

И.А. Скороход¹, А.А. Рой¹, А.И. Мелентьев², И.К. Курдиш¹

¹Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д03680, Украина,
e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

²Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ФОСФАТМИНЕРАЛИЗУЮЩИХ ШТАММОВ РОДА *BACILLUS* НА СЕМЕНА РАСТЕНИЙ, ПОДВЕРГНУТЫЕ ОКСИДАТИВНОМУ СТРЕССУ

Цель. Исследование влияния биологически активных веществ, синтезируемых фосфатминерализующими штаммами рода *Bacillus* на семена растений, подвергнутые оксидативному стрессу. **Методы.** Использован ряд микробиологических и биохимических методов исследования.

Результаты. Установлено, что штаммы *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 и *Bacillus subtilis* ИБ-22 способны минерализовать глицерофосфат кальция, который являлся единственным источником фосфорного питания, и продуцировать в культуральную среду (КС) биологически активные вещества (БАВ), оказывающие положительное влияние на прорастание, всхожесть семян и развитие проростков. Комплекс БАВ, синтезируемый этими бактериями в КС представлен энзимами, аминокислотами, органическими кислотами, соединениями фенольной природы и др. В каждом классе этих веществ обнаружены соединения, обладающие антиоксидантными свойствами: среди энзимов – каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза; аминокислот – L-метионин, L-лизин, L-гистидин; органических кислот – молочная, пропионовая, масляная. Выше перечисленные БАВ могут принимать участие в снижении оксидативного стресса у семян сельскохозяйственных культур.

Выводы. Биологически активные вещества *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 и *Bacillus subtilis* ИБ-22 играют важную роль в защите растений от фитопатогенных бактерий, в частности от штаммов *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Clavibacter*, которые приносят большие потери урожая зерновых, бобовых и овощных культур.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, биологически активные вещества, аминокислоты, энзимы, оксидативный стресс.

Бактерии рода *Bacillus* Sohn синтезируют ряд биологически активных веществ (БАВ), колонизируют ризосферу культурных растений и стимулируют их рост [3, 5, 9]. Эти микроорганизмы – эффективные агенты биоконтроля фитопатогенных бактерий и микромицетов [6, 7]. Они про-



дуцируют ряд соединений (антибиотики, энзимы, органические кислоты, лектины, вещества фенольной природы и др.) способных вызывать нарушение цикла развития, а также лизис клеточных стенок фитопатогенов [5, 7]. Бациллы являются основой биопрепаратов для многих видов сельскохозяйственных культур [5, 18].

Бактерии рода *Bacillus* Cohn одного и того же вида, выделенные из различных географических регионов, отличаются по количественному и качественному составу БАВ, что обусловлено характеристиками экологических ниш распространения и существования [5]. Основные морфологические и физиолого-биохимические признаки таких бацилл могут совпадать. Однако их биохимические свойства могут различаться, что обусловлено условиями места обитания [5, 9].

Цель работы — исследовать накопление в культуральной среде штаммов *Bacillus subtilis*, выделенных из чернозема различных географических регионов Украины и России, некоторых БАВ, изучить их антагонистическую активность к фитопатогенным бактериям, а также влияние на снижение оксидативного стресса у семян сельскохозяйственных растений.

Материалы и методы

Объектами исследований были штаммы *B. subtilis* ИМВ В-7023 [18], выделенный из черноземной почвы Украины и *B. subtilis* ИБ-22 [19], изолированный из образца почвы типичного чернозема, отобранного на территории республики Башкортостан и поддерживаемый в коллекции микроорганизмов лаборатории прикладной микробиологии Института биологии Уфимского научного центра РАН. Бациллы выращивали в периодических условиях при 28 °С на качалке (240 об/мин) в колбах Эрленмейера объемом 750 мл, которые содержали 100 мл питательной среды следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,3; NaCl — 0,3; KCl — 0,3; $\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; FeSO_4 — 0,001; CaCO_3 — 5,0; глицерофосфат кальция — 2,0; глюкоза — 10,0; pH 6,8 — 7,2. Среду инокулировали суспензиями бактерий, приготовленными по стандарту мутности, снимая с картофельного агара выросшую культуру и перенося ее в физиологический раствор.

Полученную культуральную жидкость (КЖ) освобождали от клеток *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 путем центрифугирования на центрифуге ОПн-8 на протяжении 15 мин при 6600 g.

Антагонистическую активность бацилл к фитопатогенным бактериям изучали методом радиальных штрихов [2]. Культуры фитопатогенов представлены музейными штаммами коллекции отдела фитопатогенных бактерий Института микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 8511, *P. fluorescens* 8573, *P. syringae* pv. *atrophaciens* 912, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 8003b, *Erwinia carotovorum* subsp. *carotovora* 8982, *Clavi-*



bacter michiganensis subsp. *michiganensis* 13a, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂, *Agrobacterium tumefaciens* 8628).

Белок определяли методом Bradford [14], фосфат методом Фиске-Суббароу [10]. Содержание растворимых соединений фенольной природы в культуральной среде (КС) оценивали по методу Фолина и Чокальтеу [15; 17] в модификации Синглетона и Росси [16].

Наличие свободных аминокислот в КС определяли на автоматическом аминокислотном анализаторе BIOTRONIC LC-2000 (Германия). Качественный и количественный анализ органических кислот проводили на газожидкостном анализаторе Хром 5.

Для исследования антиоксидантного влияния бацилл на семена вики (*Vicia sativa* L.) сорта Маргарита их обрабатывали перекисью водорода (50%) на протяжении 25 мин. Затем отмывали стерильным физиологическим раствором (ФР), помещали в КС соответственного штамма бактерий и выдерживали в течении 1 часа. После этого отмывали ФР, раскладывали на смоченную стерильной водопроводной водой фильтровальную бумагу и проращивали в темноте при 20 °C [8].

Прорастание, всхожесть семян и развитие проростков растений определяли согласно ДСТУ 4138-2002 [1].

Статистическую обработку результатов проводили по Лакину [4].

Результаты и их обсуждение

Показано, что *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 способны минерализовать глицерофосфат кальция [9]. При выращивании в минеральной среде с глюкозой и глицерофосфатом, исследуемые бациллы с различной скоростью потребляли глюкозу и накапливали в среде фосфатионы (табл. 1). При культивировании *B. subtilis* ИМВ В-7023 в течении 24 часов, концентрация глюкозы снижалась с 10 мг/мл до 1,35 мг/мл (в 7,4 раза), в то время как у *B. subtilis* ИБ-22 ее содержание уменьшалось в 17,2 раза.

Ранее нами были отмечены различия и по фосфатазной активности (ФА) у обоих штаммов. Так, после 48 часов культивирования в среде с глицерофосфатом кальция, ФА *B. subtilis* ИБ-22 составляла всего 6,3% от ФА *B. subtilis* ИМВ В-7023. Исследуемые бактерии отличались и по активности энзимов антиоксидантной защиты (каталазной и пероксидазной). Внеклеточная каталазная активность *B. subtilis* ИБ-22 была в 2 раза выше, по сравнению с *B. subtilis* ИМВ В-7023, а внутриклеточная — на 26%. Внеклеточная пероксидазная активность *B. subtilis* ИМВ В-7023 превышала в 6 раз аналогичный показатель у штамма *B. subtilis* ИБ-22, который характеризовался более высокой внутриклеточной пероксидазной активностью. [9].

Установлено, что исследуемые штаммы бацилл способны синтезировать соединения фенольной природы. Общее количество таких соединений в свободной форме для *B. subtilis* ИМВ В-7023 составляло $20,0 \pm 1,9$ мкг/мл,



Таблица 1
Ростовая активность, потребление глюкозы и накопление фосфата *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 при выращивании в среде с глицерофосфатом

Table 1
Growth-regulating activity, consumption of glucose and accumulation of phosphate of *B. subtilis* IMV V-7023 and *B. subtilis* IB-22 at growing in medium with calcium glycerophosphate

Время культивирования, сутки	<i>B. subtilis</i> ИБ-22					<i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023		
	рН	Численность бактерий, кл/мл	Содержание		рН	Численность бактерий, кл/мл	Содержание	
			PO ₄ ³⁻ , мг/л	глюкоза, мкг/мл			PO ₄ ³⁻ , мг/л	глюкоза, мкг/мл
0	7,1	(4,3±0,9)×10 ⁵	79,0±4,2	10000,0±127,0	7,1	(5,5±0,5)×10 ⁵	79,0±4,2	10000,0±135,7
1	5,9	(1,6±0,2)×10 ⁸	30,0±0,0	580,0±28,1	6,1	(2,7±0,1)×10 ⁸	52,0±3,0	1350,0±131,2
2	6,1	(5,6±0,3)×10 ⁹	46,0±4,0	216,0±10,6	6,6	(3,5±0,3)×10 ⁹	176,0±11,1	600,0±20,8
3	6,3	(7,1±0,2)×10 ⁹	84,0±0,0	108,0±9,8	6,7	(3,6±0,3)×10 ⁹	250,0±8,1	105,0±8,9
4	6,4	(1,2±0,9)×10 ¹⁰	122,0±8,1	70,0±6,9	6,7	(2,8±0,4)×10 ⁹	650,0±6,1	85,0±7,7



а для *B. subtilis* ИБ-22 — $22,0 \pm 2,0$ мкг/мл. Согласно литературным данным [17], эти вещества, помимо широкого спектра свойств, обладают высоким антиоксидантным потенциалом. Они эффективно ингибируют образование пероксидного, алкоксильного, гидроксильного радикалов, супероксидного анион-радикала и синглетного кислорода [16, 17].

Кроме выше указанных соединений бациллы продуцируют ряд свободных аминокислот, качественный и количественный состав которых зависит от времени культивирования бактерий (табл. 2). Более разнообразный качественный состав аминокислот в культуральной среде (КС) обоих штаммов отмечен после 48 часов культивирования.

Особый интерес вызывает наличие в КС бацилл метионина, лизина и гистидина. Эти аминокислоты способны нейтрализовать высокореакционные стресс-агенты, которые могут повреждать протеины, липиды, нуклеиновые кислоты [13]. Благодаря такой активности аминокислоты участвуют в сбалансировании редокс-гомеостаза в клетках микроорганизмов и могут принимать участие в снижении окислительного стресса у растений [12].

Таблица 2

Накопление свободных аминокислот (мкг/мл) *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 в зависимости от времени культивирования в среде с глицерофосфатом

Table 2

Accumulation of free amino acids (mq/ml) of *B. subtilis* IMV V-7023 and *B. subtilis* IB-22 depending on time of cultivation in medium with calcium glycerophosphate

Аминокислота	<i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023			<i>B. subtilis</i> ИБ-22		
	24 ч.	48 ч.	72 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.
Аспарагиновая	0,82	0,88	1,01	0,68	0,68	—
Серин	0,34	0,44	0,17	—	—	—
Глютаминовая	2,77	0,47	1,14	1,5	—	—
Треонин	—	0,19	0,14	0,24	—	—
Глицин	—	0,40	0,46	0,18	0,59	—
Аланин	—	1,07	1,16	0,34	0,42	—
Валин	—	3,61	—	—	—	—
Метионин	—	0,25	1,57	—	0,13	—
Изолейцин	—	0,40	0,28	—	0,66	0,70
Гистидин	—	3,20	2,92	—	2,14	2,86
Лизин	—	1,24	4,85	—	0,50	2,23

Примечание: „—” — аминокислота не обнаружена.



Бациллы также продуцируют органические кислоты, которые могут вносить положительный вклад в процесс защиты растений от фитопатогенов [7]. При исследовании накопления органических кислот *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 показано, что содержание этих соединений в КС для каждого штамма отличается в зависимости от времени его культивирования (табл. 3). Так, после 24 ч. выращивания в КС *B. subtilis* ИМВ В-7023, обнаружены уксусная, пропионовая, масляная и молочная кислоты, сумма которых составляла 58,7% от общей суммы площадей пиков. Сумма неидентифицированных органических кислот достигала 41,3%. Клетки *B. subtilis* ИБ-22 продуцируют те же кислоты, но их содержание в сумме равно 12,3%, а неидентифицированных — 87,7%. В КС этого штамма не обнаружена молочная кислота, которую в значительных количествах синтезирует *B. subtilis* ИМВ В-7023 (табл. 3). После 48 ч. культивирования бактерий обоих штаммов синтез органических кислот еще больше отличался. Общее содержание идентифицированных органических кислот у *B. subtilis* ИМВ В-7023 увеличивалось с 58,7% до 74,3%, а неидентифицированных — снижалось до 25,6%. Аналогичный показатель в КС *B. subtilis* ИБ-22 за это время возрастал с 12,3% до 50,0%, а сумма неидентифицированных — уменьшалась с 87,0% до 50,0% (табл. 3).

Таблица 3

Содержание органических кислот в культуральной среде *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22

Table 3

Content of organic acids in cultural medium of *B. subtilis* IMV V-7023 and *B. subtilis* IB-22

Органическая кислота	Содержание органических кислот (% от общей суммы площадей пиков)			
	<i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023		<i>B. subtilis</i> ИБ-22	
	24 ч.	48 ч.	24 ч.	48 ч.
Уксусная	0,78	27,06	0,30	1,70
Пропионовая	10,73	24,77	1,29	2,90
Масляная	9,93	5,32	10,74	45,40
Молочная	37,24	17,19	—	—
Всего	58,68	74,34	12,33	50,00
Неидентифицированных	41,32	25,60	87,67	50,00

Примечание: „—” — молочная кислота не обнаружена.



Установлено, що досліджувані штамми бацилл мають високу антагоністическою активністю к фітопатогенним бактеріям, це може бути обусловлено синтезом БАВ різної природи. Бактерії *B. subtilis* ИМВ В-7023 угнетали рост всіх досліджуваних штаммов фітопатогенів. При цьому антагоністическою активність *B. subtilis* ИБ-22 була декількома нижче, чєм у *B. subtilis* ИМВ В-7023. Однак під впливом штамма *B. subtilis* ИБ-22 радіус зони угнетення роста *Erwinia carotovorum* subsp. *carotovora* 8982 був на 30% більшим, чєм у *B. subtilis* ИМВ В-7023 (табл. 4).

Таблиця 4

Антагоністическою активність *B. subtilis* ИМВ В-7023 і *B. subtilis* ИБ-22 к фітопатогенам сєльськогосподарських рослин

Table 4

Antagonistic activity of *B. subtilis* IMV V-7023 and *B. subtilis* IB-22 to phytopathogenes of agricultural plants

Штамми фітопатогенних бактерій	Радіус зони (мм) угнетення фітопатогенів бациллами	
	<i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023	<i>B. subtilis</i> ИБ-22
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 8511	7,9 ± 0,4	3,2 ± 0,2
<i>P. fluorescens</i> 8573	4,6 ± 0,3	2,0 ± 0,1
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrophaciens</i> 912	4,0 ± 0,3	3,6 ± 0,2
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 8003b	19,6 ± 0,3	19,6 ± 0,3
<i>E. carotovorum</i> subsp. <i>carotovora</i> 8982	7,9 ± 0,6	11,3 ± 0,3
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 13a	16,1 ± 2,6	13,2 ± 0,6
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 10,	14,0 ± 1,3	9,8 ± 0,9
<i>A. tumefaciens</i> 8628	2,3 ± 0,4	—

Примечание: зона угнетения *Agrobacterium tumefaciens* 8628 отсутствует;

Следует отметить, что синтезируемые бациллами БАВ могут принимать участие в инактивации стресс-агентов. Представляло интерес исследовать влияние КС *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 на снижение окислительного стресса у семян вики сорта Маргарита. Так, ранее было показано, что *B. subtilis* ИМВ В-7023 оказывал антиоксидантное действие на семена злаковых культур, которые подвергались оксидативному стрессу [8].



Установлено, что после обработки семян вики сорта Маргарита, которые предварительно подвергались действию перекиси водорода на протяжении 25 мин, культуральной средой *B. subtilis* ИМВ В-7023 наблюдали восстановление их всхожести на 51,9% и увеличение количества нормально сформированных проростков — на 58,6%. Это также снижало процент пораженности проросших семян грибами (табл. 5). Обработка семян этого же сорта вики, после действия на них стресс-фактора (H_2O_2), культуральной средой *B. subtilis* ИБ-22 способствовало восстановлению их всхожести на 44,9%, при этом количество нормально сформированных проростков возрастало на 54,2%. Проросшие семена в меньшей степени поражались грибами (табл. 5). Аналогичные данные были получены и для семян яровой пшеницы сорта Торчинская [9].

Таблица 5

Влияние культуральных сред *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22 на всхожесть семян, количество нормально сформированных проростков и степень их поражения грибами

Table 5

Influence of cultural media of *B. subtilis* IMV V-7023 and *B. subtilis* IB-22 on seed germination, amount of the normally formed plantlets and degree of their affection by fungi

Вариант	Всхожесть семян		Количество проростков пораженных грибами		Количество нормально сформированных проростков	
	количество	% к контролю	количество	% к контролю	количество	% к контролю
Контроль, H_2O_2	28,3 ± 1,1	100,0	24,3 ± 2,3	100,0	22,7 ± 4,9	100,0
H_2O_2 + КС <i>B. subtilis</i> ИМВ В-7023	43,0 ± 0,0	151,9	10,0 ± 1,0	41,2	36,0 ± 3,2	158,6
H_2O_2 + КС <i>B. subtilis</i> ИБ-22	41,0 ± 0,0	144,9	9,0 ± 0,8	37,0	35,0 ± 2,9	154,2

Примечание: контроль — семена, обработанные 50% H_2O_2 на протяжении 25 мин; всхожесть семян не подвергнутых действию H_2O_2 составляла 41,0 шт. из 50.

Проведенные исследования свидетельствуют, что антиоксидантные системы семян не справляются с нарастанием оксидативного стресса, который вызван высокими концентрациями оксиданта при его продолжительном действии. Соответственно в клетках возникает ряд повреждений важных биомолекул, которые ведут к гибели целого организма [12]. Нами показано, что восстановлению редокс-состояния семян способствуют бактерии рода *Bacillus*. Следует отметить, что эти микроорганизмы обладают сложным протекторным комплексом, который состоит из соединений как энзимной, так и неэнзимной природы.



Таким образом, штаммы *B. subtilis* ИМВ В-7023 и *B. subtilis* ИБ-22, благодаря синтезу ряда биологически активных веществ (энзимы, аминокислоты, органические кислоты, соединения фенольной природы и др.), могут оказывать положительное влияние на прорастание, всхожесть семян и развитие проростков. По-видимому, комплекс этих соединений играет значительную роль в защите растений от фитопатогенов и позволяет снижать окислительный стресс у семян, подвергнутых действию активных форм кислорода.

І.О. Скороход¹, А.О. Рой¹, О.І. Мелентьев², І.К. Курдиш¹

¹Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна,
e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

²Інститут біології Уфимського наукового центру РАН, Уфа

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ФОСФАТМІНЕРАЛІЗУЮЧИХ ШТАМІВ РОДУ *BACILLUS* НА НАСІННЯ РОСЛИН, ЯКЕ ЗАЗНАЛО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

Реферат

Мета. Дослідження впливу біологічно активних речовин, що синтезуються фосфатмінералізуючими штамми роду *Bacillus* на насіння рослин, яке зазнало оксидативного стресу. **Методи.** Використано ряд мікробіологічних і біохімічних методів. **Результати.** Встановлено, що штамми *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 і *Bacillus subtilis* ИБ-22 здатні мінералізувати гліцерофосфат кальцію, який в середовищі був єдиним джерелом фосфорного живлення, і продукувати в культуральне середовище (КС) біологічно активні речовини (БАР), які позитивно впливають на проростання, схожість насіння і розвиток проростків. Комплекс БАР, що синтезується цими бацилами в КС включає ензими, амінокислоти, органічні кислоти, сполуки фенольної природи та ін. В кожному класі цих речовин виявлені сполуки, які мають антиоксидантні властивості: серед ензимів — каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза; амінокислот — L-метіонін, L-лізин, L-гістидин; органічних кислот — молочна, пропіонова, масляна. Вище перераховані БАР можуть брати участь у зниженні оксидативного стресу у насіння сільськогосподарських культур. **Висновки.** Біологічно активні речовини *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 і *Bacillus subtilis* ИБ-22 відіграють важливу роль у захисті рослин від фітопатогенних бактерій, зокрема від штамів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Clavibacter*, які завдають значної шкоди урожаю зернових, бобових та овочевих культур.

Ключові слова: *Bacillus subtilis*, біологічно активні речовини, амінокислоти, ензими, оксидативний стрес.



I.O. Skorochod¹, A.O. Roy¹, O.I. Melentiev², I.K. Kurdish¹

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NASU, 154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine, e-mail: Kurdish@serv.imv.kiev.ua

²Institute of Biology, Ufa Scientific Centre of RAS, Ufa

INFLUENCE OF BIOACTIVE SUBSTANCES PHOSPHATE-MINERALIZING STRAINS GENUS *BACILLUS* ON PLANTS SEEDS EFFECTED BY OXIDATIVE STRESS

Summary

The **aim** of work was to investigate the influence of some bioactive substances of phosphate-mineralizing strains genus of *Bacillus* on the seeds of plants effected by oxidative stress. **Methods.** Using a number of microbiological and biochemical methods. **Results.** It was determined that strains of *Bacillus subtilis* IMV V-7023 and *Bacillus subtilis* IB-22 able to mineralize neurosin that in medium was the only source of phosphoric feed, and product here a row biologically active substances (BAS), that positively influence on a germination, likeness of seed and development of plantlets. A complex BAS, that is synthesized by these bacilli in a cultural medium are enzymes, amino acids, organic acids, connections of phenolic nature and other. In every class of these substances found out connections, possessing antioxidant properties: among enzymes is catalase, peroxidase, superoxide dismutase; amino acids – L-methionine, L-lysin, L-histidin; organic acids – lactic, propionic, butyric. Higher enumerated BAS can take part in the decline of oxidative stress at the seed of agricultural cultures. **Conclusions.** It is also set that the bioactive substances of *Bacillus subtilis* IMV V-7023 and *Bacillus subtilis* IB-22 play an important role protecting of plants from phytopathogenic bacteria. In particular from the strains of *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Clavibacter*, that inflict severe losses to the harvest of grain, leguminous and vegetable crops.

Key words: *Bacillus subtilis*, biologically active substances, amino acids, enzymes, oxidative stress.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. ДСТУ 4138-2002. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. Чинний від 2004-01-01. — Київ: Держспоживстандарт України, 2003. — 173 с.
2. Егоров Н. С. Практикум по микробиологии. — Москва: Изд-во МГУ, 1976. — 307 с.
3. Курдиш I.K. Интродукция микроорганизмов у агроэкосистемы. — Київ:Наук. думка. — 2010. — 253 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1968. — 24 с.



5. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Sohn* в агроэкосистемах. — Москва: Наука, 2007. — 149 с.
6. Рой А.А., Рева О.Н., Курдиш И.К., Смирнов В.В. Биологические свойства фосфатмобилизирующего штамма *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 // Прикладная биохимия и микробиология. — 2004. — Т. 40, № 5. — С. 551–557.
7. Рой А.А., Пасичник Л.А., Церковняк Л.С., Ходос С.Ф., Курдиш И.К. Влияние бактерий рода *Bacillus* на возбудителя бактериального рака томатов // Микробиол. журн. — 2012. — Т. 74, № 5. — С. 74–80.
8. Скороход І.О., Церковняк Л.С., Курдиш І.К. Антиоксидантна дія *Bacillus subtilis* і *Azotobacter vinelandii* на насіння злакових культур // Микробиол. журн. — 2011. — Т. 73, № 1. — С. 44–50.
9. Скороход И.А., Рой А.А., Курдиш И.К., Мелентьев А.И. Некоторые биологические свойства штаммов *Bacillus subtilis*, выделенных из чернозема различных географических регионов. Сборник материалов VIII Междун. конфер. 19–22 ноября 2012. Киев: Микробные биотехнологии: актуальность и будущее. daRstim 2012. — С. 299–300.
10. Унифицированные методы анализа вод / Под ред. Ю.Ю. Лурье. — М.: Химия, 1971. — 207 с.
11. Церковняк Л.С. Біологічно активні сполуки *Azotobacter vinelandii* ИМВ В-7076 і *Bacillus subtilis* ИМВ В-7023 та їх вплив на рослини: Автореф. дис. канд. біол. наук. — Київ, 2011. — 23 с.
12. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. УФА: Гилем, 2001. — 160 с.
13. Штаркман И.Н., Гудков С.В., Черников А.В., Брусков В.И. Образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водных растворах L-аминокислот при воздействии рентгеновского излучения и тепла // Биофизика. — 2008. — 53, вып. 1. — С. 5–13.
14. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. — 1976. — 72. — P. 248–254.
15. Folin O., Ciocalteu V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins // J. Biol. Chem. — 1927. — V. 73, № 2. — P. 627–650.
16. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent // Am. J. Enol. Vitic. — 1965. — V. 16. — P. 144–158.
17. Wrolstad R.E., Wiley V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent // Methods in Enzymology. — 1999. — V. 299. — P. 152–178.
18. Патент України № 54923 А. Штам *Bacillus subtilis* для одержання бактеріального препарату для рослинництва / Курдиш І.К., Рой А.О. / Опубл. 17.03 2003. Бюл. № 3.
19. Патент RU 2178970, МКИ А 01 N 63/00. Штамм *Bacillus subtilis* ИБ-22 — продуцент цитокининов / Мелентьев А.И., Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Архипова Т.Н., Гильванова Е.А., Усанов Н.Г., Кузьмина Л.Ю., Симонян М.В., Бюл. №4, опубл. 10.02.2002.

Стаття надійшла до редакції 17.04.2013 р.

