

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал
Виходить 3 рази на рік
Засновано у липні 2006 року

№ 1(60)
2024

Одеса
ОНУ
2024

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво про державну реєстрацію: серія КВ № 19409 від 17.08.2012 р.

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР
В. О. Іваниця (Одеса, Україна)
ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА
Т. О. Філіпова (Одеса, Україна)
ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР
Т. В. Бурлака (Одеса, Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
А. Анадон (Мадрид, Іспанія), Л. Д. Варбанець (Київ, Україна), А. І. Вінніков (Дніпро, Україна),
Б. М. Галкін (Одеса, Україна), Г. О. Іутинська (Київ, Україна), Л. В. Капрельянц (Одеса, Україна),
І. К. Курдиш (Київ, Україна), І. П. Метеліцина (Одеса, Україна), Ф. Моцці (Тукуман, Аргентина),
І. І. Панчук (Чернівці, Україна), М. В. Патика (Київ, Україна), В. С. Підгорський (Київ, Україна),
Л. М. Сківка (Київ, Україна), Л. Ф. Суходуб (Суми, Україна), Ф. І. Товкач (Київ, Україна),
Н. Чанішвілі (Тбілісі, Грузія).

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

Прийняті до друку статті обов'язково рецензуються
Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова

Відповідно до наказу МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»).

Видання реферується та індексується в наукометричних базах даних: «Україніка наукова», Index Copernicus Journals Master list, Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського), Ulrich's periodicals, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету імені І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.uran.ua), Google Академія, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Index. Research Bib, Наукова електронна бібліотека e-LIBRARY, IBI Factor

Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко

Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. Тел.: +38 (048) 731-71-51,
e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2024

Establisher
by Odesa National Mechnikov University.
Registration of state certification: KB № 19409. Date of issue 17.08.2012.

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

CO-EDITOR-IN-CHIEF

T. O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

A. Anadon (Madrid, Espana), N. Chanishvili (Tbilisi, Georgia), B. M. Galkin (Odesa, Ukraine),
G. O. Iutynska (Kyiv, Ukraine), L. V. Kapreliants (Odesa, Ukraine), I. K. Kurdish (Kyiv, Ukraine),
I. P. Metelitsyna (Odesa, Ukraine), F. Mozzi (Tucuman, Argentina), I. I. Panchuk (Chernivtsi, Ukraine),
M. V. Patyka (Kyiv, Ukraine), V. S. Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), L. M. Skivka (Kyiv, Ukraine),
L. F. Sukhodub (Sumy, Ukraine) F. I. Tovkach (Kyiv, Ukraine), L. D. Varbanets (Kyiv, Ukraine),
A. I. Vinnikov (Dnipropetrovsk, Ukraine),

Scientific editor V. O. Ivanytsia

Accepted for publishing articles are reviewed

Approved for publishing by Academic Council
of Odesa National Mechnikov University

**According to the order of the Ministry of Education and Science of Ukraine № 1301 from
15.10.2019 it is included in the List of scientific professional editions of Ukraine
(category "B").**

**The edition is referenced and indexed in the scientific metric databases: «Ukrainika
scientific», Index Copernicus Journals Master List, Scientific Periodicals in National
Library of Ukraine Vernadsky, Ulrich's periodicals, Scientific Periodicals of Ukraine
(journal.uran.ua), Institutional Repository at Odesa I. I. Mechnykov National University,
Google Scholar, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Research Bib, e-LIBRARY,
IBI Factor**

Editors: T. V. Ivanytsia, I. V. Raiko

A d d r e s s:

Odesa National Mechnikov University,
Dvoryanska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine Tel.: +38 (048) 731-71-51,
e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa National Mechnikov
University, 2024

ЗМІСТ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

С.Я. Комплікєвич, О.Д. Масловська, А.А. Галушка, С.О. Гнатуш ЗМІНИ ПІГМЕНТНОГО СКЛАДУ <i>RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII</i> ІМВ В-7620 ЗА ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ	6
І.В. Страшнова, Ф.П. Ткаченко, Є.І. Чигріна АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ОЛІЙ З НАСІННЯ ГАРБУЗА ЗВИЧАЙНОГО, КІСТОЧОК ВИНОГРАДУ І ПЛОДІВ ОБЛІПХИ	22
Н.І. Тєслук, К.О. Шульга, К.Ю. Нєчитайло ВИЗНАЧЕННЯ ВИРАЖЕНОСТІ ВПЛИВУ БАКТЕРІЙ РОДУ <i>BACILLUS</i> НА КУЛЬТУРУ НАСІННЯ РИСУ ТА КУКУРУДЗИ В УМОВАХ <i>IN VITRO</i>	36
Н.Ю. Васильєва, М.О. Кішинська, М.Д. Штеніков АНАЛІЗ КЛАСТЕРІВ БІОСИНТЕТИЧНИХ ГЕНІВ <i>BACILLUS VELEZENSIS</i> ONU 553 <i>IN SILICO</i>	45
ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	64
АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК СТАТЕЙ, ОПУБЛІКОВАНИХ У ЖУРНАЛІ «МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ» У 2023 РОЦІ	70

CONTENTS

EXPERIMENTAL WORKS

S.Y. Komplikevych, O.D. Maslovska, A.A. Halushka, S.O. Hnatush CHANGES IN THE PIGMENT COMPOSITION OF <i>RHODOPSEUDOMONAS</i> <i>YAVOROVII</i> IMV B-7620 UNDER THE INFLUENCE OF HEAVY METAL SALTS	6
I.V. Strashnova, F.P. Tkachenko, Je.I. Chigrina ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OILS FROM PUMKIN SEEDS, GRAPE SEEDS AND SEA-BUCKTHORN FRUITS	22
N.I. Tesliuk, K.O. Shulga, K.Y. Nechitailo STUDY OF THE EFFECT OF BACTERIA OF THE GENUS <i>BACILLUS</i> ON THE CULTURE OF RICE AND CORN SEEDS IN VITRO	36
N.Yu. Vasylieva, M.O. Kishynska, M.D. Shtenikov ANALYSIS OF BIOSYNTHETIC GENE CLUSTERS OF <i>BACILLUS VELEZENSIS</i> ONU 553 IN SILICO	45
INSTRUCTIONS FOR THE AUTHORS	64
ALPHABET INDEX OF PAPER PUBLISHED IN JOURNAL “MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY” IN 2023 YEAR	70

S.Y. Komplikevych, O.D. Maslovska, A.A. Halushka,
S.O. Hnatush

Ivan Franko National University of Lviv,
1, Universytetska Str., Lviv, 79005, Ukraine,
e-mail: shnatush1965@gmail.com

**CHANGES IN THE PIGMENT COMPOSITION
OF *RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII* IMV B-7620
UNDER THE INFLUENCE OF HEAVY METAL SALTS**

*The aim of the study was to clarify the changes in the pigment composition of Rhodopseudomonas yavorovii IMB B-7620 under the influence of ferric(III) citrate, cobalt(II) chloride, copper(II) chloride and potassium bichromate. **Materials and methods.** R. yavorovii IMV B-7620 bacteria were grown at + 27 ... + 30 °C for 14 days in ATCC No 1449 medium supplemented with 1.0–12.0 mM ferric(III) citrate, 1–15 mM cobalt(II) chloride, 0.050–0.500 mM copper(II) chloride, or 0.010–0.045 mM potassium dichromate. The bacterial cells were sedimented, resuspended in acetone, and disintegrated by sonication. The resulting suspension was kept for 24 hours at -20 °C, after which it was centrifuged, and 0.5 ml of supernatant were filtered through membrane filters (pore diameter 0.45 μm). Chromatographic separation of pigments was performed using a high-performance liquid chromatography system. **Results.** On the 14th day of cultivation under the influence of heavy metal compounds, the qualitative and quantitative changes in the pigment composition in R. yavorovii IMV B-7620 cells occurred. Under the influence of ferric(III) citrate, cobalt(II) chloride, and potassium dichromate, a decrease in the pigment content in R. yavorovii IMV B-7620 cells was detected. The content of lycopene decreased by 22.1–83.9%, bacteriochlorophyll a – by 33.8–86.0%, compared to the control. Under the influence of copper(II) chloride, not only the pigment content but also the quantity of its isomers increased. Under the influence of the studied metal compounds, a small amount of anhydrorhodovibrin was detected in the cells, whereas it was not detected in the control. **Conclusions.** Under the influence of heavy metal compounds, changes in the qualitative and quantitative composition of pigments occur in the cells of bacteria R. yavorovii IMV B-7620. Ferric(III) citrate, cobalt(II) chloride and potassium bichromate caused a decrease in the pigment content in R. yavorovii IMV B-7620 cells. Under the influence of copper(II) chloride, not only the content of pigments increased, but also the quantity of their homologues and isomers, in particular lycopene, which can perform a protective function. Under the influence of all the studied metal salts, a small content of anhydrorhodovibrin was detected in the cells, which was not detected in the control. It can also contribute to the protection of cells from stressors.*

Key words: carotenoids, bacteriochlorophyll a, iron, cobalt, copper, chromium



The biosynthesis of photosynthetic pigments by microorganisms is a process sensitive to many factors, including the influence of heavy metals [8], that inhibit the biosynthesis and accumulation of pigments due to enzymatic degradation [3]. The Hg, Cd, Cu, Pb, Ni, and Zn ions can replace Mg in the porphyrin ring of chlorophyll or bacteriochlorophyll molecules, resulting in its inactivation in the process of photosynthesis [11]. High content of Ni(II) or Zn(II) inhibits the synthesis of photosynthetic pigments and disrupts the photosynthetic apparatus [11]. Photosynthetic bacteria of the phyla *Chlorobiota*, *Acidobacteriota*, *Bacillota*, *Cyanobacteriota*, *Pseudomonadota*, *Chloroflexota*, and *Gemmatimonadota* [9, 15] may serve as model systems for studying the physiology, biochemistry and molecular biology of photosynthesis [15]. Among them, purple phototrophic bacteria, which have a flexible metabolism, are the most interesting in terms of their practical use in various biotechnologies [14]. In particular, the purple nonsulfur bacteria *Rhodopseudomonas yavorovii* IMV B-7620, isolated from the technologically created Yavorivske Lake (Lviv region, Ukraine), are characterized by significant biotechnological potential. *R. yavorovii* IMV B-7620 can be heterotrophic or autotrophic, depending on the light conditions, oxygen level, carbon sources, and electron donors. These bacteria can use a variety of organic compounds (alcohols, carbohydrates, fatty acids, amino acids, and toxic aromatic organic compounds) [25]. An important physiological and biochemical feature of bacteria of the genus *Rhodopseudomonas* is the capability for CO₂ fixation in the Calvin cycle and nitrogen fixation [14]. *R. yavorovii* IMV B-7620 are efficient exoelectrogens and H₂ producers during growth on the wastewater of different origins [25]. The pigment formation in photosynthetic microorganisms under the influence of heavy metals, which can be present both in the environment and in wastewater, has been studied insufficiently. Therefore, the aim of the study was to clarify the changes in the pigment composition of *R. yavorovii* IMB B-7620 under the influence of ferric(III) citrate, cobalt(II) chloride, copper(II) chloride and potassium bichromate.

Materials and methods

Bacteria *R. yavorovii* IMV B-7620 were grown at a temperature of + 27 ... + 30 °C and an illuminance of 200 lux in 250 ml flasks with 200 ml of modified medium ATCC No 1449 [25]. Na₃-citrate at a concentration of 12 mM, which was optimal for the growth of these bacteria, was added to the medium as a carbon source. To study the effect of metals on *R. yavorovii* IMV B-7620 cells, the corresponding salts were added to the ATCC No 1449 medium: FeC₆H₅O₇ – at concentrations 1.0; 3.0; 6.0; 9.0; 12.0 mM (the total citrate concentration was 12 mM); CoCl₂×6H₂O – at concentrations 1.0; 5.0; 10.0; 15.0 mM; CuCl₂×2H₂O – at concentrations 0.050; 0.100; 0.125; 0.250; 0.500 mM; K₂Cr₂O₇ – at concentrations 0.010; 0.0175; 0.025; 0.0375; 0.045 mM. Instead of metal salts, sterile distilled water was added to the control.

To obtain pigment samples, *R. yavorovii* IMV B-7620 was cultured in modified ATCC No 1449 medium for 14 days, then separated from the culture medium by centrifugation (2600 g, 20 min). The supernatant was removed, and the cells were resuspended in acetone and disrupted at 0 °C by sonication (using an ultrasonic disintegrator UZDN-2T, at 22 kHz, 5 min). The resulting suspension



was transferred to 2 ml Eppendorf microtubes and incubated for 24 h at -20 °C. The cell extracts were then centrifuged (1800 g, 10 min). Pigment extracts were obtained after filtering known volumes of supernatant through membrane filters (pore diameter 0.45 μm). All manipulations were performed at room temperature and without direct sunlight to avoid photooxidation of the pigments. Pigments were separated using high-performance liquid chromatography as described [2]. The pigments were determined by their absorption spectra recorded using a spectrophotometric detector with a photodiode array according to the literature [4, 6, 7, 20]. The conditional unit of pigment content was the peak area per gram of biomass. Biomass was determined turbidimetrically ($\lambda = 660$ nm) and calculated using the coefficient obtained by the weight method.

Statistical processing of the research results and visualization were performed using “Microsoft Excel 2016” and “OriginPro 8.5”. The results are presented as mean values corrected for standard deviation ($x \pm SD$). The reliability of the data and the differences between them were estimated by the Student’s coefficient. The difference was considered significant at a significance level of $p \leq 0.05$ [1].

Results

The pigment content of *R. yavorovii* IMV B-7620 cells was studied on the 14th day of culture growth. The peaks obtained on the chromatogram were characterized by their retention time, spectra, and absorption maxima (Table 1).

During cultivation of *R. yavorovii* IMV B-7620 in ATCC No 1449 medium without metals, 7 isomeric forms of lycopene were detected, among which the peak of lycopene 5 had an area 15.9%, lycopene 6 – 11.7%, lycopene 7 – 11.1% (Table 2). The peaks of other isomeric forms of lycopene had an area of 0.3–2.0% of all peaks detected at $\lambda = 474$ nm. In *R. palustris* 42OL, lycopene is the main carotenoid (46.6 to 54.0% of the total carotenoid content), detected in cells grown under both aerobic and anaerobic conditions. Besides it, rhodopin, rhodovibrin, spiriloxanthin, and anhydrorhodovibrin are also found in cells of this strain [19]. In the work [2], anhydrorhodovibrin was detected in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells on the 7th day of cultivation. However, we have not observed this peak on the 14th day of cultivation in a metal-free medium.

Among the homologues of bacteriochlorophyll *a*, the highest content of bacteriochlorophyll *a* of the third (28.2 % of all peaks at $\lambda = 770$ nm) and fifth (33.6% of all peaks at $\lambda = 770$ nm) homologous forms was found in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells (Table 4). Bacteriochlorophyll *a* in most purple bacteria is the only pigment of the photosynthetic reaction center, although it is known that bacteriochlorophyll *b* is found in *Rhodospseudomonas viridis*, *Rhodospseudomonas sulfoviridis* [23].

When metal salts were added to the culture medium, changes in the qualitative and quantitative composition of pigments of *R. yavorovii* IMV B-7620 were detected.

Under the influence of all studied concentrations of cobalt(II) chloride, the quantity of lycopene isomers decreased from seven to five (Table 2). Under the influence of 1.0 and 5.0 mM cobalt(II) chloride, peaks of anhydrorhodovibrin were detected (Table 3). No changes in the quantity of bacteriochlorophyll *a* homologues were detected under the influence of this salt (Table 4).



Table 1

**Characterization of pigments from *Rhodopseudomonas yavorovii*
IMV B-7620 cells under the influence of metal salts**

Pigment*	Isomeric/homologous form	Retention time, min	UV λ_{max} , nm
Lycopene	1	20.9–23.6	448/472/501
	2	28.1–30.7	447/472/503
	3	30.8–31.7	449/472/500
	4	31.7–33.0	447/472/502
	5	41.0–42.6	448/472/503
	6	41.6–42.8	447/472/503
	7	50.7–52.5	447/472/502
	8	19.7–22.4	448/472/501
	9	25.6–27.3	448/472/501
	10	12.5–12.8	447/472/503
	11	32.7–33.6	448/472/502
	12	30.9–31.6	447/472/502
	13	20.4–21.2	447/472/503
	14	25.9–26.4	447/472/502
	15	29.3–29.4	447/472/503
	16	16.8–17.2	448/472/502
Anhydrorhodovibrin	1	35.0–37.0	461/485/516
	2	40.8–42.2	461/486/516
	3	35.0–36.2	461/485/516
	4	24.4–26.0	461/485/516
	5	47.1–47.6	461/484/516
	6	46.6–46.7	461/485/516
Bacteriochlorophyll <i>a</i>	1	28.2–31.3	361/605/770
	2	34.3–35.3	361/604/770
	3	37.1–39.1	361/605/770
	4	35.0–36.7	362/600/770
	5	36.4–38.8	362/605/770
	6	31.0–33.9	361/605/770
	7	28.4–29.4	361/605/770

Note. * – Pigments were identified according to the literature data [4, 6, 7, 20]



Table 2
Lycopene isomers detected in *Rhodospseudomonas yavorovii* IMV B-7620 cells under the influence of metal salts

Metal salt	Concentration, mM	Lycopene isomers															
		Peak area, % of all detected															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
-	0	0.3	2.0	1.2	1.7	15.9	11.7	11.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.0	-	3.5	-	0.8	21.2	20.8	13.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5.0	-	2.4	-	0.4	17.1	11.6	7.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10.0	-	1.2	-	0.6	13.2	8.9	6.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15.0	-	0.4	-	0.2	6.4	5.8	4.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CoCl_2	1.0	0.3	-	2.1	2.1	5.7	4.3	26.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3.0	0.8	-	2.5	2.0	4.6	3.6	7.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.0	-	-	1.2	1.3	3.4	3.1	6.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9.0	-	2.1	1.0	1.0	6.8	6.1	7.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12.0	-	0.5	-	0.7	7.7	4.6	16.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$	0.050	0.5	3.4	3.5	1.6	-	28.6	11.8	0.5	0.1	-	-	-	-	-	-	-
	0.100	0.4	2.9	0.5	2.9	-	32.5	12.7	-	0.3	0.09	2.0	-	-	-	-	-
	0.125	0.3	2.0	1.9	1.3	13.6	14.2	10.7	0.3	-	-	1.0	-	-	-	-	-
	0.250	0.08	3.1	1.8	2.4	-	31.1	12.3	0.06	0.1	-	2.2	0.7	0.09	0.2	3.0	-
	0.500	1.4	-	-	-	4.3	-	1.9	1.7	1.6	0.8	-	1.9	0.8	0.5	-	0.3
$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	0.010	-	-	-	1.4	9.7	7.5	11.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.0175	-	0.004	-	-	4.9	3.3	30.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.0250	-	2.6	-	1.0	9.8	7.6	5.9	-	-	-	-	0.6	0.3	-	-	-
	0.0375	0.5	2.8	-	1.7	15.2	9.3	6.9	0.3	0.7	-	-	0.9	-	-	-	-
	0.0450	0.4	1.5	-	0.9	9.3	6.9	8.7	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-

Table 3

Anhydrorhodovibrin isomers detected in *Rhodopseudomonas yavorovii* IMV B-7620 cells under the influence of metal salts

Metal salt	Concentration, mM	Anhydrorhodovibrin isomers					
		1	2	3	4	5	6
-	0	-	-	-	-	-	-
CoCl ₂	1.0	1.9	-	-	-	-	-
	5.0	0.9	-	-	-	-	-
	10.0	-	-	-	-	-	-
	15.0	-	-	-	-	-	-
FeC ₆ H ₅ O ₇	1.0	1.6	2.5	3.4	-	-	-
	3.0	1.4	-	2.9	-	-	-
	6.0	-	-	-	-	-	-
	9.0	0.7	-	1.4	-	-	-
CuCl ₂	12.0	-	-	-	-	-	-
	0.050	-	-	-	0.06	-	-
	0.100	-	4.8	-	0.2	-	-
	0.125	-	2.7	-	0.07	-	-
K ₂ Cr ₂ O ₇	0.250	3.2	4.2	-	0.09	-	-
	0.500	-	-	-	0.7	0.2	-
	0.010	1.8	-	3.7	-	1.4	-
	0.0175	2.1	-	3.9	-	2.7	2.7
K ₂ Cr ₂ O ₇	0.0250	0.9	-	2.3	-	-	-
	0.0375	0.9	-	2.1	-	-	-
K ₂ Cr ₂ O ₇	0.0450	1.1	-	2.9	-	-	-

Table 4
Homologues of bacteriochlorophyll *a* detected in *Rhodospseudomonas yavorovii* IMV B-7620 cells under the influence of metal salts

Metal salt	Concentration, mM	Homologues of bacteriochlorophyll <i>a</i>						
		Peak area, % of all detected						
		1	2	3	4	5	6	7
-	0	2.7	4.4	27.8	4.0	32.5	-	-
CoCl ₂	1.0	3.5	1.9	34.6	-	39.8	0.5	-
	5.0	1.9	2.4	20.5	-	26.6	0.3	-
	10.0	1.3	4.6	11.6	3.2	14.9	-	-
	15.0	1.1	3.8	9.2	1.7	12.0	-	-
FeC ₆ H ₅ O ₇	1.0	4.2	3.5	27.0	-	36.7	0.3	3.0
	3.0	3.5	2.1	22.9	-	30.8	-	2.9
	6.0	1.7	2.2	15.2	-	20.9	0.1	1.3
	9.0	1.9	2.5	15.4	-	22.0	0.1	1.5
CuCl ₂	12.0	2.7	-	19.3	-	26.7	-	1.6
	0.050	5.2	-	33.0	-	30.2	0.6	-
	0.100	0.7	-	29.0	16.7	-	2.3	-
	0.125	-	7.2	11.3	-	11.5	-	1.2
K ₂ Cr ₂ O ₇	0.250	5.8	-	23.9	15.2	-	-	-
	0.500	3.9	-	4.4	26.3	17.1	-	4.1
	0.010	3.5	-	24.1	-	31.6	-	-
	0.0175	3.5	3.8	21.2	-	27.7	-	1.8
K ₂ Cr ₂ O ₇	0.0250	3.1	-	20.7	-	26.6	-	1.4
	0.0375	2.9	-	28.8	-	37.2	-	-
	0.0450	3.2	4.4	22.5	-	28.7	-	-



Under the influence of ferric(III) citrate, the quantity of lycopene isomers in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells decreased from seven to six or five (Table 2). Under the influence of 1.0 mM of this salt, three isomers of anhydrorhodovibrin were detected, the peaks of which had an area of 7.5% of all peaks detected at $\lambda=474$ nm (Table 3). Under the influence of 12.0 mM ferric(III) citrate, the quantity of lycopene isomers decreased from seven to five, and bacteriochlorophyll *a* homologues from five to four (Table 2, 4).

Under the influence of 0.010–0.0175 mM potassium dichromate, the quantity of lycopene isomers decreased from seven to four, but anhydrorhodovibrin isomers were detected (Table 2, 3). At higher concentrations of this salt, the quantity of lycopene isomers increased to five or six. The number of bacteriochlorophyll *a* homologues under the influence of potassium dichromate was lower than in the control (Table 4).

Under the influence of copper(II) chloride, significant differences in the quantity of lycopene isomers were found (Table 2). While in the control there were seven lycopene isomers, under the influence of 0.050 mM copper(II) chloride there were eight of them, and under the influence of 0.500 mM – twelve isomers. The quantity of bacteriochlorophyll *a* homologues increased to six only under the influence of 0.500 mM copper(II) chloride, and under other concentrations it didn't differ or was fewer than in the control (Table 4).

The amount of the homologous forms or isomers of pigments is not a taxonomic feature but rather indicates the physiological state of the culture [4]. We assume that the change in the number of homologous forms or isomers of *R. yavorovii* IMV B-7620 pigments under the influence of metal salts is an adaptation of the culture to its effects.

In addition to the number of isomers and homologues, the content of pigments in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells changed under the influence of heavy metal salts compared to the control. The pigment content in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells differed depending on the metal in the medium and its concentration (Fig. 1).

Under the influence of 1.0 mM cobalt(II) chloride, the lycopene content increased by 1.38 times compared to the control. The content of bacteriochlorophyll *a* did not change compared to the control. As the concentration of cobalt(II) chloride increased from 5.0 to 15.0 mM, the content of all pigments decreased significantly. Under the influence of 5.0–15.0 mM cobalt(II) chloride, the content of lycopene decreased by 35.3–82.1%, bacteriochlorophyll *a* – by 56.2–86.0%, compared to the control (Fig. 1A).

Similar changes were found under the influence of ferric(III) citrate. When 1.0 mM of this salt was added to the culture medium, the content of lycopene and bacteriochlorophyll *a* in the cells didn't differ from the control. A small amount of anhydrorhodovibrin was detected. However, as the salt concentration increased from 3.0 to 12.0 mM, the content of all pigments decreased significantly. Under the influence of 3.0–12.0 mM ferric(III) citrate, the content of lycopene decreased by 59.4–83.9%, bacteriochlorophyll *a* – by 37.7–72.2%, compared to the control (Fig. 1B).

A decrease in the pigment content in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells was also detected under the influence of all concentrations of potassium dichromate,



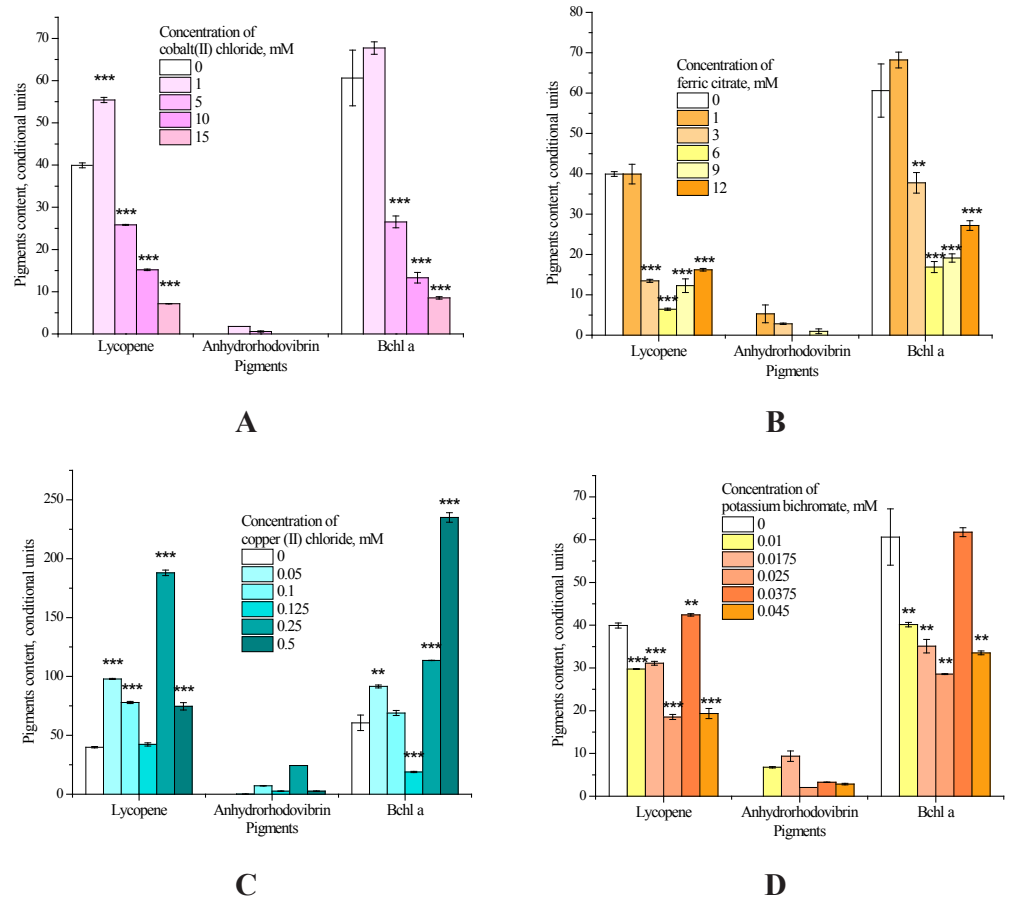


Fig. 1. Pigment content in *Rhodospseudomonas yavorovii* IMV B-7620 cells under the influence of cobalt(II) chloride (A), ferric(III) citrate (B), copper(II) chloride (C), potassium dichromate (D)

($\bar{x} \pm SD$, $n = 3$, ** – $p \leq 0.01$, *** – $p \leq 0.001$ – a significance level of changes compared to control)

except 0.0375 mM. Under the influence of potassium dichromate, the content of lycopene decreased by 22.1–53.6%, and bacteriochlorophyll *a* – by 33.8–52.8%, compared to the control. Under the influence of 0.0375 mM potassium dichromate, the content of lycopene and bacteriochlorophyll *a* was 2–6 % higher than that of the control (Fig. 1D).

Under the influence of copper(II) chloride, the pigment content in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells increased compared to the control. Mostly, the increase in lycopene content is related to the increase of lycopene 6 percentage. A decrease in the content of lycopene and bacteriochlorophyll *a*, compared to the control, was found under the influence of 0.125 mM copper(II) chloride (Fig. 1C).

In the photosynthetic apparatus of anoxygenic purple bacteria, bacteriochlorophylls *a* or *b* and carotenoids (C_{40}) are responsible for light absorption, energy transfer from light-harvesting complexes to reaction centers, electron transfer to the



reaction center (bacteriochlorophylls), and photoprotection (carotenoids) [15, 24]. Lycopene is involved in a variety of chemical reactions that prevent the degradation of important cellular biomolecules, including lipids, proteins, and DNA, which ensures the antioxidant role of this carotenoid [13, 18]. Due to the presence of unsaturated double bonds, lycopene undergoes oxidative degradation or isomerization in response to environmental changes. Under the influence of environmental factors, including different light intensity, oxygen level, temperature, pH, and presence of Cu^{2+} or Fe^{3+} ions, seven of the eleven double bonds of lycopene can undergo mono- or poly-*cis*-isomerization, which affects its bioavailability [13, 22]. It is known that copper stimulates the synthesis of carotenoids in *Myxococcus xanthus* [17].

Zechmeister noted the possible presence of 72 geometric isomers of lycopene [5]. In bacteria, 3-*cis*-lycopene, 5-*cis*-lycopene, 7-*cis*-lycopene, and 9-*cis*-lycopene were detected [10]. As a result of lycopene *cis*-isomerization, the pigment retention time on the chromatogram is reduced, and a hypsochromic shift of absorption maxima in the pigment spectrum occurs [12]. Our results suggest the presence of a large quantity of lycopene *cis*-isomers in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells under the influence of copper(II) chloride.

The physicochemical properties and bioavailability of *all-trans*- and *cis*-isomers of lycopene differ. *Cis*-isomers of lycopene are more bioavailable than the native *all-trans*-form. Lycopene and other carotenoids *in vitro* prevent peroxidation processes caused by singlet oxygen and peroxy radicals. Particularly, the isomerization of *all-trans*-lycopene to its *cis*-isomers improves the scavenging of peroxy radicals [18].

The detected peaks of bacteriochlorophyll in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells, identified as bacteriochlorophyll *a*, differed in the retention time. We assume that this is bacteriochlorophyll *a*, esterified by various phytol derivatives. In *Rhodobacter sphaeroides*, minor peaks of bacteriochlorophyll *a*, that had the same absorption spectra but differed in the retention time, were identified as bacteriochlorophyll *a* esterified with geranylgeraniol, dihydrogeranylgeraniol or tetrahydrogeranylgeraniol [23]. Bacteriochlorophylls *a* and bacteriopheophytins *a* esterified with geranylgeraniol, dihydrogeranylgeraniol, tetrahydrogeranylgeraniol, and phytol were found in six phylogenetically distinct classes of purple bacteria, including bacteria of the genus *Rhodospseudomonas* [16]. Because geranylgeraniol is more unsaturated than the other three alcohols mentioned, it is more susceptible to free radical damage.

Thus, under the influence of heavy metal compounds, changes in the qualitative and quantitative composition of pigments occur in the cells of bacteria *R. yavorovii* IMV B-7620. Ferric(III) citrate, cobalt(II) chloride and potassium bichromate caused a decrease in the pigment content in *R. yavorovii* IMV B-7620 cells. Under the influence of copper(II) chloride, not only the content of pigments increased, but also the quantity of their homologues and isomers, in particular lycopene, which can perform a protective function. Under the influence of all the studied metal salts, a small content of anhydrorhodovibrin was detected in the cells, which was not detected in the control. It can also contribute to the protection of cells from stressors.



**С.Я. Комплікевич, О.Д. Масловська, А.А. Галушка,
С.О. Гнатуш**

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Університетська, 1, Львів, 79005, Україна,
e-mail: shnatush1965@gmail.com

**ЗМІНИ ПІГМЕНТНОГО СКЛАДУ
RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII IMB B-7620
ЗА ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Реферат

Метою роботи було з'ясувати зміни пігментного складу *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 за впливу ферум(III) цитрату, кобальт(II) хлориду, купрум(II) хлориду та калій бихромату. **Матеріали і методи.** Бактерії *R. yavorovii* IMB B-7620 вирощували за температури + 27 ... + 30 °C упродовж 14 діб у середовищі АТСС № 1449, у яке вносили 1,0–12,0 мМ ферум(III) цитрату, 1,0–15,0 мМ кобальт(II) хлориду, 0,050–0,500 мМ купрум(II) хлориду чи 0,010–0,045 мМ калій бихромату. Клітини бактерій відокремлювали від середовища центрифугуванням, ресуспендували в ацетоні та руйнували на ультразвуковому дезінтеграторі. Отриману суспензію витримували упродовж 24 год за температури -20 °C, після чого центрифугували і 0,5 мл супернатанту фільтрували крізь мембранні фільтри (діаметр пор 0,45 мкм). Хроматографічне розділення пігментів здійснювали за допомогою системи високоефективної рідинної хроматографії. **Результати.** На 14 добу культивування за впливу сполук важких металів у клітинах бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 відбуваються зміни якісного та кількісного складу пігментів. За впливу ферум(III) цитрату, кобальт(II) хлориду та калій бихромату виявлено зниження вмісту пігментів у клітинах *R. yavorovii* IMB B-7620. Вміст лікопіну знижувався на 22,1–83,9%, бактеріохлорофілу *a* – на 33,8–86,0%, порівняно із контролем. За впливу купрум(II) хлориду зростає не лише вміст пігментів, а й кількість їхніх ізомерів. За впливу сполук досліджених металів у клітинах виявлено невеликий вміст ангідрородовібрину, який не виявляли у контролі. **Висновки.** За впливу сполук важких металів у клітинах бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 відбуваються зміни якісного та кількісного складу пігментів. Ферум(III) цитрат, кобальт(II) хлорид та калій бихромат спричиняли зниження вмісту пігментів у клітинах *R. yavorovii* IMB B-7620. За впливу купрум(II) хлориду зростає не лише вміст пігментів, а й кількість їхніх гомологів та ізомерів, зокрема лікопіну, який може виконувати захисну функцію. За впливу всіх досліджених солей металів у клітинах виявлено невеликий вміст ангідрородовібрину, який не виявляли у контролі. Очевидно, що це може також сприяти захисту клітин від стресових чинників.

Ключові слова: каротиноїди, бактеріохлорофіл *a*, ферум, кобальт, купрум, хром



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Петровська І.Р., Салига Ю.Т., Вудмаска І.В. Статистичні методи в біологічних дослідженнях: навчально-методичний посібник. – Київ: Аграрна наука, 2022. – 172 с.
2. Тарабас О.В., Гнатуш С.О., Галушка А.А., Мороз О.М. Пігменти *Rhodopseudomonas* IMB B-7620 // Мікробіологія і біотехнологія. – 2018. – 1. – С. 57–65. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2018.1\(41\).120468](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2018.1(41).120468)
3. Arunakumara K.K.I.U., Zhang, X. Effects of heavy metals (Pb²⁺ and Cd²⁺) on the ultrastructure, growth and pigment contents of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 // Chinese Journal of Oceanology and Limnology. – 2009. – 27, № 2. – P. 383–388. <https://doi.org/10.1007/s00343-009-9123-1>
4. Borrego C.M., Garcia-Gil L.J. Separation of bacteriochlorophyll homologues from green photosynthetic sulfur bacteria by reversed-phase HPLS // Photosynth. Research. – 1994. – 41. – P. 157–163. <https://doi.org/10.1007/bf02184156>
5. Chasse G.A., Mak M.L., Deretey E., Farkas I., Torday L.L., Papp J.G., ... Rao A.V. An ab initio computational study on selected lycopene isomers // Journal of Molecular Structure: THEOCHEM. – 2001. – 571, № (1-3). – P. 27–37. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(01\)00424-9](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(01)00424-9)
6. Frigaard N.-U., Larsen K.L., Cox R.P. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as a fingerprinting technique for microbial phototrophs // FEMS Microbiol. Ecol. – 1996. – 20. – P. 69–77.
7. Fröhlich C., Schmid B., Breithaupt D.E., Böhm V. Isolation and structural elucidation of different geometrical isomers of lycopene // International Journal for Vitamin and Nutrition Research. – 2007. – 77, № 6. – P. 369–375. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.77.6.369>
8. Giotta L., Agostiano A., Italiano F., Milano F., Trotta M. Heavy metal ion influence on the photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides* // Chemosphere. – 2006. – 62, № 9. – P. 1490–1499. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.014>
9. Gupta R.S., Khadka B. Evidence for the presence of key chlorophyll-biosynthesis-related proteins in the genus *Rubrobacter* (Phylum *Actinobacteria*) and its implications for the evolution and origin of photosynthesis // Photosynthesis Research. – 2016. – 127, № 2. – P. 201–218. <https://doi.org/10.1007/s11120-015-0177-y>
10. Isaacson T., Ohad I., Beyer P., Hirschberg J. Analysis in vitro of the enzyme CRTISO establishes a poly-*cis*-carotenoid biosynthesis pathway in plants // Plant Physiology. – 2004. – 136, №4. – P. 4246–4255. <https://doi.org/10.1104/pp.104.052092>
11. Jaime-Pérez N., Kaftan D., Bina D., Bokhari S.N.H., Shreedhar S., Küpper H. Mechanisms of sublethal copper toxicity damage to the photosynthetic apparatus of *Rhodospirillum rubrum* // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2019. – 1860, № 8. – P. 640–650. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.06.004>



12. Lee M.T., Chen B.H. Separation of lycopene and its *cis* isomers by liquid chromatography // *Chromatographia*. – 2001. – 54. – P. 613–617. <https://doi.org/10.1007/bf02492187>
13. Li L., Liu Z., Jiang H., Mao X. Biotechnological production of lycopene by microorganisms // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2020. – 104. – P. 10307–10324. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10967-4>
14. Li M., Ning P., Sun Y., Luo J., Yang J. Characteristics and application of *Rhodospseudomonas palustris* as a microbial cell factory // *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. – 2022. – 10. – Article number: 897003. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.897003>
15. Miller L.C., Martin D.S., Liu L. N., Canniffe D.P. Composition, Organisation and Function of Purple Photosynthetic Machinery / *Microbial Photosynthesis* / Ed. Q. Wang. – Springer, Singapore. – 2020. – P. 73–114. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3110-1_4
16. Mizoguchi T., Isaji M., Harada J., Tsukatani Y., Tamiaki H. The 17-propionate esterifying variants of bacteriochlorophyll-a and bacteriopheophytin-a in purple photosynthetic bacteria // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2015. – 142. – P. 244–249. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.12.013>
17. Moraleda-Muñoz A., Pérez J., Fontes M., Murillo F.J., Muñoz-Dorado J. Copper induction of carotenoid synthesis in the bacterium *Myxococcus xanthus* // *Molecular Microbiology*. – 2005. – 56, № 5. – P. 1159–1168. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04613.x>
18. Müller L., Goupy P., Fröhlich K., Dangles O., Caris-Veyrat C., Böhm V. Comparative study on antioxidant activity of lycopene (Z)-isomers in different assays // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2011. – 59, № 9. – P. 4504–4511. <https://doi.org/10.1021/jf1045969>
19. Muzziotti D., Adessi A., Faraloni C., Torzillo G.; De Philippis R. Acclimation strategy of *Rhodospseudomonas palustris* to high light irradiance // *Microbiological Research*. – 2017. – 197. – P. 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.007>
20. Nelis H.J., De-Leenheer A.P. Profiling and quantitation of bacterial carotenoids by liquid chromatography and photodiode array detection // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1989. – 55, № 12. – P. 3065–3071.
21. Ortega-Ramos M., Canniffe D.P., Radle M.I., Hunter C.N., Bryant D.A., Golbeck J.H. Engineered biosynthesis of bacteriochlorophyll g_f in *Rhodobacter sphaeroides* // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2018. 1859, № 7. – P. 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.02.006>
22. Papaioannou E.H., Liakopoulou-Kyriakides M., Karabelas A.J. Natural origin lycopene and its “green” downstream processing // *Critical reviews in food science and nutrition*. – 2016. – 56, № 4. – P. 686–709. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.817381>
23. Senge M.O., Smith K.M. Biosynthesis and Structures of the Bacteriochlorophylls / *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Advances in Photosynthesis and Respiration* / Ed. R.E. Blankenship, M.T. Madigan, C.E. Bauer. – Springer, Dordrecht, 1995. – 2. – P. 137–151. https://doi.org/10.1007/0-306-47954-0_8



24. Sutherland G.A., Qian P., Hunter C.N., Swainsbury D.J., Hitchcock A. Engineering purple bacterial carotenoid biosynthesis to study the roles of carotenoids in light-harvesting complexes // *Methods in Enzymology*. – 2022. – 674. – P. 137–184. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.04.001>
25. Tarabas O.V., Hnatysh S.O., Tashyrev O.B., Hovorukha V.M., Havryliuk O.A., Moroz O.M., Halushka A.A. Production of hydrogen by purple non-sulfur bacteria *Rhodopseudomonas yavorovii* IMV B-7620 // *Mikrobiologichnij Zhurnal*. – 2021. – 83, № 5. – P. 19–29. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.05.019>

REFERENCES

1. Petrovska IR, Salyha YuT, Vudmaska IV. Statistical methods in biological research: a textbook. Kyiv: Ahrarna nauka. 2022. 172 p. (in Ukrainian).
2. Tarabas OV, Hnatysh SO, Halushka AA, Moroz OM. Pigments of *Rhodopseudomonas* IMV B-7620. *Microbiology and biotechnology*. 2018; 1:57–65. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2018.1\(41\).120468](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2018.1(41).120468) (in Ukrainian).
3. Arunakumara KKIU, Zhang X. Effects of heavy metals (Pb²⁺ and Cd²⁺) on the ultrastructure, growth and pigment contents of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 2009; 27(2):383–388. <https://doi.org/10.1007/s00343-009-9123-1>
4. Borrego CM., Garcia-Gil LJ. Separation of bacteriochlorophyll homologues from green photosynthetic sulfur bacteria by reversed-phase HPLS. *Photosynth. Research*. 1994; 41:157–163. <https://doi.org/10.1007/bf02184156>
5. Chasse GA, Mak ML, Deretey E, Farkas I, Torday LL, Papp JG, ... Rao AV. An ab initio computational study on selected lycopene isomers. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 2001; 571(1-3):27-37. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(01\)00424-9](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(01)00424-9)
6. Frigaard N-U, Larsen KL, Cox RP. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as a fingerprinting technique for microbial phototrophs. *FEMS Microbiol. Ecol.* 1996; 20:69–77.
7. Fröhlich C, Schmid B, Breithaupt DE, Böhm V. Isolation and structural elucidation of different geometrical isomers of lycopene. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2007; 77(6):369-375. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.77.6.369>
8. Giotta L, Agostiano A, Italiano F, Milano F, Trotta M. Heavy metal ion influence on the photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. *Chemosphere*. 2006; 62(9):1490-1499. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.014>
9. Gupta RS, Khadka B. Evidence for the presence of key chlorophyll-biosynthesis-related proteins in the genus *Rubrobacter* (Phylum *Actinobacteria*) and its implications for the evolution and origin of photosynthesis. *Photosynthesis Research*. 2016; 127(2):201–218. <https://doi.org/10.1007/s11120-015-0177-y>
10. Isaacson T, Ohad I, Beyer P, Hirschberg J. Analysis in vitro of the enzyme CRTISO establishes a poly-*cis*-carotenoid biosynthesis pathway in plants. *Plant Physiology*. 2004; 136(4): 4246-4255. <https://doi.org/10.1104/pp.104.052092>



11. Jaime-Pérez N, Kaftan D, Bina D, Bokhari SNH, Shreedhar S, Küpper H. Mechanisms of sublethal copper toxicity damage to the photosynthetic apparatus of *Rhodospirillum rubrum*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 2019; 1860(8):640-650. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.06.004>
12. Lee MT, Chen BH. Separation of lycopene and its *cis* isomers by liquid chromatography. *Chromatographia*. 2001; 54:613-617. <https://doi.org/10.1007/bf02492187>
13. Li L, Liu Z, Jiang H, Mao X. Biotechnological production of lycopene by microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020; 104:10307–10324. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10967-4>
14. Li M, Ning P, Sun Y, Luo J, Yang J. Characteristics and application of *Rhodopseudomonas palustris* as a microbial cell factory. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2022; 10:897003. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.897003>
15. Miller LC, Martin DS, Liu LN, Canniffe DP. Composition, Organisation and Function of Purple Photosynthetic Machinery. In *Microbial Photosynthesis* Ed Q Wang. Springer, Singapore, 2020:73–114. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3110-1_4
16. Mizoguchi T, Isaji M, Harada J, Tsukatani Y, Tamiaki H. The 17-propionate esterifying variants of bacteriochlorophyll-a and bacteriopheophytin-a in purple photosynthetic bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2015; 142:244-249. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.12.013>
17. Moraleda-Muñoz A, Pérez J, Fontes M, Murillo FJ, Muñoz-Dorado J. Copper induction of carotenoid synthesis in the bacterium *Myxococcus xanthus*. *Molecular Microbiology*. 2005; 56(5):1159–1168. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04613.x>
18. Müller L, Goupy P, Fröhlich K, Dangles O, Caris-Veyrat C, Böhm V. Comparative study on antioxidant activity of lycopene (Z)-isomers in different assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011; 59(9):4504-4511. <https://doi.org/10.1021/jf1045969>
19. Muzziotti D, Adessi A, Faraloni C, Torzillo G, De Philippis R. Acclimation strategy of *Rhodopseudomonas palustris* to high light irradiance. *Microbiological Research*. 2017; 197:49–55. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.007>
20. Nelis HJ, De-Leenheer AP. Profiling and quantitation of bacterial carotenoids by liquid chromatography and photodiode array detection. *Appl. Environ. Microbiol.* 1989; 55(12):3065–3071.
21. Ortega-Ramos M, Canniffe DP, Radle MI, Hunter CN, Bryant DA, Golbeck JH. Engineered biosynthesis of bacteriochlorophyll gF in *Rhodobacter sphaeroides*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 2018; 1859(7):501-509. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.02.006>
22. Papaioannou EH, Liakopoulou-Kyriakides M, Karabelas AJ. Natural origin lycopene and its “green” downstream processing. *Critical reviews in food*



- science and nutrition. 2016; 56(4):686–709. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.817381>
23. Senge MO, Smith KM. Biosynthesis and Structures of the Bacteriochlorophylls In Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. *Advances in Photosynthesis and Respiration* Eds RE Blankenship, MT Madigan, CE Bauer. Springer, Dordrecht, 1995; 2:137–151. https://doi.org/10.1007/0-306-47954-0_8
24. Sutherland GA, Qian P, Hunter CN, Swainsbury DJ, Hitchcock A. Engineering purple bacterial carotenoid biosynthesis to study the roles of carotenoids in light-harvesting complexes. *Methods in Enzymology*. 2022; 674:137–184. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.04.001>
25. Tarabas OV, Hnatysh SO, Tashyrev OB, Hovorukha VM, Havryliuk OA, Moroz OM, Halushka AA. Production of hydrogen by purple non-sulfur bacteria *Rhodospseudomonas yavorovii* IMV B-7620. *Mikrobiologichnij Zhurnal*. 2021; 83(5):19-29. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.05.019>

Стаття надійшла до редакції 22.01.24 р.



І.В. Страшнова, Ф.П. Ткаченко, Є.І. Чигріна

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ОЛІЙ З НАСІННЯ ГАРБУЗА ЗВИЧАЙНОГО, КІСТОЧОК ВИНОГРАДУ І ПЛОДІВ ОБЛІПХИ

Наразі не втрачає своєї актуальності пошук нових альтернативних ефективних джерел для отримання сполук з антимікробною активністю. **Мета.** Дослідити антимікробну активність олій, отриманих методом холодного пресування з насіння гарбуза звичайного, кісточок винограду і плодів обліпихи. **Методи.** Антимікробну дію олій з насіння гарбуза, кісточок винограду і плодів обліпихи щодо штамів індикаторних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* DSM 3480, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Salmonella enterica* NCTC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida* KT 2440 та *Candida albicans* ATCC 18804 визначали на напіврідкому середовищі LB методом лунок. **Результати.** Усі протестовані рослинні олії проявили антимікробну активність щодо окремих штамів грамозитивних і грамнегативних бактерій, але виявилися неефективними проти *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *P. putida* та еукаріотичного мікроорганізму *C. albicans*. Штами грамозитивних бактерій виявилися більш чутливими до дії усіх трьох видів рослинних олій. Найбільш чутливим був штамі *M. luteus* ATCC 4698, розміри зон відсутності росту якого перевищували 16 мм за впливу усіх протестованих олій. Крацю ефективність щодо чутливих тест-штамів індикаторних мікроорганізмів проявила олія з насіння гарбуза. **Висновки.** Рослинні олії, отримані методом холодного пресування з насіння гарбуза, кісточок винограду і плодів обліпихи, проявили варіативну антимікробну активність, яка крацюю була у олій з насіння гарбуза. До її впливу найчутливішими були штами *K. rhizophila* DSM 3480 і *M. luteus* ATCC 4698, розміри зон відсутності росту яких склали $16,5 \pm 0,1$ мм і $16,3 \pm 0,2$ мм, відповідно. Проведення подальших досліджень необхідне для визначення хімічного складу і кількісної оцінки біоактивних сполук цих олій, а також механізму їх дії на клітини мікроорганізмів.

Ключові слова: антимікробна активність, рослинні олії, індикаторні мікроорганізми



Рослинні олії досить різноманітні за своїм складом та біологічними властивостями і широко використовуються передусім у харчовій і фармацевтичній промисловості, а також у медицині. Рослинні олії – це екологічно чиста сировина, яка в достатній кількості є в природі, доступна в усьому світі та має відносно низьку вартість. Їх біомолекулам притаманні різноманітні біологічні властивості, зокрема антиоксидантні, антибактеріальні, протизапальні та протипухлинні, завдяки чому рослинні олії є досить перспективними в певних аспектах біомедицини [19]. Рослинні олії холодного пресування вважаються більш якісними і корисними за харчовою цінністю, ніж ті, які оброблені термічно або розчинниками [7, 17].

Гарбуз звичайний (*Cucurbita pepo* L., *Cucurbitaceae*) має високу харчову та лікувальну цінність [5]. Його плоди, квіти та насіння споживали як овочі, які багаті на вітаміни та антиоксиданти. Екстракти інгредієнтів гарбуза (шкірка, м'якоть, олія з насіння та борошно із знежиреного насіння) мають різноманітну біологічну активність, включаючи антимікробну, протівірусну, цитотоксичну та протипухлинну [5, 25].

Олія з насіння гарбуза темно-зеленого кольору, містить велику кількість вільних жирних кислот, включаючи чотири панівні жирні кислоти (олеїнову, лінолеву, пальмітинову та стеаринову) з відносним розподілом 43,8%, 33,1%, 13,4% та 7,8%, відповідно, що становить $98 \pm 0,1\%$ від загальної кількості жирних кислот [25]. Завдяки наявності у складі корисних речовин, зокрема, вітамінів А, С та Е, каротиноїдів, флавоноїдів, фітостеролів, фосфоліпідів, хлорофілу, ненасичених жирних кислот, мікроелементів, наприклад, цинку і селену, гарбузова олія використовується в косметології і медицині [22]. Вона також проявляє антимікробні властивості, які можуть знайти практичне застосування в харчовій та фармацевтичній промисловості.

Кісточки винограду (*Vitis vinifera* L., *Vitaceae*) використовують для отримання олії як функціонального харчового продукту. Завдяки органолептичним властивостям, зокрема аромату та приємному смаку, вона використовується в кулінарії [15]. Ця олія містить значну кількість гідрофільних компонентів, таких як фенольні і ліпофільні сполуки, ненасичені жирні кислоти і фітостероли. Серед фенольних сполук у складі олії з кісточок винограду на увагу заслуговують ресвератрол, кверцетин, проціанідини, які проявляють протизапальну, антиоксидантну, протимікробну, протипухлинну, кардіопротекторну активність та гальмують вікові процеси старіння [9].

Обліпиха (*Hippophae rhamnoides* L., *Elaeagnaceae*) викликає інтерес у харчовому та лікувальному аспекті завдяки великій кількості біоактивних сполук [8]. Серед них антиоксидантну активність виявляють аскорбінова кислота, токофероли, каротиноїди, флавоноїди. Останніми роками було проведено багато досліджень з вивчення біологічної активності екстрактів плодів і листя обліпихи, які проявляють протизапальну, імуномодельовальну, радіопротекторну, адаптогенну, протипухлинну дію тощо. Важливо підкреслити, що в насінні, м'якоті, плодах і соку обліпихи міститься понад 190 сполук, у тому числі водо- та жиророзчинні вітаміни, жирні кислоти, органічні кислоти, каротиноїди, вуглеводи, амінокислоти та ін. [20].



Олії з плодів обліпихи притаманні ранозагоювальні властивості, вона не токсична, не має побічних ефектів; її можна використовувати як протипсоріатичний нутрицевтик. Водний екстракт листя обліпихи сприяє загоєнню ран, водні та водно-спиртові екстракти листя та плодів проявляють пригнічувальний ефект проти багатьох мікроорганізмів [27].

Метою цієї роботи було дослідити антимікробну активність олій, отриманих методом холодного пресування з насіння гарбуза звичайного, кісточок винограду та плодів обліпихи.

Матеріали і методи

В експерименті використано тест-штами індикаторних мікроорганізмів, які зберігаються в колекції кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Штами індикаторних мікроорганізмів були представлені грампозитивними (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* DSM 3480) та грамнегативними (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Salmonella enterica* NCTC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida* KT 2440) бактеріями і дріжджоподібним грибом *Candida albicans* ATCC 18804. Антимікробну дію рослинних олій, отриманих методом холодного пресування з насіння гарбуза, кісточок винограду та плодів обліпихи, визначали на середовищі LB (LB broth (MILLER) for Microbiology (Merck), Darmstadt, Germany) із 0,7% вмістом агар-агару методом лунок [1].

Штами індикаторних бактерій попередньо культивували у живильному бульйоні (GranuCult® Nutrient Broth, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) упродовж 24 год при 37 °С. Штам *C. albicans* – у рідкому середовищі Сабуро (NutriSelect® Plus Sabouraud-2% Dextrose Broth, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) упродовж 24 год при 30 °С.

В день експерименту на поверхні напіврідкого середовища LB в чашках Петрі, попередньо засіяного 100 мкл добової культури індикаторного штаму (10^9 клітин/мл), стерильним пробійником робили лунки на однаковій відстані одна від одної і від краю чашки. В лунки вносили по 150 мкл комерційних нестерилізованих рослинних олій, отриманих методом холодного пресування, ТМ «Агросільпром». Використано олії з насіння гарбуза звичайного, кісточок винограду та плодів обліпихи, відповідно. Стерильний 0,9% розчин NaCl використано як негативний контроль, стерильний 10,0% водний розчин антибіотику цефтріаксон – як позитивний контроль.

Експеримент проведено в трьох повторях. Посіви бактерій інкубували 24 год при 37 °С, *C. albicans* – 48 год при 30 °С, після чого вимірювали розміри зон відсутності росту індикаторних штамів навколо лунок. Для аналізу результатів проведено описову статистику, яку здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel-2016.



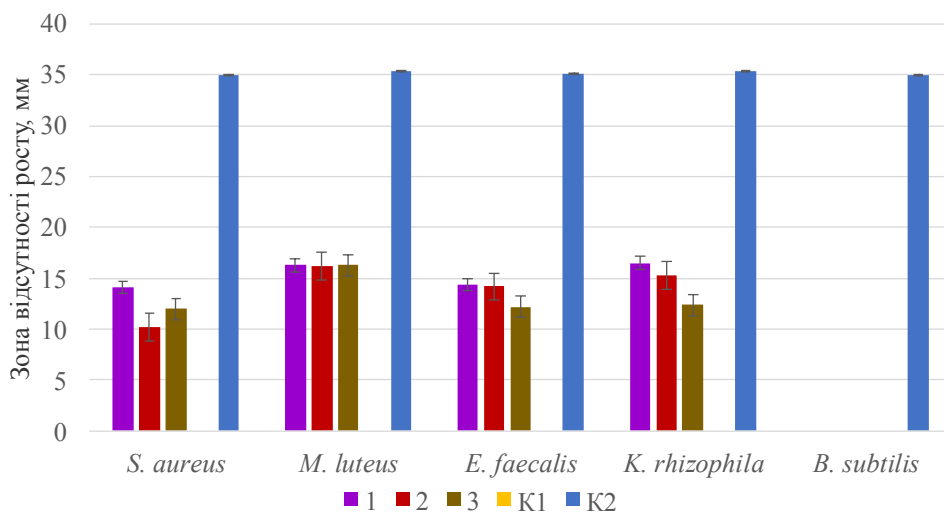
Результати дослідження та їх обговорення

Наразі зростає увага до пошуку натуральних продуктів, які можуть бути більш безпечною та ефективною альтернативою антимікробним агентам і джерелом нових сполук для сприяння благополуччю та здоров'ю людини. Серед численних біологічних ефектів, які проявляють рослинні олії, увагу привертають антимікробні властивості.

Результати визначення антимікробної активності трьох видів рослинних олій щодо тест-штамів індикаторних мікроорганізмів наведено на рисунках 1, 2.

Серед індикаторних штамів грампозитивних бактерій найбільшу чутливість до усіх взятих у дослід рослинних олій проявив штам *M. luteus* ATCC 4698 (розміри зон відсутності росту визначені у межах $16,3 \pm 0,2$ мм). Нечутливим до дії олій був штам *B. subtilis* ATCC 6633. На наш погляд, це пояснюється природною стійкістю, одним із прикладів якої є утворення ендоспор представниками роду *Bacillus* за несприятливих умов. Найменшу чутливість проявив штам *S. aureus* ATCC 25923. Розміри зон відсутності росту цього штаму коливалися від $12,0 \pm 0,1$ мм за дії олії з плодів обліпихи до $14,1 \pm 0,1$ мм під впливом олії з насіння гарбуза звичайного (рис. 1).

Із використаних олій найкраща антибактеріальна активність проти грампозитивних бактерій виявлена в олії з насіння гарбуза, до дії якої найбільш чутливими були штами *K. rhizophila* DSM 3480 і *M. luteus* ATCC 4698, розміри зон відсутності росту яких склали $16,5 \pm 0,1$ мм і $16,3 \pm 0,2$ мм, відповідно. Найменший антибактеріальний ефект мала олія з кісточок винограду щодо *S. aureus* ATCC 25923 (зона відсутності росту дорівнювала



1 – олія з насіння гарбуза звичайного; 2 – олія з кісточок винограду;
3 – олія з плодів обліпихи; K1 – фізрозчин (негативний контроль);
K2 – цефтріаксон (позитивний контроль)

Рис. 1. Антимікробна активність рослинних олій щодо грампозитивних бактерій

Fig. 1. Antimicrobial activity of vegetable oils against Gram-positive bacteria



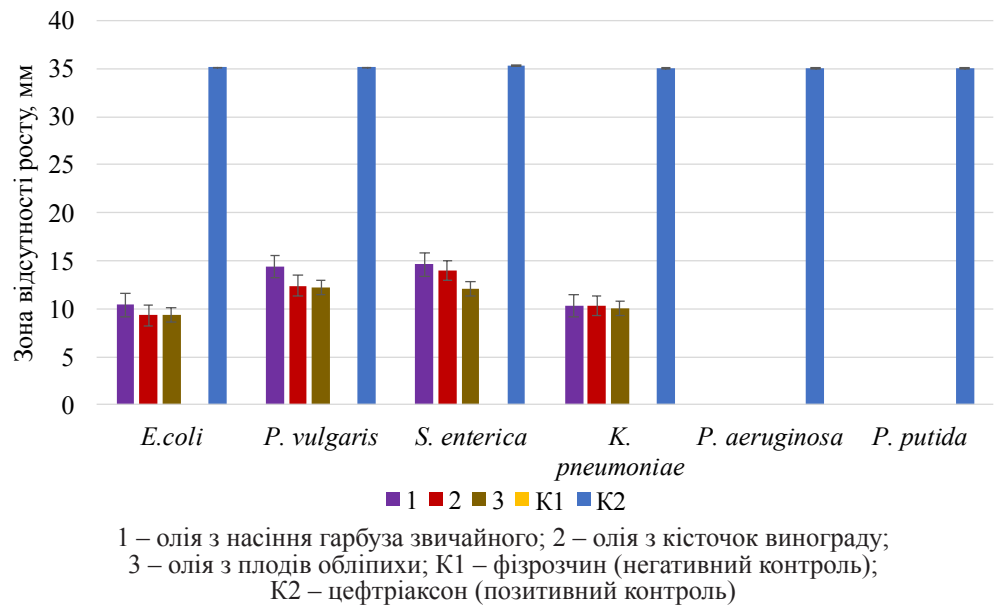


Рис. 2. Антимікробна активність рослинних олій щодо грамнегативних бактерій

Fig. 2. Antimicrobial activity of plant oils against Gram-negative bacteria

10,2 ± 0,2 мм). Чутливість інших штамів до олії з виноградних кісточок була дещо кращою, ніж стафілококу: розміри зон відсутності росту варіювали від 14,2 ± 0,1 мм (визначено для *E. faecalis* ATCC 29212) до 16,2 ± 0,2 мм (визначено для *M. luteus* ATCC 4698). Олія з плодів обліпихи найкраще пригнічувала ріст *M. luteus* ATCC 4698 (так само як за дії олії з насіння гарбуза, розмір зони відсутності росту цього штаму перевищив 16 мм). Інші індикаторні грампозитивні бактерії (*S. aureus*, *M. luteus* і *K. rhizophila*) виявилися менш чутливими до біологічно активних речовин цієї олії.

Як індикаторні штами грамнегативних бактерій були задіяні представники родини *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *P. vulgaris*, *S. enterica*, *K. pneumoniae*) і *Pseudomonadaceae* (*P. aeruginosa*, *P. putida*). Відразу зауважимо, що штами *P. aeruginosa* ATCC 27853 і *P. putida* КТ 2440 проявили стійкість до усіх олій. Щодо штамів кишкової групи, то найчутливішим до дії усіх олій був *S. enterica* NCTC 6017, найстійкішим – *E. coli* ATCC 25922 (рис. 2). Розміри зон відсутності росту штаму *S. enterica* NCTC 6017 склали 14,6 ± 0,2 мм, 14,0 ± 0,1 мм і 12,1 ± 0,1 мм за впливу олій з насіння гарбуза, кісточок винограду і плодів обліпихи, відповідно. Також відзначимо чутливість до олій штаму *P. vulgaris* ATCC 6896, на який найбільш суттєво, із досліджених, вплинула олія з насіння гарбуза. За її дії зона відсутності росту цього штаму складала 14,4 ± 0,1 мм. Щодо штаму кишкової палички, то найбільша зона відсутності росту (10,4 ± 0,2 мм) спостерігалася за дії олії з насіння гарбуза, менші (9,4 ± 0,1 мм і 9,3 ± 0,1 мм) – за дії олій з кісточок винограду і обліпихи, відповідно. Значну стійкість до олій проявив штам *K. pneumoniae* ATCC 10031, найменшу зону відсутності росту якого визначено за впливу олії з плодів обліпихи.



Як і у випадку грампозитивних бактерій, найкраща активність щодо грамнегативних бактерій відзначена в олії з насіння гарбуза. За дії цієї олії розміри зон відсутності росту коливалися від $10,3 \pm 0,2$ мм (у *K. pneumoniae* ATCC 10031) до $14,6 \pm 0,2$ мм (у *S. enterica* NCTC 6017). Менш виражені антибактеріальні властивості в олії з кісточок винограду, найменш ефективною щодо використаних індикаторних штамів була олія з плодів обліпихи.

Порівнюючи результати досліджень, наведених на рисунках 1 і 2, значимо, що загалом грампозитивні бактерії більш чутливі до дії взятих у дослід рослинних олій. У дослідженнях, проведених Ivanišová E. et al. (2020), щодо визначення антимікробної дії екстрактів обліпихи, також відмічається краща антибактеріальна активність проти грампозитивних, ніж грамнегативних бактерій. Автори пояснюють такі результати різницею у будові клітинних стінок. Грамнегативні бактерії мають зовнішню мембрану, яка складається з ліпопротеїну та ліпополіцукриду, що робить її вибірково проникною, і тому грамнегативні бактерії загалом менш чутливі до рослинних екстрактів, ніж грампозитивні [12].

Як і штами псевдомонад, абсолютну стійкість до дії олій виявив штам еукаріотичних мікроорганізмів *C. albicans* ATCC 18804.

Серед досліджених рослинних олій кращу антимікробну активність продемонструвала олія з насіння гарбуза. Проте, у порівнянні з контролем 2 (10,0% розчин цефтріаксону) антибіотична активність тестованих олій виявилася більш, ніж у 2 рази меншою. За припущеннями Santos J. S. et al. (2018) на біоактивні властивості олій можуть впливати способи вирощування рослин, причому олії, отримані з насіння органічно вирощених рослин, є більш ефективними, ніж олії, отримані із рослин, вирощених традиційним способом [21]. Тим не менше, прояв антимікробної активності оліями разом з протизапальними, протипухлинними, антиоксидантними властивостями характеризує їх як такі, що корисні для організму людини, та свідчить про перспективність і необхідність подальших досліджень для використання у біомедичній галузі.

Рослинні олії, а особливо їх есенціальний компонент, містять від 20 до 60 біологічно активних сполук. Це суміш терпенів, терпеноїдів, камфори, карвакролу, евганолу, гідрокарбонів, кетонів, фенолів та інших ароматичних і аліфатичних речовин, серед яких є хімічні компоненти з антимікробною дією [6]. Перш за все, антимікробну дію рослинних олій пов'язують з фенольними сполуками, а чутливість бактерій залежить від архітектоники клітинної стінки.

У дослідженнях щодо вивчення антиоксидантних та антимікробних властивостей шкірки, м'якоті та насіння гарбуза (*Cucurbita maxima*), проведених Hussain A. et al. (2021), антибактеріальна дія фенольних сполук пояснюється взаємодією цих сполук із клітинними компонентами бактерій, результатом чого є витік нуклеотидів і білкового матеріалу в позаклітинні області [11]. Song H. M. & Sun Z. X. (2017) в проведеному експерименті показали, що, окрім фенольних сполук, поліцукриди гарбуза в концентрації 200 мг/мл виявляють антибактеріальну дію проти *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* і *E. coli* [23]. Антимікробні властивості поліцукридів встановлені Leichtweis M. G. et al. (2022) при дослідженні ефекту олії з насіння гарбуза щодо *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* і



Aspergillus niger [13]. Про значні пригнічувальні ефекти гарбузової олії проти широкого спектру мікроорганізмів, включаючи бактерії (*E. coli*, *K. pneumonia*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *Staphylococcus warneri*) і міцеліальні гриби (*Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Mycosphaerella arachidicola*), йдеться у роботі Tambe S. et al. (2024). Автори пояснюють антимікробну активність з наявністю у насінні гарбуза низки біологічно активних речовин, зокрема флавоноїдів, глікозидів, сапонінів, а також білка кукурмошина. При цьому вони зазначають, що грампозитивні бактерії більш чутливі до дії метаболітів гарбуза, ніж грамнегативні і це пов'язано із будовою клітинних стінок: у грамнегативних бактерій ліполіцукриди клітинної стінки, зв'язуючись, з біологічно активними речовинами насіння гарбуза, блокують їх проникнення через цитоплазматичну мембрану [26]. Також про високий антимікробний потенціал біологічно активних речовин насіння гарбуза *Cucurbita pepo* var. *fastigata* проти *B. subtilis* і *S. aureus* повідомляється у роботі Soni R. R. S. & Bali M. (2019). При цьому автори не виявили пригнічувальної дії щодо *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* і *A. niger* [24]. Натомість, Amin et al. (2020) встановили високу ефективність насіння гарбуза проти різних штамів *E. coli* та *Shigella sonnei*, а також повідомили про значно вищу антибактеріальну активність олії, отриманої з місцевого генотипу *Cucurbita maxima* (IPSO), порівняно з гібридом *Cucurbita maxima* (HPSO) [3]. Крім того, у іншому дослідженні цих авторів олія місцевого гарбузового насіння містила у 2,5 рази більшу кількість токоферолів, ніж олія з гібридного генотипу гарбуза, і можливо саме з цим пов'язана краща антибактеріальна ефективність цієї конкретної олії [3].

Олія виноградних кісточок також токсично діє на деякі патогени, що свідчить про її антимікробні властивості. У дослідженнях Luchian C. E. et al. (2019) і Mollica A. et al. (2021) олія, отримана з виноградних кісточок, мала пригнічувальний вплив на ріст *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli* і *C. albicans* [14, 16]. Антимікробну активність автори пов'язують із фенольними сполуками, такими як ресвератрол, який індукує окиснювальне пошкодження бактеріальної мембрани, особливо *E. coli*, не впливаючи на клітини господаря, і зазначають, що це не єдиний чинник, який визначає антимікробний ефект.

Так само з фенольними речовинами пов'язують антимікробні властивості обліпихи [12, 20]. Ivanišová E. et al. (2020) у результаті проведених досліджень зазначають, що усі досліджені ними продукти з обліпихи, у тому числі олія з плодів, проявляють антимікробні властивості щодо широкого спектру мікроорганізмів [12]. На антибактеріальну ефективність обліпихи вказують результати, наведені у роботі Sandulachi E. et al. (2022). При цьому автори наводять дані, що свідчать про виражену антимікробну дію обліпихи щодо грампозитивних бактерій (*S. aureus* та *B. subtilis*) і меншу активність щодо грамнегативних бактерій (*Salmonella typhimurium* і *E. coli*). Еукаріотичний мікроорганізм *C. albicans*, як і в наших дослідженнях, виявив стійкість [20]. Наразі така вибіркова чутливість до фенольних сполук обліпихи пояснюється зниженою проникністю клітинної стінки грамнегативних бактерій через високий рівень фосфоліпідів у ній та з гідрофільною поверхнею їх зовнішньої



мембрани, яка складається з молекул ліпополіцукридів, що є бар'єром для проникнення численних сполук з антимікробними властивостями, механізм дії яких може бути пов'язаний з їх здатністю інактивувати мікробні адгезини, ферменти та транспортні білки клітинної оболонки [12, 20].

Загалом, механізми дії біологічно активних речовин рослинних олій визначаються їх складом та наявністю і доступністю клітин-мішеней [2, 18]. Зокрема, що стосується поліфенолів, то зазначається три основних механізми дії на мікроорганізми – модифікація проникності мембрани, інактивація внутрішньоклітинних ферментів та зміна морфології клітин. Окрім цього, поліфеноли, проникаючи в клітину, призводять до генерації АТФ та пригнічують синтез ДНК мікроорганізмів [18]. Флавоноїди також мають кілька механізмів антимікробної дії. Наприклад, кверцетин пригнічує ДНК-гіразу, підвищує проникність мембран і запобігає синтезу АТФ у *E. coli* [10], тоді як у *S. aureus* він пригнічує ключові ферменти, необхідні для синтезу білка [4].

Таким чином, протестовані рослинні олії виявили антимікробну активність до більшості індикаторних мікроорганізмів, серед яких більш чутливими були штами грамполозитивних бактерій (*S. aureus* ATCC 25923, *M. luteus* ATCC 4698, *E. faecalis* ATCC 29212, *K. rhizophila* DSM 3480). Найбільшу чутливість до усіх протестованих олій проявив штам грамполозитивних бактерій *M. luteus* ATCC 4698, розміри зон відсутності росту якого становили $16,3 \pm 0,2$ мм, найменшу – *E. coli* ATCC 25922, зони відсутності росту якого визначені у межах $10,4 \pm 0,2$ мм (за дії олії з насіння гарбуза) – $9,3 \pm 0,1$ мм (за дії олії з плодів обліпихи). Штами *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. putida* КТ 2440 і *C. albicans* ATCC 18804 виявилися стійкими до усіх протестованих олій. Кращу ефективність щодо чутливих штамів мікроорганізмів встановлено для олії із насіння гарбуза, за дії якої найбільші зони відсутності росту спостерігали у штамів *K. rhizophila* DSM 3480 і *M. luteus* ATCC 4698 ($16,5 \pm 0,1$ мм і $16,3 \pm 0,2$ мм, відповідно). Отже, досліджувані олії можна використовувати не тільки через їхню високу харчову цінність, але й як джерело сполук з антимікробним потенціалом. Однак вкрай важливі подальші дослідження, щоб виявити і визначити біоактивні хімічні сполуки та дати їм кількісну оцінку, а також дослідити механізми їх дії на різні мікроорганізми. Також перспективним є створення різних комбінацій сумішей із залученням олій інших біологічно цінних рослин (наприклад, з насіння портулаку, льону, люфи, сої тощо), оскільки можливі синергетичні ефекти можуть покращити загальні біоактивні властивості рослинних олій.



I.V. Strashnova, F.P. Tkachenko, Je.I. Chigrina

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OILS FROM PUMPKIN SEEDS, GRAPE SEEDS AND SEA-BUCKTHORN FRUITS

Summary

Currently, the search for new alternative effective sources for obtaining compounds with antimicrobial activity does not lose its relevance. **Aim.** To investigate the antimicrobial activity of oils obtained by cold pressing from pumpkin seeds, grape seeds and sea-buckthorn fruits. **Methods.** Antimicrobial activity of oils from pumpkin seeds, grape seeds and sea-buckthorn fruits against strains of indicator microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* DSM 3480, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 6896, *Salmonella enterica* NCTC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida* KT 2440 and *Candida albicans* ATCC 18804 was determined on semi-liquid LB medium by the well method. **Results.** All tested plant oils showed antimicrobial activity against certain strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria, but were ineffective against *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *P. putida* and the eukaryotic microorganism *C. albicans*. Strains of Gram-positive bacteria were more sensitive to the action of all three types of plant oils. The most sensitive strain was *M. luteus* ATCC 4698, the size of which zones of no growth exceeded 16 mm under the influence of all tested oils. Pumpkin seeds oil was more effective against sensitive test strains of indicator microorganisms. **Conclusions.** Plant oils obtained by cold pressing from pumpkin seeds, grape seeds and sea-buckthorn fruits showed variable antimicrobial activity, which was better in pumpkin seeds oil. *K. rhizophila* DSM 3480 and *M. luteus* ATCC 4698 strains were the most sensitive to its influence, the sizes of the zones of no growth were 16.5 ± 0.1 mm and 16.3 ± 0.2 mm, respectively. Further researches are necessary to determine the chemical composition and quantitative assessment of the bioactive compounds of these oils, as well as the mechanisms of their action on the cells of microorganisms.

Key words: antimicrobial activity, plant oils, indicator microorganisms

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Климнюк С.І., Ситник І.О., Ширококов В.П. Практична мікробіологія: навчальний посібник / За заг. ред. В.П. Ширококова, С.І. Климнюка. – Вінниця: Нова книга, 2018. – 576 с.
2. Abu-Zaida A.A., Al-Bartyb A., Morsy K., Hamdi H. *In vitro* study of antimicrobial activity of some plant seeds against bacterial strains causing food poisoning diseases // *Brazilian Journal of Biology*. – 2022. – V. 82. – P. 256409. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256409>
3. Amin M.Z., Rity T.I., Uddin M.R., Rahman M.M., Uddin M.J. A comparative assessment of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-bacterial activities of hybrid and indigenous varieties of pumpkin (*Cucurbita maxima* Linn.) seed



- oil // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* – 2020. – V. 28. – P. 101767. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101767>
4. *Bae J.Y., Seo Y.H., Oh S.W.* Antibacterial activities of polyphenols against foodborne pathogens and their application as antibacterial agents // *Food Sci. Biotechnol.* – 2022. – V. 31. – P. 985–997. doi: 10.1007/s10068-022-01058-3
 5. *Batool M., Ranjha M.M.A.N., Roobab U., Manzoor M.F., Farooq U. et al.* Nutritional value, phytochemical potential, and therapeutic benefits of pumpkin (*Cucurbita* sp.) // *Plants (Basel)*. – 2022. – V. 11 (11). – P. 1394. doi: 10.3390/plants11111394
 6. *Bhavaniramy S., Vishnupriya S., Al-Aboody M.S., Vijayakumar R., Basakaran D.* Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications // *Grain & Oil Science and Technology*. – 2019. – V. 2 (2). – P. 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>
 7. *Can-Cauich C.A., Sauri-Duch E., Moo-Huchin V.M., Betancur-Ancona D., Cuevas-Glory L. F.* Effect of extraction method and specie on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of pumpkin oil from Yucatan, Mexico // *Food Chem.* – 2019. – V. 285. – P. 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.153>
 8. *Chen Y., Cai Y., Wang K., Wang Y.* Bioactive compounds in sea buckthorn and their efficacy in preventing and treating metabolic syndrome // *Foods*. – 2023. – V. 12. – P. 1985. <https://doi.org/10.3390/foods12101985>
 9. *Di Pietro Fernandes C., Santana L.F., dos Santos J.R., Fernandes D.S., Hiane P.A. et al.* Nutraceutical potential of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil in oxidative stress, inflammation, obesity and metabolic alterations: a review // *Molecules*. – 2023. – V. 28. – P. 7811. <https://doi.org/10.3390/molecules28237811>
 10. *Gutiérrez-del-Río I., Fernández J., Lombó F.* Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 2018. – V. 52. – P. 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.024>
 11. *Hussain A., Kausar T., Din A., Murtaza A., Jamil M.A. et al.* Antioxidant and antimicrobial of pumpkin (*Cucurbita maxima*) peel, flesh and seeds powders // *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. – 2021. – V. 11 (6). – P. 42–51.
 12. *Ivanišová E., Blašková M., Terentjeva M., Grygorieva O., Vergun O. et al.* Biological properties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) derived products // *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* – 2020. – V. 19 (2). – P. 195–205. <http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.2020.0809>
 13. *Leichtweis M.G., Molina A.K., Pires T.C.S., Dias M.I., Calhelha R. et al.* Biological activity of pumpkin byproducts: antimicrobial and antioxidant properties // *Molecules*. – 2022. – V. 27 (23). – P. 8366. doi: 10.3390/molecules27238366
 14. *Luchian C.E., Cotea V.V., Vlase L., Toiu A.M., Colibaba L. C. et al.* Antioxidant and antimicrobial effects of grape pomace extracts // 42nd World Congress of Vine and Wine. – 2019. – P. 1–6. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191504006>
 15. *Martin M.E., Grao-Cruces E., Milan-Linares M.C., Montserrat-de la Paz S.* Grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil: A functional food from the winemaking



- industry // Foods. – 2020. – V. 9 (10). – P. 1360. <https://doi.org/10.3390/foods9101360>
16. Mollica A., Scioli G., Della Valle A., Cichelli A., Novellino E. et al. Phenolic analysis and *in vitro* biological activity of red wine, pomace and grape seeds oil derived from *Vitis vinifera* L. cv. Montepulciano d'Abruzzo // Antioxidants. – 2021. – V. 10. – P. 1704. <https://doi.org/10.3390/antiox10111704>
 17. Petropoulos S.A., Fernandes Á., Calhelha R.C., Rouphael Y., Petrović J. et al. Antimicrobial properties, cytotoxic effects, and fatty acids composition of vegetable oils from purslane, linseed, luffa, and pumpkin seeds // Applied Sciences. – 2021. – V. 11 (12). – P. 5738. <https://doi.org/10.3390/app11125738>
 18. Pinto L., Tapia-Rodríguez M.R., Baruzzi F., Ayala-Zavala J.F. Plant antimicrobials for food quality and safety: recent views and future challenges: a review // Foods. – 2023. – V. 12. – P. 2315. <https://doi.org/10.3390/foods12122315>
 19. Ribeiro A.R., Silva S.S., Reis R.L. Challenges and opportunities on vegetable oils derived systems for biomedical applications // Biomaterials advances. – 2022. – V. 134. – P. 112720. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2022.112720>
 20. Sandulachi E., Macari A., Cojocari D., Balan G., Popa S. et al. Antimicrobial properties of sea buckthorn grown in the Republic of Moldova // Journal of Engineering Science. – 2022. – V. 29 (1). – P. 164–175. [https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29\(1\).15](https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29(1).15)
 21. Santos J.S., Escher G.B., da Silva Pereira J.M., Marinho M.T., Prado-Silva L.D. et al. 1H NMR combined with chemometrics tools for rapid characterization of edible oils and their biological properties // Ind. Crops Prod. – 2018. – V. 116. – P. 191–200. doi:10.1016/j.indcrop.2018.02.063
 22. Singh A., Kumar V. Pumpkin seeds as nutraceutical and functional food ingredient for future: a review // Grain & Oil Science and Technology. – 2024. – V. 7 (1). – P. 12–29. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2023.12.002>
 23. Song H.M., Sun Z.X. Hypolipidaemic and hypoglycaemic properties of pumpkin polysaccharides // 3 Biotech. – 2017. – V. 7 (3). – P. 159–165. doi:10.1007/s13205-017-0843-1
 24. Soni R.R.S., Bali M. Evaluation of antioxidant, antimicrobial, and antifungal potential of *Cucurbita pepo* var. *fastigata* seed extracts // Asian J Pharm Clin Res. – 2019. – V. 12 (2). – P. 289–293. <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i2.28040>
 25. Susithra E., Nongmin P.J., Swathi P., Magibalan J., Balaji V. Review on pumpkin seed oil (*C. maxima*, *C. pepo*) // Indo American Journal of Pharmaceutical Research. – 2018. – V. 8 (05). – P. 1296–1302.
 26. Tambe S., Ram S., Rokade R., Tasgaonka R. Seed to wellness: the therapeutic potential of pumpkin seeds // International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology. – 2024. – V. 12 (3). – P. 2910–2916. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2024.59531>
 27. Wang Z., Zhao F., Wei P., Chai X., Hou G., Meng Q. Phytochemistry, health benefits, and food applications of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A comprehensive review // Front. Nutr. – 2022. – V. 9. – P. 1–20. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1036295>



REFERENCES

1. Klymniuk SI, Sytnyk IO, Shyrobokov VP. Praktychna mikrobiolohiia: navchalnyi posibnyk / Za zah. red. VP Shyrobokova, SI Klymniuka. Vinnytsia: Nova knyha, 2018. 576 s. [in Ukrainian].
2. Abu-Zaida AA, Al-Bartyb A, Morsy K, Hamdi H. *In vitro* study of antimicrobial activity of some plant seeds against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Brazilian Journal of Biology*. 2022; 82: 256409. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256409>
3. Amin MZ, Rity TI, Uddin MR, Rahman MM, Uddin MJ. A comparative assessment of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-bacterial activities of hybrid and indigenous varieties of pumpkin (*Cucurbita maxima* Linn.) seed oil. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2020; 28: 101767. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101767>
4. Bae JY, Seo YH, Oh SW. Antibacterial activities of polyphenols against food-borne pathogens and their application as antibacterial agents. *Food Sci. Biotechnol.* 2022; 31: 985–997. doi: 10.1007/s10068-022-01058-3
5. Batool M, Ranjha MMAN, Roobab U, Manzoor MF, Farooq U et al. Nutritional value, phytochemical potential, and therapeutic benefits of pumpkin (*Cucurbita* sp.). *Plants (Basel)*. 2022; 11 (11): 1394. doi: 10.3390/plants11111394
6. Bhavaniramy S, Vishnupriya S, Al-Aboody MS, Vijayakumar R, Baskaran D. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*. 2019; 2 (2): 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>
7. Can-Cauich CA, Sauri-Duch E, Moo-Huchin VM, Betancur-Ancona D, Cuevas-Glory LF. Effect of extraction method and specie on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of pumpkin oil from Yucatan, Mexico. *Food Chem.* 2019; 285: 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.153>
8. Chen Y, Cai Y, Wang K, Wang Y. Bioactive compounds in sea buckthorn and their efficacy in preventing and treating metabolic syndrome. *Foods*. 2023; 12: 1985. <https://doi.org/10.3390/foods12101985>
9. Di Pietro Fernandes C, Santana LF, dos Santos JR, Fernandes DS, Hiane PA et al. Nutraceutical potential of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil in oxidative stress, inflammation, obesity and metabolic alterations: a review. *Molecules*. 2023; 28: 7811. <https://doi.org/10.3390/molecules28237811>
10. Gutiérrez-del-Río I, Fernández J, Lombó F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2018; 52: 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.024>
11. Hussain A, Kausar T, Din A, Murtaza A, Jamil MA et al. Antioxidant and antimicrobial of pumpkin (*Cucurbita maxima*) peel, flesh and seeds powders. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2021; 11 (6): P. 42–51.
12. Ivanišová E, Blašková M, Terentjeva M, Grygorieva O, Vergun O et al. Biological properties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) derived



- products. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2020; 19 (2): 195–205. <http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.2020.0809>
13. Leichtweis MG, Molina AK, Pires TCS, Dias MI, Calhelha R et al. Biological activity of pumpkin byproducts: antimicrobial and antioxidant properties. *Molecules.* 2022; 27 (23): 8366. doi: 10.3390/molecules27238366
 14. Luchian CE, Cotea VV, Vlase L, Toiu AM, Colibaba LC et al. Antioxidant and antimicrobial effects of grape pomace extracts. 42nd World Congress of Vine and Wine. 2019: 1–6. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191504006>
 15. Martin ME, Grao-Cruces E, Milan-Linares MC, Montserrat-de la Paz S. Grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil: A functional food from the winemaking industry. *Foods.* 2020; 9 (10): 1360. <https://doi.org/10.3390/foods9101360>
 16. Mollica A, Scioli G, Della Valle A, Cichelli A, Novellino E et al. Phenolic analysis and *in vitro* biological activity of red wine, pomace and grape seeds oil derived from *Vitis vinifera* L. cv. Montepulciano d’Abruzzo. *Antioxidants.* 2021; 10: 1704. <https://doi.org/10.3390/antiox10111704>
 17. Petropoulos SA, Fernandes A, Calhelha RC, Roupheal Y, Petrović J et al. Antimicrobial properties, cytotoxic effects, and fatty acids composition of vegetable oils from purslane, linseed, luffa, and pumpkin seeds. *Applied Sciences.* 2021; 11 (12): 5738. <https://doi.org/10.3390/app11125738>
 18. Pinto L, Tapia-Rodríguez MR, Baruzzi F, Ayala-Zavala JF. Plant antimicrobials for food quality and safety: recent views and future challenges: a review. *Foods.* 2023; 12: 2315. <https://doi.org/10.3390/foods12122315>
 19. Ribeiro AR, Silva SS, Reis RL. Challenges and opportunities on vegetable oils derived systems for biomedical applications. *Biomaterials advances.* 2022; 134: 112720. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2022.112720>
 20. Sandulachi E, Macari A, Cojocari D, Balan G, Popa S et al. Antimicrobial properties of sea buckthorn grown in the Republic of Moldova. *Journal of Engineering Science.* 2022; 29 (1): 164–175. [https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29\(1\).15](https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29(1).15)
 21. Santos JS, Escher GB, da Silva Pereira JM, Marinho MT, Prado-Silva LD et al. 1H NMR combined with chemometrics tools for rapid characterization of edible oils and their biological properties. *Ind. Crops Prod.* 2018; 116: 191–200. doi:10.1016/j.indcrop.2018.02.063
 22. Singh A, Kumar V. Pumpkin seeds as nutraceutical and functional food ingredient for future: a review. *Grain & Oil Science and Technology.* 2024; 7 (1): 12–29. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2023.12.002>
 23. Song HM, Sun ZX. Hypolipidaemic and pypoglycaemic properties of pumpkin polysaccharides. *3 Biotech.* 2017; 7 (3): 159–165. doi: 10.1007/s13205-017-0843-1
 24. Soni RRS, Bali M. Evaluation of antioxidant, antimicrobial, and antifungal potential of *Cucurbita pepo* var. *fastigata* seed extracts. *Asian J Pharm Clin Res.* 2019; 12 (2): 289–293. <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i2.28040>
 25. Susithra E, Nongmin PJ, Swathi P, Magibalan J, Balaji V. Review on pumpkin seed oil (*C. maxima*, *C. pepo*). *Indo American Journal of Pharmaceutical Research.* 2018; 8 (05): 1296–1302.



26. Tambe S, Ram S, Rokade R, Tasgaonka R. Seed to wellness: the therapeutic potential of pumpkin seeds. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*. 2024; 12 (3): 2910–2916. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2024.59531>
27. Wang Z, Zhao F, Wei P, Chai X, Hou G, Meng Q. Phytochemistry, health benefits, and food applications of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A comprehensive review. *Front. Nutr.* 2022; 9: 1–20. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1036295>

Стаття надійшла до редакції 15.03.24 р.



УДК 576.64

Н.І. Теслюк, К.О. Шульга, К.Ю. Нечитайло

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

ВИЗНАЧЕННЯ ВИРАЖЕНОСТІ ВПЛИВУ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS* НА КУЛЬТУРУ НАСІННЯ РИСУ ТА КУКУРУДЗИ В УМОВАХ *IN VITRO*

Метою роботи було визначити вираженість впливу бактерій штамів *Bacillus megaterium* ONU500, *Bacillus velezensis* ONU553, *Bacillus pumilus* ONU554, *Bacillus subtilis* ONU559 на проростання і ріст насіння рису та кукурудзи в стерильних умовах. **Матеріали і методи.** Вирощували тридобові культури бактерій чотирьох штамів на рідкому живильному середовищі LB у термостаті за температури 28 °C та стерилізували насіння модельних рослин за стандартною схемою. Поміщали насіння у 1%-ові розчини бактеріальних суспензій (10^6 КУО/мл) кожного зі штамів та проводили інокуляцію протягом 1 години. **Результати.** Результати експерименту на обох модельних рослинах свідчать про значний потенціал бактерій *B. megaterium* ONU500, *B. velezensis* ONU553, *B. pumilus* ONU554 як стимуляторів росту та розвитку рослин. *B. subtilis* ONU559 рекомендується до вивчення й уточнення впливу на рослини в подальших дослідженнях. **Висновок.** Найбільш позитивний, стимулювальний вплив на показники проростання, росту та розвитку насіння рису і кукурудзи чинить інокуляція штамом *B. megaterium* ONU500 (для рису: збільшення довжини пагона на 36,5%, кореня на 29%; для кукурудзи: 50% і 69% відповідно). Для культури рису перспективним є також подальше вивчення впливу *B. velezensis* ONU553, а для кукурудзи – *B. pumilus* ONU554.

Ключові слова: в умовах *in vitro*, *Bacillus*, насіння рису та кукурудзи, бактеріальна суспензія

Рис та кукурудза належать до найдавніших і найпоширеніших високоврожайних культур світового землеробства та займають найбільші посівні площі після пшениці. Рисове і кукурудзяне зерно є важливою сировиною для харчової промисловості, а зелена маса – для тваринництва та біоенергетичної галузі. Враховуючи стрімке збільшення населення планети та втрати врожаю внаслідок несприятливих екологічних чинників, попит на дані культури лише зростатиме. Для України нарощування виробництва злакових культур має стратегічне значення для підйому національної економіки в умовах воєнного стану. Адже українське зерно, завдяки своїй високій якості, має визнання як на вітчизняному, так і на міжнародному ринках, та користується стабільним попитом серед споживачів.

© Н.І. Теслюк, К.О. Шульга, К.Ю. Нечитайло, 2024



На теперішній час в Україні спостерігаються різкі коливання погодних умов та малосніжні зими, є проблеми виснаження й ерозії ґрунтів, зниження ефективності хімічних засобів захисту рослин і добрив при постійному підвищенні цін на останні – все це призводить до збільшення собівартості продукції. Такий комплекс проблем породжує запит суспільства до науковців щодо пошуку більш дієвих, але менш шкідливих для довкілля та людини способів вирощування кукурудзи і рису, пошуку нових методів боротьби з хворобами та шкідниками, пом'якшення впливу абіотичного стресу тощо.

Одним із перспективних напрямків розв'язання згаданих вище проблем може стати використання біопрепаратів на основі бактерій роду *Bacillus* – найбільш широко вивчених рістстимулювальних мікроорганізмів для рослин. Відомо, що ці бактерії мають потенціал біоконтролю на тепличних, польових та післязбиральних стадіях розвитку плодів [7]. Завдяки численним прямим і непрямим механізмам впливу на рослини, бацили покращують їх ріст, захищають від фітопатогенів та сприяють отриманню більших об'ємів врожаю високої якості [3]. Вченими встановлено, що «механізми прямої дії цих мікроорганізмів на рослини включають виробництво ауксинів (наприклад, індол-3-оцтової кислоти – ІОК), дезамінази 1-аміноциклопропан-1-карбонової кислоти, цитокінінів, гіберелінів, фіксацію атмосферного азоту (виробництво нітрогенази), солубілізацію фосфору та секвестрацію заліза (шляхом виробництва бактеріальних сидерофорів). Непрямі механізми пов'язані з властивостями бактерій, які пригнічують функціонування одного або декількох фітопатогенів. Це виробництво антибіотиків (наприклад, циклічних ліпопептидів), ферментів, які руйнують клітинну стінку грибів (включаючи хітинази і β -1,3 глюканази), а також виробництво ціаністого водню, що викликає стійкість рослин (наприклад, проти грибкових фітопатогенів)» [5].

Метою нашої роботи було визначення вираженості впливу бацил штамів *Bacillus megaterium* ONU500, *Bacillus velezensis* ONU553, *Bacillus pumilus* ONU554, *Bacillus subtilis* ONU559 на проростання та ріст насіння рису і кукурудзи *in vitro*.

Для цих штамів вже встановлені певні рістстимулювальні та захисні властивості щодо рослин. Є повідомлення про забезпечення *B. megaterium* захисту від посухи шляхом підвищення рівня ІОК та проліну у *Trifolium*. Крім того, існують комерційні біопрепарати на основі штамів цього виду, що використовуються як фунгіциди [8]. Зокрема, у штаму ONU500, що був виділений із ферментованого листа гірчиці, визначено здатність до утворення біоплівки на коренях рослин та продукції сидерофорів [2].

Для штамів ONU553, ONU554 та ONU559, отриманих із донних відкладень Чорного моря у лабораторії Одеського національного університету, аналіз геному дозволив виявити кластери, що ймовірно кодують синтез антибіотиків [10] та протигрибкових речовин [1], а також деяких метаболітів із невідомими на сьогодні функціями [6].

Матеріали і методи

Для нашого експерименту з визначення впливу бацил на ріст насіння рису та кукурудзи вирощували тридобові культури чотирьох штамів бакте-



рій *Bacillus megaterium* ONU500, *Bacillus velezensis* ONU553, *Bacillus pumilus* ONU554, *Bacillus subtilis* ONU559 на рідкому живильному середовищі LB (пептон – 10 г/л, дріжджовий екстракт – 5 г/л, NaCl – 10 г/л) [9] у термостаті при постійній температурі 28 °С.

За даними Barros B.C. та інші [4] найвищі концентрації мікробного інокулянта не обов'язково сприяють більшому позитивному ефекту стимулювання росту рослин, тому нами було випробувано 1%-ові суспензії культур, з концентраціями $1,3 \times 10^6$ КУО/мл, $1,0 \times 10^6$ КУО/мл, $5,1 \times 10^6$ КУО/мл, $2,8 \times 10^6$ КУО/мл (далі 1%) відповідно у двох повторностях.

Як модельні рослини використовували сортосуміш насіння рису луценого «Рис червоний» *Oryza sativa* L. (виробник насіння – ТМ Tpareza, Україна) та кукурудзу *Zea mays* L. сорту «Веґе» (виробник насіння – ТОВ ВНІС, Україна). Величина вибірки для однієї повторності експерименту становила 50 шт. насінин рису та 50 шт. кукурудзи.

Насіння поміщали у скляну ємність, накривали двома шарами стерильної марлі та проводили стерилізацію насіння за такою схемою: промивання у мильному розчині (10 хвилин), експозиція у 9%-ому розчині гіпохлориту натрію (білизна 1:4, 10 хвилин), витримання у розчині Хінозолу (2 г/л, 5 хвилин), промивання стерильним дистиллятом (5 хвилин), обробка 96% етанолом (1 хвилина). Після стерилізації насіння переносили у ламінар-бокс, де його по 10 штук поміщали у 1%-ові розчини бактеріальних суспензій кожного з чотирьох штамів. Ще по 10 насінин поміщали у стерильний дистиллят для контролю. Інокуляцію проводили протягом 1 години.

Далі за допомогою стерильної піпетки у кожен чашку Петрі додавали 10 мл стерильного дистилляту. Заздалегідь підготували 10 шт стерильних чашок Петрі з фільтрувальним папером для однієї повторності, з яких 5 шт., використовували для пророщування рису, решту 5 для кукурудзи. Фільтрувальний папір добре вбирає та утримує вологу, тому забезпечує оптимальний водно-повітряний режим для проростання насіння. Після чого стерильним пінцетом викладали у чашки на відносно однаковій відстані одну від іншої по 10 шт. насінин рису та кукурудзи.

Насіння у чашках поміщали в умови культурального боксу з температурою 20–23 °С, з освітленням 1800–2000 лк, відносній вологості повітря 70%, та з фотоперіодом 16 годин на добу. Процеси росту та приживлюваності рису і кукурудзи контролювали на четвертий, сьомий та одинадцятий дні експерименту. Робили виміри довжини утворених пагонів (см), довжини коренів проростків рису та кукурудзи (см).

Для підрахунку результатів використовували описову статистику в програмі Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення

Культура рису.

У результаті досліджень на культурі рису встановлено, що найбільша кількість проростків спостерігалася у насіння інокульованого штамом ONU500 – 90%, що на 10% більше ніж в контрольному варіанті, а найменша у



ONU553 – 65%, що на 15% менше відповідно ніж в контролі (рис. 1а). Решта штамів значущої різниці стосовно критеріїв проростання і приживлюваності не показали і становили відповідно штамп ONU554 – 80% проростків та ONU559 – 80%, що було на рівні з контролем.

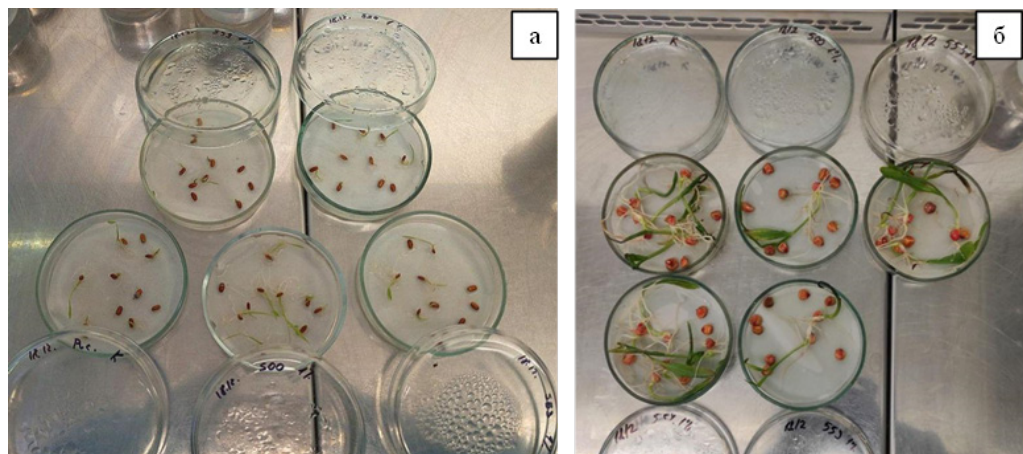


Рис. 1. Проростки рису (а) та кукурудзи (б) на одинадцятий день спостереження

Fig. 1. Rice (a) and corn (b) seedlings on the eleventh day of observation

Візуальні спостереження показали, що при інокуляції штамом ONU500 проростки рису мали більш зелений колір, були більшого розміру.

Щодо середньої довжини утворених пагонів: штами ONU500, ONU553 та ONU554 позитивно впливали на ріст пагонів вже починаючи з 4 дня культивування, штам ONU559 такими властивостями не характеризувався і показав гірші результати у порівнянні з контрольним варіантом (рис. 2а). На 11 день культивування середня довжина пагону рису становила у см: контроль – 1,1; ONU500 – 1,5; ONU553 – 1,6; ONU554 – 1,2; ONU559 – 0,8.

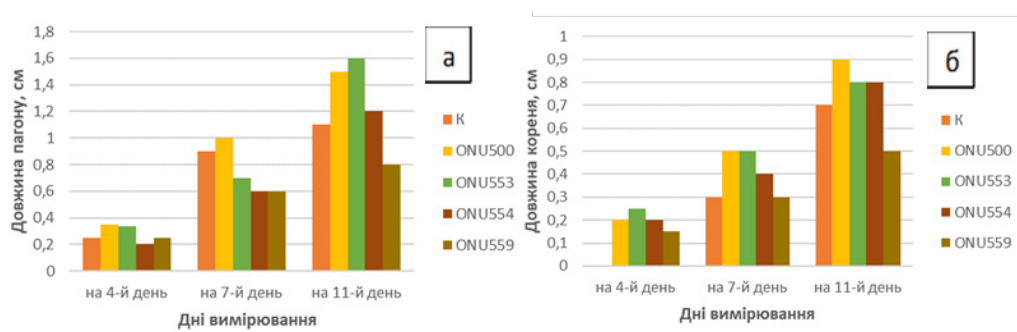


Рис. 2. Вплив суспензії бактерій (1%) різних штамів на довжину пагону (а) та кореня (б) проростків рису

Fig. 2. Effect of suspension of bacteria (1%) of different strains on the length of shoot (a) and root (b) of rice seedlings

Визначено, що середня довжина пагонів після інокуляції насіння рису штамми ONU500 та ONU553 була більшою за контроль на 36,5% і 45,5% відповідно. Натомість обробка насіння штамом ONU554 інтенсифікувала ріст лише на 9%, штам ONU559 викликав невелику затримку росту та розвитку пагонів порівняно з контрольним варіантом.

Наступним дослідним показником була довжина утвореного кореня (рис.3б). Встановлено, що на 11 день культивування насіння рису середня довжина кореня (см) складала відповідно: контроль – 0,7; ONU500 – 0,9; ONU553 – 0,8; ONU554 – 0,8; ONU559 – 0,5. Порівняльний аналіз дослідних і контрольних варіантів показав, що найкращим був варіант з використанням штаму ONU500 – довжина коріння збільшувалася на 29%, у варіантах із штамми ONU553 та ONU554 показник був однаковий і становив 14,5%, однак використання штаму ONU559 призводило до тимчасового гальмування процесів росту і зменшення довжини коріння на 28%.

Загалом, насіння після інокуляції штамом ONU500 характеризувалося найкращим результатом щодо енергії проростання та утворення пагонів, а також проростки мали більш розвинену кореневу систему із значним розвитком додаткових коренів порівняно із контролем та іншими штамми.

У проростків інокульованих штамми ONU553 були відмічені найдовші пагони, але при цьому найнижча кількість пророслих насінин. Утворення коренів було найкращим для штаму ONU554 та ONU500, а найгіршим – для контролю та штамів ONU553 і ONU559.

Отже, обробка одновідсотковим розчином тридобової культури *B. megaterium* ONU500 позитивно впливала на проростання насіння рису, а також викликало найбільшу кількість утворення коренів та пагонів при проростанні.

Культура кукурудзи.

У результаті досліджень на культурі кукурудзи встановлено, що найбільша кількість проростків спостерігалася у насіння інокульованого штамом ONU554 – 50%, що на рівні з контролем; інокуляція штамом ONU500 сприяла проростанню 45% насіння, ONU553 – 40%, а найменший показник був отриманий у варіанті із штамом ONU559 – лише 30%, що менше ніж у контролі на 5%, 10% і 20% відповідно (рис. 1б).

По показнику середньої довжини утворених пагонів кукурудзи: штамми ONU500, ONU553 та ONU554 виявили позитивний вплив на ріст пагонів вже починаючи з 4 дня культивування, штам ONU559 мав гірші результати у порівнянні з контрольним варіантом (рис. 3а). На 11 день спостережень всі чотири дослідні штамми інтенсифікували ріст пагонів у довжину. Середня довжина пагону становила: контроль – 4 см; ONU500 – 6 см; ONU553 – 4,5 см; ONU554 – 5,1 см; ONU559 – 4,7 см.

Встановлено, що найбільша довжина пагонів була після інокуляції насіння кукурудзи штамми ONU500 та ONU554 відповідно більше на 50% та 27,5% у порівнянні з контрольним варіантом, а штамми ONU553 та ONU559 стимулювали ріст пагону в довжину на 12,5% і 17,5% (рис. 3а).

Аналіз утворення та росту коренів інокульованого насіння кукурудзи показав, що в перші чотири доби їх довжина була меншою, ніж у



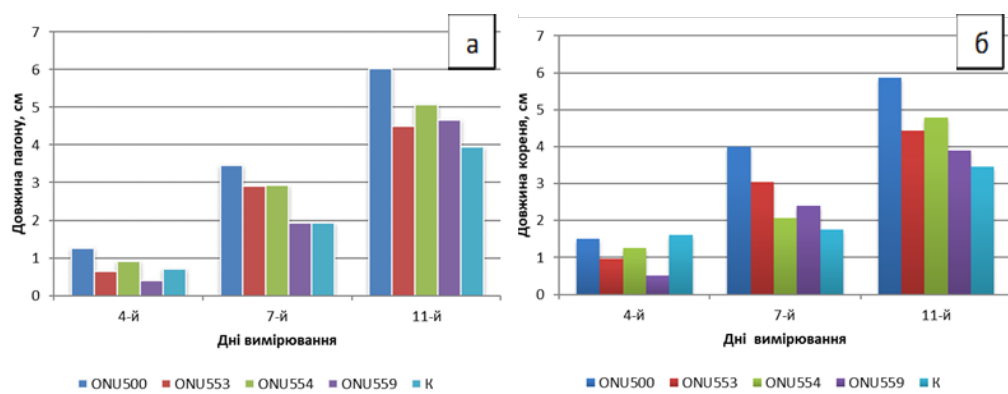


Рис. 3. Вплив суспензії бактерій (1%) різних штамів на довжину пагону (а) та кореня (б) проростків кукурудзи

Fig. 3. Effect of bacterial suspension (1%) of different strains on shoot (a) and root (b) length of corn seedlings

контрольному варіанті. А на 10–11 дні культивування середня довжина кореня у всіх дослідних зразках значно перевищувала цей показник у контролі, так, відповідно: контроль – 3,5 см; ONU500 – 5,9 см; ONU553 – 4,4 см; ONU554 – 4,8 см; ONU559 – 3,9 см (рис. 3б).

Порівняльний аналіз дослідних варіантів із контролем щодо середньої довжини кореня показав, що найкращим був варіант використання штаму ONU500 – довжина кореня збільшилася на 69%. Використання штамів ONU553, ONU554 та ONU559 інтенсифікувало ріст кореня на 25%, 37% і 11% відповідно порівняно з контролем (рис. 3б).

Загалом, насіння інокульоване штамми бацил ONU500 та ONU554 мало більш розвинену кореневу систему з великою кількістю додаткових коренів та кореневих волосків, сформовані зелені листки. На одинадцятий день спостереження у деяких проростків кукурудзи зі штамом ONU553, ONU559 та контрольному варіанті були ознаки некрозу листя та бічних коренів. При цьому інокульовані штамми ONU500 і ONU554 рослини зберігали здоровий вигляд до кінця спостережень. Тобто, була встановлена позитивна дія одновідсоткового розчину тридобової культури *B. megaterium* і *B. pumilus* на процеси росту та розвитку проростків кукурудзи. Крім того, в інокульованого бацилами насіння не спостерігалось контамінації, на відміну від контролю, що дає змогу припустити антагоністичну активність даних штамів проти фітопатогенів.

У підсумку, результати експерименту на обох модельних рослинах свідчать про значний потенціал бактерій *B. megaterium* ONU500, *B. velezensis* ONU553, *B. pumilus* ONU554 як стимуляторів росту та розвитку рослин. Натомість, штам *B. subtilis* ONU559 виявляв переважну дію на проростання модельних культур і показав слабо виражений ефект на ріст пагонів та коренів.

Для обох культур найбільш позитивний вплив на показники проростання, росту та розвитку чинить інокуляція штамом *B. megaterium* ONU500 (для рису:

збільшення довжини пагона на 36,5%, кореня на 29%; для кукурудзи: 50% і 69% відповідно). Визначено також, що для рису перспективним є подальше використання штаму *B. velezensis* ONU553 (збільшення довжини пагона на 45,5%, кореня на 14,5%), а для кукурудзи – *B. pumilus* ONU554 (збільшення довжини пагона на 27,5%, кореня на 37%).

N.I. Tesliuk, K.O. Shulga, K.Y. Nechitailo

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

STUDY OF THE EFFECT OF BACTERIA OF THE GENUS BACILLUS ON THE CULTURE OF RICE AND CORN SEEDS IN VITRO

Summary

The **aim** of the study was to investigate the effect of bacteria strains *Bacillus megaterium* ONU500, *Bacillus velezensis* ONU553, *Bacillus pumilus* ONU554, *Bacillus subtilis* ONU559 on the germination and growth of rice and corn seeds under sterile conditions. **Materials and methods.** Three-day cultures of the four strains were grown on LB liquid nutrient medium in a thermostat at 28 °C and the seeds of model plants were sterilized according to the standard scheme. The seeds were placed in 1% solutions of bacterial suspensions (10^6 CFU/ml) of each strain and inoculated for 1 hour. **Results.** The experiment results on both model plants indicate significant potential of the bacteria *B. megaterium* ONU500, *B. velezensis* ONU553, *B. pumilus* ONU554 as growth and development stimulators for plants. *B. subtilis* ONU559 is recommended for further study and clarification of its impact on plants in subsequent research. **Conclusion.** The most positive, stimulating effect on the indicators of germination, growth, and development of rice and corn seeds is exerted by inoculation with the strain *B. megaterium* ONU500 (for rice: increase in shoot length by 36.5%, root by 29%; for corn: 50% and 69% respectively). Further study of the influence of *B. velezensis* ONU553 is promising for rice cultivation, and for corn – *B. pumilus* ONU554.

Key words: in vitro conditions, *Bacillus*, rice and corn seeds, bacterial suspension

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Страшнова І.В., Васильєва Н.Ю., Штеніков М.Д., Коротаєва Н.В., Лісютін Г.В., Горщикова О.Г., Волювач О.В., Потапенко К.С., Боброва О.Є., Іваниця Т.В., Філіпова Т.О., Чабан М.М.; ред. Іваниця В.О. / Мікробіологічні дослідження Чорного моря: монографія. – Одеса: ОНУ, 2021. – 282 с.
2. Титаренко Н.В. Удосконалення біотехнології мікроклонального розмноження *Rubus fruticosus* L. і *Paulownia tomentosa steud.* з використанням мікроорганізмів: дис. ... канд. біол. наук : 162. / Н.В. Титаренко – Одеса, 2018. – 211 с.



3. 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.
4. Barros B.C., Mendes S.R., Fernando S.B., Reis A.S., Cid R.E. Effects of chemical fertilization and microbial inoculum on *Bacillus subtilis* colonization in soybean and maize plants. *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – № 13.
5. Dobrzyński J., Jakubowska Z., Dybek B. Potential of *Bacillus pumilus* to directly promote plant growth. *Front Microbiol.* – 2022. Dec 21; – № 13.
6. Ostapchuk A.M., Shtenikov M.D., Ivanytsia V.O. Exometabolites of endospore-forming bacteria of *Bacillus* genus identified by genomic metabolomic profiling. // *Ukr. Biochem.* – 2020. – J. № 92(6) – P. 154–164.
7. Rabbee M.F., Hwang B.S., Baek K.H. *Bacillus velezensis*: A beneficial biocontrol agent or facultative phytopathogen for sustainable agriculture. *Agronomy*. – 2023. – № 13. – 840 p.
8. Shtenikov M.D., Ostapchuk A.M., Vasylieva N.Y. Characteristics of genome of *Bacillus velezensis* ONU 553 strain isolated from the bottom sediments of the Black Sea // *Microbiological journal*. – 2020. – № 82(3).
9. Shvets Y.A., Krylova K.D., Limanska N.V. Effect of *bacillus megaterium* ONU500 on the germination and growth of sunflower seedlings // *Microbiology&Biotechnology*. – 2021. – № 1 – P. 45–54.
10. 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.

REFERENCES

1. Ivanytsia VO, Gudzenko TV, Strashnova IV, Vasilieva NY, Shtenikov MD, Korotaeva NV, Lisutin GV, Gorshkova OG, Voluvach OV, Potapenko KS, Bobrova OY, Ivanitsya TV, Filipova TO, Chaban MM; editor Ivanytsia VO. *Microbiological Studies of the Black Sea: Monograph*. Odesa: Odesa I.I. Mechnikov National University; 2021. 282 p. (in Ukrainian).
2. Tytarenko NV. Improvement of clonal micropropagation biotechnology of *Rubus fruticosus* L. and *Paulownia tomentosa* Steud. using microorganisms. PhD thesis in specialty 162 «Biotechnology and bioengineering». – Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa, 2023. (in Ukrainian).
3. 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).
4. Barros BC, Mendes SR, Fernando SB, Reis AS, Cid RE. Effects of chemical fertilization and microbial inoculum on *Bacillus subtilis* colonization in soybean and maize plants. *Frontiers in Microbiology*. 2022; (13).
5. Dobrzyński J, Jakubowska Z, Dybek B. Potential of *Bacillus pumilus* to directly promote plant growth. *Front Microbiol.* – 2022. Dec 21; (13).



6. Ostapchuk AM, Shtenikov MD, Ivanytsia VO. Exometabolites of endospore-forming bacteria of *Bacillus* genus identified by genomic metabolomic profiling. // Ukr. Biochem. 2020; J., 92(6): 154–164.
7. Rabbee MF, Hwang BS, Baek KH. *Bacillus velezensis*: A beneficial biocontrol agent or facultative phytopathogen for sustainable agriculture. Agronomy. 2023; (13): 840.
8. Shtenikov MD, Ostapchuk AM, Vasylieva NY. Characteristics of genome of *Bacillus velezensis* ONU 553 strain isolated from the bottom sediments of the Black Sea // Microbiological journal. 2020; (82) № 3.
9. Shvets YA, Krylova KD, Limanska NV. Effect of *Bacillus megaterium* ONU500 on the germination and growth of sunflower seedlings // Microbiology&Biotechnology. 2021; (1):45–54.
10. 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).

Стаття надійшла до редакції 25.03.24 р.



N.Yu. Vasylieva, M.O. Kishynska, M.D. Shtenikov

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

ANALYSIS OF BIOSYNTHETIC GENE CLUSTERS OF *BACILLUS VELEZENSIS* ONU 553 IN SILICO

The aim of the work was to analyse biosynthetic gene clusters (BGC) of Bacillus velezensis ONU 553 based on bioinformatics approach. Methods. Identification of species was processed with tools of TYGS server; EzBioCloud was used to calculate ANI. Analysis of biosynthetic gene, bacteriocin, and antibiotic resistance gene clusters using antiSMASH, Bagel4, respectively. *The results.* It is shown that the results of identification, phylogenetic analysis and DNA-DNA hybridization (DDH) carried out in silico proved that the strain Bacillus velezensis ONU 553 belongs to the operational group B. amyloliquefaciens (OGBa). Sequences identified as possible phages and CpG-islands were found in the genome of our strain. 12 biosynthetic gene clusters (BGC) were identified using antiSMASH. One new cluster capable of synthesizing a new metabolite was identified (region 11). The presence of two clusters of bacteriocins in the genome of Bacillus velezensis ONU 553, which are assigned to uberolysin/carnocyclin and the antimicrobial peptide LCI based on the identification of the core gene, is shown. *Conclusions.* The preliminary identification of the Bacillus velezensis ONU 553 strain as a representative of the Bacillus velezensis strain of the B. amyloliquefaciens group (OGBa) was confirmed. The presence of gene clusters of secondary metabolites responsible for the synthesis of surfactins, polyene antibiotics, antimicrobial peptides, macrolide antibiotics and bacteriocins was shown. The obtained results indicate that the Bacillus velezensis ONU 553 strain is promising for use in the field of "Blue Biotechnology" for the development of new drugs with antimicrobial and antifungal activity.

Key words: Bacillus velezensis, biosynthetic gene clusters (BGC), bioinformatic analysis

Bacillus velezensis belongs to the operational group of *B. amyloliquefaciens* (OGBa), it is found in different environments, but first of all in soils and marine bottom sediments [16].

The practical interest to the members of *Bacillus velezensis* is induced due to their ability to the major production of secondary metabolites, rapid growth of strains, as well as their significant resistance to adverse environmental conditions [2; 21; 25]. The mentioned advantages characterize *B. velezensis* as a promising producer of biologically active compounds and an object of pharmaceutical biotechnology [27].



However, the morphology and physiological properties of the strains show significant heterogeneity depending on the primary genesis of the isolate. Only certain strains have a complete set of signs and properties that define them as leaders and promising producers of industrial biotechnology. In this regard, the study of complete genomes provides a comprehensive characterization of the genes of the target clusters and reveals the genetically determined potential of the obtained strains. Within the framework of the actual research, we performed a bioinformatics study of the genome of *B. velezensis* ONU 553 in order to substantiate its synthetic potential.

Materials and methods

The strain *Bacillus velezensis* ONU 553 was isolated from the bottom sediments of the Black Sea and deposited in the Collection of marine and practically useful microorganisms of Odesa National University named after I. I. Mechnikov, and the genomic sequence was deposited in the GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) under inventory number CP043416.

The annotation of the genome was conducted using the PATRIC server (Pathosystems Resource Integration Center) of the BV-BRC network resource (Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center – www.bv-brc.org) [23].

The TYGS service (Type (Strain) Genome Server – <https://tygs.dsmz.de/>) was used to reconstruct the phylogenetic tree based on complete genomic sequences [15]. The correctness of the topology of the tree was based on the average values of branch support and δ statistics [11]. Average nucleotide identity (OrthoANI) was calculated using the tool ANI (Average Nucleotide Identity Tool) calculator on the EzBioCloud platform (www.ezbiocloud.net) [13; 26].

Mobile genetic elements, including CpG islands and prophages of *B. velezensis* ONU 553, were identified using IslandViewer 4 (<https://www.pathogenomics.sfu.ca/islandviewer/browse/>) and PHASTER (PHAge Search Tool Enhanced Release – <https://phaster.ca/>) [1].

Bioinformatics tools antiSMASH ("antibiotics and secondary metabolite analysis shell" (<https://antismash.secondarymetabolites.org/>) version 7.0.0 [4] and BAGEL4 (<http://bagel.molgenrug.nl/>) [22]) were used to search for gene clusters (BGC) involved in the synthesis of polyketides and bacteriocins.

The MEGAX program (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version X) [12], CLUSTAL W multiple alignment and the Neighbor-Joining method were used to reconstruct the phylogenetic tree of bacteriocins. The ITOL server (<https://itol.embl.de/>) was used to visualize the obtained tree.

To compare existing gene clusters in the genomes of the most closely related representatives of *Bacillus*, we used the "pheatmap" package implemented in the R 4.2.2 program.

Results and discussion

General genome annotation of *Bacillus velezensis* ONU 553

Genomic analysis of *Bacillus velezensis* ONU 553 using the PATRIC server (table 1) determined that the genome consisted of a circular chromosome that contains 3,934,563 base pairs (bp) and has an average content GC content of 46.69%.



Table 1

General characteristics of the *Bacillus velezensis* ONU 553 genome

Genome Statistics	Contigs	1
	Genome Length	3934563
	GC Content	46.688286
	Contig L50	1
Genomic Features	CDS	3953
	tRNA	86
	repeat_region	39
	rRNA	27
Protein Features	Hypothetical proteins	706
	Proteins with functional assignments	3247
	Proteins with EC number assignments	1003
	Proteins with GO assignments	838
	Proteins with Pathway assignments	744
	Proteins with Subsystem assignments	1203
	Proteins with PATRIC genus-specific family (PLfam) assignments	3688
	Proteins with PATRIC cross-genus family (PGfam) assignments	3797
Specialty Genes	Virulence Factor (PATRIC_VF)	3
	Virulence Factor (Victors)	2
	Transporter (TCDB)	193
	Drug Target (DrugBank)	47
	Drug Target (TTD)	1
	Antibiotic Resistance (PATRIC)	49
	Antibiotic Resistance (CARD)	5
	Antibiotic Resistance (NDARO)	3

In general, the presence of 3953 protein-coding DNA sequences (CDS) that were distributed along both strands was determined. Also, 86 tRNAs and 27 rRNAs, as well as 4 possible phages [20] and 11 CpG islands were detected (table 2, fig. 1).

Taxonomic status of *Bacillus velezensis* ONU 553

Clarification of the systematic position of *B. velezensis* ONU 553 carried out using a complex of methods, including a search using BLAST+ (version 2.9) and relevant databases (ref_prok_rep_genomes), calculations of the identity of nucleotide sequences (OrthoANI) and dDDH of the complete genome. In general, the obtained results were agreed among themselves. According to the results of phy-



Table 2
Characterization of CpG islands in the genome of *Bacillus velezensis* ONU 553

Genomic Islands	Island Start	Island End	Length(bp)	Quantity CDS
Island 1	448580	453512	4932	11
Island 2	509084	514818	5734	8
Island 3	596350	611163	14813	26
Island 4	615145	645952	30807	39
Island 5	720638	724799	4161	6
Island 6	1184317	1190581	6264	11
Island 7	1512093	1516228	4135	7
Island 8	1732796	1737962	5166	8
Island 9	1841511	1854017	12506	23
Island 10	3352044	3378255	26211	8
Island 11	3353982	3375384	21402	4

logenetic clustering which was performed using the TYGS service, *B. velezensis* ONU 553 is a close relative of *B. amyloliquefaciens* FZB42 (CP000560.2) (fig. 2).

According to the recommended threshold values of OrthoANI [13], the obtained results confirm the relatedness of the genomes of *Bacillus velezensis* ONU 553 and *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 (98.87%)

Gene clusters of secondary metabolites in the genome of *Bacillus velezensis* ONU 553

Gene clusters associated with the biosynthesis of secondary metabolites in the genome of *B. velezensis* ONU 553 were determined by using the antiSMASH tool [14]. Among 12 clusters, four non-ribosomal peptide synthetases (NRPS), polyketide synthases (PKS), hybrid clusters of NRPS/PKS and terpenes were detected (Table 3). The generalized results of the analysis of the organization of the determined clusters of genes associated with biosynthesis are shown in figure 3.

Further analysis revealed that cluster 11 is a novel NRPS gene cluster that consists of two genes and has a total size of 59997 bp. In general, the protein products of these genes contained 18 functional domains; four condensation domains (C), five adenylation domains (A), five peptidyl carrier protein (CP) domains, one epimerization domain (E), one coenzyme A ligase (CAL) domain, and one special TIGR01720 domain with unknown function. This cluster showed no similarity to any known biosynthesis gene clusters. It was predicted that cluster 11 could biosynthesize a key structure with amino acids (Cys–Ala–X–Asn–D–Asn) (Fig. 4).

Identified secondary metabolites include surfactin (cluster 1, Table 3, Fig. 3), which is a bacterial cyclic lipopeptide and exhibits such effective characteristics as antibacterial, antiviral, antifungal, and hemolytic activity [19].

Cluster 5 encodes an atypical polyketide-nonribosomal peptide synthase, which could be potentially related to the synthesis of a new antibiotic of the bacil-



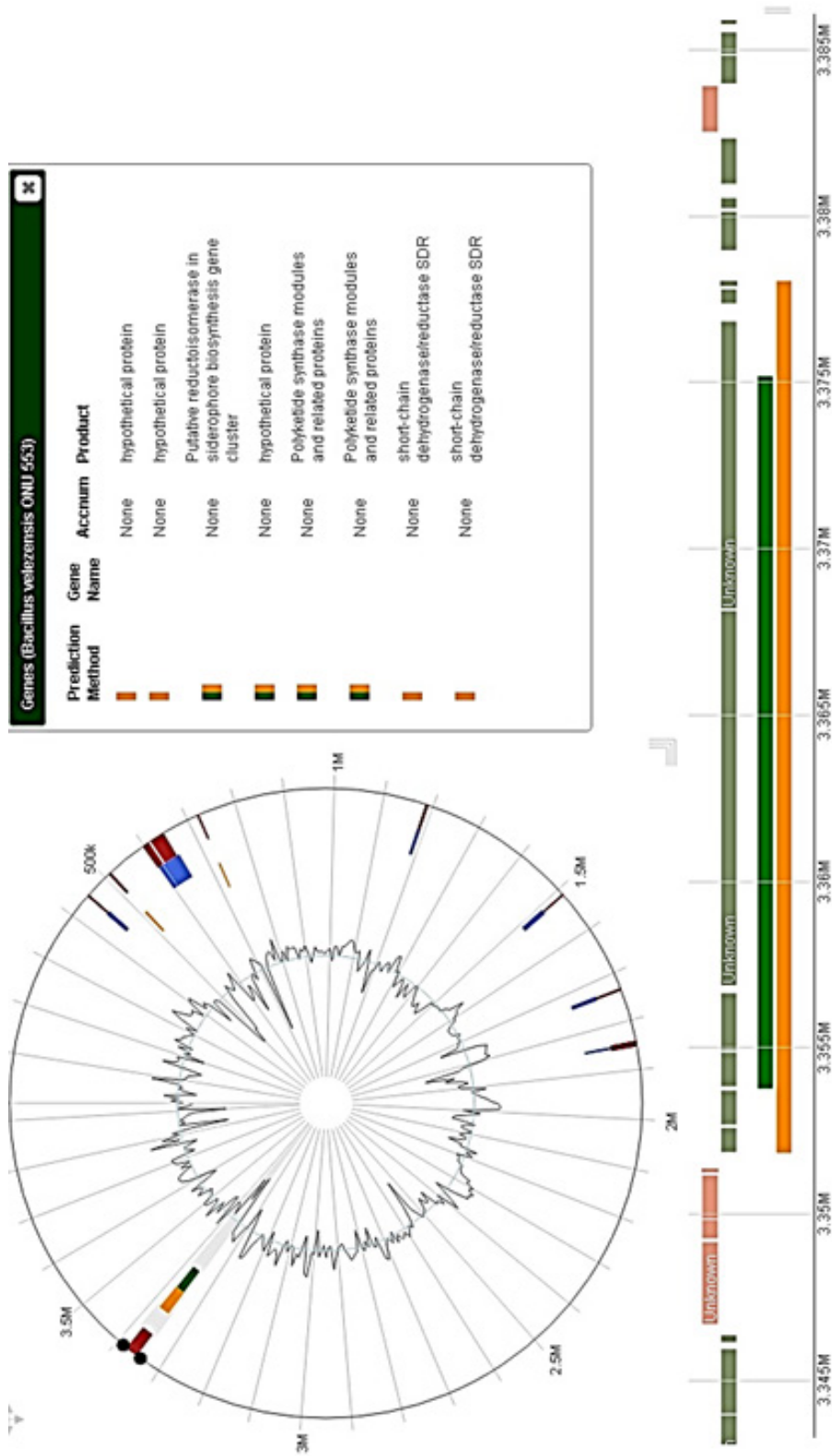


Fig. 1. The result of searching for CpG- islands in the genome of *Bacillus velezensis* ONU 553 using the IslandViewer 4 server

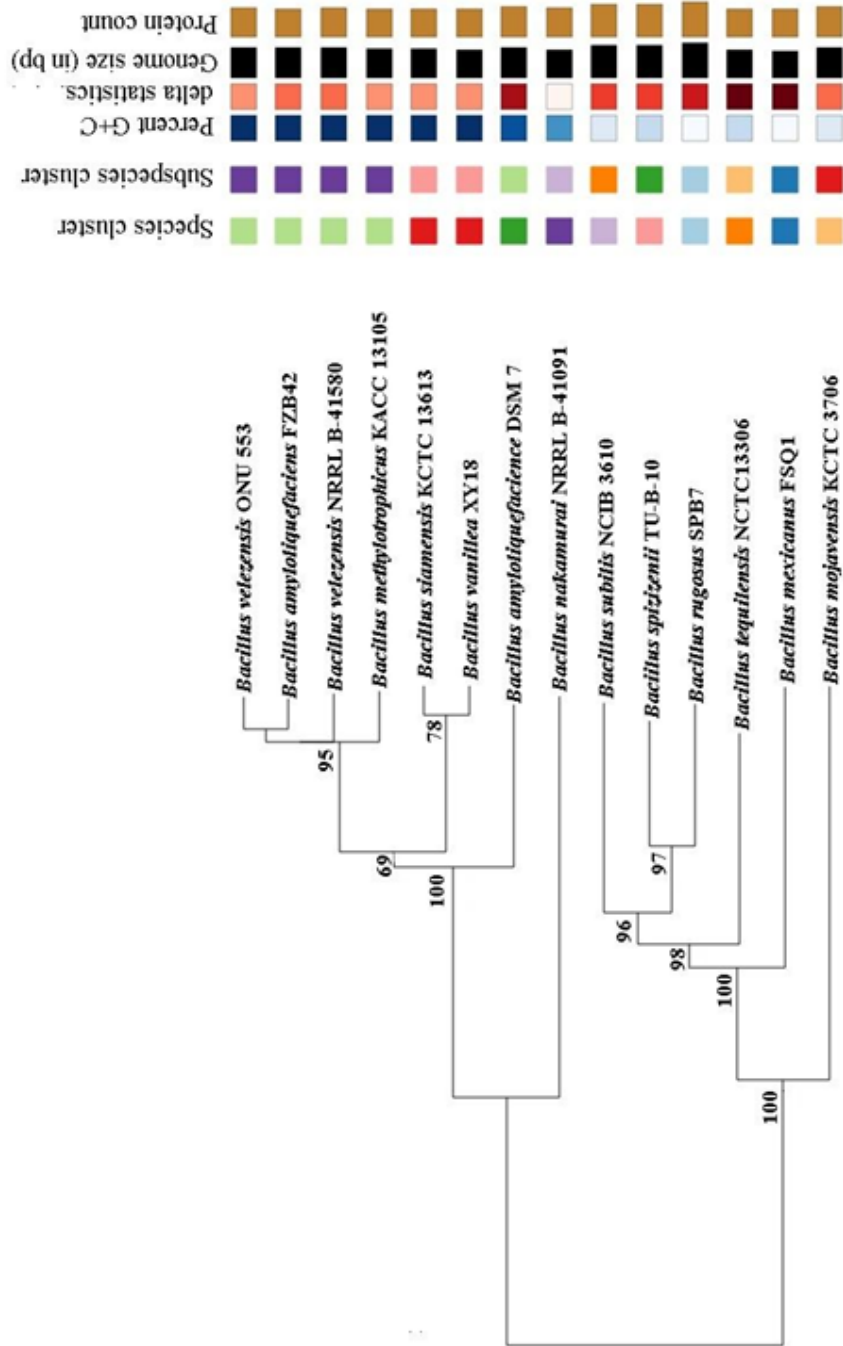


Fig. 2. Phylogenetic position of *Bacillus velezensis* ONU 553
 Phylogenetic tree constructed using the TYGS service. GBDP (Genome BLAST Distance Phylogeny) genomic distances were estimated based on genome sequences. Branch lengths were scaled using the d5 formula for the GBDP distance. Values from 100 GBDP pseudobootstrap replicates are shown by numbers above branches



Table 3

Gene clusters associated with the synthesis of secondary metabolites (BGC) in *Bacillus velezensis* ONU 553 (according to the results of analysis in antiSMASH)

Cluster	Type	Size (bp)	Most similar known cluster	Similarity (%)
1	NRPS (Nonribosomal peptide synthetase)	64858	Surfactin	91
2	PKS-like (Polyketide synthase)	41244	Butyrosin A/Butyrosin B	7
3	terpene (Terpenoid synthesis enzymes)	17168	Non identified	
4	transAT-PKS (Trans AT-polyketide synthase)	87819	Macrolactin	100
5	transAT-PKS/NRPS (Combined nonribosomal peptide synthetase /Trans AT-polyketidesynthase)	109203	Bacillaene	100
6	NRPS (Nonribosomal peptide synthetase)	137117	Fengycin	100
7	terpene (Terpenoid synthesis enzymes)	21883	Non identified	
8	T3PKS (Polyketidesynthase III type)	41100	Non identified	
9	transAT-PKS (Trans AT-tranferase)	106173	Difficidin	100
10	NRPS (Nonribosomal peptide synthetase)	511152	Bacillibacin	100
11	NRPS (Nonribosomal peptide synthetase)	59996	Non identified	
12	other	41418	Bacilysin	100

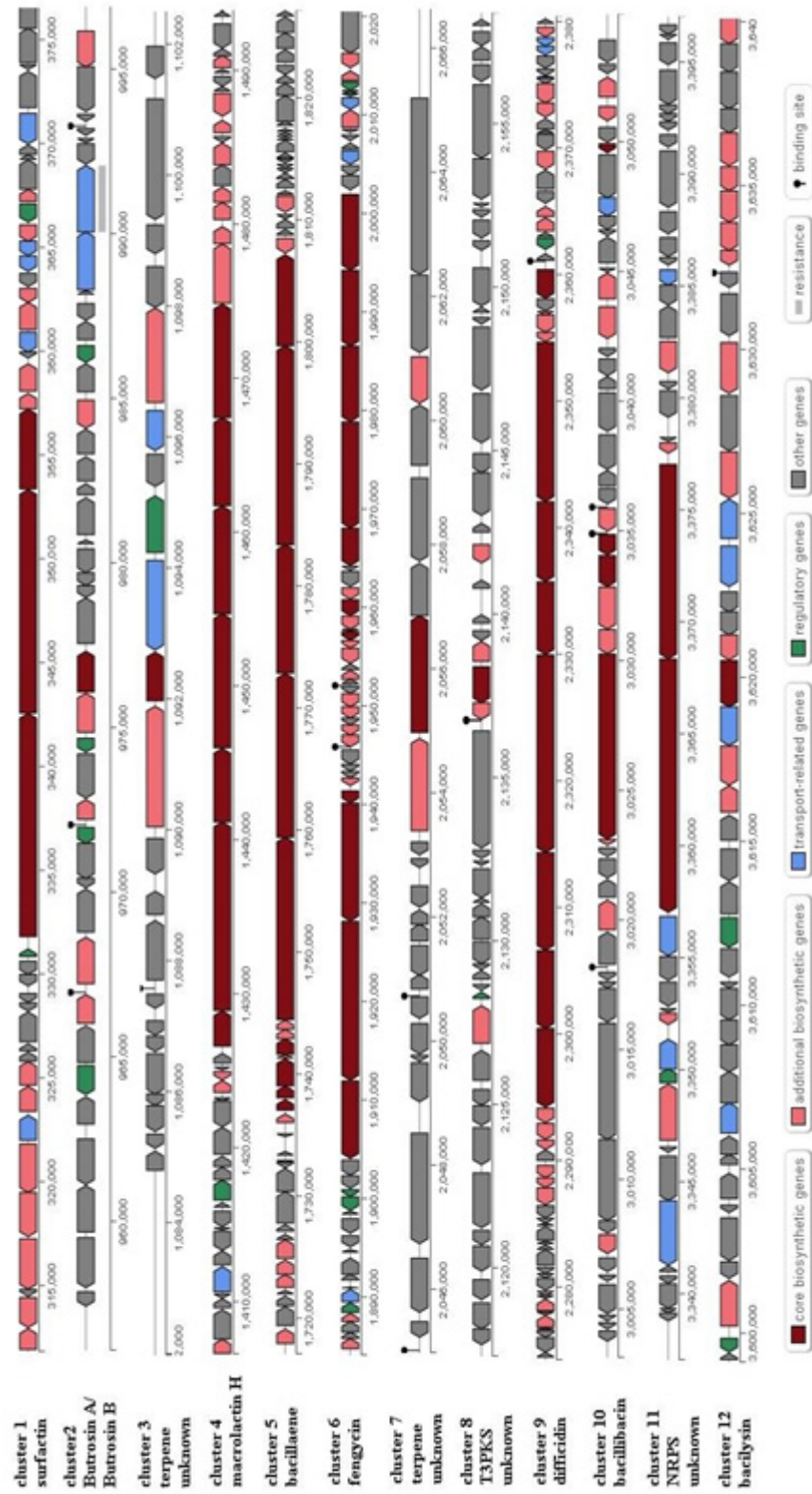


Fig. 3. Biosynthetic gene clusters associated with the biosynthesis of secondary metabolites (BGC) of the strain *Bacillus velezensis* ONU 553 were detected using antiSMASH



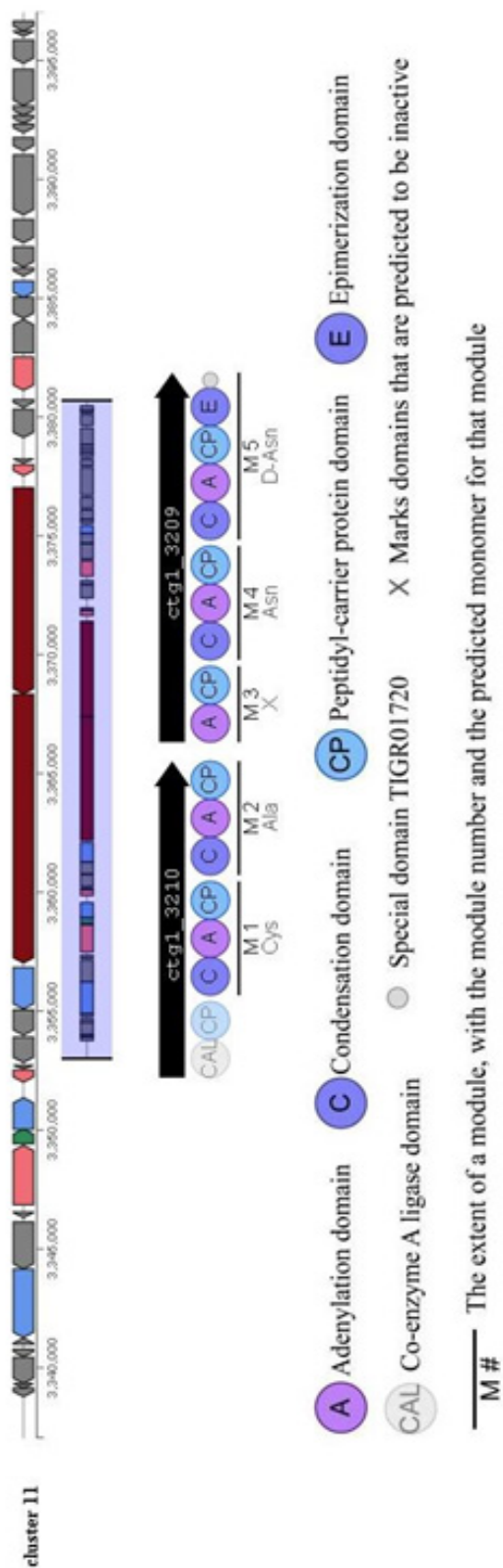


Fig. 4. The structure of the NRPS gene cluster (region 11) identified in the genome of *Bacillus velezensis* ONU 553

laene series. The last is a polyene antibiotic first discovered in *B. subtilis* and largely uncharacterized due to its notorious instability [5]. It is known that the effect of bacillaene is to disrupt protein synthesis, the mechanism of which is still unclear. It is noteworthy that recently an almost identical cluster of genes was described for *B. amyloliquefaciens* FZB42 [24] (Table 3, Fig. 3).

The next potential product of the identified genes is the cyclic lipopeptide fengycin, which specific activity against *Fusarium graminearum*, *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* and *Pythium aphanidermatum* [9; 17; 19]. According to the results of bioinformatic clustering, the corresponding fengycin gene was determined in cluster 6 (table 3, fig. 3).

Another important cluster was the cluster of bacillibactin biosynthesis genes (cluster 10), which is a catecholamide siderophore that exhibits fungicidal and non-specific antibacterial effects [5].

Two transAT-PKS clusters united genes potentially encoding derivatives of macrolactin (cluster 4) and difficidin (cluster 9). The first is a large group of macrolide antibiotics which according to their chemical structure are 24-membered lactonides of the b-ring type, first found in marine strains *B. amyloliquefaciens* [10]. A potential marker product of cluster 9 – difficidin causes suppression of the expression of genes that are responsible for the virulence of cell division and the synthesis of proteins and cell walls in representatives of *Xanthomonas* [24].

Two clusters of biosynthesis of secondary metabolites, combined genes potentially associated with the production of RiPPs (ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides) and (unmodified) bacteriocins, which were previously found in the genome of *B. velezensis* ONU 553 using the BAGEL4 web service. According to our results, the first cluster encodes bacteriocin AOI_1, homologous to amylocyclin, which is produced by *B. velezensis* strain FZB42 [24]. The sequence of the gene encoding the specified bacteriocin belongs to cluster 10. Correspondence to the structure of this cluster is confirmed by data from the MIBig resource (<https://mibig.secondarymetabolites.org/repository/BGC0000616/index.html#r1c1>) (fig. 5).

However, while the reconstruction of the phylogenetic tree was held based on the found bark protein homologues, we obtained results that indicate that bacteriocin AOI_1 of *B. velezensis* ONU 533 strain shows a more pronounced homology to the "uberolysin/carnocyclin" type (fig. 6).

However, when reconstructing the phylogenetic tree based on the found homologues of the cortical protein, we obtained results that indicate that bacteriocin AOI_1 of the strain *B. velezensis* ONU 533 is closer to the uberolysin/carnocyclin type (fig. 6).

It should be noted that circular bacteriocins, which make up a group of ribosomally synthesized antimicrobial peptides and are interesting as a new promising class of antibiotics [6; 7]. Circular bacteriocins are synthesized as linear precursor proteins containing a leader peptide that is excised during maturation. According to the classification of gram-positive bacteriocins, ring bacteriocins are considered unmodified class II peptides and often belong to subclasses IIc and II d [3; 8].

The second sequence of bacteriocin AOI_2 in the genome of *B. velezensis* ONU 533 was identified as a cationic antimicrobial peptide LCI whose gene is lo-



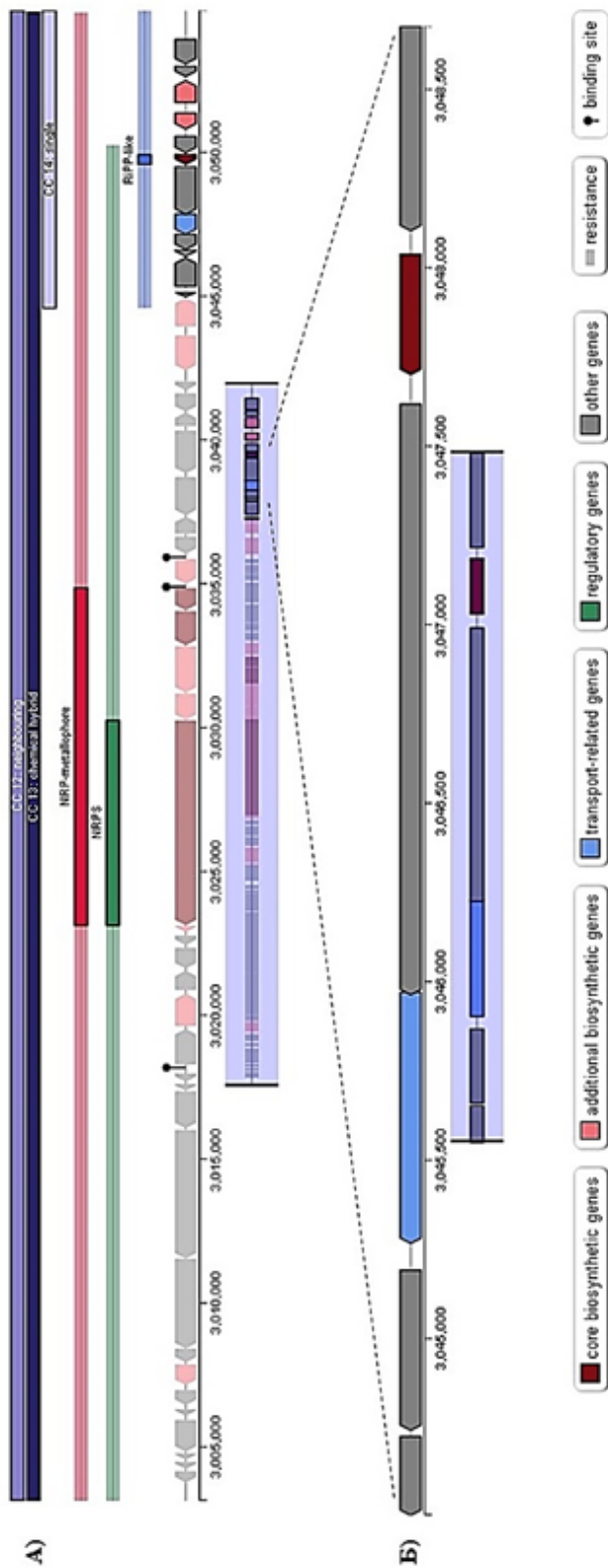


Fig. 5. Comparative structure of cluster 11 identified using the antiSMASH version 7.0.0 server (A) and in the MIBig biological database (B) in the genome of *Bacillus velezensis* strain ONU 533

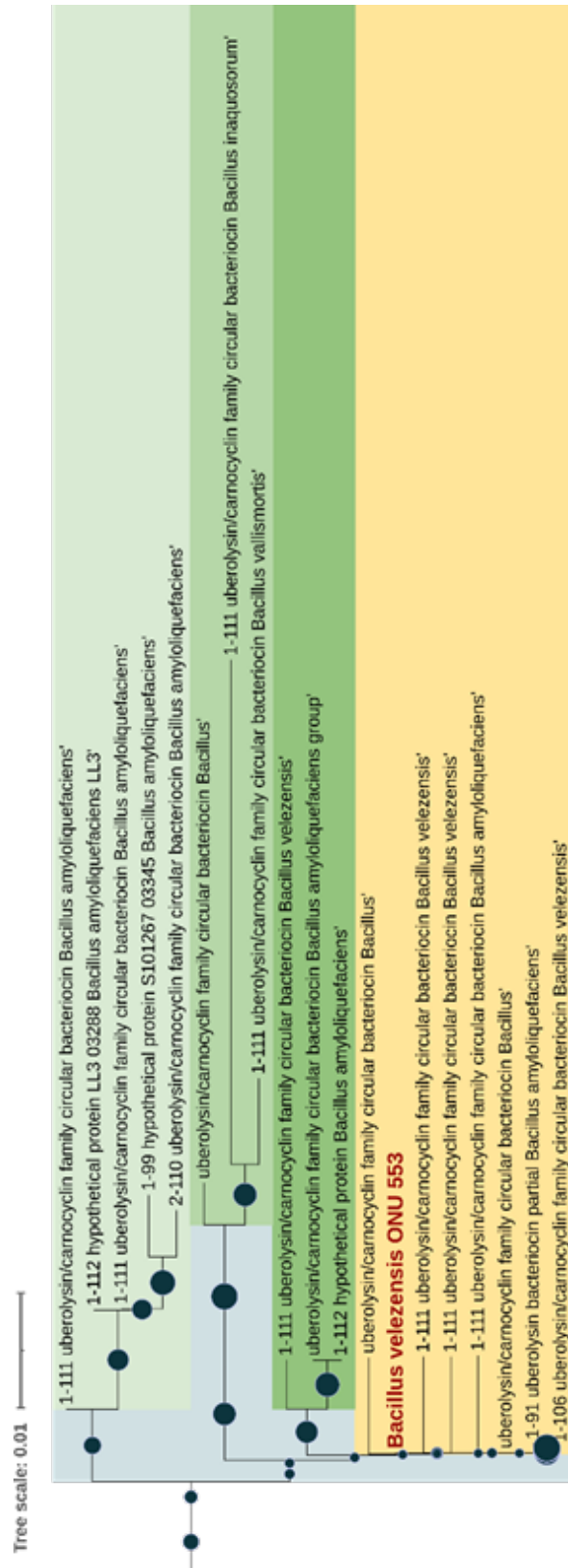


Fig. 6. Phylogenetic tree of bacteriocin AOI_1 found in the genome of *Bacillus velezensis* strain ONU 533



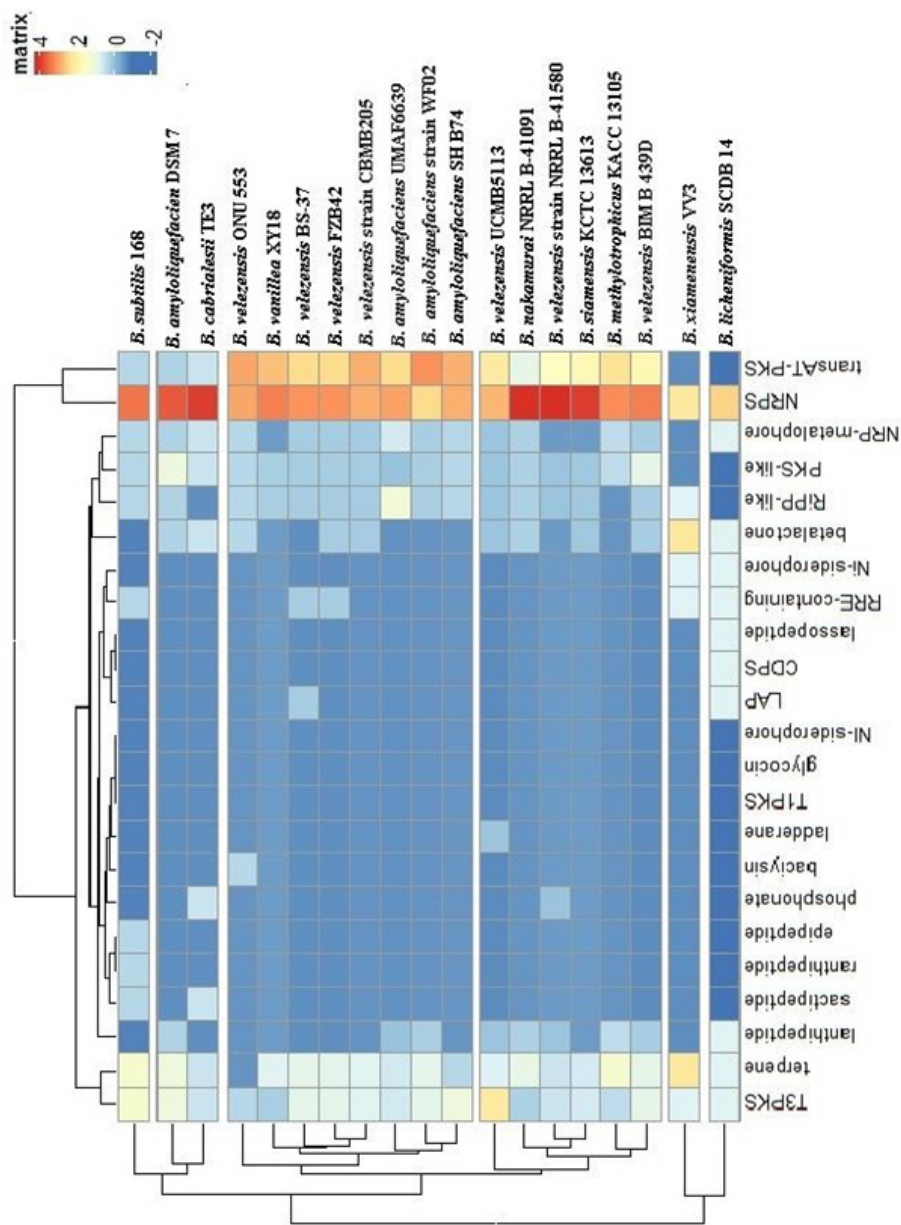


Fig. 7. A heat map that reproduces the identity matrix between the composition of biosynthetic gene clusters (BGC) detected by AntiSMASH in the genomes of the most closely related strains to *Bacillus velezensis* ONU 553

cated in the genome from 290078 nucleotides to 310213 nucleotides. It should be noted that the antiSMASH tool did not identify this specified bacteriocin isotype. Also, the corresponding homologues were absent in the MIBig database. However, blastp confirmed 93.48% sequence identity of bacteriocin AOI_2 with the cationic antimicrobial peptide LCI from *B. subtilis*, which exhibits potent antimicrobial activity against *Xanthomonas campestris* and *Pseudomonas solanacearum* [18].

With the aim to compare the structure and number of BGCs in *B. velezensis* ONU 553 with other representatives of the *Bacillus* family, a heat map was constructed (Fig. 7). For greater reliability of the analysis results, the test group included not only strains of the first (target) clade (Fig. 2), but also other strains that were determined to be the most closely related: *B. velezensis* strain BS-37 (NZ_CP023414.1), *B. cabrialesii* strain TE3 (NZ_CP096889.1), *B. subtilis* subsp. *subtilis* str. 168 (NC_000964.3), *B. xiamenensis* B. VV3 (NZ_CP017786.1), *B. licheniformis* strain SCDB 14 (NZ_CP014842.1), *B. amyloliquefaciens* UMAF6639 (NZ_CP006058.1), *B. velezensis* strain BIM B-439D (NZ_CP032144.1), *B. velezensis* UCMB5113 (NC_022081.1), *B. amyloliquefaciens* strain SH-B74 (NZ_CP030097.1), *B. amyloliquefaciens* strain WF02 (NZ_CP053376.1), *B. velezensis* strain CBMB205 (NZ_CP011937.1), *B. nakamurai* strain NRRL B-41091 (NZ_LSAZ00000000.1).

Summarizing the results of the analysis of the control group and comparing the obtained data with the results of the analysis for *B. velezensis* ONU 553, it was concluded that for the organization of biosynthesis gene clusters (BGC), the target strain belongs to a common group with *B. amyloliquefaciens* strain SH-B74, *B. velezensis* strains FZB42, BS-37 and UCMB5113, as well as *B. amyloliquefaciens* strains UMAF6639. These species are distinguished by a large number of NRPS, transAT-PKS and T3PKS (Fig. 7).

Thus, according to the results of bioinformatics analysis, the presence of gene clusters of secondary metabolites responsible for the synthesis of surfactins, polyene antibiotics, antimicrobial peptides, macrolide antibiotics and bacteriocins in the genome of *B. velezensis* ONU 553 was shown in the genome of *Bacillus velezensis* ONU 553, as well as a new cluster of secondary metabolite genes (region 11) was discovered. The obtained results indicate that *B. velezensis* strain is a promising object for further implementation in the field of "Blue Biotechnology" as a promising producer of new drugs with antimicrobial and antifungal activity.



Н.Ю. Васильєва, М.О. Кішинська, М.Д. Штеніков

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
65058 вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна
e-mail: tatkamic@onu.edu.ua

АНАЛІЗ КЛАСТЕРІВ БІОСИНТЕТИЧНИХ ГЕНІВ *BACILLUS VELEZENSIS* ONU 553 IN SILICO

Реферат

Метою роботи був аналіз кластерів генів асоційованих з біосинтезом вторинних метаболітів (*BGC*) *Bacillus velezensis* ONU 553 з використанням біоінформатичних методів. **Методи.** Ідентифікацію виду проводили з використанням сервера *TyGS*; для розрахунку *ANI* (*Average Nucleotide Identity*) використовували *EzBioCloud*. Аналіз наявності кластерів генів, бактеріоцинів проводили за допомогою *antiSMASH*, *Bagel4*, відповідно. **Результати.** Показано, що за результатами ідентифікації, філогенетичного аналізу та ДНК-ДНК-гібридизації (*DDH*), проведеної *in silico* штаму *Bacillus velezensis* ONU 553 відноситься до оперативної групи *B. atyloliquefaciens* (*OGBa*). В геномі дослідженого штаму виявлені послідовності, що ідентифіковані як можливі фази та *CrG*-острівки. Ідентифіковано 12 кластерів біосинтетичних генів (*BGC*) з використанням інструменту *antiSMASH*. Визначено кластер нового метаболіту (регіон 11). Показана наявність двох кластерів генів бактеріоцинів в геномі *Bacillus velezensis* ONU 553, які на підставі гомології корового гена віднесені до *iberolysin/carnosuclin* та антимікробного пептиду *LCl*. **Висновки.** Підтверджена належність *Bacillus velezensis* ONU 553 до групи *B. atyloliquefaciens* (*OGBa*). Визначені кластери генів, які відповідають за синтез сурфактинів, поліснєвих антибіотиків, антимікробних пептидів, макролідних антибіотиків та бактеріоцинів. Отримані результати свідчать, що *B. velezensis* ONU 553 є перспективним для використання в галузі «Блакитної біотехнології» для розробки нових препаратів з антимікробною та антифунгіційною активністю.

Ключові слова: *Bacillus velezensis*, кластери генів, біоінформатичний аналіз

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Arndt D., Grant J.R., Marcu A., Sajed T., Pon A., Liang Y., Wishart D.S. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool// *Nucleic Acids Res.* – 2016. – V. 44(1). – P. 16–21.
2. Baharum S.N., Beng E.K., Mokhtar M.A. A Marine Microorganisms: Potential Application and Challenges // *Journal of Biological Sciences.* – 2010. – V. 10. – P. 555–564.
3. Bédard F., Biron E. Recent progress in the chemical synthesis of class II and S-glycosylated bacteriocins // *Front Microbiol.* – 2018. – V. 9. – P. 1–4.
4. Blin K., Shaw S., Augustijn H.E., Reitz Z.L., Biermann F., Alanjary M., Fetter A., Terlouw B.R., Metcalf W.W., Helfrich E.J.N., van Wezel G.P., Medema M.H., Webber T. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for



- detection, regulation, chemical structures and visualization // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – V. 5(51). P. 46–50.
5. Chakraborty K., Kizhakkekalam V.K., Joy M., Chakraborty R.D. Bacillibactin class of siderophore antibiotics from a marine symbiotic *Bacillus* as promising antibacterial agents // *Appl Microbiol Biotechnol*. –2022 . – V. 106(1). P. 329–340.
 6. Cotter P.D., Hill C., Ross R.P. Bacteriocins: developing innate immunity for food // *Nat Rev Microbiol*. – 2005. – V. 3. – P. 777–788.
 7. Field D., Ross R.P., Hil C. Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives // *Curr Opin Food Sci*. – 2018. – V. 20. – P. 1–6.
 8. Gabrielsen C., Brede D.A., Nes I.F. Circular bacteriocins: biosynthesis and mode of action // *Appl Environ Microbiol*. – 2014. – V. 80. – P. 6854–6862.
 9. Guo S., Zhang J.W., Dong L.H., Li X., Asif M., Guo Q.G., Jiang W.J., Ma P., Zhang L.Q. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* NCD-2 is involved in suppression of clubroot on Chinese cabbage//*Biol Control*. – 2019. – V. 136. – Article 104001.
 10. He S., Wang H., Yan X., Zhu P., Chen J., Yang R. Preparative isolation and purification of macrolactin antibiotics from marine bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* using high-speed counter-current chromatography in stepwise elution mode // *J. Chromatogr. A*. – 2013. – V. 1272. – P. 15–19.
 11. Holland B.R., Huber K.T., Dress A., Moulton V. Delta plots: A tool for analyzing phylogenetic distance data // *Mol. Biol. Evol*. – 2002. – V. 19. –P. 2051–2059.
 12. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms // *Mol Biol Evol*. – 2018. – V. 35(6). – P. 1547–1549.
 13. Lee I., Kim Y.O., Park S.C., Chun J. OrthoANI: an improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity // *Int J Syst Evol Microbiol*. – 2016. – V. 66. – P. 1100–1103.
 14. Medema M.H., Blin K., Cimermancic P., De Jager V., Zakrzewski P., Fischbach M.A., Weber T., Takano E., Breitling R. antiSMASH: Rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences // *Nucleic Acids Res*. – 2011. – V. 39. – P. 339–346.
 15. Meier-Kolthoff J.P., Göker M. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy // *Nat. Commun*. – 2019. – V. 10.– Artical: 2182.
 16. Ngalamat M.S., Yahaya R.S.R., Baharudin M.M.A., Yaminudin S.M., Karim M, Ahmad S.A., Sabri S. A. Review on the Biotechnological Applications of the Operational Group *Bacillus amyloliquefaciens* // *Microorganisms*. – 2021. – V. 9(3). – Article 614.
 17. Roy A., Mahata D., Paul D., Korpole S., Franco O.L., Mandal S.M. Purification, biochemical characterization and self-assembled structure of a fengycin-like antifungal peptide from *Bacillus thuringiensis* strain SM1 // *Front Microbiol*. – 2013. – V. 21(4). – Artical: 332.



18. Saikia K., Belwal V.K., Datta D., Chaudhary N. Aromatic-rich C-terminal region of LCI is a potent antimicrobial peptide in itself // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2019. – V. 519, Issue 2. – P. 372–377.
19. Scholz R., Vater J., Budiharjo A., Wang Z., He Y., Dietel K., Schwecke T., Herfort S., Lasch P., Borriss R. Amylocyclicin, a novel circular bacteriocin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 // J. Bacteriol. – 2014. – V. 196. – P. 1842–1852.
20. Shtenikov M.D., Ostapchuk A.M., Vasylieva N.Y., Luzhetskyy A.M., Rückert C., Kalinowski J., Ivanytsia V.O. Characteristics of genome of *Bacillus velezensis* ONU 553 strain isolated from the bottom sediments of the Black Sea // Mikrobiol. Z. – 2020. – V. 82(3). – P. 14–21.
21. Straight P.D., Fischbach M.A., Walsh C.T., Rudner D.Z., Kolter R. A singular enzymatic megacomplex from *Bacillus subtilis* // Proc Natl Acad Sci USA. – 2007. – V. 104. – P. 305–310.
22. van Heel A.J., Jong A. de, Song C., Viel J.H., Kok J., Kuipers O.P. BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins // Nucleic Acids Research. – 2018. – V. 46(W1). – P. 278–281.
23. Wattam A.R., Brettin T., Davis J.J., Gerdes S., Kenyon R., Machi D. Assembly, Annotation, and Comparative Genomics in PATRIC, the All Bacterial Bioinformatics Resource Center. In: Comparative Genomics. Methods Mol Biol. – New York: Humana Press. – 2018. – P. 79–101.
24. Wu L., Wu H., Chen L., Yu X., Borriss R., Gao X. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens // SCI Rep-UK. – 2015. – V. 5. – P. 129–135.
25. Xiao S., Chen N., Chai Z., Zhou M., Xiao C., Zhao S., Yang X. Secondary metabolites from marine-derived *Bacillus*: a comprehensive review of origins, structures, and bioactivities // Mar. Drugs. – 2022. – V. 20(9). – Article:567.
26. Yoon S.H., Ha S.M., Kwon S., Lim J., Kim Y., Seo H., Chun J. Introducing Ez-BioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies // Int J Syst Evol Microbiol. – 2017. – V. 67(5). – P. 1613–1617.
27. Zhang D., Gao Y., Wang Y., Liu C., Shi C. Advances in taxonomy, antagonistic function and application of *Bacillus velezensis* // Microbiol. China. – 2020. – V. 47. – P. 3634–3649.

REFERENCES

1. Arndt D, Grant JR, Marcu A, Sajed T, Pon A, Liang Y, Wishart DS, et al. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44(1):16-21.
2. Baharum SN, Beng EK, Mokhtar MAA. Marine Microorganisms: Potential Application and Challenges. *Journal of Biological Sciences.* 2010; 10: 555-564.
3. Bédard F, Biron E. Recent progress in the chemical synthesis of class II and S-glycosylated bacteriocins. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1-4.
4. Blin K, Shaw S, Augustijn HE., Reitz ZL, Biermann F, Alanjary M, Fetter A, Terlouw BR, Metcalf WW, Helfrich EJM, van Wezel GP, Medema MH,



- Webber T. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualization. *Nucleic Acids Research*. 2023; gkad344.
5. Chakraborty K, Kizhakkekalam VK, Joy M, Chakraborty RD. Bacillibactin class of siderophore antibiotics from a marine symbiotic *Bacillus* as promising antibacterial agents. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2022;106(1):329-340.
 6. Cotter PD, Hill C, Ross RP. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol*. 2005; 3: 777-788.
 7. Field D, Ross RP, Hill C. Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives. *Curr Opin Food Sci*. 2018; 20: 1-6.
 8. Gabrielsen C, Brede DA, Nes IF. Circular bacteriocins: biosynthesis and mode of action. *Appl Environ Microbiol*. 2014; 80: 6854-6862.
 9. Guo S, Zhang JW, Dong L.H, Li X, Asif M, Guo Q.G, Jiang WJ, Ma P, Zhang LQ. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* NCD-2 is involved in suppression of clubroot on Chinese cabbage. *Biol Control*. 2019; 136: Article 104001.
 10. He S, Wang H, Yan X, Zhu P, Chen J, Yang R. Preparative isolation and purification of macrolactin antibiotics from marine bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* using high-speed counter-current chromatography in stepwise elution mode. *J. Chromatogr. A*. 2013; 1272: 15-19.
 11. Holland BR, Huber KT, Dress A, Moulton V. Delta plots: A tool for analyzing phylogenetic distance data. *Mol. Biol. Evol*. 2002; 19: 2051-2059.
 12. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol*. 2018; 35(6): 1547-1549.
 13. Lee I, Kim YO, Park SC, Chun J. OrthoANI: an improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016; 66: 1100-1103
 14. Medema MH, Blin K, Cimermancic P, De Jager V, Zakrzewski P, Fischbach MA, Weber T, Takano E, Breitling R. antiSMASH: Rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Res*. 2011; 39:339-346.
 15. Meier-Kolthoff JP, Göker M. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. *Nat Commun*. 2019;10(1):1-10.
 16. Ngalimat MS, Yahaya RSR, Baharudin MMA, Yaminudin S., Karim M, Ahmad SA, Sabri SA. Review on the Biotechnological Applications of the Operational Group *Bacillus amyloliquefaciens*. *Microorganisms*. 2021; 9(3): Article 614.
 17. Roy A, Mahata D, Paul D, Korpole S, Franco OL, Mandal SM. Purification, biochemical characterization and self-assembled structure of a fengycin-like antifungal peptide from *Bacillus thuringiensis* strain SM1. *Front Microbiol*. 2013; 21(4):artical:332.
 18. Saikia K, Belwal VK, Datta D, Chaudhary N. Aromatic-rich C-terminal region of LCI is a potent antimicrobial peptide in itself . *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2019; 519(2): 372-377.



19. Scholz R, Vater J, Budiharjo A, Wang Z, He Y, Dietel K, Schwecke T, Herfort S, Lasch P, Borriss R. Amylocyclicin, a novel circular bacteriocin produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J. Bacteriol.* 2014; 196: 1842-1852.
20. Shtenikov MD, Ostapchuk AM, Vasylieva NY, Luzhetskyy AM, Rückert C, Kalinowski J, Ivanytsia, VO. Characteristics of genome of *Bacillus velezensis* ONU 553 strain isolated from the bottom sediments of the Black Sea. *Mikrobiol. Z.* 2020; 82(3):14-21.
21. Straight PD, Fischbach MA, Walsh CT, Rudner DZ, Kolter R. A singular enzymatic megacomplex from *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104: 305–310.
22. van Heel A J, Jong Ade, Song C, Viel JH, Kok J, Kuipers O P, BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins. *Nucleic Acids Research.* 2018; 46(W1): 278-281.
23. Wattam AR, Brettin T, Davis JJ, Gerdes S, Kenyon R, Machi D. Assembly, Annotation, and Comparative Genomics in PATRIC, the All Bacterial Bioinformatics Resource Center. *Comparative Genomics. Methods Mol Biol.* – New York: Humana Press. 2018: 79-101.
24. Wu L, Wu H, Chen L, Yu X, Borriss R, Gao X. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens. *SCI Rep-UK.* 2015; 5: 129-135.
25. Xiao S, Chen N, Chai Z, Zhou M, Xiao C, Zhao S, Yang X. Secondary metabolites from marine-derived *Bacillus*: a comprehensive review of origins, structures, and bioactivities. *Mar. Drugs.* 2022; 20(9): artical: 567.
26. Yoon SH, Ha SM, Lim J, Kwon S, Chun JA. large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017;110: 1281-1286.
27. Zhang D, Gao Y, Wang Y, Liu C, Shi C. Advances in taxonomy, antagonistic function and application of *Bacillus velezensis*. *Microbiol. China* . 2020; 47: 3634-3649.

Стаття надійшла до редакції 08.04.24 р.



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

Науковий журнал «Мікробіологія і біотехнологія» запрошує Вас до співпраці з питань висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології і біотехнології.

Програмні цілі видання: висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології та біотехнології, об'єктами яких є прокаріотні (бактерії, архебактерії), еукаріотні (мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші) мікроорганізми та віруси.

Тематична спрямованість: мікробіологія, вірусологія, імунологія, молекулярна біотехнологія, створення та селекція нових штамів мікроорганізмів, мікробні препарати, антимікробні засоби, біосенсори, діагностикуми, мікробні технології в сільському господарстві, мікробні технології у харчовій промисловості; захист та оздоровлення навколишнього середовища; отримання енергоносіїв та нових матеріалів тощо.

Мова (мови) видання: українська, англійська.

Рубрики журналу: «Оглядові та теоретичні статті», «Експериментальні праці», «Дискусії», «Короткі повідомлення», «Хроніка наукового життя», «Сторінки історії», «Ювілеї і дати», «Рецензії», «Книжкова полиця».

До статті додається рекомендація установ, організацій, у яких виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівників установ, організацій, де працюють автори.

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і, відповідно до п. 3 Постанови ВАК України від 15.01.2003 р. №7-5/1, включати такі структурні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які опирається автор; виокремлення раніше не вирішених частин загальної проблеми, котрим присвячується стаття; формулювання мети статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших пошуків у даному напрямі.

До друку приймаються рукописи (2 примірники) обсягом до 18 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату, списку літератури), огляди – до 30 стор., рецензії – до 3 стор., короткі повідомлення – до 2 стор. Відхилені рукописи не повертаються.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, інтервал автоматичний, не більше 30 рядків на сторінці, поля по 2 см).

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

- індекс УДК у лівому верхньому кутку першого аркуша;
- Реферат мовою оригіналу статті:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів);
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);



- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти).

- Реферат англійською мовою:

- назва статті великими літерами;
- прізвища та ініціали автора (авторів), транслітерація;
- місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);
- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти);

- Повний текст статті мовою оригіналу.

Текст статті має включати такі складові:

вступ; матеріали і методи; результати та їх обговорення; висновки; список використаної літератури мовою оригіналу цитованої статті, список використаної літератури (Referens) англійською мовою (за вимоги міжнародних наукометричних баз).

До кожного примірника статті додається реферат мовою оригіналу статті та українською/англійською мовою.

Враховуючи, що реферат відображає основний зміст статті і використовується в інформаційних, в тому числі автоматизованих системах для пошуку документів та інформації, необхідно дотримуватися певних вимог при його написанні:

- реферат має бути інформативним (не містити зайвих слів);
- структурованим, тобто містити розділи: мета; методи, що використані в роботі та/або методологія проведення досліджень; результати та сфера їх застосування; висновки;
- англійська версія реферату має бути написана якісною англійською мовою (за потреби доцільно користуватися послугами кваліфікованих спеціалістів-лінгвістів з подальшим науковим редагуванням тексту автором), з використанням термінології, яка використовується в англійськомовних медикобіологічних журналах, уникати використання термінів, які є прямою українською/російською калькою;
- компактним (200–250 слів);
- ключові слова (не більше 5-ти) розміщуються з абзацу після реферату.

У кінці тексту статті указати прізвища, імена та по-батькові усіх авторів, поштову адресу, телефон, факс, e-mail (для кореспонденції).

Стаття має бути підписана автором (усіма авторами) з зазначенням дати на останній сторінці.

Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, особливо за правильну наукову термінологію (її слід звіряти з фаховими термінологічними словниками).

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.



Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то абревіатури за першого вживання обумовлюють у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером у списку літератури.

Розділ «Матеріали і методи»:

- Методи дослідження та схеми експерименту мають бути представлені так, щоб їх можна було відтворити.
- Для використаних реактивів та матеріалів вказати назву компанії та країни-виробника.
- Одиниці вимірювання вказати в системі СІ.
- Концентрацію розчинів представляти в М, мМ, мкМ (молярна концентрація).
- Молекулярну масу (Мм) – Да (дальтони) або кДа.
- При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.
- Активність ферментів виражають в мкмольх використаного субстрату або утвореного продукту за 1 хв на 1 мг протеїну або використати стандартну одиницю активності U (IU) і катал (скорочено кат), питома активність ензиму виражається в ммольх/хв на 1 мг протеїну або в од.акт/мг, кат/кг.
- Вказати умови проведення ферментативної реакції (температура, рН, концентрація субстрату).
- Вказати використані методи статистичного аналізу, програму статистики.

Таблиці мають бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Матеріал таблиць (як і рисунків) має бути зрозумілим і не дублювати текст статті. Цифровий матеріал таблиць слід опрацювати статистично.

Рисунки виконуються у вигляді чітких креслень (за допомогою комп'ютерного графічного редактора у форматі Word, TIF, JPG). Осі координат на графіках мають бути позначені. Рисунки розміщуються у тексті статті.

До рисунків мають бути підписи не згруповані з ним і не вставлені в об'єкт рисунка.

Позначення на рисунку мають бути інтегровані в нього, тобто копіюватися разом з рисунком, а не окремими частинами.

Всі ілюстрації мають бути розміщені в файлі рукопису, також обов'язково додані до електронного варіанту у вигляді файлів формату JPEG.

Підписи, а також пояснення, примітки до таблиць та рисунків подаються мовою оригіналу та англійською мовою.

Розділ «Результати досліджень та їх обговорення» має бути написаний коротко: необхідно чітко викласти виявлені ефекти, показати причинно-результативні зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.



Список використаної літератури

1. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку кирилиця, потім латиниця). Якщо перший автор у декількох працях один і той самий, то праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань треба пронумерувати, а у тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках).

У посиланні пишуть прізвища усіх авторів. В експериментальних працях має бути не більше 15 посилань літературних джерел.

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

2. Список використаної літератури англійською мовою (Referens), за вимогами міжнародних наукометричних баз.

Стиль шрифту – NLM (National Library of Medicine).

Прізвища, імена та по-батькові авторів, назву цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) наводять послуговуючись безкоштовними сайтами (<http://www.easybib.com/>, <http://www.bibme.org/>, <http://www.sourceaid.com/>, <https://www.citethisforme.com/>), що дозволяють здійснити переклад з використанням однієї з міжнародних систем транслітерації.

Назви статей наводять англійською мовою.

Порядок подання посилань Referens (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури (список 1).

Зразки посилання літератури

Вимоги до оформлення бібліографічних посилань мовою оригіналу (в тому числі цитовані англомовні джерела)

На книги

Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.

Патика В. П., Тихонович І. А. Мікроорганізми і альтернативне землеробство. – К.: Урожай, 1993. – 176 с.

Промышленная микробиология / Под ред. Н. С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.

Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.; Т. 2. – 470 с.; – Т. 3. – 263 с.

Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 566 с.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. – 9th ed. – Baltimore; London, 1986. – Vol. 2. – 1599 p.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 1980. – 364 p.

На журнальні статті

Подгорский В. С. Систематическое положение, экологические аспекты и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов, имеющих промышленное значение // *Мікробіол. журн.* – 1998. – 60, № 5. – С. 27–42.

Андреюк Е. И., Козлова И. А., Рожанская А. М. Микробиологическая коррозия строительных материалов // *Биоповреждения в строительстве*. – М.: Стройиздат, 1984. – С. 209–221.



Глоба Л. І., Подорван Н. І. Біотехнологія очищення забрудненої природної води // Вісник ОНУ. – 2001. – т. 6, в. 4. – С. 65–67.

Eaton R. W., Ribbons D. V. Utilization of phthalate esters by micrococci // Arch. Microbiol. – 1982. – 132, № 2. – P. 185–188.

На тези доповідей

Мацелюх Б. П. Розробка біотехнології одержання ландоміцину Е // Міжнародна наук. конф. «Мікробні біотехнології» (Одеса, вересень, 2006 р.): тез. доп. – О.: «Астропринт», 2006. – С. 17.

На депоновані наукові роботи

1. Лопатина Н. В., Терентьев А. Н., Наталич Л. А., Янгулов Ш. У. Оптимизация питательной среды для культивирования вакцинного штамма чумного микроба с применением метода математического планирования эксперимента / Редкол. «Микробиол. журн.» – К., 1991. – 7 с. – Деп. в ВИНТИ 03.01.92, № 1-В92.

На стандарти

ГОСТ 20264.4-89. Препараты ферментные. Методы определения амилолитической активности. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 17 с.

На автореферати дисертацій

Онищенко О. М. Таксономія і антибіотична активність *Alteromonas*-подібних бактерій Чорного моря: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2003. – 21 с.

Зразки посилань літератури в романській абетці

References

Стиль шрифту для англomовного варіанту списку джерел – NLM (National Library of Medicine), зразок:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49–53.

Статті в журналах:

DeLong EF, Karl DM. Genomic perspectives in microbial oceanography. Nature. 2015;(437):336–342.

Klochkov VK, Kavok NS, Malyukin YuV. The effect of specific interaction of nanocrystals GdYVO₄:Eu³⁺ with cell nuclei. Dop Nats Akad Nauk Ukr. 2010;(10):81–86.

Книги:

Best RJ. Tomato spotted wilt virus. In: Advances Virus Res Eds Smith KM, Lauffer MA. Academic Press, New York, 1968:65–146.

Speissel B, Beahrs OH, Hermanek P, Hutter RVP, Scheibe O. TNM atlas: illustrated guide to the TNM. pTNM classification of malignant tumours. Berlin New York: Springer-Verlag. 1989. 12.

Sastry SK. Seed-borne plant virus diseases. India: Springer, 2013. 327 p.

Матеріали з'їздів, конференцій:

Dikova B, Djourmanski A, Lambev H. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study». Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit, 2013:36–45.



Yin R, Francis F, Bragard C, Liu Y, Chen J. Study on transmission efficiency of CMV transmitted by Myzus persicae from different places. In: Proceedings of 9th International Symposium on Aphids, Beijing, China. 2013:49–50.

Диссертационные работы:

Koreneva AA. Biological properties of medicinal plants viruses. PhD thesis, Taras Shevchenko National University of Kyiv, 2009: 22.

Сборники:

Dunich A, Mishchenko L. Heavy metals content in virus infected purple coneflower plants. Bull T Shevchenko Nat Univ Kyiv Ser Biol. 2013; 65(3):22–26.

Rose PI. Gelatin. In: Encyclopedia of polymer science and engineering Eds: Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G, Kroschwitz JI New York: Wiley; 1987;7, 2nd ed. 488–513.

Shrago MI, Guchok MM, Kalugin YuV. Some principles of direct synthesis of cryoprotectants. In: Current Problems of Cryobiology. Eds. Pushkar NS and Belous AM. Kiev: Naukova Dumka, 1981:157–201.

Патенти, заявки:

A.s. 4411066/14 SSSR, MBI G 01 N 33/50. A method of determining bile acids in biological fluids. Veselskiy SP, Lyashchenko PS, Лукьяненко IA. (SSSR). – N 1624322; zayavl. 25.01.1988; opubl. 30.01.1991, Byul. N 4.

Статті з електронних журналів:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49–53, available at: www.ascusc.org/jcmc/vol5/issue2/

За наявності в статті DOI (Digital Object Identifier), яка є міжнародним ISO стандартом (<http://www.doi.org/>), в списку літератури бажано вказати її ідентифікатор, наприклад:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49–53. Cited 2 times. doi: 10.1134/S1023193508080077

Датою надходження статті вважають день, коли до редколегії надійшов перший варіант тексту статті.

Після одержання коректури статті автор повинен виправити лише помилки і терміново відіслати статтю на адресу редколегії або повідомити про свої правки по телефону чи електронною поштою.

У разі затримки редакція, додержуючись графіка, залишає за собою право здати коректуру до друкарні (у виробництво) без авторських правок.

Підпис автора у кінці статті означає, що автор передає права на видання своєї статті редакції. Автор гарантує, що стаття оригінальна; ні стаття, ні рисунки до неї не були опубліковані в інших виданнях.



**АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК СТАТЕЙ,
ОПУБЛІКОВАНИХ У ЖУРНАЛІ
«МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛГІЯ»
У 2023 РОЦІ**

Автори	№ вип.	№ стор.
<i>Андрющенко О.В. див. Страшнова І.В.</i>	2	6
<i>Андрющенко О.В., Страшнова І.В.</i> Характеристика представників роду <i>Fusarium</i> , що викликають захворювання зернових культур	3	37
<i>Бурикiна С.І., Ужесвська С.П., Пиляк Н.В.</i> Метод оцінки нематоцидної ефективності біопрепарату на основі хижого гриба проти стеблової нематоди картоплі	3	14
<i>Галкін Б.М., Гладкій Т.В., Кириленко Н.А.</i> Вплив комбінованої фармакопрофілактики інфекційних хвороб на стан шлунково-кишкового тракту лабораторних щурів	2	30
<i>Галкін М.Б. див. Мартиненко С.А.</i>	3	6
<i>Галкін М.Б. див. Теслюк Н.І.</i>	2	17
<i>Гладкій Т.В. див. Галкін Б.М.</i>	2	30
<i>Горикова О.Г. див. Гудзенко Т.В.</i>	2	40
<i>Грицева Н.Г., Скiвка Л.М.</i> Поширеність збудників кільцевої гнилі <i>Clavibacter</i> <i>sepedonicus</i> та чорної ніжки і мокрої гнилі <i>Pectobacterium atrosepticum</i> в урожаї картоплі 2021 року на території України	1	6
<i>Гудзенко Т.В., Страшнова І.В., Горикова О.Г., Лісютін Г.В., Штеніков М.Д., Сачковська В.І.</i> Морфологічна характеристика та цитотоксична активність чорноморського штаму <i>Streptomyces</i> sp. Lim 10	2	40
<i>Зінченко О.Ю. див. Теслюк Н.І.</i>	2	17
<i>Іваниця В.О. див. Мерліч А.Г.</i>	3	26
<i>Іваниця В.О. див. Титаренко Н.В.</i>	1	18
<i>Кириленко Н.А. див. Галкін Б.М.</i>	2	30
<i>Кімуржсий І.І. див. Мерліч А.Г.</i>	3	26
<i>Ковальчук Р.Р. див. Мерліч А.Г.</i>	3	26
<i>Лісютін Г.В. див. Гудзенко Т.В.</i>	2	40
<i>Лобан Л.Л. див. Пиляк Н.В.</i>	3	60



Мартиненко С.А., Фіногенова М.О., Семенець А.С., Галкін М.Б. Порівняння вмісту сидерофорів у бактерій, виділених з чорноморських мідій	3	6
Мерліч А.Г., Кімуржій І.І., Ковальчук Р.Р., Шутило М.В., Іваниця В.О. Антимікотична активність ізолятів лактобактерій з води та мідій Чорного моря	3	26
Остапчук А.М. див. Субота В.В.	2	51
Пиляк Н.В. див. Бурикіна С.І.	3	14
Пиляк Н.В., Лобан Л.Л. Колекція промислово цінних культур мікроорганізмів для біологізації землеробства	3	60
Сачковська В.І. див. Гудзенко Т.В.	2	40
Семенець А.С. див. Мартиненко С.А.	3	6
Сківка Л.М. див. Грищева Н.Г.	1	6
Страшнова І.В. див. Андрющенко О.В.	3	37
Страшнова І.В. див. Гудзенко Т.В.	2	40
Страшнова І.В., Андрющенко О.В. Антимікробна активність ґрунтових бацил щодо фітопатогенних мікроорганізмів, виділених із уражених злакових рослин	2	6
Субота В.В., Остапчук А.М., Штеніков М.Д. Поглиблена геномно-метаболомна характеристика бактерій роду <i>Bacillus</i> , виділених з глибоководних відкладень Чорного моря	2	51
Теслюк Н.І. див. Титаренко Н.В.	1	18
Теслюк Н.І., Зінченко О.Ю., Галкін М.Б., Філіпова Т.О. Удосконалення процесів мікроклонального розмноження <i>Chrysanthemum</i> × <i>Koreanum hort.</i> з використанням <i>Bacillus megaterium</i> ONU500	2	17
Титаренко Н.В., Теслюк Н.І., Іваниця В.О. Вплив актинобактерій на адаптацію до умов <i>ex vitro</i> та ріст мікроклонованих рослин <i>Rubus fruticosus</i> L.	1	18
Ужєвська С.П. див. Бурикіна С.І.	3	14
Філіпова Т.О. див. Теслюк Н.І.	2	17
Фіногенова М.О. див. Мартиненко С.А.	3	6
Штеніков М.Д. див. Гудзенко Т.В.	2	40
Штеніков М.Д. див. Субота В.В.	2	51
Шутило М.В. див. Мерліч А.Г.	3	26



Увага: передрук, усі види копіювання та відтворення матеріалів,
що надруковані у журналі «Мікробіологія і біотехнологія»,
можливі лише за умови посилання на джерело інформації
та з дозволу редакційної колегії.
Усі права захищені згідно законодавства України.

Верстка С. О. Остапенко

Підписано до друку 23.04.2023 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 5,85. Наклад 100 пр.
Зам. № 2793.

Видавець та виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: +38 (048) 723 28 39
e-mail: druk@onu.edu.ua