухових бруньок дозволяла економити матеріальні та часові витрати під час вирощування мікроклонів у культуральній кімнаті за рахунок скорочення строків культивування. Запропоноване удосконалення є ресурсозберігаючим, що на сьогодні є особливо актуальним.

З метою оцінювання потенціалу використання бактерій штаму *B. megaterium* ONU500 для адаптації мікроклонів хризантеми, на 14-ту та 30-ту доби від моменту висадки вираховували приживлюваність.

На 14-ту добу приживлюваність мікроклонів під час адаптації до умов *ex vitro*, що були інокульовані 10^9 КУО/мл та 10^8 КУО/мл бактерій, була вищою на 12,4% та 11,1%, відповідно (табл. 3).

На 30-ту добу адаптації приживлюваність рослин, інокульованих 10^9 КУО/мл та 10^8 КУО/мл бактерій, відмічали на 20,4% та 22,2% більшою, ніж у контрольній групі мікроклонів. У контрольному варіанті часто спостерігали ознаки грибкового зараження мікросаджанців.

Також, протягом спостережень за процесом адаптації було встановлено, що інокуляція мікроклонів хризантеми бактеріями *B. megaterium* ONU500 позитивно впливала на морфометричні характеристики саджанців: висоту пагону та кількість вузлів.

На рис. 2 показано ріст мікроклонів хризантеми від першої до тридцятої доби адаптації.

Було встановлено, що обробка *B. megaterium* ONU500 в обох дослідних концентраціях показала позитивний, стимулювальний вплив на показники висоти пагону у порівнянні з контролем. Даний ефект суттєво збільшувався із часом: якщо на 14-ту добу адаптації інокульовані рослини були вищими за контрольні, в середньому, на 0,6 см, то на останню добу проведення дослідів



Таблиця 3

Середня приживлюваність хризантеми при експозиції
з *B. megaterium* ONU500

Table 3

The average survival rate of chrysanthemum after the exposition with
B. megaterium ONU500

Час культивування, доба	Концентрація суспензії бактерій, КУО/мл	Приживлюваність мікроклонів, %
14	10 ⁹	85,7±2,6*
	10 ⁸	83,4±3,3*
	Контроль	63,3±6,2
30	10 ⁹	78,6±4,3*
	10 ⁸	80,0±5,1*
	Контроль	58,2±8,3

Примітка – *різниця з контролем є статистично достовірною при $p < 0,05$

Note – *the difference with the control is statistically significant at $p < 0,05$

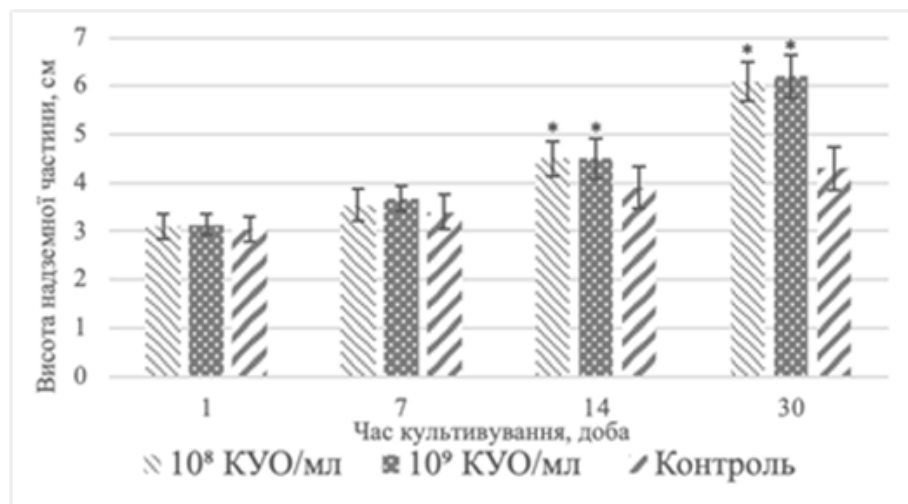


Рис. 2. Висота надземної частини рослин хризантеми за інокуляції *B. megaterium* ONU500

Fig. 2. Shoot height of the chrysanthemum microclones after inoculation with *B. megaterium* ONU500

різниця у висоті складала вже 1,8–1,9 см. Варто відзначити, що вплив обох дослідних концентрацій знаходився приблизно на одному рівні протягом усього періоду спостережень.

Значення показника кількості вузлів, як і ступінь прояву різниці між інокульованими та неінокульованими рослинами, поступово зростали із плином часу (рис. 3).

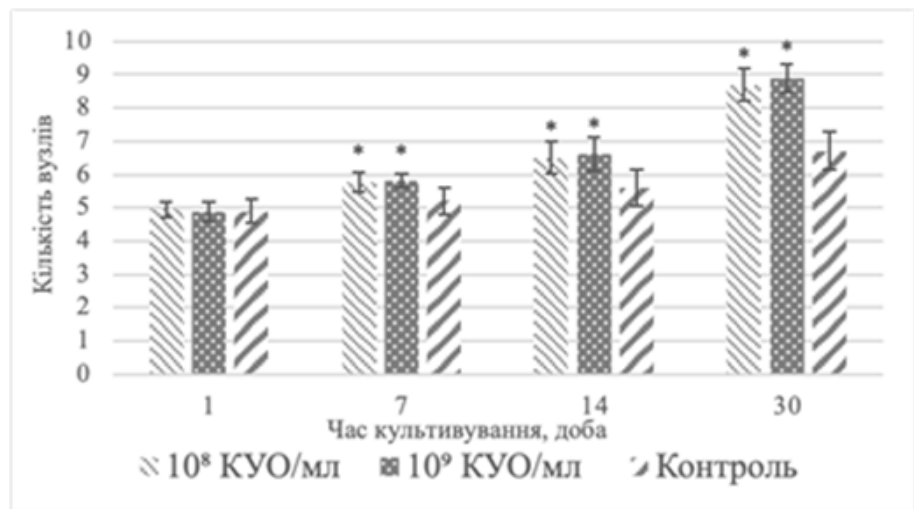


Рис. 3. Кількість вузлів у рослин хризантеми за інокуляції *B. megaterium* ONU500

Fig. 3. The average node number of the chrysanthemum microclones after inoculation with *B. megaterium* ONU500

Інокуляція дослідними концентраціями *B. megaterium* ONU500 забезпечувала статистично однаковий ефект на формування вузлів мікроклонами хризантеми: на 7-му добу різниця із контролем складала 0,6 вузла, на 14-ту – 0,9–1,0 вузла, а на останню добу оброблені бактеріями рослини мали від 2,0 до 2,2 вузлів більше у порівнянні з неінокульованими.

Відповідно, за місяць постасептичної адаптації інокульовані рослини демонстрували більшу швидкість росту та розвитку, ніж контрольні (рис. 4).

Щільність інокуляції не показала суттєвого впливу на приживлюваність та морфометричні показники саджанців хризантеми – обидві концентрації 10⁸ КУО/мл та 10⁹ КУО/мл позитивно впливали на мікроклоновані рослини з однаковим ступенем інтенсивності. Можливо, що і менші концентрації інокуляту матимуть схожий ефект, але дане припущення буде предметом наступних досліджень.

Наявні результати підтвердили та доповнили вже відомі дані про ріст-стимулювальний потенціал бактерій штаму *B. megaterium* ONU500. У попередніх роботах було показано здатність цих мікроорганізмів до утворення біоплівки на корнях модельних рослин та стимулювання росту рослин томатів і соняшника [1, 7, 9]. Також, було показано їх можливість синтезувати сидерофори та встановлено антагоністичний потенціал проти деяких фітопатогенів,





Рис. 4. Мікроклони хризантеми на 30-ту добу адаптації з *B. megaterium* ONU500:

ліворуч – інокульовані 10^9 КУО/мл бактерій, посередині – інокульовані 10^8 КУО/мл бактерій, праворуч – неінокульований контроль

Fig. 4. Chrysanthemum microclones on the 30th day of adaptation with *B. megaterium* ONU500:

on the left – inoculated with 10^9 CFU/ml of bacteria, in the center – inoculated with 10^8 CFU/ml of bacteria, on the right – uninoculated control

що може бути важливим елементом підвищення приживлюваності мікроклонів у ґрунті під час адаптаційного стресу [2]. Проте, можуть існувати також і інші механізми взаємодії рослин із даними бактеріями, що потребує окремих поглиблених досліджень.

Встановлено, що стерилізація рослинного матеріалу хризантеми для введення у культуру *in vitro* з використанням розчину препарату Хінозол підвищувала приживлюваність експлантів на 14,7%. Культивування експлантів на напіврідкому середовищі МС з 1 мг/л 6-БАП забезпечувало підвищення приживлюваності на 9,3% та прискорення проліферації на 1,0 доби у порівнянні з твердим середовищем. Встановлено, що бактерії *B. megaterium* ONU500 у концентраціях 10^8 КУО/мл та 10^9 КУО/мл позитивно впливали на мікроклоновані рослини хризантеми під час адаптації до умов *ex vitro*, підвищуючи приживлюваність у ґрунті на 20,4–22,2%, середню висоту – на 1,8–1,9 см, кількість вузлів – на 2,0–2,2 вузли у порівнянні з контролем протягом місяця постасептичної адаптації.

Для наукових та комерційних біотехнологічних лабораторій та центрів рекомендовано під час введення рослинного матеріалу хризантеми в культуру *in vitro* рекомендовано використовувати розчини фунгіциду Хінозол для поверхневої стерилізації, та проводити культивування ініціальних експлантів на напіврідкому живильному середовищі із 0,4% агару. На етапі *ex vitro* адаптації рекомендовано проводити інокуляцію коренів мікроклонів бактеріями штаму *B. megaterium* ONU500 у концентраціях 10^8 – 10^9 КУО/мл.

N.I. Tesliuk, O.Y. Zinchenko, M.B. Galkin, T.O. Filipova

Odesa National I.I. Mechnikov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: natalana@onu.edu.ua

IMPROVEMENT OF THE *CHRYSANTHEMUM* × *KOREANUM* HORT. CLONAL MICROPROPAGATION PROCESSES USING *BACILLUS MEGATERIUM* ONU500

Summary

The **aim** of this study was to improve the *Chrysanthemum* × *Koreanum* micropropagation processes using *Bacillus megaterium* ONU500 at the post-aseptic adaptation stage. **Methods.** At the initial stages of clonal micropropagation, two surface sterilization protocols with different fungicidal preparations were tested. The influence of the agar concentration in the medium on the development of explants was determined. At the ex vitro adaptation stage, the roots of the microclones were inoculated with bacteria of the strain *B. megaterium* ONU500. **Results.** The most effective protocol for plant material surface disinfection, which included quinozol and ethanol, was established. It was determined that the use of Murashige and Skoog (MS) nutrient medium supplemented with 0.4% agar at the stage of in vitro culture establishment increased the survival of chrysanthemum initial explants by 9.3% and accelerated proliferation by 1 day. It was found that inoculation of the chrysanthemum microclone rhizosphere with bacteria had a positive effect on the growth of adapted plantlets, increasing their survival rate by 20.4–22.2%, shoot height by 1.8–1.9 cm, and average number of nodes by 2.0–2.2 nodes. **Conclusion.** The effectiveness of the use of fungicides for the treatment of chrysanthemum plant material during in vitro culture establishment and the influence of the consistency of the nutrient medium on the development of explants were determined, which is new and relevant for increasing the efficiency of clonal micropropagation of this plant. Also, experiments on the inoculation of chrysanthemum microclones at the stage of ex vitro adaptation were carried out for the first time, and the positive effect of such inoculation on the morphometric characteristics of seedlings and their survival rate was shown. When establishing chrysanthemum explants in vitro, it is recommended to use the fungicide quinozol for surface sterilization, and carry out cultivation in a semi-liquid nutrient medium with 0.4% agar. At the postaseptic adaptation stage of microclones, it is advisable to inoculate the roots with bacteria of the strain *B. megaterium* ONU500 at concentrations of 10^8 – 10^9 CFU/ml.

Key words: clonal micropropagation, explant, inoculation, *Bacillus*, adaptation.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабенко Д.О., Мрачковська Ю.О., Крилова К.Д. Дія бактерій штаму *Bacillus megaterium* ONU 500 на вегетуючі рослини *Lycopersicon esculentum* // Наук. конф. «Biotechnology for agriculture and environmental protection» (Одеса, вересень, 2016 р.): Тези доп. – ОНУ ім. І. І. Мечникова, 2016. – 244 с.
2. Защинська О.С. Мікробні сидерофори як можливі фактори антагонізму бактерій *Bacillus megaterium* щодо патогенних *Agrobacterium* spp. //



- Збірка матеріалів наукового товариства студентів, аспірантів і молодих вчених. – Одеса: Репозитарій наукової бібліотеки ОНУ імені І. І. Мечникова, 2019. – 39 с.
3. Зеленьанська Н.Н., Джабурія Л.В., Теслюк Н.І. Технологія розмноження винограду з використанням методів культури тканин *in vitro* // Виноград. – 2009. – № 3. – С. 50–53.
 4. Іваниця В.О., Штеніков М.Д., Остапчук А.М., Горшкова О.Г., Теслюк Н.І., Титаренко Н.В., Гудзенко Т.В. Пат. 126710 України МПК А01N63/22. Штам *Bacillus velezensis* ONU553 – продуцент ліпопептидних антибіотиків, антагоніст *Staphylococcus aureus* та ентеробактерій з ростостимулювальною активністю. Київ: Національний орган інтелектуальної власності - державна організація “Український національний офіс інтелектуальної власності та інновацій”. – 2023.
 5. Конюшенко К.І. Екологічна оцінка перспектив використання роду *Chrysanthemum* L. в зеленому будівництві м. Житомир : кваліфікаційна робота : спец. 101 «Екологія» // Поліський нац. університет, каф. загальної екології, наук. керівник С. І. Матковська. – Житомир, 2020. – 44 с.
 6. Мікробіологічні дослідження Чорного моря: монографія / В.О. Іваниця, Т.В. Гудзенко, І.В. Страшнова, Н.Ю. Васильєва, М.Д. Штеніков, Н.В. Коротаєва, Лісютін Г.В., Горшкова О.Г., Волювач О.В., Потапенко К.С., Боброва О.Є., Іваниця Т.В., Філіпова Т.О., Чабан М.М.; ред. В.О. Іваниця – Одеса: ОНУ, 2021. – 282 с.
 7. Мрачковська Ю.О., Крилова К.Д., Галкін Б.М. Формування біоплівки пробіотичним штамом *Bacillus megaterium* ОНУ500 на коренях рослин *Lepidium sativum* L. // Міжн. наук. конф. «Біологія: від молекули до біосфери» (2–4 грудня 2015 р., м. Харків, Україна). – Х.: ФОП Шаповалова Т. М., 2015.
 8. 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.
 9. Швець Ю.А., Крилова К.Д., Лиманська Н.В. Вплив *Bacillus megaterium* ОНУ 500 на проростання та ріст сіянь соняшника // Мікробіологія і біотехнологія. – 2021. – № 1(51). – С. 45–54.
 10. Agake S., Ohwaki Y., Kojima K., Yoshikawa E., Artigas Ramirez M.D., Bellingrath-Kimura S.D., Yamada T., Ookawa T., Ohkama-Ohtsu N., Yokoyama T. Biofertilizer with *Bacillus pumilus* TUAT1 Spores Improves Growth, Productivity, and Lodging Resistance in Forage Rice // Agronomy. – 2022. – № 12(10). – Art. 2325.
 11. Datta S.K. (2013). *Chrysanthemum morifolium* Ramat. – a unique genetic material for breeding // Sc. Culture. – 2013. – № 7(8). – P. 307-313.
 12. Deein W., Thepsithar C., Thongpukdee A. Growth of *Chrysanthemum* explants on MS medium sterilized by disinfectants and essential oils // Int. J. Biosci., Biochem. Bioinformatics. – 2013. – № 3(6). – P. 609–613.
 13. Getu M. Ethiopia floriculture and its impact on the environment. Regulation, Supervision and Compliance // Mizan Law Rev. – 2009. – № 3(2). – 242 p.



14. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // *Physiologia plantarum*. – 1962. – № 15(3) – P. 473–497.
15. Teixeira da Silva J.A., Kulus D. *Chrysanthemum* biotechnology: discoveries from the recent literature // *Folia Horticulturae*. – 2014. – № 26(2) – P. 67–77.
16. Tymoszek A., Zalewska M. *In vitro* adventitious shoot regeneration from ligulate florets in the aspect of application in *Chrysanthemum* breeding // *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*. – 2014. – 13(2). – P. 45–58.
17. Zhou Y., Wang Y. Y., Song Y. R., Gao Z. Y., Liu Y. M., Fan L. J. Stem apex detoxification culture markedly improved several physiological characters of *Chrysanthemum* "YUTAI" // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* – 2014. – № 119. – P. 369–381.

REFERENCES

1. Babenko DO, Mrachkovska YO, Krylova KD. Effect of *Bacillus megaterium* ONU500 strain on growing plants of *Lycopersicon esculentum*. In: Scientific Conference "Biotechnology for agriculture and environmental protection" (Odesa, September 2016): Abstracts. Odesa I.I. Mechnikov National University 2016:244 p. (in Ukrainian).
2. Zashchynska OS. Microbial Siderophores as Possible Factors of Antagonism of *Bacillus megaterium* Bacteria Against Pathogenic *Agrobacterium* spp. In: Collection of Materials of the Scientific Society of Students, Postgraduates, and Young Scientists. Odessa: Repository of the Scientific Library of Odesa I.I. Mechnikov National University, 2019. 39 p. (in Ukrainian).
3. Zelenianska NN, Dzhaburiiia LV, Tesliuk NI. Grapevine Propagation Technology Using *In Vitro* Tissue Culture Methods. *VinoGrad*. 2009;3:50-53 (in Ukrainian).
4. Ivanytsia VO, Shtenikov MD, Ostapchuk AM, Gorshkova OG, Tesliuk NI, Tytarenko NV, Gudzenko TV. Patent 126710 Ukraine, IPC A01N63/22. Strain *Bacillus velezensis* ONU553 - Producer of Lipopeptide Antibiotics, Antagonist of *Staphylococcus aureus* and Enterobacteria with Growth-Stimulating Activity. Kyiv: National Intellectual Property Office - State Organization "Ukrainian National Office of Intellectual Property and Innovations"; 2023 (in Ukrainian).
5. Koniushenko KI. Environmental Assessment of the Prospects for Using the Genus *Chrysanthemum* L. in Green Building in Zhytomyr: Qualification Work: Specialty 101 "Ecology". Polissia National University, Department of General Ecology, Scientific Supervisor S.I. Matkovska. Zhytomyr; 2020. 44 p. (in Ukrainian).
6. Ivanytsia VO, Gudzenko TV, Strashnova IV, Vasilieva NY, Shtenikov MD, Korotaeva NV, Lisyutin GV, Gorshkova OG, Voluvach OV, Potapenko KS, Bobrova OY, Ivanitsya TV, Filipova TO, Chaban MM, editors. Microbiological Studies of the Black Sea: Monograph. Odesa: Odesa I.I. Mechnikov National University; 2021. 282 p. (in Ukrainian).
7. Mrachkovska YO, Krylova KD, Galkin BM. Formation of a Biofilm by the Probiotic Strain *Bacillus megaterium* ONU500 on the Roots of *Lepidium*



- sativum* L. In: International Scientific Conference "Biology: From Molecule to Biosphere" (December 2-4, 2015, Kharkiv, Ukraine). Kharkiv: FOP Shapovalova TM; 2015 (in Ukrainian).
8. 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).
 9. Shvets YA, Krylova KD, Limanska NV. Influence of *Bacillus megaterium* ONU 500 on Germination and Growth of Sunflower Seedlings. *Microbiology and Biotechnology*. 2021;1(51):45-54 (in Ukrainian).
 10. Agake S, Ohwaki Y, Kojima K, Yoshikawa E, Artigas Ramirez MD, Bellingrath-Kimura SD, Yamada T, Ookawa T, Ohkama-Ohtsu N, Yokoyama T. Biofertilizer with *Bacillus pumilus* TUAT1 Spores Improves Growth, Productivity, and Lodging Resistance in Forage Rice. *Agronomy*. 2022;12(10):2325.
 11. Datta SK. *Chrysanthemum morifolium* Ramat. - a unique genetic material for breeding. *Sc. Culture*. 2013;7(8):307-313.
 12. Deein W, Thepsithar C, Thongpukdee A. Growth of *Chrysanthemum* explants on MS medium sterilized by disinfectants and essential oils. *Int. J. Biosci., Biochem. Bioinformatics*. 2013;3(6):609-613.
 13. Getu M. Ethiopia floriculture and its impact on the environment. Regulation, Supervision and Compliance. *Mizan Law Rev.* 2009;3(2):242 p.
 14. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962;15(3):473-497.
 15. Teixeira da Silva JA, Kulus D. *Chrysanthemum* biotechnology: discoveries from the recent literature. *Folia Horticulturae*. 2014;26(2):67-77.
 16. Tymoszuk A, Zalewska M. *In vitro* adventitious shoot regeneration from ligulate florets in the aspect of application in *Chrysanthemum* breeding. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*. 2014;13(2):45-58.
 17. Zhou Y, Wang YY, Song YR, Gao ZY, Liu YM, Fan LJ. Stem apex detoxification culture markedly improved several physiological characters of *Chrysanthemum* "YUTAI". *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2014;119:369-381.

Стаття надійшла до редакції 10.09.2023 р.

