

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

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

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

№ 3(62)
2024

Одеса
ОНУ
2024

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Ідентифікатор у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R30-01955
(Рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення № 1548 від 23.11.2023 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 у таких базах даних: «Україніка наукова»,
Index Copernicus International Journals Master List, Наукова періодика України
(Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського), Ulrich's Periodicals
Directory, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету
імені І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.urau.ua), Google
Академія, BASE Search, CiteFactor, Advanced Sciences Index, ResearchBib, Наукова
електронна бібліотека e-LIBRARY, InfoBase Index.

Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко

Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 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

Odesa I. I. Mechnikov National University.

Identifier in the Registry of Media: R30-01955

(Resolution of the National Council on Television and Radio Broadcasting of Ukraine No 1548 dated 23.11.2023)

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 (Dnipro, Ukraine).

Scientific Editor V. O. Ivanytsia

All articles accepted for publishing are subject to peer review

Approved for publishing by the Academic Council of

Odesa I. I. Mechnikov National University

As per Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine No 1301 dated 15.10.2019 the journal is included in the List of Specialist Scientific Publications of Ukraine (Category "B").

The journal is abstracted and indexed in the following databases: "Ukrainica Scientific", Index Copernicus International Journals Master List, Scientific Periodicals of Ukraine (V. I. Vernadskyi National Library of Ukraine), Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Periodicals of Ukraine (journal.urau.ua), Electronic Repository of Odesa I. I. Mechnikov National University, Google Scholar, BASE Search, CiteFactor, Advanced Sciences Index, ResearchBib, e-LIBRARY, InfoBase Index.

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

A d d r e s s:

Odesa I. I. Mechnikov National University,

2 Vsevoloda Zmiiienka St, Odesa, 65082, Ukraine

Tel.: +38 (048) 731-71-51, e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa I. I. Mechnikov
National University, 2024

ЗМІСТ

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

М. Б. Галкін, Б. П. Ружанський РОЛЬ <i>BACILLUS</i> SPP. У СТАЛОМУ ЗЕМЛЕРОБСТВІ ТА БІОКОНТРОЛІ	6
---	---

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

О. Ю. Зінченко, Н. С. Чебанов, М. Д. Штеніков СКРИНІНГ ЧОРНОМОРСЬКИХ СПОРОУТВОРЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ЩОДО ЗДАТНОСТІ ДО БІОДЕГРАДАЦІЇ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ	33
---	----

О. В. Почка, Л. А. Колдар РЕГЕНЕРАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ЕКСПЛАНТІВ ВИДУ <i>PRUNUS LAUROCERASUS</i> L. <i>IN VITRO</i>	50
--	----

О. В. Андрющенко, І. В. Страшнова, Т. В. Іваниця, С. І. Ракитська, М. Б. Галкін АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЧОРНОМОРСЬКИХ АКТИНОБАКТЕРІЙ ПРОТИ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	59
---	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	82
---	----

CONTENTS

OBSERVATION AND THEORETICAL ARTICLES

M. B. Galkin, B. P. Ruzhanskyi THE ROLE OF <i>BACILLUS</i> SPP. IN SUSTAINABLE AGRICULTURE AND BIOCONTROL	6
--	---

EXPERIMENTAL WORKS

O. Yu. Zinchenko, N. S. Chebanov, M. D. Shtenikov SCREENING OF MARINE SPORE-FORMING BACTERIA DEGRADING POLYMER MATERIALS	33
---	----

O. V. Pochka, L. A. Koldar REGENERATION ABILITY OF TYPE EXPLANTS <i>P. LAUROCERASUS</i> L. <i>IN VITRO</i>	50
---	----

O. V. Andriushchenko, I. V. Strashnova, T. V. Ivanytsia, S. I. Rakytska, M. B. Galkin REGENERATION ABILITY OF TYPE EXPLANTS ANTAGONISTIC ACTIVITY OF BLACK SEA ACTINOBACTERIA AGAINST PHYTOPATHOGENIC MICROORGANISMS	59
--	----

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	82
--------------------------------	----

M. B. Galkin, B. P. Ruzhanskyi

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: rbp.onu@gmail.com

**THE ROLE OF *BACILLUS* SPP.
IN SUSTAINABLE AGRICULTURE
AND BIOCONTROL**

This work **aims** to explore the potential applications of *Bacillus* spp. in biological plant control and the promotion of sustainable agriculture, drawing insights from an analysis of literature data. **Literature review.** Plants that interact with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) exhibit improved growth and enhanced resistance to stress. Among PGPR, *Bacillus* spp. are widely used in agriculture to boost crop yields and stress tolerance. However, their effectiveness varies under different conditions, emphasizing the need for further research to bridge the gap between laboratory and field results. Species such as *Bacillus subtilis* enhance nitrogen fixation, facilitate phosphorus mobilization, and increase iron uptake in plants. Additionally, *Bacillus* spp. produce phytohormones and other compounds that regulate the hormonal balance in plants. These bacteria protect plants from pathogens by producing antimicrobial substances such as lipopeptides and antibiotics. *B. subtilis* also modulates the expression of plant genes to support colonization. Biofilm formation on plant roots, regulated by quorum sensing, further promotes effective bacterial colonization. **Conclusions.** Studies on plant-bacteria interactions in the rhizosphere reveal that beneficial bacteria like *Bacillus* spp. enhance plant growth and resilience through hormone regulation, biofilm formation, modulation of plant immune responses, and improved nutrient availability and stress tolerance. *B. subtilis* and related species are particularly effective in increasing crop yields and combating plant diseases. Their ability to improve drought and salt tolerance is especially noteworthy, making *Bacillus* spp. promising candidates for sustainable agriculture.

Key words: *Bacillus* spp., plant growth promoting rhizobacteria, biocontrol, biofilm, sustainable agriculture.

Bacteria play a fundamental role in nutrient cycles, significantly influencing the carbon and nitrogen cycles and impacting daily life in both beneficial and harmful ways. Recent studies highlight that interactions with bacteria promote healthy development, while imbalances in the microbiome can lead to severe health issues [10].

The importance of plant-bacteria interactions has been recognized for over a century. Early discoveries revealed that the soil surrounding plant roots, known as the rhizosphere, harbors significantly higher bacterial populations

© М. Б. Галкін, Б. П. Ружанський, 2024



than adjacent bulk soil. This finding spurred extensive research into plant-associated bacteria [29]. Subsequent studies demonstrated that plants rely on symbiotic relationships with bacteria, including nitrogen-fixing species. Certain bacteria, classified as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), have been shown to enhance the yields of critical crops such as soybeans and maize, as well as reduce the severity of plant diseases. PGPRs colonize the rhizosphere and plant roots, where they improve nutrient availability, mitigate abiotic stresses (e.g., drought or salinity), bolster plant defense mechanisms, and suppress pathogens. The advantages of PGPRs over traditional agrochemicals have driven the development of biological agricultural products. Biocontrol agents, such as PGPRs, are hypothesized to slow the evolution of resistant pathogens more effectively than conventional pesticides – a hypothesis that remains an active area of research [7]. Furthermore, biopesticides like PGPRs are widely regarded as more environmentally friendly alternatives to agrochemicals, which have caused significant environmental pollution over recent decades [11].

Bacillus subtilis is one of the most extensively researched and widely utilized plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), showing significant promise for agricultural applications. Members of the genus *Bacillus*, including *B. subtilis*, are frequently isolated from soil and have been identified in the rhizosphere of various plant species [51]. This Gram-positive, non-pathogenic bacterium has been extensively studied as a model organism for secondary metabolite production, sporulation, biofilm formation, and root adhesion [31]. Its ability to form resilient endospores provides exceptional resistance to abiotic stresses such as drought, extreme temperatures, and nutrient deficiencies, further enhancing its suitability for agricultural use. *B. subtilis* is already a key component in several commercial biological products, including *Serenade*, *Subtilex*, and *Cease* [9], underscoring its practical value in sustainable agriculture.

The rapid emergence of resistant plant pathogens outstrips the development of new pesticides, underscoring the substantial potential of biological products in agriculture [19, 59]. Despite over five decades of development and application, agriculture remains heavily reliant on traditional chemical methods. Although biological products have demonstrated efficacy in controlled environments, their performance in field conditions is often variable [3, 39]. For example, inoculation of canola with a commercial strain of *B. subtilis* significantly reduced the severity of *Plasmodiophora brassicae* disease by over 80% under controlled conditions, yet this effect was less pronounced in field trials. Similarly, strawberry leaf inoculations with *B. subtilis* showed a 50% reduction in biocontrol agent presence in the field after 8 days, in contrast to stable levels observed under controlled conditions [66]. These observations highlight the complexity of plant-bacteria interactions, particularly under unregulated conditions. A deeper understanding of these interactions could enable more effective and rational application of live bacteria in biological products.

B. subtilis employs both direct and indirect mechanisms to enhance plant growth and yield, including improved nutrient availability, modulation of plant hormone homeostasis, and alleviation of abiotic stress. *Bacillus* species secrete metabolites that promote plant growth and prevent pathogen infection [45].



Specifically, these bacteria assist plants in coping with ecological stresses, such as climate change, with *B. subtilis* playing a pivotal role in enhancing resilience to biotic stress [28]. This stress resistance involves the expression of specific genes and consequent synthesis of hormones, such as 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC). Ethylene, which restricts root and shoot growth, is regulated by bacterial ACC to mitigate plant stress and maintain normal growth. Additionally, *Bacillus* spp. secrete exopolysaccharides and siderophores that inhibit the movement of toxic ions, support ion balance, facilitate water transport within plant vessels, and suppress pathogen growth [45].

This work **aims** to explore the potential applications of *Bacillus* spp. in biological plant control and the promotion of sustainable agriculture, drawing insights from an analysis of literature data.

Nutrient mobilization and hormone regulation

Many essential nutrients and macro- and micronutrients, such as nitrogen, phosphorus, and iron, are present in the soil in forms that are not readily accessible to plants and must therefore be fixed or mobilized by rhizobacteria. For instance, plants cannot directly utilize atmospheric nitrogen and rely on microbial symbionts for this nutrient. *Bacillus subtilis* assists in nitrogen fixation and promotes nodule formation by other bacteria, enhancing the colonization of local symbiotic rhizobacteria. Phosphorus, another critical nutrient, also needs to be mobilized before it can be used by plants. *Bacillus subtilis* facilitates phosphorus solubilization through the production of various organic acids that convert it into a soluble form [47]. Additionally, metal ions such as iron often limit plant growth. Studies have shown that *B. subtilis* increases plant iron content by enhancing iron mobility through rhizosphere acidification and inducing the regulation of iron acquisition genes in plants [22].

Beyond nutrient mobilization, *B. subtilis* produces a range of compounds that directly influence plant growth. Notably, *B. subtilis* modulates plant hormone homeostasis, promoting cell division and plant growth either by producing growth hormones directly or by inducing their production in plants through secreted compounds.

Two volatile organic compounds produced by *B. subtilis*, namely 3-hydroxy-2-butanone (acetoin) and 2,3-butanediol, contribute to plant growth by altering cytokinin and ethylene homeostasis. The mixture of volatile compounds from *B. subtilis* can regulate auxin homeostasis in *Arabidopsis thaliana*, leading to reduced auxin levels in the leaves and increased levels in the roots. Since auxin inhibits leaf expansion but promotes root development, this redistribution may support optimal plant growth. Additionally, spermidine, a polyamine produced by *B. subtilis*, enhances plant growth by inducing expansins and reducing ethylene levels in plants. Both inoculation with producer strains and synthetic mixtures significantly improved root development [68].

In addition to such signaling molecules that indirectly affect hormone homeostasis, *B. subtilis* is also known to produce phytohormones [27]. Inoculation with a *B. subtilis* strain that produces cytokinin resulted in a substantial increase in cytokinin levels in lettuce plants, leading to improved growth and yield. This growth



stimulation effect is attributed to the uptake of cytokinin produced by *B. subtilis* by the roots rather than enhanced nutrient availability [7].

Enhancing drought and salt tolerance

Water scarcity and soil salinization are two major constraints in modern agriculture. Drought is one of the most severe environmental stressors affecting crop yields worldwide and is expected to intensify due to climate change in the near future. Freshwater is a limited resource, and irrigation for agricultural crops may decrease in the coming decades. Additionally, prolonged irrigation contributes to soil salinization, with approximately 20 to 50% of irrigated agricultural lands currently affected by salt contamination [20].

B. subtilis has been shown to enhance plant tolerance to drought and salt stress. Recent studies by Woo et al. [67] demonstrated that inoculation with *B. subtilis* strain GOT9 improves the drought and salt stress resistance of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica campestris* through the modulation of plant gene expression, including the upregulation of genes involved in abscisic acid (ABA) biosynthesis, a key plant hormone for stress regulation. Furthermore, *B. subtilis* strain has been shown to increase osmotic stress tolerance in *A. thaliana*. In this context, the strain mitigates drought-induced damage by enhancing the biosynthesis of osmoprotectants in the plant and regulating the plant-specific Na⁺ importer HKT1 [7].

Biocontrol

Bacillus spp. are widely recognized as safe microorganisms that produce bioactive compounds beneficial for agricultural crops. Their ability to form endospores enables them to withstand adverse environmental conditions. In the rhizosphere, *Bacillus* spp. often function as endophytes, forming symbiotic relationships with plants and providing protection against pathogens. *B. subtilis* employs a range of direct and indirect mechanisms to safeguard plants, including the production of antimicrobial compounds and the activation of induced systemic resistance.

B. subtilis is known to produce over 24 antibiotic compounds [28]. These substances can be peptide-based, protein-based, or non-peptide-based, with non-peptide antibiotics classified as ribosomal or non-ribosomal peptide antibiotics [62].

Different *B. subtilis* strains synthesize a range of hydrolytic enzymes such as cellulases, proteases, and beta-glucanases, which adapt the surrounding environment to their benefit. These bacteria also produce exoenzymes that break down cell walls and various metabolites that can inhibit the growth or activity of other microorganisms. *B. subtilis* strains are known to synthesize antibiotic lipopeptides, including fengycin, surfactin, and iturin. Lipopeptides are low-molecular-weight compounds with surfactant properties, representing prominent examples of biosurfactants [37]. One of the most studied secondary metabolites of *B. subtilis* is surfactin, a cyclic acidic lipopeptide known for its diverse functions, including signal transduction and surface tension reduction. Due to its amphiphilic nature, surfactin can disrupt the cell membranes of other organisms by integrating into lipid layers. It is frequently reported as an active compound in the biocontrol



of plant pathogens by *B. subtilis* [17]. Surfactin is the most effective biosurfactant produced by *B. subtilis*, forming a hydrophobic globular structure in water and air [13, 49].

Inoculation with surfactin-producing *B. subtilis* significantly reduces the mortality of *Arabidopsis thaliana* infected with *Pseudomonas syringae*, an effect not observed with surfactin-deficient mutant strains. Additionally, surfactin inhibits *P. syringae* in liquid cultures at biologically relevant concentrations. Fan et al. [17] observed that surfactin-producing *B. subtilis* 9407 exhibits strong antibacterial activity *in vitro* against the pathogen *Acidovorax citrulli* and is highly effective in controlling melon seedling diseases in greenhouses. These abilities were lost in a surfactin-deficient mutant, highlighting the importance of surfactin in biocontrol [17]. However, surfactin-deficient mutants have shown other notable phenotypic changes that might reduce their biocontrol efficacy. Since surfactin production is closely linked with the synthesis of other antimicrobial secondary metabolites, these mutants may also lack other antimicrobial properties [33].

Most *B. subtilis* strains produce several antimicrobial compounds. Surfactin and bacilomycin act synergistically against pathogens, with their biosynthetic pathways being at least partially interconnected. Surfactin-deficient *B. subtilis* mutants do not produce bacilomycin, but the addition of exogenous surfactin restores its production. Bacilomycin-deficient mutants show reduced control over *Rhizoctonia solani* compared to wild-type strains [33].

Volatile compounds produced by *B. subtilis* can inhibit spore germination and hyphal growth of the phytopathogen *Botrytis cinerea* in an independent, non-contact manner on agar plates. However, the involvement of these volatiles in plant biocontrol remains unconfirmed.

Iturins are classified into iturins A, C, D, and E; mycosubtilin; bacilomycins D, F, and L; and bacilopcin [37]. Iturins exhibit antifungal and antimicrobial activities against yeasts and are considered excellent biopesticides.

Fengycins A, B, and C possess strong antifungal and antibacterial properties [62].

Bacillus subtilis produces peptide antibiotics known as bacteriocins, categorized into four classes based on their genetic and biochemical characteristics. Class I bacteriocins, or lantibiotics, are commonly used as antibiotics and are further classified into types A and B based on their antimicrobial activity and chemical structure.

B. subtilis mitigates disease severity not only through direct inhibition of pathogen growth but also by reducing pathogen virulence. This is partly due to its ability to interfere with quorum sensing (QS) signals, which regulate virulence gene expression. The enzyme AiiA produced by *B. subtilis* inactivates QS autoinducers. For instance, strain *B. subtilis* BS-1, which produces AiiA, reduces symptoms of soft rot in potatoes caused by *Erwinia carotovora*, a pathogen whose virulence is dependent on QS signals [7].

B. subtilis also competes directly with plant pathogens for resources, although experimental evidence supporting this mechanism remains limited. Indirect biocontrol strategies include biofilm formation, promotion of plant growth, competition for colonization sites, and the induction of systemic resistance (ISR)



[63]. Biofilm formation on plant roots plays a critical role in enhancing lipopeptide production, which significantly boosts antimicrobial activity in the surrounding soil. Notably, wild strains of *B. subtilis* demonstrate more robust biofilm formation compared to laboratory or commercial strains, underscoring their potential for biocontrol applications.

The genus *Bacillus* secretes various secondary metabolites that promote plant growth and enhance disease resistance. Studies indicate that *B. subtilis* can reduce the need for synthetic pesticides by promoting beneficial soil bacteria [40]. For example, *Bacillus thuringiensis* (Bt) and its toxins provide broad insecticidal control and support plant growth [3]. *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, and *B. subtilis* are also effective against pests [23].

Lipopeptides produced by *Bacillus* inhibit the growth of phytopathogenic fungi like *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., and *Bipolaris sorokiniana*. These compounds show promise as biocontrol agents. For instance, lipopeptides from *B. subtilis* CMB32 significantly suppress anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Additionally, biosurfactants from *Pseudomonas*, *Bacillus*, and *Acinetobacter* assist in heavy metal bioremediation and pesticide biodegradation. Nano-biofertilizers, incorporating *B. subtilis* and other beneficial microbes, enhance plant growth, limit fungal infections, and reduce the need for chemical fertilizers, thereby preventing groundwater contamination. Some volatile organic compounds (VOCs) released by *B. subtilis* (GB03) help plants recover from stress, while exopolysaccharides and siderophores from *Bacillus* species aid in maintaining ionic balance and suppressing pathogenic microbes [23].

Induced systemic resistance (ISR)

B. subtilis enhances plant defense by triggering induced systemic resistance (ISR), a process that strengthens the plant's overall resistance to a wide range of pathogens. This process involves ultra-structural and cytochemical changes in host cells in response to pathogen attack. *B. subtilis* activates ISR by forming colonies or biofilms in the rhizosphere, increasing host plant resistance to pathogens. Notably, ISR activation by *B. subtilis* leads to the synthesis of jasmonic acid (JA), ethylene, and the NPR1 regulatory gene [25].

ISR activation is associated with cell wall degradation, *de novo* production of glucanases and chitinases, and phytoalexin production related to disease resistance. For instance, *B. subtilis* (AUBS1) enhances the production of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), peroxidase (POD), and *de novo* protein synthesis in rice leaves. Another strain, *B. subtilis* (UMAF6614), induces the secretion of salicylic acid (SA) and JA in melon plants, improving resistance to powdery mildew [25]. *B. subtilis* also boosts the synthesis of pathogenesis-related (PR) proteins in tobacco tissues, leading to increased resistance to mosaic virus, as evidenced by reduced mosaic symptoms in treated plants. Similarly, another *B. subtilis* strain reduces the activity of root-knot nematodes in tomato plants by activating ISR [1].

Inoculating roots with *B. subtilis* strains that naturally produce high levels of surfactin and fengycin can alleviate diseases caused by *Botrytis cinerea* in tomato and bean leaves. The absence of *B. subtilis* cells in the leaves suggests that disease reduction occurs through ISR. Moreover, strains with excessive surfactin



production significantly reduce disease symptoms compared to low-producer strains, indicating a correlation between ISR activation and surfactin levels [12].

B. subtilis inoculation in *Arabidopsis thaliana* triggers ISR by limiting the entry of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 through stomata. Root colonization by *B. subtilis* significantly increases levels of ABA and salicylic acid, leading to stomatal closure and blocking infection [32]. Volatile compounds can also induce ISR. Airborne signals, when physically separating *Arabidopsis* seedlings from PGPR, significantly reduce symptomatic leaves after infection by *Erwinia carotovora*. These volatile compounds act independently of the signaling pathways used by PGPR in physical contact [7].

Root colonisation

B. subtilis forms thin biofilms on roots to facilitate long-term colonization of the rhizosphere. Chemotaxis enables the localization and colonization of young roots [2]. During the initial phase of root colonization, active and directed movement via chemotaxis is highly beneficial for plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to anchor themselves to the roots [2]. Chemotaxis allows bacterial cells to sense changes in chemical gradients around them and move towards more favorable environments or away from toxins. The chemotactic response is initiated when stimulatory molecules bind to specific chemoreceptors located on the bacterial surface, leading to subsequent modification of CheA kinase and its response regulator, CheY [61]. CheY, in turn, interacts with the flagellar motor, controlling the direction of motor rotation and thus switching between swimming and tumbling [64]. In the absence of an attractant bound to the cognate chemoreceptor, CheA remains inactive and CheY is unphosphorylated, causing the flagellar motor to adopt a default clockwise rotation, leading the cell to reorient through tumbling. Upon attractant binding to the chemoreceptor, CheA becomes activated and subsequently phosphorylates CheY, resulting in counterclockwise rotation of the flagellar rotor and direct swimming towards the attractant. Less is known about how *B. subtilis* responds to repellents. It has been suggested that repellents act directly on the membrane rather than through the CheA-CheY pathway, leading to an increased frequency of tumbling [64].

Allard-Massicotte et al. [2] demonstrated that multiple chemoreceptors of *B. subtilis* are involved in the response to root exudates. A DcheA mutant, deficient in overall chemotaxis, and two non-motile mutants, a flagellar filament mutant Dhag and a flagellar motor mutant DmotA, were unable to colonize *A. thaliana* roots within 4 hours, unlike the wild-type (WT), indicating that chemotaxis is essential for root colonization. Additionally, they tested various chemoreceptor mutants in the presence of extracted root exudates in capillary assays, showing that chemoreceptors McpB, McpC, and to some extent TlpC are responsible for the response to amino acids and sugars present in the exudates. Notably, they also identified a mutant that exhibited significantly greater attraction to exudates compared to the WT, suggesting that the McpA chemoreceptor responds to a repellent molecule present in the exudates [2].

Studies have demonstrated that plants utilize the mechanism of root exudate secretion to actively attract desirable PGPR. Infection by the phytopathogen



Pseudomonas syringae induces the secretion of L-malic acid, which facilitates the colonization of *Bacillus subtilis* roots. Additionally, capillary assays have confirmed that L-malic acid can indeed elicit a chemotactic response in *B. subtilis* and may function as an attractant.

It has been proposed that the chemotactic response is specifically directed towards root exudates produced by individual plant species, suggesting that bacteria may have evolved to specifically respond to their encountered host plants [71]. Zhang and colleagues [71] demonstrated that a strain of *B. subtilis* isolated from the banana rhizosphere and a strain of *B. amylolicefaciens* isolated from the cucumber rhizosphere colonize their native host plants more effectively than other plants. They observed a higher chemotactic response of *B. subtilis* to concentrated banana root exudates compared to cucumber, which may explain the greater colonization of its original host plant [71].

Most publications on the role of chemotaxis in root colonization have investigated this process in liquid environments. In natural soil systems, entire clusters of cells move rapidly across solid surfaces as dynamic multicellular colonies, which may be of greater significance [24].

Unlike chemotactic swimming motility, swarming is non-directional and requires the production of surfactin, which reduces surface tension and forms a thin water film in which cells proliferate. Gao and colleagues [24] investigating *cheA* mutants, frequently used in chemotaxis studies, suggested that swarming might play an even more significant role in root colonization than chemotaxis. They examined a mutant with impaired chemotaxis, *cheV*, as well as three swarming mutants, namely *srfAC*, which are deficient in surfactin production, *swrA*, and *minJ*, each missing one of two genes from the swarming operon. They found that the chemotactic mutant could colonize with 80% efficiency, similar to the wild type (WT), whereas swarming mutants showed only 5–15% colonization efficiency. Additionally, the lack of surfactin may further affect root colonization, with *swrA* and *minJ* mutants displaying very elongated cells, suggesting other potential negative side effects [24].

The mechanism of chemotaxis encoded in bacterial genomes is unique to each bacterial species and is not related to genome size. Bacterial genomes contain multiple chemoreceptor genes along with genes regulating cell differentiation and their interactions with living organisms. The key role of bacterial chemoreceptors is to establish beneficial interactions between plants and bacteria. For instance, bacteria such as *Azotobacter chroococcum*, *Sinorhizobium meliloti*, *Pseudomonas*, and *Rhizobium* exhibit positive chemotaxis towards root exudates [65]. The genome of *B. subtilis* encodes 10 chemoreceptors, known as ligands, composed of amino acids, carbon, and oxygen, enabling this species to locate specific environments such as the rhizosphere [69]. *B. subtilis* plays a crucial role in this environment. *Bacillus* spp. require 24 hours to form a biofilm on plant roots. A biofilm is a multicellular bacterial community where cells are tightly connected and surrounded by a matrix they secrete. The timing of biofilm formation by *B. subtilis* on host plant roots also depends on the promoters of genes responsible for matrix secretion when the bacteria first encounter the root. Chemotactic signals required for *B. subtilis* colonization are activated 4–8 hours after inoculation [5].



Biofilm formation is more intense in wild strains of *B. subtilis* compared to laboratory or commercial strains. Ability to form a stable biofilm on plant roots is the significant advantage for the species. Biofilms are one of the most successful forms of life and are found across a wide range of environments [21]. They consist of cells closely packed together, embedded in an extracellular matrix (ECM), which in *B. subtilis* primarily consists of exopolysaccharide (EPS) and the protein TasA. Dragos and colleagues [14] demonstrated that both EPS and TasA are essential for successful root colonization. They reported that the number of cells colonizing the root was reduced in both EPS-deficient (Deps) and TasA-deficient (DtasA) mutants compared to the wild type (WT). Interestingly, when both mutants were inoculated on roots in a mixed culture, the ability to form a stable biofilm was restored, and the number of colonizing cells was actually significantly higher than in the WT, indicating that cells can share resources and distribute functions within *B. subtilis* biofilms on plant roots [14].

Mature biofilms of *B. subtilis* are known to be quite heterogeneous, and various phenotypes, aside from matrix producers, can be present even in monocultures, including competent, cannibalistic, digging, motile, and sporulating cells [35]. This specification of different tasks allows for functional distribution, thus ensuring efficient resource utilization that benefits the entire biofilm [58]. In *B. subtilis*, three main regulators have been identified as key elements in controlling cell differentiation: DegU for exoprotease secretion, ComA for competence and surfactin production, and Spo0A for matrix production and ultimately sporulation [35]. These regulators are activated during phosphorylation by specific kinases responding to external signals, including specific nutrients and signals from host plants, competitors, or collaborators [14, 41]. All three main regulators are important for root colonization to some extent.

The transition from swarming and chemotactic motility to biofilm formation is primarily initiated by the expression of the *sinI* gene, which is induced at intermediate levels of Spo0A~P. Deletion of the principal regulator Spo0A, as well as the matrix derepressor SinI, results in the inability of *Bacillus subtilis* to colonize the roots of *Arabidopsis thaliana*. Spo0A regulates the repression of matrix or motility genes through a double negative feedback loop involving SlrR and SinR. When Spo0A is unphosphorylated, *sinI* is not expressed, and SinR represses *slrR*, maintaining low levels of SlrR, which allows SinR to inhibit matrix genes, such as *eps* and *tasA*. At intermediate levels of Spo0A~P, this response regulator binds to the high-affinity site of *sinI*, activating the expression of SinI, which then binds to and inhibits SinR, leading to the derepression of *slrR*. The expressed SlrR, by forming a complex with SinR, inhibits SinR, resulting in prolonged SlrR expression. In this high SlrR state, the formation of SlrR-SinR complexes leads to low levels of free SinR, thereby derepressing matrix genes. Additionally, the SlrR-SinR complex suppresses the expression of the motility gene *hag* and the autolysin genes *lytABC* and *lytF*, resulting in the formation of stationary coherent cell chains that constitute the matrix. As Spo0A~P phosphorylation levels increase, other low-affinity operators of *sinI* bind, leading to decreased SinI production while sporulation genes are activated. Furthermore, the alternative matrix gene repressor AbrB, which also targets *eps*, *tasA*, and *blsA* (encoding a surface hydrophobicity



protein), is connected to the Spo0A pathway, providing additional fine-tuning of matrix-associated gene expression. AbrB is expressed at low levels of Spo0A~P and represses matrix genes, while intermediate levels of Spo0A~P cause repression of the *abrB* gene, simultaneously inducing the expression of AbbA, which inhibits the resident AbrB and thereby relieves repression of matrix genes [5, 60].

Key regulatory genes known to be essential for *in vitro* biofilm formation in *B. subtilis* are also important for effective root colonization and biocontrol against *Ralstonia solanacearum* in tomato plants. Various null mutations within the Spo0A pathways resulted in either hyper-strong biofilms with increased numbers of colonizing cells (Δ *abrB* and Δ *sinR*) or defective biofilms with reduced numbers of root-attached cells (Δ *sinI*, Δ *eps*, and Δ *ataA*), depending on whether they positively or negatively impact biofilm development, respectively [7].

To date, five distinct kinases, from KinA to KinE, have been identified as initiating the Spo0A phosphorylation cascade in response to various signals. KinC and KinD have been found to play a direct role in root colonization by initiating biofilm formation in response to different plant signals. The Δ *kinD* mutant was unable to form a biofilm on tomato roots. It was determined that L-malic acid is the responsible signal for biofilm induction; however, since the concentrations required for biofilm formation were quite high, it was suspected that L-malic acid might primarily function as a carbon source, altering metabolism to favor biofilm existence. The combination of glycerol, a primary root exudate, and manganese strongly promotes biofilm formation. However, this effect was significantly reduced for Δ *kinD* and less so for the Δ *kinC* mutant, further indicating the importance of these kinases in biofilm formation in response to plant-related signals. Providing additional evidence that KinC and KinD are involved in biofilm formation in response to root exudates, Beauregard et al. [5] observed that plant polysaccharides such as arabinogalactan, pectin, and xylan induce the formation of a pellicle in *Bacillus subtilis*. They tested the ability of mutants deficient in each of the five kinases, from KinA to KinE, as well as the double mutant Δ *kinCD*, to form a pellicle in response to three plant polysaccharides, identifying KinC and KinD as sensors responsible for pectin and arabinogalactan. However, all mutants were still able to form a biofilm in response to xylan, suggesting the presence of an additional, yet unidentified pathway capable of initiating biofilm formation in response to plant signals. Furthermore, they identified over 40 predicted glycosylhydrolases in *B. subtilis* that could degrade plant polysaccharides, allowing their use as a carbon source for cell growth and other metabolic processes. Indeed, they demonstrated that *B. subtilis* utilizes plant polysaccharides to incorporate them into the matrix EPS [5].

In addition to Spo0A, DegU plays a crucial role in regulating the transition from motility to biofilm formation in *B. subtilis* by repressing motility genes in its phosphorylated form. It also regulates the production of the surface hydrophobic protein BslA and poly- γ -glutamic acid (PGA), which are important for stable biofilm formation [34, 70]. Yu et al. [70] observed that root colonization efficiency positively correlates with γ -PGA production in high-producing strains of *B. subtilis*. Although a direct link between root colonization and DegU in *B. subtilis* has not yet been demonstrated, the Δ *degU* mutant of the closely related *B. amyloliquefaciens*



was unable to colonize *Arabidopsis thaliana* roots compared to the wild type, suggesting that DegU may be critical for root colonization [70].

The ultimate master regulator, ComA, influences root colonization by indirectly affecting biofilm formation. ComA also regulates surfactin production. Surfactin is considered a crucial signaling molecule that stimulates biofilm formation in *B. subtilis* by inducing potassium leakage. Surfactin-deficient mutants also exhibited disrupted biofilm formation, but only under conditions that do not naturally induce biofilm formation. In contrast, under biofilm-inducing conditions provided by media such as MSgg and MSNg, *B. subtilis* was able to form stable biofilms independent of surfactin. Moreover, no significant difference in root colonization ability was observed between the surfactin-deficient mutant (srfAA) and the wild type, indicating that surfactin is not essential for root colonization [55].

For further cellular differentiation, all three main regulators are additionally controlled via *quorum sensing* (QS) [42]. QS facilitates cell-to-cell communication based on the production, secretion, and response to autoinducers. This allows cells to detect the density of neighboring producers and potential collaborators and respond accordingly. QS is critical for the development of cooperative behaviors, as it regulates the synthesis of substances such as surfactin or ECM components. In *B. subtilis*, regulatory peptides (Phr) and their related response regulators, the aspartyl-phosphatases (Rap), mediate QS, which in turn regulates the activity of the three main regulators [42]. The autoinducer Phr is translated from pre-Phr proteins, which are secreted and processed into mature Phr peptides. At high cell densities, Phr peptides reach a threshold concentration that allows their import into the cell, where they bind to their corresponding Rap phosphatase and inhibit it. This alleviates the inhibition of the master regulator, leading to altered expression of target genes. Spo0A is regulated by RapABEHIJ60, as these phosphatases inhibit Spo0A phosphorylation by dephosphorylating Spo0F~P. In contrast, Rap phosphatases regulate ComA (RapCDFGHKQP60) and DegU (RapG), primarily by preventing their DNA-binding activity [8, 69]. The extent to which QS plays a role in root colonization by *B. subtilis* remains unknown.

In addition to the QS autoinducer Phr and the secondary metabolite surfactin, *B. subtilis* produces and secretes cyclic di-adenosine monophosphate (c-di-AMP), which may function as a signal during biofilm formation. c-di-AMP acts as an extracellular signaling molecule, influencing biofilm formation and root colonization, potentially through changes in the phosphorylation state of Spo0A. However, the precise molecular mechanism remains to be elucidated [56].

The signaling responsible for inducing biofilm formation on roots is not a unidirectional process from plant to microbe, but rather an interaction between both parties. In addition to the compounds produced by plants that elicit chemotactic responses and biofilm formation in bacterial cells, *B. subtilis* is capable of affecting gene expression in plants, thereby promoting root colonization. Approximately 300 genes are differentially expressed in *Arabidopsis thaliana* when colonized by *B. subtilis*. This includes downregulation of genes associated with protective signaling in roots, as well as genes related to cell wall metabolism, which could contribute to both initial attachment and survival, thus facilitating overall root colonization. Indeed, suppression of genes involved in the plant's innate immune



response may play a crucial role during *B. subtilis* colonization of roots, as it may help bacterial cells evade the plant's defense mechanisms during initial colonization [46]. Various compounds produced by *B. subtilis*, including lipopeptides such as surfactins and iturins, as well as key bacterial components like flagellin, act as microbe-associated molecular patterns that trigger specific immune responses in plants [18]. Rekha et al. [46] observed that *B. subtilis* strain RR4 initially suppresses various immunity-related genes during root colonization of rice, thus aiding its own colonization, and subsequently induces defense responses to enhance plant immunity. Deng et al. [15] described how the endophyte *B. subtilis* strain BSn5 can mask its own-produced flagellin by producing the lantibiotic subtilomycin, thereby reducing the stimulation of the plant's defensive response.

It is suggested that the EXLX1 protein, produced and secreted by *Bacillus subtilis*, plays a crucial role in plant-microbe interactions. This protein has a structure highly similar to that of plant β -expansins, which are known to bind to plant cell walls and facilitate their expansion. Mutants deficient in EXLX1 production also showed a significant reduction in root colonization compared to wild-type strains [7].

Similar to how different *B. subtilis* strains vary in their ability to promote plant growth and control phytopathogens, they also differ in their capacity to successfully colonize plant roots. The genetic relatedness among different *B. subtilis* strains influences their ability to either co-colonize plant roots or competitively exclude each other. After inoculating *Arabidopsis thaliana* roots with multiple unrelated strains, the resulting biofilm on the roots predominantly consisted of a single strain, indicating an antagonistic interaction among the strains. In contrast, inoculation with pairs of related strains led to the formation of mixed biofilms and joint colonization, suggesting that *B. subtilis* colonizes plant roots in a manner that reflects genetic relatedness [53].

Interactions of *Bacillus* and plants

The potential of *B. subtilis* to promote plant growth and enhance plant defense against pathogens varies significantly among strains. While some compounds, particularly those with broad target ranges and multiple functions such as surfactin, are commonly synthesized by *B. subtilis* strains, the production of others, like subtilin, appears to be strain-specific [30]. This suggests that certain compounds may provide specific strains of *B. subtilis* with advantages in particular ecological niches, thereby helping to tailor and optimize plant-microbe interactions. It is evident that plant growth promotion and pathogen control are not unilaterally beneficial acts by *B. subtilis*. The bacteria also derive benefits from their interaction with plants. PGPR rely on carbon sources exuded by plants in nutrient-poor soils and often respond specifically to plant-produced signals [48]. Root exudates serve not only as a nutrient source for PGPR but also as signaling molecules that establish connections and initiate the colonization process [5]. Although some beneficial interactions between plants and microorganisms seem independent of direct physical contact, such as with volatile organic compounds, biocontrol and growth stimulation effects are heavily dependent on the PGPR's ability to effectively attach to and colonize the host plant, particularly under natural conditions. This highlights



the fundamental role of successful root colonization in bacterial interactions. In this context, several bacterial traits are important, including chemotaxis to sense and reach the plant root and biofilm formation for attachment and resilience on the root [27].

Growth promotion and pathogen suppression are achieved through the synthesis of various defensive compounds in host plant tissues, leading to ISR, which is supported by bacteria through antibiosis against pathogens. Additionally, bacteria can secrete phytohormones and other beneficial compounds. Soil particles bound by roots are easily colonized by bacteria, which compete with resident bacteria for rhizosphere nutrients. Thus, mutualism between bacteria develops through metabolic exchanges: plants provide organic substances (carbon) to resident bacteria, and in return, bacteria assist plants in absorbing water and nutrients from the soil. ISR induction and improved plant growth are additional outcomes of the mutualistic interaction between plants and bacteria [26]. *B. subtilis* plays a significant role among growth-promoting bacteria and in biocontrol. The advantage of using *B. subtilis* is its ability to activate ISR, likely mediated by salicylic acid. *B. subtilis* can be used to induce resistance by synthesizing protective enzymes in the host, such as POD, PPO, and PAL. In the event of pathogen attack, plants activate defensive mechanisms. This protective response often leads to systemic acquired resistance (SAR) and the induction of hypersensitive responses, resulting in the formation of brown, desiccated tissue. Inoculation of plants with *Bacillus subtilis* strain (pf4) resulted in high levels of SAR. Compared to non-inoculated plants, inoculated plants showed significantly higher similarity (96.5%), shoot length (9.0 cm), root length (8.03 cm), and strength index (1703). Treatment of sunflower seeds with *Pseudomonas fluorescens* enhanced root biomass production. Similar results were observed in castor bean seeds inoculated with *P. fluorescens* and *B. subtilis*, with a greater increase in growth achieved with *P. fluorescens* than with *B. subtilis*. When tomato seeds were treated with *Bacillus subtilis* (EPC016), a significant increase in seedling growth was observed compared to non-inoculated plants [28].

Most studies on *B. subtilis* root colonization have been conducted under sterile and strictly controlled conditions, which are far from the natural, complex environment of the plant rhizosphere and root. Laboratory observations are often difficult to reproduce in field conditions. The rhizosphere is shown to contain up to 10^{11} microbial cells per gram, representing over 30,000 species [6]. One reason for the variability in biocontrol success in field conditions may be natural plant microbiomes. Interactions among microbes can be either cooperative or competitive, meaning that depending on the bacterial community encountered, *B. subtilis* root colonization can be enhanced, reduced, or even successful or unsuccessful. For example, *Pseudomonas protegens*, another widely used PGPR, can inhibit *B. subtilis* biofilm formation in co-cultivation by producing a compound, 2,4-diacetylphloroglucinol, which delays cell differentiation by suppressing biofilm-specific genes [43]. Accordingly, biofilm formation not only plays a crucial role in root colonization but also modulates interactions with co-occurring microbes. Molina-Santiago et al. [38] noted that the *B. subtilis* D-matrix mutant, deficient



in biofilm matrix production, showed increased susceptibility to *Pseudomonas chlororaphis* invasion, leading to higher sporulation during co-inoculation of melon seeds. Conversely, co-inoculation of *B. subtilis* and *B. licheniformis* synergistically improved growth in red pepper and tomato plants, indicating a positive interaction between the pair.

It has been shown that adding *B. subtilis* to the natural rhizosphere has only a minor impact on the overall plant microbiome. Inoculation of tomato plants with *B. subtilis* in greenhouse studies affected the eukaryotic microbiome for 14 days, while the bacterial impact lasted only 3 days [44]. Wei et al. [66] observed a similar outcome for *B. subtilis* applied to leaves rather than root inoculation. Here, *B. subtilis* also appeared to have only a minor effect on the natural phyllosphere microbiome [66]. However, the impact of the natural plant microbiome on *B. subtilis* and whether specific taxa can enhance its root colonization remains unknown and needs further investigation.

Plant microbiome formation is largely determined by complex interactions between microorganisms [57]. Synergistic interactions and co-cultivation of multispecies biofilms of *Pseudomonas spp.* and *Bacillus spp.* on banana roots influenced colony composition at the root-microbiome interface and acted as a beneficial plant consortium against pathogens [54].

Synergetic interactions between nodule bacteria and *B. subtilis*

Disease suppression and stimulation of plant growth have been observed for the interaction between nodulating bacteria and *Bacillus subtilis*, which could stimulate the synthesis of phytohormones in host plants and in free-living, endophytic, rhizospheric, and symbiotic microorganisms present in the root system [50].

Various bacterial genera colonize the rhizosphere, including *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Cellulosimicrobium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Sinorhizobium* [16, 52]. Combined application of these bacteria results in enhanced plant growth stimulation, increased enzyme and antioxidant production, phosphorus solubilization, biocontrol activity, nodule formation, and nitrogen fixation.

B. subtilis demonstrates significant potential as a plant growth promoter and biocontrol agent. However, its effectiveness is influenced by environmental conditions and competition with other microorganisms. Despite its proven benefits, the variability observed in field performance underscores the need for further research to optimize its application and identify new strains with enhanced efficacy [28].

Conclusions. Studies on plant-bacteria interactions in the rhizosphere reveal that beneficial bacteria like *Bacillus spp.* enhance plant growth and resilience through hormone regulation, biofilm formation, modulation of plant immune responses, and improved nutrient availability and stress tolerance. *B. subtilis* and related species are particularly effective in increasing crop yields and combating plant diseases. Their ability to improve drought and salt tolerance is especially noteworthy, making *Bacillus spp.* promising candidates for sustainable agriculture.



М. Б. Галкін, Б. П. Ружанський

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Всеволода Змієнка, 2, Одеса, 65082, Україна
e-mail: rbp.onu@gmail.com

РОЛЬ *BACILLUS* SPP. У СТАЛОМУ ЗЕМЛЕРОБСТВІ ТА БІОКОНТРОЛІ

Реферат

Метою даної роботи є аналіз літератури щодо потенційного використання *Bacillus spp.* у біологічному контролі рослин та розвитку сталого землеробства. **Огляд літератури.** Рослини, які взаємодіють із PGPR (ризобактеріями, що стимулюють ріст рослин), краще розвиваються і є більш стійкими до стресу. *Bacillus spp.* використовуються у сільському господарстві як PGPR для підвищення врожайності та стресостійкості культур, проте ефективність їх використання може змінюватися за різних умов. Відмінності у результатах випробувань між лабораторними і польовими умовами підкреслюють необхідність подальших досліджень у цій сфері. *Bacillus spp.*, наприклад, *B. subtilis*, покращують фіксацію азоту, беруть участь у мобілізації фосфору та збільшують вміст заліза в рослинах. Крім того, *Bacillus spp.* виробляють фітогормони та сполуки, які регулюють гормональний баланс рослин. Бацили захищають рослини від патогенів, виробляючи антимікробні сполуки, такі як ліпopeптиди та антибіотики. З метою кращої колонізації *B. subtilis* модулюють експресію генів рослин і утворюють біоплівки у процесі, що регулюється системою *quorum sensing*. **Висновки.** Дослідження взаємодії рослин і бактерій у ризосфері показали, що корисні бактерії, такі як *Bacillus spp.*, покращують ріст і стійкість рослин шляхом регуляції гормонів, утворення біоплівок, впливу на імунні відповіді рослин, покращення доступності поживних речовин і стійкості до стресу. *B. subtilis* та інші види бацил є особливо ефективними у підвищенні врожайності культур та зменшенні захворюваності. Особливо важливою є їх здатність підвищувати стійкість рослин до посухи та солоності. Ці характеристики роблять *Bacilli spp.* перспективними та цінними для використання у сталому сільському господарстві.

Ключові слова: *Bacillus spp.*, ризобактерії, біоконтроль, біоплівка, стале землеробство.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Adam M., Heuer H., Hallmann J. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants // PLoS One. – 2014. – 9, № 2. – e90402. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090402>
2. Allard-Massicotte R., Tessier L., Lecuyer F., Lakshmanan V., Lucier J.F., Garneau D., Caudwell L., Vlamakis H., Bais H.P., Beaugregard P.B. *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors // MBio. – 2016. – 7, № 6. – e01664-16. doi: 10.1128/mBio.01664-16.



3. Arrizubieta M., Simón O., Williams T., Caballero P. Determinant factors in the production of a co-occluded binary mixture of *Helicoverpa armigera* alphabaculovirus (HearNPV) genotypes with desirable insecticidal characteristics // PLoS One. – 2016. – 11, № 10: e0164486. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164486>
4. Bardin M., Ajouz S., Comby M., Lopez-Ferber M., Graillot B., Siegwart M., Nicot P.C. Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? // Front Plant Sci. – 2015. – 6:566. DOI: 10.3389/fpls.2015.00566
5. Beauregard P.B., Chai Y.R., Vlamakis H., Losick R., Kolter R. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides // Proc Natl Acad Sci USA. – 2013. – 110, № 17. – E1621-E1630. DOI: 10.1073/pnas.1218984110
6. Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A. The rhizosphere microbiome and plant health // Trends Plant Sci. – 2012. – 17, № 8. – P. 478–486. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.04.001
7. Blake C., Christensen M.N., Kovács Á.T. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis* // Mol Plant Microbe Interact. – 2021. – 34, № 1. – P. 15–25. doi: 10.1094/MPMI-08-20-0225-CR.
8. Boguslawski K.M., Hill P.A., Griffith K.L. Novel mechanisms of controlling the activities of the transcription factors Spo0A and ComA by the plasmid-encoded quorum sensing regulators Rap60-Phr60 in *Bacillus subtilis* // Mol Microbiol. – 2015. – 96, № 2. – P. 325–348. DOI: 10.1111/mmi.12939
9. Borriss R. *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. In: Lugtenberg B., editor. Principles of plant-microbe interactions. – Springer International Publishing; 2015. – P. 379–391. DOI: 10.1007/978-3-319-08574-6
10. Bull M.J., Plummer N.T. Part 1: The human gut microbiome in health and disease // Integ Med (Encinitas). – 2014. – 13, № 6. – P. 17–22. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26770121/>
11. Carvalho F.P. Pesticides, environment, and food safety // Food Energy Secur. – 2017. – 6, № 2. – P. 48–60. DOI: 10.1002/fes3.108
12. Cawoy H., Mariutto M., Henry G., Fisher C., Vasilyeva N., Thonart P., Dommes J., Ongena M. Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production // Mol Plant Microbe Interact. – 2014. – 27, № 1. – P. 87–100. DOI: 10.1094/MPMI-09-13-0262-R
13. Chen W.C., Juang R.S., Wei Y.H. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms // Biochem Eng J. – 2015. – 103. – P. 158–169. DOI: 10.1016/j.bej.2015.07.009
14. Dragos A., Kiewewalter H., Martin M., Hsu C.Y., Hartmann R., Wechsler T., Eriksen C., Brix S., Drescher K., Stanley-Wall N., Kummerli R., Kovács Á.T. Division of labor during biofilm matrix production // Curr Biol. – 2018. – 28, № 12. – P. 1903–1913.e5. DOI: 10.1016/j.cub.2018.04.046
15. Deng Y., Chen H., Li C., Xu J., Qi Q., Xu Y., Zhu Y., Zheng J., Peng D., Ruan L., Sun M. Endophyte *Bacillus subtilis* evade plant defense by producing lantibiotic subtilomycin to mask self-produced flagellin // Commun Biol. – 2019. – 2, № 368. DOI <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0614-0>



16. Egamberdieva D., Wirth S., Behrendt U., Abd_Allah E.F., Berg G. Biochar treatment resulted in a combined effect on soybean growth promotion and a shift in plant growth promoting rhizobacteria // *Front Microbiol.* – 2016. – 7, № 209. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00209>
17. Fan H., Zhang Z., Li Y., Zhang X., Duan Y., Wang Q. Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization // *Front Microbiol.* – 2017. – 8, № 1973. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01973>
18. Farace G., Fernandez O., Jacquens L., Coutte F., Krier F., Jacques P., Clément C., Barka E.A., Jacquard C., Dorey S. Cyclic lipopeptides from *Bacillus subtilis* activate distinct patterns of defence responses in grapevine // *Mol Plant Pathol.* – 2015. – 16, № 2. – P. 177–187. doi: 10.1111/mpp.12170
19. Fisher M.C., Hawkins N.J., Sanglard D., Gurr S.J. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security // *Science.* – 2018. – 360, № 6390. – P. 739–742. DOI: 10.1126/science.aap7999
20. Fita A., Rodriguez-Burruezo A., Boscaiu M., Prohens J., Vicente O. Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: A new paradigm for increasing food production // *Front Plant Sci.* – 2018. – 6, № 978. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00978>
21. Flemming H.C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S.A., Kjelleberg S. Biofilms: An emergent form of bacterial life // *Nat Rev Microbiol.* – 2016. – 14, № 9. – P. 563–575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94
22. Freitas M.A., Medeiros F.H., Carvalho S.P., Guilherme L.R., Teixeira W.D., Zhang H., Pare P.W. Augmenting iron accumulation in cassava by the beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GBO3) // *Front Plant Sci.* – 2015. – 6, № 596. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00596>
23. Gadhare K.R., Finch P., Gibson T.M., Gange A.C. Plant growth-promoting *Bacillus* suppress *Brevicoryne brassicae* field infestation and trigger density-dependent and density-independent natural enemy responses // *J Pest Sci.* – 2016. – 89, № 4. – P. 985–992. DOI: 10.1007/s10340-015-0721-8
24. Gao S., Wu H., Yu X., Qian L., Gao X. Swarming motility plays the major role in migration during tomato root colonization by *Bacillus subtilis* SWR01 // *Biol Control.* – 2016. – 98. – P. 11–17. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2016.03.011
25. García-Gutiérrez M.S., Ortega-Álvaro A., Busquets-García A., Pérez-Ortiz J.M., Caltana L., Ricatti M.J., Manzanares J. Synaptic plasticity alterations associated with memory impairment induced by deletion of CB2 cannabinoid receptors // *Neuropharmacology.* – 2013. – 73. – P. 388–396. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.05.034
26. Gouda S., Kerry R.G., Das G., Paramithiotis S., Shin H.S., Patra J.K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture // *Microbiol Res.* – 2018. – 206. – P. 131–140. DOI: 10.1016/j.micres.2017.08.016
27. Großkinsky D.K., Tafner R., Moreno M.V., Stenglein S.A., De Salamone I.E.G., Nelson L.M., Roitsch T. Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens*



- G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis* // *Sci Rep.* – 2016. – 6, № 23310. DOI: 10.1038/srep23310
28. Hashem A., Tabassum B., Abd Allah E.F. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress // *Saudi J Biol Sci.* – 2019. – 26, № 6. – P. 1291–1297. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.05.004.
29. Hiltner L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache // *Arbeit. Deut. Landw. Ges. Berl.* – 1904. – 98. – P. 59–78. DOI: 10.12691/aees-1-6-1
30. Kiewewalter H.T., Andrade C.N.L., Wibowo M., Strube M.L., Maroti G., Snyder D., Jørgensen T.S., Larsen T.O., Cooper V.S., Weber T., Kovács Á.T. Genomic and chemical diversity of *Bacillus subtilis* secondary metabolites against plant pathogenic fungi // *mSystems.* – 2021. – 6, № 1. doi: 10.1101/2020.08.05.238063.
31. Kovács Á.T. *Bacillus subtilis* // *Trends Microbiol.* – 2019. – 27, № 9. – P. 724–725. DOI: 10.1016/j.tim.2019.03.008
32. Kumar A.S., Lakshmanan V., Caplan J.L., Powell D., Czymmek K.J., Levia D.F., Bais H.P. Rhizobacteria *Bacillus subtilis* restricts foliar pathogen entry through stomata // *Plant J.* – 2012. – 72. – P. 694–706. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.05116.x
33. Luo C., Zhou H., Zou J., Wang X., Zhang R., Xiang Y., Chen Z. Bacillomycin L and surfactin contribute synergistically to the phenotypic features of *Bacillus subtilis* 916 and the biocontrol of rice sheath blight induced by *Rhizoctonia solani* // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2015. – 99. – P. 1897–1910. DOI: 10.1007/s00253-014-6195-4
34. Marlow V.L., Porter M., Hogley L., Kiley T.B., Swedlow J.R., Davidson F.A., Stanley-Wall N.R. Phosphorylated DegU manipulates cell fate differentiation in the *Bacillus subtilis* biofilm // *J Bacteriol.* – 2014. – 196, № 1. – P. 16–27. DOI: 10.1128/JB.00930-13
35. Mielich-Süss B., Lopez D. Molecular mechanisms involved in *Bacillus subtilis* biofilm formation // *Environ Microbiol.* – 2015. – 17, № 3. – P. 555–565. DOI: 10.1111/1462-2920.12527
36. Mishra J., Singh R., Arora N.K. Plant growth-promoting microbes: diverse roles in agriculture and environmental sustainability // In: Kumar V., Kumar M., Sharma S., Prasad R., editors. *Probiotics and Plant Health.* – Springer; 2017. – P. 71–111. DOI: 10.1007/978-981-10-3473-2_4
37. Mnif I., Ghribi D. Review lipopeptides biosurfactants: main classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications // *Peptide Sci.* – 2015. – 104, № 3. – P. 129–147. DOI: 10.1002/bip.22630
38. Molina-Santiago C., Pearson J.R., Navarro Y., Berlanga-Clavero M.V., Caraballo-Rodriguez A.M., Petras D., Garcia-Martin M.L., Lamon G., Haberstein B., Cazorla F.M., de Vicente A., Loquet A., Dorrestein P.C., Romero D. The extracellular matrix protects *Bacillus subtilis* colonies from *Pseudomonas* invasion and modulates plant colonization // *Nat Commun.* – 2019. – 10, № 1919. doi: 10.1128/spectrum.00939-22



39. *Moreira R.R., De Mio L.L.M.* Potential biological agents isolated from apple fail to control *Glomerella* leaf spot in the field // *Biol Control*. – 2015. – 87. – P. 56–63. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.04.020
40. *Myresiotis C.K., Vryzas Z., Papadopoulou-Mourkidou E.* Effect of specific plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on growth and uptake of neonicotinoid insecticide thiamethoxam in corn (*Zea mays* L.) seedlings // *Pest Manag Sci*. – 2015. – 71, № 9. – P. 1258–1266. DOI: 10.1002/ps.3919
41. *Oliveira N.M., Martinez-Garcia E., Xavier J., Durham W.M., Kolter R., Kim W., Foster K.R.* Biofilm formation as a response to ecological competition // *PLoS Biol*. – 2015. – 13, № 7. – e1002191 <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002232>
42. *Omer Bendori S., Pollak S., Hizi D., Eldar A.* The RapP-PhrP quorum-sensing system of *Bacillus subtilis* strain NCIB3610 affects biofilm formation through multiple targets, due to an atypical signal-insensitive allele of RapP // *J Bacteriol*. – 2015. – 197, № 3. – P. 592–602. DOI: 10.1128/JB.02382-14
43. *Powers M.J., Sanabria-Valentin E., Bowers A.A., Shank E.A.* Inhibition of cell differentiation in *Bacillus subtilis* by *Pseudomonas protegens* // *J Bacteriol*. – 2015. – 197, № 11. – P. 2129–2138. DOI: 10.1128/JB.02535-14
44. *Qiao J., Yu X., Liang X., Liu Y., Borriss R., Liu Y.* Addition of plant-growth-promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome // *BMC Microbiol*. – 2017. – 17, № 131. DOI: 10.1186/s12866-017-1039-x
45. *Radhakrishnan R., Hashem A., Abd_Allah E.F.* Bacillus: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments // *Front Physiol*. – 2017. – 8, № 667. DOI: 10.3389/fphys.2017.00667
46. *Rekha K., Kumar R.M., Ilango K., Rex A., Usha B.* Transcriptome profiling of rice roots in early response to *Bacillus subtilis* (RR4) colonization // *Botany*. – 2018. – 96, № 10. – P. 749–765. DOI: 10.1139/cjb-2018-0052
47. *Saeid A., Prochownik E., Dobrowolska-Iwanek J.* Phosphorus solubilization by *Bacillus* species // *Molecules*. – 2018. – 23, № 11. – e2879. <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>
48. *Sasse J., Martinoia E., Northen T.* Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? // *Trends Plant Sci*. – 2018. – 23, № 1. – P. 25–41. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.09.003
49. *Sen S., Borah S.N., Bora A., Deka S.* Production, characterization, and antifungal activity of a biosurfactant produced by *Rhodotorula babjevae* YS3 // *Microb Cell Factories*. – 2017. – 16, № 95. DOI: 10.1186/s12934-017-0711-z
50. *Sgroy V., Cassán F., Masciarelli O., Del Papa M.F., Lagares A., Luna V.* Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera* // *Appl Microbiol Biotechnol*. – 2009. – 85, № 2. – P. 371–381. DOI: 10.1007/s00253-009-2116-3
51. *Sivasakthi S., Usharani G., Saranraj P.* Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) – *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus*



- subtilis*: A review // Afr. J. Agric. Res. – 2014. – 9, № 12. – P. 1265–1277. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>
52. *Sorty A.M., Meena K.K., Choudhary K., Bitla U.M., Minhas P., Krishnani K.* Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2016. – 180, № 5. – P. 872–882. DOI: 10.1007/s12010-016-2139-z
53. *Stefanic P., Kraigher B., Lyons N.A., Kolter R., Mandic-Mulec I.* Kin discrimination between sympatric *Bacillus subtilis* isolates // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2015. – 112, № 14. – P. 14042–14047. DOI: 10.1073/pnas.1512671112
54. *Tao C., Li R., Xiong W., Shen Z., Liu S., Wang B., Ruan Y., Geisen S., Shen Q., Kowalchuk G.A.* Bio-organic fertilizers stimulate indigenous soil *Pseudomonas* populations to enhance plant disease suppression // Microbiome. – 2020. – 8, № 137. DOI: 10.1186/s40168-020-00892-z
55. *Thérien M., Kiesevalter H.T., Auria E., Charron-Lamoureux V., Wibowo M., Maróti G., Kovács A.T., Beauregard P.B.* Surfactin production is not essential for pellicle and root-associated biofilm development of *Bacillus subtilis* // Biofilm. – 2020. – 2. – e100021. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2020.100021>
56. *Townsend L., Yannarell S.M., Huynh T.N., Woodward J.J., Shank E.A.* Cyclic di-AMP acts as an extracellular signal that impacts *Bacillus subtilis* biofilm formation and plant attachment // MBio. – 2018. – 9, № 3. – P. e00341-18. DOI: 10.1128/mBio.00341-18
57. *Trivedi P., Leach J.E., Tringe S.G., Sa T., Singh B.K.* Plant-microbiome interactions: From community assembly to plant health // Nat. Rev. Microbiol. – 2020. – 18, № 10. – P. 607–621. DOI: 10.1038/s41579-020-0412-1
58. *van Gestel J., Vlamakis H., Kolter R.* Division of labor in biofilms: The ecology of cell differentiation // Microbiol. Spectr. – 2015. – 3. – P. 1–24. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mb-0002-2014>
59. *Verma P.P., Shelake R.M., Das S., Sharma P., Kim J.Y.* Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF): Potential biological control agents of diseases and pests // Microbial Interventions in Agriculture and Environment. – 2019. – P. 281–311. DOI: 10.1007/978-981-13-8391-5_11
60. *Vlamakis H., Chai Y., Beauregard P., Losick R., Kolter R.* Sticking together: Building a biofilm the *Bacillus subtilis* way // Nat. Rev. Microbiol. – 2013. – 11, № 3. – P. 157–168. DOI: 10.1038/nrmicro2960
61. *Walukiewicz H.E., Tohidifar P., Ordal G.W., Rao C.V.* Interactions among the three adaptation systems of *Bacillus subtilis* chemotaxis as revealed by an in vitro receptor-kinase assay // Mol. Microbiol. – 2014. – 93, № 5. – P. 1104–1118. DOI: 10.1111/mmi.12721
62. *Wang T., Liang Y., Wu M., Chen Z., Lin J., Yang L.* Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties // Chin. J. Chem. Eng. – 2015. – 23, № 4. – P. 744–754. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2014.05.020>
63. *Wang X., Zhao D., Shen L., Jing C., Zhang C.* Application and mechanisms of *Bacillus subtilis* in biological control of plant disease // Role of Rhizospheric



- Microbes in Soil. – Springer, 2018. – P. 225–250. DOI: 10.1007/978-981-10-8402-7_9
64. Ward E., Kim E.A., Panushka J., Botelho T., Meyer T., Kearns D.B., Ordal G., Blair D.F. Organization of the flagellar switch complex of *Bacillus subtilis* // J. Bacteriol. – 2019. – 201, № 1. – P. 1–11. doi: 10.1128/JB.00626-18
 65. Webb B.A., Hildreth S., Helm R.F., Scharf B.E. *Sinorhizobium meliloti* chemoreceptor McpU mediates chemotaxis toward host plant exudates through direct proline sensing // Appl. Environ. Microbiol. – 2014. – 80, № 11. – P. 3404–3415. doi: 10.1128/AEM.00115-14
 66. Wei F., Hu X., Xu X. Dispersal of *Bacillus subtilis* and its effect on strawberry phyllosphere microbiota under open field and protection conditions // Sci. Rep. – 2016. – 6. – P. 22611. DOI: 10.1038/srep22611
 67. Woo O.G., Kim H., Kim J.S., Keum H.L., Lee K.C., Sul W.J., Lee J.H. *Bacillus subtilis* strain GOT9 confers enhanced tolerance to drought and salt stresses in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica campestris* // Plant Physiol. Biochem. – 2020. – 148. – P. 359–367. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.032
 68. Xie S.S., Wu H.J., Zang H.Y., Wu L.M., Zhu Q.Q., Gao X.W. Plant growth promotion by spermidine-producing *Bacillus subtilis* OKB105 // Mol. Plant-Microbe Interact. – 2014. – 27, № 7. – P. 655–663. DOI: 10.1094/MPMI-01-14-0010-R
 69. Yang Y.M., Pollard A., Höfler C., Poschet G., Wirtz M., Hell R., Sourjik V. Relation between chemotaxis and consumption of amino acids in bacteria // Mol. Microbiol. – 2015. – 96, № 6. – P. 1272–1282. DOI: 10.1111/mmi.13006
 70. Yu Y., Yan F., Chen Y., Jin C., Guo J.H., Chai Y. Poly- γ -glutamic acids contribute to biofilm formation and plant root colonization in selected environmental isolates of *Bacillus subtilis* // Front. Microbiol. – 2016. – 7. – e1811. doi: 10.3389/fmicb.2016.01811
 71. Zhang N., Wang D., Liu Y., Li S., Shen Q., Zhang R. Effects of different plant root exudates and their organic acid components on chemotaxis, biofilm formation, and colonization by beneficial rhizosphere-associated bacterial strains // Plant Soil. – 2014. – 374, № 1. – P. 689–700. DOI: 10.1007/s11104-013-1915-6

REFERENCES

1. Adam M, Heuer H, Hallmann J. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. PLoS One. 2014;9(2): e90402 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090402>
2. Allard-Massicotte R, Tessier L, Lecuyer F, Lakshmanan V, Lucier JF, Garneau D, Caudwell L, Vlamakis H, Bais HP, Beaugard PB. *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors. MBio. 2016;7(6): e01664-16 doi: 10.1128/mBio.01664-16.
3. Arrizubieta M, Simón O, Williams T, Caballero P. Determinant factors in the production of a co-occluded binary mixture of *Helicoverpa armigera* alphabaculovirus (HearNPV) genotypes with desirable insecticidal characteristics. PLoS One. 2016;11(10): e0164486 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164486>



4. Bardin M, Ajouz S, Comby M, Lopez-Ferber M, Graillot B, Siegwart M, Nicot PC. Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Front Plant Sci.* 2015;6:566. DOI: 10.3389/fpls.2015.00566
5. Beauregard PB, Chai YR, Vlamakis H, Losick R, Kolter R. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(17):E1621-E1630 DOI: 10.1073/pnas.121898411
6. Berendsen RL, Pieterse CM, Bakker PA. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 2012;17(8):478-486. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.04.00
7. Blake C, Christensen MN, Kovács ÁT. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. Bacterial Interactions and Evolution Group, DTU Bioengineering, Technical University of Denmark, Kgs. Lyngby, Denmark. *Mol Plant Microbe Interact.* 2021;34(1):15-25. doi: 10.1094/MPMI-08-20-0225-CR.
8. Boguslawski KM, Hill PA, Griffith KL. Novel mechanisms of controlling the activities of the transcription factors Spo0A and ComA by the plasmid-encoded quorum sensing regulators Rap60-Phr60 in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol.* 2015;96(2):325-348. DOI: 10.1111/mmi.12939
9. Borriss R. *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. In: Lugtenberg B, editor. *Principles of Plant-Microbe Interactions.* Springer International Publishing; 2015. p. 379-391. DOI: 10.1007/978-3-319-08574-6
10. Bull MJ, Plummer NT. Part 1: The human gut microbiome in health and disease. *Integr Med (Encinitas).* 2014;13(6):17-22. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26770121/>
11. Carvalho FP. Pesticides, environment, and food safety. *Food Energy Secur.* 2017;6(2):48-60. DOI: 10.1002/fes3.108
12. Cawoy H, Mariutto M, Henry G, Fisher C, Vasilyeva N, Thonart P, Dommes J, Ongena M. Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production. *Mol Plant Microbe Interact.* 2014;27(1):87-100. DOI: 10.1094/MPMI-09-13-0262-R
13. Chen WC, Juang RS, Wei YH. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. *Biochem Eng J.* 2015;103:158-169. DOI: 10.1016/j.bej.2015.07.009
14. Dragos A, Kiesewalter H, Martin M, Hsu CY, Hartmann R, Wechsler T, Eriksen C, Brix S, Drescher K, Stanley-Wall N, Kummerli R, Kovács ÁT. Division of labor during biofilm matrix production. *Curr Biol.* 2018;28(12):1903-1913. e5. DOI: 10.1016/j.cub.2018.04.046
15. Deng Y, Chen H, Li C, Xu J, Qi Q, Xu Y, Zhu Y, Zheng J, Peng D, Ruan L, Sun M. Endophyte *Bacillus subtilis* evade plant defense by producing lantibiotic subtilomycin to mask self-produced flagellin. *Commun Biol.* 2019;2(368). DOI <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0614-0>
16. Egamberdieva D, Wirth S, Behrendt U, Abd_Allah EF, Berg G. Biochar treatment resulted in a combined effect on soybean growth promotion and a shift in plant growth promoting rhizobacteria. *Front Microbiol.* 2016;7(209). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00209>



17. Fan H, Zhang Z, Li Y, Zhang X, Duan Y, Wang Q. Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization. *Front Microbiol.* 2017;8(1973). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01973>
18. Farace G, Fernandez O, Jacquens L, Coutte F, Krier F, Jacques P, Clément C, Barka EA, Jacquard C, Dorey S. Cyclic lipopeptides from *Bacillus subtilis* activate distinct patterns of defence responses in grapevine. *Mol Plant Pathol.* 2015;16(2):177-187. doi: 10.1111/mp.12170
19. Fisher MC, Hawkins NJ, Sanglard D, Gurr SJ. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science.* 2018;360(6390):739-742. DOI: 10.1126/science.aap7999
20. Fita A, Rodriguez-Burruezo A, Boscaiu M, Prohens J, Vicente O. Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: A new paradigm for increasing food production. *Front Plant Sci.* 2018;6(978). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00978>
21. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(9):563-575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94
22. Freitas MA, Medeiros FH, Carvalho SP, Guilherme LR, Teixeira WD, Zhang H, Pare PW. Augmenting iron accumulation in cassava by the beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GBO3). *Front Plant Sci.* 2015;6(596). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00596>
23. Gadhavre KR, Finch P, Gibson TM, Gange AC. Plant growth-promoting *Bacillus* suppress *Brevicoryne brassicae* field infestation and trigger density-dependent and density-independent natural enemy responses. *J Pest Sci.* 2016;89(4):985-992. DOI: 10.1007/s10340-015-0721-8
24. Gao S, Wu H, Yu X, Qian L, Gao X. Swarming motility plays the major role in migration during tomato root colonization by *Bacillus subtilis* SWR01. *Biol Control.* 2016;98:11-17. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2016.03.011
25. García-Gutiérrez MS, Ortega-Álvaro A, Busquets-García A, Pérez-Ortiz JM, Caltana L, Ricatti MJ, Manzanares J. Synaptic plasticity alterations associated with memory impairment induced by deletion of CB2 cannabinoid receptors. *Neuropharmacology.* 2013;73:388-396. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.05.034
26. Gouda S, Kerry RG, Das G, Paramithiotis S, Shin HS, Patra JK. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol Res.* 2018;206:131-140. DOI: 10.1016/j.micres.2017.08.016
27. Großkinsky DK, Tafner R, Moreno MV, Stenglein SA, De Salamone IEG, Nelson LM, Roitsch T. Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Sci Rep.* 2016;6(23310). DOI: 10.1038/srep23310
28. Hashem A, Tabassum B, Abd_Allah EF. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi J Biol Sci.* 2019;26(6):1291-1297. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.05.004.



29. Hiltner L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. Arbeit. Deut. Landw. Ges. Berl. 1904;98:59–78.
DOI: 10.12691/aees-1-6-1
30. Kiesewalter HT, Andrade CNL, Wibowo M, Strube ML, Maroti G, Snyder D, Jørgensen TS, Larsen TO, Cooper VS, Weber T, Kovács ÁT. Genomic and chemical diversity of *Bacillus subtilis* secondary metabolites against plant pathogenic fungi. mSystems. 2021. 6(1) doi:10.1101/2020.08.05.238063.
31. Kovács ÁT. *Bacillus subtilis*. Trends Microbiol. 2019;27(9):724–725.
DOI: 10.1016/j.tim.2019.03.008
32. Kumar AS, Lakshmanan V, Caplan JL, Powell D, Czymmek KJ, Levia DF, Bais HP. Rhizobacteria *Bacillus subtilis* restricts foliar pathogen entry through stomata. Plant J. 2012;72:694–706. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.05116.x
33. Luo C, Zhou H, Zou J, Wang X, Zhang R, Xiang Y, Chen Z. Bacillomycin L and surfactin contribute synergistically to the phenotypic features of *Bacillus subtilis* 916 and the biocontrol of rice sheath blight induced by *Rhizoctonia solani*. Appl Microbiol Biotechnol. 2015;99:1897–1910.
DOI: 10.1007/s00253-014-6195-4
34. Marlow VL, Porter M, Hobley L, Kiley TB, Swedlow JR, Davidson FA, Stanley-Wall NR. Phosphorylated DegU manipulates cell fate differentiation in the *Bacillus subtilis* biofilm. J Bacteriol. 2014;196(1):16–27.
DOI: 10.1128/JB.00930-13
35. Mielich-Süss B, Lopez D. Molecular mechanisms involved in *Bacillus subtilis* biofilm formation. Environ Microbiol. 2015;17(3):555–565.
DOI: 10.1111/1462-2920.12527
36. Mishra J, Singh R, Arora NK. Plant growth-promoting microbes: diverse roles in agriculture and environmental sustainability. In: Kumar V, Kumar M, Sharma S, Prasad R, editors. Probiotics and Plant Health. Springer; 2017. p. 71–111. DOI: 10.1007/978-981-10-3473-2_4
37. Mnif I, Ghribi D. Review lipopeptides biosurfactants: main classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications. Peptide Sci. 2015;104(3):129–147. DOI: 10.1002/bip.2263
38. Molina-Santiago C, Pearson JR, Navarro Y, Berlanga-Clavero MV, Caraballo-Rodríguez AM, Petras D, Garcia-Martin ML, Lamon G, Haberstein B, Cazorla FM, de Vicente A, Loquet A, Dorrestein PC, Romero D. The extracellular matrix protects *Bacillus subtilis* colonies from *Pseudomonas* invasion and modulates plant colonization. Nat Commun. 2019;10(1919).
doi: 10.1128/spectrum.00939-22
39. Moreira RR, De Mio LLM. Potential biological agents isolated from apple fail to control *Glomerella* leaf spot in the field. Biol Control. 2015;87:56–63.
DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.04.020
40. Myresiotis CK, Vryzas Z, Papadopoulou-Mourkidou E. Effect of specific plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on growth and uptake of neonicotinoid insecticide thiamethoxam in corn (*Zea mays* L.) seedlings. Pest Manag Sci. 2015;71(9):1258–1266. DOI: 10.1002/ps.3919



41. Oliveira NM, Martinez-Garcia E, Xavier J, Durham WM, Kolter R, Kim W, Foster KR. Biofilm formation as a response to ecological competition. *PLoS Biol.* 2015;13(7): e1002191 [https://doi.org/ 10.1371/journal.pbio.1002232](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002232)
42. Omer Bendori S, Pollak S, Hizi D, Eldar A. The RapP-PhrP quorum-sensing system of *Bacillus subtilis* strain NCIB3610 affects biofilm formation through multiple targets, due to an atypical signal-insensitive allele of RapP. *J Bacteriol.* 2015;197(3):592–602. DOI: 10.1128/JB.02382-14
43. Powers MJ, Sanabria-Valentin E, Bowers AA, Shank EA. Inhibition of cell differentiation in *Bacillus subtilis* by *Pseudomonas protegens*. *J Bacteriol.* 2015;197(11):2129–2138. DOI: 10.1128/JB.02535-14
44. Qiao J, Yu X, Liang X, Liu Y, Borriss R, Liu Y. Addition of plant-growth-promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome. *BMC Microbiol.* 2017;17(131). DOI: 10.1186/s12866-017-1039-x
45. Radhakrishnan R, Hashem A, Abd_Allah EF. *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Front Physiol.* 2017;8(667). DOI: 10.3389/fphys.2017.00667
46. Rekha K, Kumar RM, Ilango K, Rex A, Usha B. Transcriptome profiling of rice roots in early response to *Bacillus subtilis* (RR4) colonization. *Botany.* 2018;96(10):749–765. DOI: 10.1139/cjb-2018-0052
47. Saeid A, Prochownik E, Dobrowolska-Iwanek J. Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. *Molecules.* 2018;23(11):e2897. <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>
48. Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? *Trends Plant Sci.* 2018;23(1):25–41. DOI: 10.1016/j.tplants.2017.09.003
49. Sen S, Borah SN, Bora A, Deka S. Production, characterization, and antifungal activity of a biosurfactant produced by *Rhodotorula babjevae* YS3. *Microb Cell Factories.* 2017;16(95). DOI: 10.1186/s12934-017-0711-z
50. Sgroy V, Cassán F, Masciarelli O, Del Papa MF, Lagares A, Luna V. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2009;85(2):371–381. DOI: 10.1007/s00253-009-2116-3
51. Sivasakthi S, Usharani G, Saranraj P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *Afr. J. Agric. Res.* 2014; 9: 1265-1277. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>
52. Sorty AM, Meena KK, Choudhary K, Bitla UM, Minhas P, Krishnani K. Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2016; 180 (5), 872–882. DOI: 10.1007/s12010-016-2139-z
53. Stefanic P, Kraigher B, Lyons NA, Kolter R, Mandic-Mulec I. Kin discrimination between sympatric *Bacillus subtilis* isolates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015; 112:14042-14047. DOI: 10.1073/pnas.1512671112



54. Tao C, Li R, Xiong W, Shen Z, Liu S, Wang B, Ruan Y, Geisen S, Shen Q, Kowalchuk GA. Bio-organic fertilizers stimulate indigenous soil *Pseudomonas* populations to enhance plant disease suppression. *Microbiome*. 2020; 8(137). DOI: 10.1186/s40168-020-00892-z
55. Thérien M, Kiesewalter HT, Auria E, Charron-Lamoureux V, Wibowo M, Maróti G, Kovács AT, Beauregard PB. Surfactin production is not essential for pellicle and root-associated biofilm development of *Bacillus subtilis*. *Biofilm*. 2020; 2:e100021. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2020.100021>
56. Townsley L, Yannarell SM, Huynh TN, Woodward JJ, Shank EA. Cyclic di-AMP acts as an extracellular signal that impacts *Bacillus subtilis* biofilm formation and plant attachment. *MBio*. 2018; 9: e00341-18. DOI: 10.1128/mBio.00341-18
57. Trivedi P, Leach JE, Tringe SG, Sa T, Singh BK. Plant- microbiome interactions: From community assembly to plant health. *Nat. Rev. Microbiol*. 2020; 18:607-621. DOI: 10.1038/s41579-020-0412-1
58. van Gestel J, Vlamakis H, Kolter R. Division of labor in biofilms: The ecology of cell differentiation. *Microbiol. Spectr*. 2015; 3. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mb-0002-201>
59. Verma PP, Shelake RM, Das S, Sharma P, Kim JY. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF): potential biological control agents of diseases and pests. *Microbial Interventions in Agriculture and Environment*. Springer, Singapore. 2019, 281-311. DOI: 10.1007/978-981-13-8391-5_11
60. Vlamakis H, Chai Y, Beauregard P, Losick R, Kolter R. Sticking together: Building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nat. Rev. Microbiol*. 2013; 11:157-168. DOI: 10.1038/nrmicro2960
61. Walukiewicz HE, Tohidifar P, Ordal GW, Rao CV. Interactions among the three adaptation systems of *Bacillus subtilis* chemotaxis as revealed by an in vitro receptor-kinase assay. *Mol. Microbiol*. 2014; 93:1104-1118. DOI: 10.1111/mmi.12721
62. Wang T, Liang Y, Wu M, Chen Z, Lin J, Yang L. Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties. *Chin. J. Chem. Eng*. 2015; 23 (4), 744–754. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2014.05.020>
63. Wang X, Zhao D, Shen L, Jing C, Zhang C. Application and mechanisms of *Bacillus subtilis* in biological control of plant disease. *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*. Springer. 2018; pp. 225–250. DOI: 10.1007/978-981-10-8402-7_9
64. Ward E, Kim EA, Panushka J, Botelho T, Meyer T, Kearns DB, Ordal G, Blair DF. Organization of the flagellar switch complex of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol*. 2019; 201 doi: 10.1128/JB.00626-18
65. Webb BA, Hildreth S, Helm RF, Scharf BE. *Sinorhizobium meliloti* chemoreceptor McpU mediates chemotaxis toward host plant exudates through direct proline sensing. *Appl. Environ. Microbiol*. 2014; 80 (11), 3404–3415. doi: 10.1128/AEM.00115-14
66. Wei F, Hu X, Xu X. Dispersal of *Bacillus subtilis* and its effect on strawberry phyllosphere microbiota under open field and protection conditions. *Sci. Rep*. 2016; 6:22611. DOI: 10.1038/srep22611



67. Woo OG, Kim H, Kim JS, Keum HL, Lee KC, Sul WJ, Lee JH. *Bacillus subtilis* strain GOT9 confers enhanced tolerance to drought and salt stresses in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica campestris*. *Plant Physiol. Biochem.* 2020; 148:359-367. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.03
68. Xie SS, Wu HJ, Zang HY, Wu LM, Zhu QQ, Gao XW. Plant growth promotion by spermidine-producing *Bacillus subtilis* OKB105. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2014; 27:655-663. DOI: 10.1094/MPMI-01-14-0010-R
69. Yang YM, Pollard A, Höfler C, Poschet G, Wirtz M, Hell R, Sourjik V. Relation between chemotaxis and consumption of amino acids in bacteria. *Mol. Microbiol.* 2015; 96 (6), 1272–1282. DOI: 10.1111/mmi.13006
70. Yu Y, Yan F, Chen Y, Jin C, Guo J.H, Chai Y. Poly-g-glutamic acids contribute to biofilm formation and plant root colonization in selected environmental isolates of *Bacillus subtilis*. *Front. Microbiol.* 2016; 7:e1811. doi: 10.3389/fmicb.2016.01811
71. Zhang N, Wang D, Liu Y, Li S, Shen Q, Zhang R. Effects of different plant root exudates and their organic acid components on chemotaxis, biofilm formation and colonization by beneficial rhizosphere-associated bacterial strains. *Plant Soil.* 2014; 374:689-700. DOI: 10.1007/s11104-013-1915-6

Стаття надійшла до редакції 08.11.2024 р.



O. Yu. Zinchenko, N. S. Chebanov, M. D. Shtenikov

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: ozinchenko@onu.edu.ua

SCREENING OF MARINE SPORE-FORMING BACTERIA DEGRADING POLYMER MATERIALS

*The development of plastic recycling methods requires the search for new microorganisms capable of their biodegradation. The aim of the work was to screen spore-forming bacteria isolated from bottom sediments of the Black Sea for their ability to decompose Impranil and polyethylene terephthalate. **Materials and methods.** Cultivation of sixty cultures of spore-forming bacteria isolated from the Black Sea was carried out on a solid LB medium supplemented with Impranil (3–4 ml/l) or bis(hydroxyethyl)terephthalate (BHET) (5 mM). The ability of cultures to decompose polymer additives was evaluated by the formation of a transparent zone around the colonies after incubation at 30 °C and 37 °C for 14 days. **Results.** Out of 60 strains, 40 showed a positive result. 22 strains were active towards both plastics, 13 – only towards Impranil, 5 – only BHET. Impranil was decomposed somewhat more actively at 30 °C than at 37 °C. No clear temperature dependence was found in BHET decomposition. The analysis of the species composition showed that 35 of the 40 active strains belonged to seven species of microorganisms. *B. subtilis* has the highest share of active strains, as this species is represented by 13 strains, each of which was found to be active. The most active strain belonged to the species *B. reuszeri*. **Conclusions.** Spore-forming bacteria isolated from the Black Sea are capable of degrading Impranil and BHET. Enzymes degrading above mentioned polymers are the most widespread among the representatives of the species *B. subtilis*, *B. atrophaeus* and *B. reuszeri*. The highest activity towards Impranil showed *B. subtilis*, towards BHET– *P. megaterium*, *B. reuszeri* and *B. licheniformis*. Impranil degradation was more active under 30 °C, but no clear dependence between temperature and BHET degradation was detected.*

Key words: polyethyleneterephthalate, Impranil, biodegradation, spore-forming bacteria, Black Sea.

Due to their remarkable properties, various types of plastic are actively used in many areas of human life. Polyethylene terephthalate or PET is one of the most popular types of plastic, utilized in the production of food [17] and pharmaceutical [9, 22] containers, as well as in the textile industry [13]. However, a significant part of used plastics is not recycled and is discarded into the environment, where it degrades into microplastics which contaminate soils and waters, enter trophic chains, and harm animals and humans [7]. Reducing PET production in the near future is unlikely [11], which creates an urgent need for developing technologies to enhance



the value of used PET waste and combat plastic pollution [23]. Biodegradation can solve the problem from two sides – creating more efficient, energy- and resource-saving methods of PET recycling on the one hand, and theoretically enabling the cleanup of plastic-contaminated ecosystems on the other [4, 12].

PET hydrolases represent the most studied class of enzymes [6]; however, the full extent of PET hydrolase gene distribution remains unknown, particularly among the Firmicutes phylum. PET hydrolytic activity has been demonstrated by p-nitrobenzyl esterase isolated from *Bacillus subtilis* [20]. Consortia from oil-contaminated sites in Texas, comprising mixtures of *Pseudomonas* and *Bacillus* representatives (*B. thuringiensis* C15 and *B. albus* PFYN01), reduced the weight of granular PET [21]. Isolates of *B. cereus* and *B. gottheilii* obtained from coastal mangrove areas exhibited weak PET degradation abilities [3]. A bacterium *B. safensis* YX8, isolated from the soil surface of PET waste, degraded PET nanoparticles [26]. *B. licheniformis* demonstrated the ability to form biofilms on PET surfaces and modify its chemical structure [15].

Given this information, spore-forming bacteria exhibit significant potential for the degradation of synthetic polymers, a field that remains underexplored. Of particular interest are microbial communities in marine environments, as it has been established that marine microorganisms can form biofilms on plastic surfaces [8]. Data on similar properties of Black Sea bacteria are quite limited.

The aim of this study was to screen spore-forming bacteria isolated from Black Sea sediments for their ability to decompose polyethylene terephthalate and Impranil.

Materials and Methods

The study utilized 60 strains of spore-forming bacteria, isolated in previous research from deep-sea sediment samples of the Black Sea and identified (Tables 1, 2) by their morphological, cultural, physiological, and biochemical characteristics, as well as by comparing their fatty acid profiles using the MIDI Sherlock microbial identification system on an Agilent 7890 gas chromatograph equipped with a flame ionization detector [1].

To evaluate the ability of the studied cultures to degrade plastics, nutrient media containing Impranil and BHET were used. Impranil is commonly employed to assess the capability of microorganisms to degrade polymers, particularly polyurethane [5]. BHET consists of one terephthalic acid residue and two ethylene glycol residues, i.e., PET monomers, making it a convenient substrate for detecting PET-hydrolytic activity [25].

The base for the plastic-containing media was solid LB medium (lysogeny broth), which was sterilized by autoclaving, cooled to 50–60 °C, and supplemented with the polymers separately under constant stirring using a magnetic stirrer: 3–4 mL of Impranil emulsion per 1 liter of LB or a previously prepared BHET solution to a final concentration of 5 mM [25]. Experiments with each type of plastic were conducted independently. The BHET solution was prepared as follows: a 1 M stock solution of BHET was made in dimethyl sulfoxide, heated to 60 °C, and stirred until the substrate was completely dissolved. The prepared media were poured into Petri dishes: approximately 20 mL per dish with a diameter of 92 mm.



Table 1

The species composition of the studied cultures

Cypher	Species name	Cypher	Species name
B1	<i>Priestia megaterium</i> 03	B31	<i>Bacillus atrophaeus</i> 200
B2	Unknown B	B32	Unknown 222
B3	<i>Bacillus pumilus</i> 049	B33	<i>Bacillus subtilis</i> 203
B4	<i>Priestia megaterium</i> 052	B34	Unknown A05
B5	<i>Bacillus licheniformis</i> 048	B35	<i>Bacillus subtilis</i> 1223
B6	<i>Shouchella clausii</i> 046	B36	Unknown 045
B7	<i>Shouchella clausii</i> 050	B37	Unknown 79.2
B8	<i>Brevibacillus reuszeri</i> 031	B38	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> 66
B9	<i>Bacillus pumilus</i> 229	B39	Unknown 801
B10	<i>Brevibacillus reuszeri</i> 039	B40	<i>Sutcliffiella halmapala</i> 9
B11	<i>Bacillus subtilis</i> 247	B41	<i>Bacillus subtilis</i> 231
B12	<i>Bacillus licheniformis</i> 012	B42	<i>Brevibacillus reuszeri</i> 44
B13	<i>Priestia megaterium</i> 036	B43	<i>Metabacillus idriensis</i> 2
B14	<i>Priestia megaterium</i> 42	B44	<i>Bacillus licheniformis</i> 240
B15	<i>Bacillus licheniformis</i> 1	B45	<i>Bacillus licheniformis</i> A
B16	<i>Priestia megaterium</i> 116	B46	Unknown 043
B17	<i>Priestia megaterium</i> 98	B47	Unknown 043.1
B18	<i>Bacillus licheniformis</i> 026	B48	Unknown 117
B19	<i>Bacillus licheniformis</i> 014	B49	<i>Shouchella clausii</i> 020
B20	<i>Priestia megaterium</i> 55	B50	<i>Priestia megaterium</i> 122
B21	<i>Bacillus subtilis</i> 053	B51	<i>Shouchella clausii</i> 07
B22	<i>Bacillus subtilis</i> 211	B52	<i>Bacillus subtilis</i> 231
B23	Unknown 040	B53	<i>Bacillus subtilis</i> 217
B24	<i>Priestia megaterium</i> 054	B54	<i>Bacillus subtilis</i> 021
B25	<i>Priestia megaterium</i> 233	B55	<i>Priestia megaterium</i> 051
B26	<i>Bacillus subtilis</i> 204	B56	<i>Bacillus atrophaeus</i> 200
B27	<i>Bacillus subtilis</i> 212	B57	<i>Alkalihalobacillus clausii</i> 07
B28	Unknown 239	B58	<i>Robertmurraya siralis</i> 57
B29	<i>Bacillus subtilis</i> 1	B59	<i>Bacillus pumilus</i> A
B30	<i>Bacillus subtilis</i> B	B60	<i>Bacillus</i> sp. 1222



The test microorganisms were streaked on meat-peptone agar (MPA) to obtain 24-hour cultures. The cultures were cultivated at 30 °C for 24 hours. The following day, each culture was inoculated onto the plastic-containing media using inoculation loop. The cultures were incubated at 30 °C and 37 °C for 14 days. All inoculations were performed in duplicate for each culture and temperature condition.

The results were assessed by observing the formation of transparent zones in the media surrounding active colonies, and their widths were measured. This analysis provided information about the potential of microorganisms to degrade the selected polymers [18]. Cultures forming transparent zones larger than 3 mm in at least one experiment were considered highly active, those with zones between 2 and 3 mm were considered moderately active, and those with zones of 1.5 mm or less were deemed low-activity cultures. This grading scale was chosen arbitrarily, as the study aimed to conduct a preliminary evaluation of Black Sea bacteria's ability to degrade synthetic polymers and to identify the most active cultures.

Results and Discussion

Degradation of Impranil and BHET by the studied microorganisms

Out of the 60 strains tested for their ability to hydrolyze Impranil and BHET, a total of 40 showed positive results. The list of active cultures is presented in Table 2. Among these, 22 strains were active against both types of plastics, 13 strains exhibited activity only towards Impranil, and 5 strains showed activity exclusively against BHET.

Highly active cultures include 11 strains (B1, B6, B8, B10, B11, B19, B27, B52, B53, B54, B56), with moderate activity – 17 strains (B2, B3, B5, B12, B13, B16, B17, B18, B21, B22, B26, B28, B29, B30, B31, B33, B35), while low-activity cultures include 12 strains (B7, B9, B20, B23, B25, B39, B40, B41, B44, B55, B59, B60). The ratio of active to inactive strains is illustrated in Figure 1.

Formation of transparent zones around colonies of active cultures is shown in Fig. 2.

The species composition of bacteria capable of degrading Impranil and BHET

The species composition of active cultures was analyzed: 35 out of 40 active cultures belonged to seven types of microorganisms: *Priestia megaterium* (B1, B11, B13, B16, B17, B20, B25, B55); *Shouchella clausii* (B6, B7); *Brevibacillus reuszeri* (B8); *Bacillus licheniformis* (B5, B12, B18, B19, B44); *Bacillus pumilus* (B3, B9, B59); *Bacillus subtilis* (B21, B22, B26, B27, B29, B30, B33, B35, B41, B52, B53, B54); *Bacillus atrophaeus* (B31, B56); *Bacillus* sp. (B60); *Sutcliffiella halmapala* (B40). The species of five more strains is unknown.

The number of active cultures among representatives of each species is presented in Table 3. All studied *B. atrophaeus* cultures exhibited the ability to degrade both types of polymer compounds. However, since only two strains of this species were included in the study, the sample size does not allow these results to be considered reliable. It can be assumed that the ability to degrade polymers was most common among *B. subtilis* isolates. All cultures of this species were capable of degrading Impranil, and 77% could degrade BHET. Additionally, 77%



Table 2

The size of the transparent zones around colonies of active strains, mm

№	Species affiliation	Cypher	Degradation of Impranil		Degradation of BHET	
			30 °C	37°C	30 °C	37°C
1	<i>Priestia megaterium</i> 03*	B1	2.5	-	4	1
2	<i>Unknown</i> B	B2	1.5	2.0	-	-
3	<i>Bacillus pumilus</i> 049	B3	2.0	2.0	-	-
4	<i>Bacillus licheniformis</i> 048	B5	2.5	1.5	-	-
5	<i>Shouchella clausii</i> 046	B6	3.5	2.5	-	-
6	<i>Shouchella clausii</i> 050	B7	1.0	1.5	1,5	-
7	<i>Brevibacillus reuszeri</i> 031	B8	2.5	1.0	1	4.5
8	<i>Bacillus pumilus</i> 229	B9	1.0	-	-	-
9	<i>Brevibacillus reuszeri</i> 039	B10	2.0	2.5	3.0	4.5
10	<i>Bacillus subtilis</i> 247	B11	4.5	1.5	-	-
11	<i>Bacillus licheniformis</i> 012	B12	-	-	2.0	-
12	<i>Priestia megaterium</i> 036	B13	2.0	2.5	-	-
13	<i>Priestia megaterium</i> 116	B16	2.0	-	0.5	2.5
14	<i>Priestia megaterium</i> 98	B17	-	2.0	-	-
15	<i>Bacillus licheniformis</i> 026	B18	2.5	-	1	1
16	<i>Bacillus licheniformis</i> 014	B19	4.0	-	3.5	0.5
17	<i>Priestia megaterium</i> 55	B20	1	1.5	-	-
18	<i>Bacillus subtilis</i> 053	B21	1	2	1	1
19	<i>Bacillus subtilis</i> 211	B22	2	2.5	1	1
20	<i>Unknown</i> 040	B23	1	-	-	0,5
21	<i>Priestia megaterium</i> 233	B25	-	-	-	1
22	<i>Bacillus subtilis</i> 204	B26	2.5	2.5	1.5	1.5
23	<i>Bacillus subtilis</i> 212	B27	3.5	1.5	-	1
24	<i>Unknown</i> 239	B28	-	2	-	-
25	<i>Bacillus subtilis</i> 1	B29	2.5	2	1	-
26	<i>Bacillus subtilis</i> B	B30	1	2.5	1	1
27	<i>Bacillus atrophaeus</i> 200	B31	2	2.5	1	1.5
28	<i>Bacillus subtilis</i> 203	B33	2	2	1	1.5
29	<i>Bacillus subtilis</i> 1223	B35	2	1	1	0.5
30	<i>Unknown</i> 801	B39	-	-	-	1
31	<i>Sutcliffiella halmapala</i> 9	B40	-	-	-	1
32	<i>Bacillus subtilis</i> 231	B41	-	1.5	-	-
33	<i>Bacillus licheniformis</i> 240	B44	1	1	-	-
34	<i>Bacillus subtilis</i> 231	B52	7	-	1	1
35	<i>Bacillus subtilis</i> 217	B53	4	-	-	-
36	<i>Bacillus subtilis</i> 021	B54	5	-	1	1
37	<i>Priestia megaterium</i> 051	B55	0.5	1	1	-
38	<i>Bacillus atrophaeus</i> 200	B56	4	-	1	1
39	<i>Bacillus pumilus</i> A	B59	1	-	-	-
40	<i>Bacillus</i> sp. 1222	B60	-	-	1	-

Note: * – the most active strains are shown in bold.



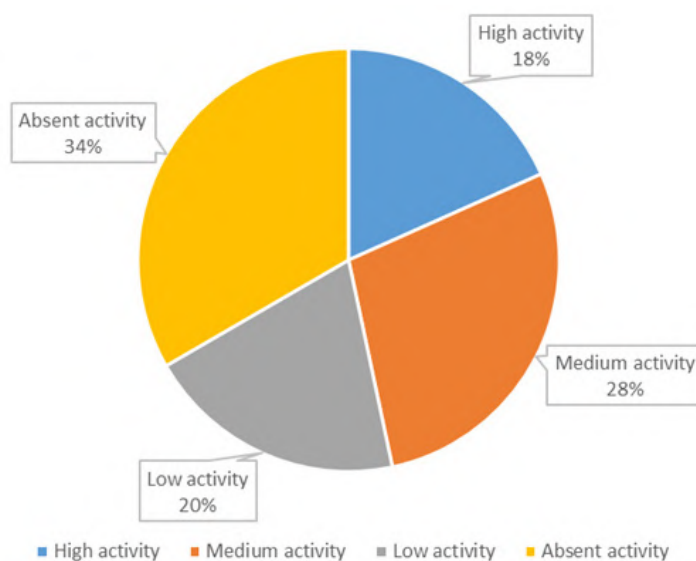


Fig. 1. The ratio of strains with high, medium, low and absent activity among 60 studied strains

of these cultures degraded both types of plastics. In general, representatives of six species (*P. megaterium*, *S. clausii*, *B. reuszeri*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, and *B. atrophaeus*) were able to degrade both Impranil and BHET. Cultures of *Bacillus pumilus* degraded only Impranil, while *S. halmapala* and *Bacillus sp.* degraded only BHET, but due to the small number of strains representing these species, these data cannot be considered reliable. Among the 11 cultures whose species affiliation could not be established, 3 were active against Impranil, and 2 against BHET. One culture exhibited activity against both polymers. However, according to the data of Table 2, this activity was low.

Various studies [3, 13, 20] describe the ability of *Bacillus* species to degrade polyethylene terephthalate (PET), which is confirmed by the results obtained in this study. Previous researches [3, 15, 20, 21, 26] indicate that the *Bacillus* genus is among the most common carriers of PET-degrading enzymes among the Firmicutes phylum. This is also confirmed by our data, as members of the *Bacillus* genus accounted for the largest proportion (34%) of the 40 active cultures. The *p*-nitrobenzyl esterase BsEstB produced by *B. subtilis* has been described [20]. It is possible that this enzyme is responsible for the degradation of both Impranil and BHET.

The ability of *P. megaterium* to biodegrade polystyrene, which, like PET and BHET, contains a benzene ring, has been demonstrated [16]. Additionally, *P. megaterium* was identified in consortium “No. 46,” which exhibited PET-degrading activity [24]. While *P. megaterium* is known to form biofilms on plastic surfaces, according to the obtained results, it may also participate directly in biodegradation by breaking down PET degradation products, such as BHET.

B. licheniformis has previously been studied for its ability to degrade polylactic acid [2]. However, based on our data, it can be assumed that this species might also have the potential to degrade PET.



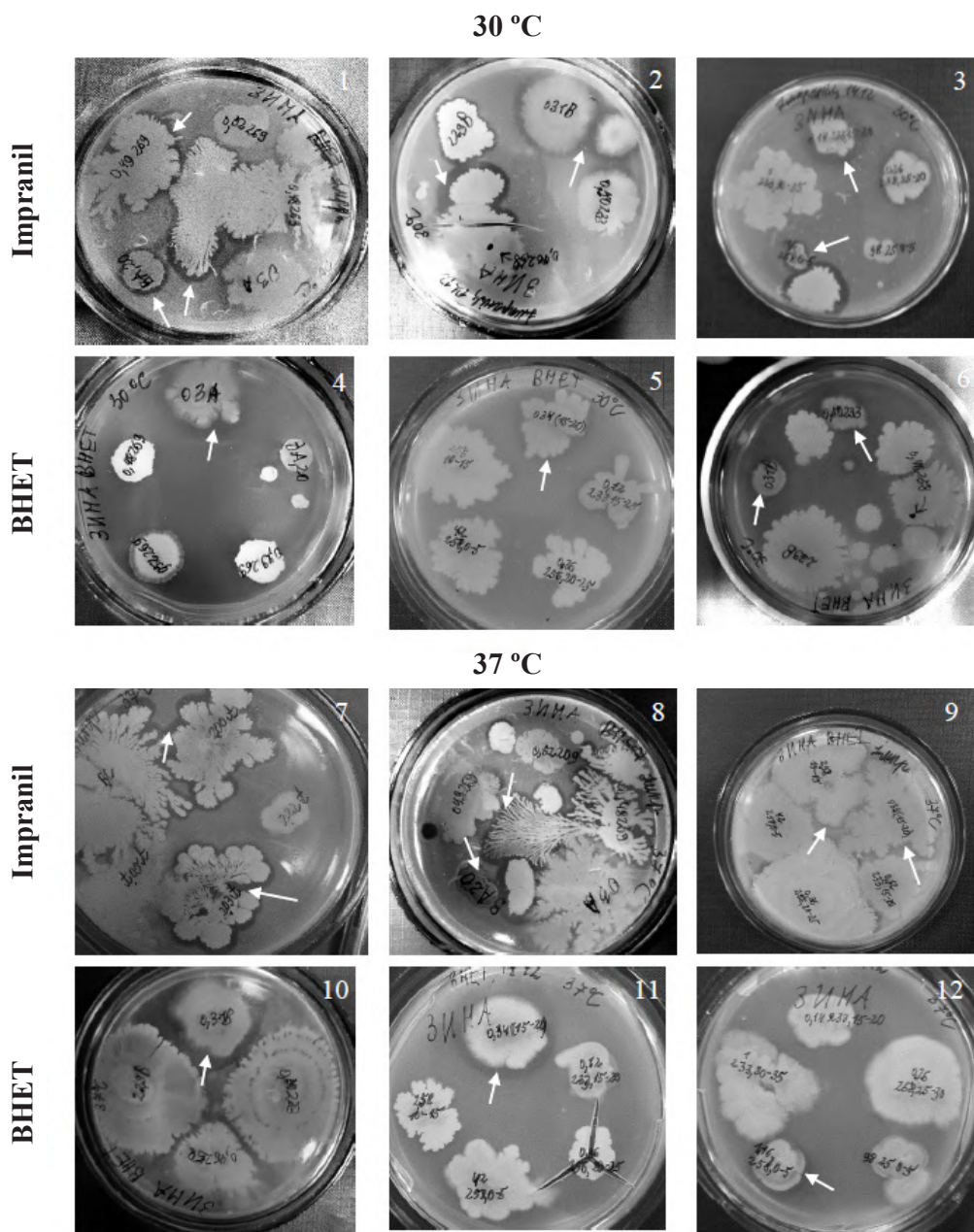


Fig. 2. Decomposition of Impranil and BHET by the studied cultures

Note: arrows indicate transparent areas around active cultures:

- 1 – B2 (BA: 1.5 mm), B3 (049D: 2 mm), B5 (048D: 2.5 mm);
 2 – B6 (046C: 3.5 mm), B8 (031B: 2.5 mm); 3 – B19 (014A: 4 mm), B16 (116C: 2 mm);
 4 – B1 (03A: 4 mm); 5 – B10 (039: 3.5 mm); 6 – B7 (050A: 1.5 mm), B8 (031B: 1 mm);
 7 – B31 (200A: 2.5 mm), B33 (203A: 2 mm); 8 – B2 (BA: 2 mm), B5 (048D: 1.5 mm);
 9 – B10 (039: 2.5 mm), B11 (247: 1.5 mm); 10 – B8 (031B: 4.5 mm);
 11 – B10 (034: 4.5 mm); 12 – B16 (116C: 2.5 mm)

Table 3

The share of active cultures among representatives of different species

Species	Cultures that were studied	The number of active against Impranil	The number of active against BHET	The number of active against BHET and Impranil
<i>Priestia megaterium</i>	11	6	4	3
<i>Shouchella clausii</i>	4	2	1	1
<i>Brevibacillus reuszeri</i>	3	2	2	2
<i>Bacillus licheniformis</i>	7	4	3	2
<i>Bacillus pumilus</i>	3	3	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	13	13	10	10
<i>Bacillus atrophaeus</i>	2	2	2	2
<i>Bacillus</i> sp.	1	-	1	-
<i>Sutcliffiella halmapala</i>	1	-	1	-
<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	1	-	-	-
<i>Robertmurraya siralis</i>	1	-	-	-
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	1	-	-	-
<i>Metabacillus idriensis</i>	1	-	-	-
Unknown	11	3	2	1

B. reuszeri is known for its wide enzymatic activity spectrum and its ability to degrade polyethylene and polyurethane [10]. Polyurethane, like PET, contains a benzene ring. Given that *B. reuszeri* can utilize BHET, it is plausible that it may also be capable of degrading PET.

Regarding *S. clausii*, *B. atrophaeus*, and *B. pumilus*, data on their polymer degradation capabilities are limited. However, based on the obtained results, it can be inferred that these three species are more inclined to degrade Impranil than BHET. As for *S. halmapala*, only low activity against BHET was observed.

Temperature dependence of culture activity

In general, Impranil was more actively degraded at 30 °C than at 37 °C, although the data are insufficient to establish a clear correlation (Fig. 3). Specifically, the activity of eleven cultures increased with a rise in cultivation temperature, while for sixteen cultures, activity was higher at 30 °C. For three strains, activity was independent of temperature. A total of twenty-one cultures degraded Impranil at both temperatures, 11 strains were active only at 30 °C, and three strains only at 37 °C.

No clear dependence of BHET degradation efficiency on temperature was observed (Fig. 4). For ten cultures, activity increased with a rise in temperature, while for seven, activity was higher at 30 °C. For another seven cultures, activity was independent of temperature. Sixteen cultures degraded BHET at both temperatures, five only at 30 °C, and five exclusively at 37 °C.



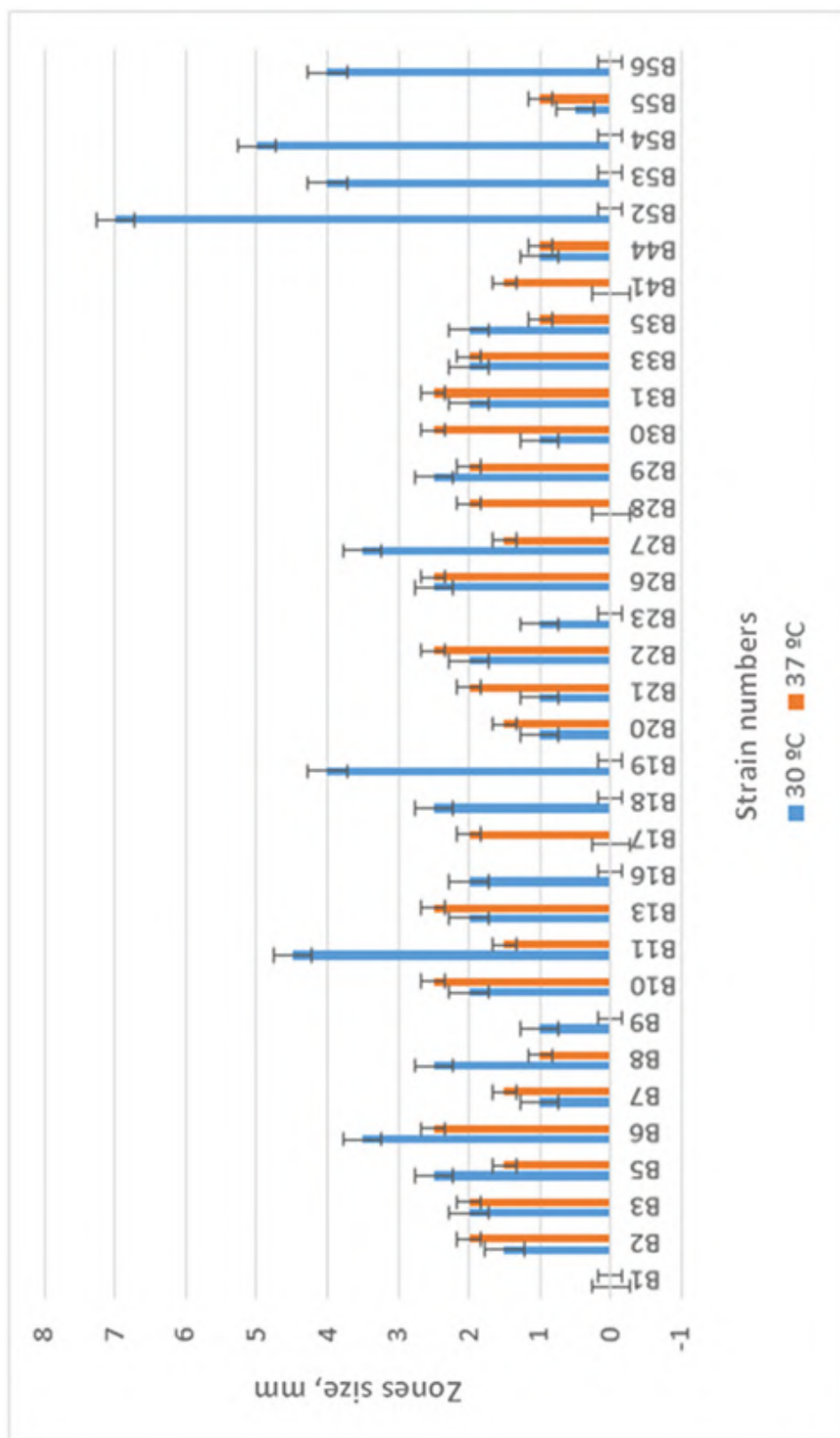


Fig. 3. Dependence of Impranil decomposition on temperature

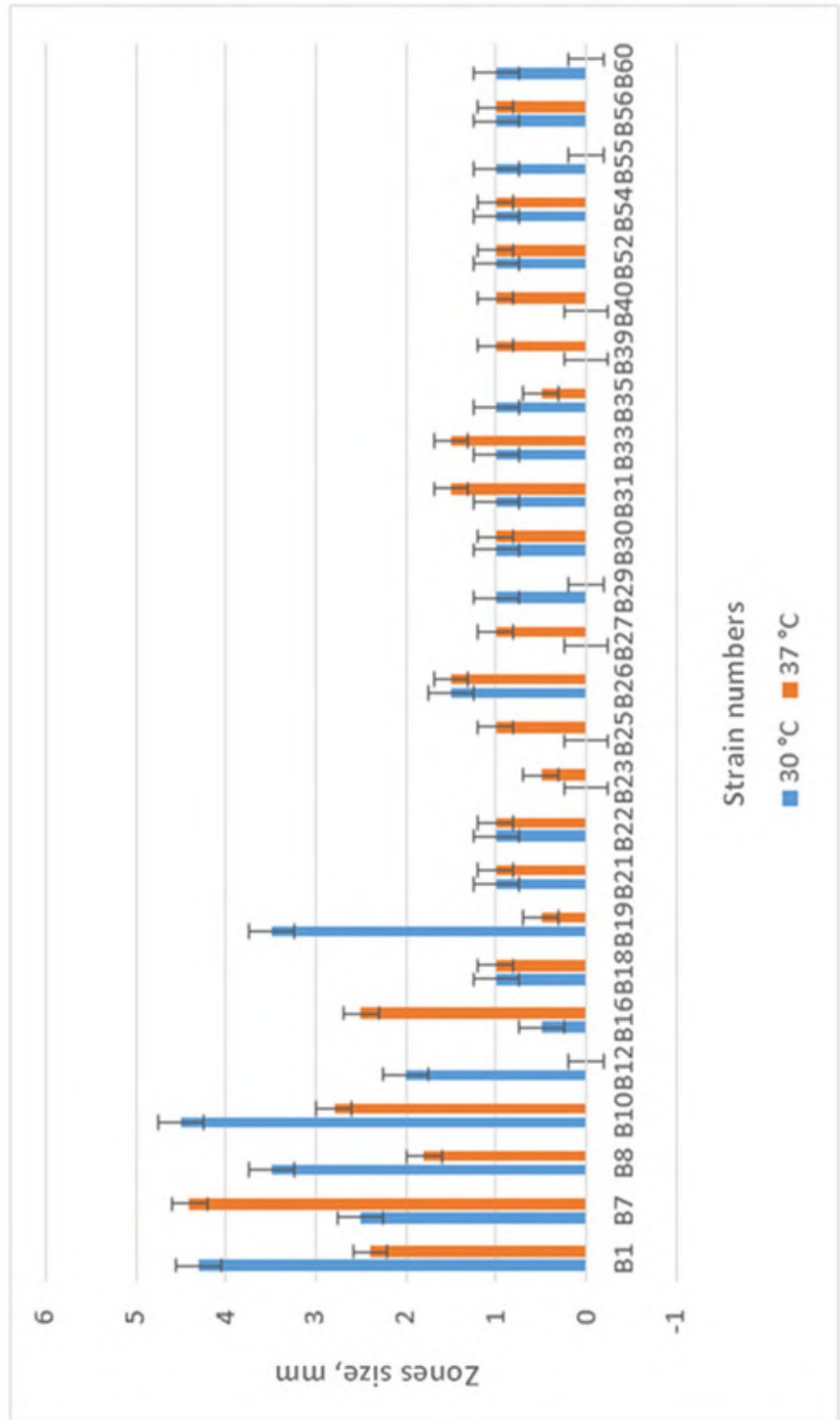


Fig. 4. Dependence of BHEТ decomposition on temperature



Thus, spore-forming bacteria isolated from the Black Sea sediments exhibit potential in the biodegradation of polymeric compounds, particularly PET and Impranil. Enzymes responsible for the degradation of these polymers are most common in representatives of *B. subtilis*, *B. atrophaeus*, and *B. reuszeri*. The highest activity against Impranil was observed in strains of *B. subtilis*, while *P. megaterium*, *B. reuszeri*, and *B. licheniformis* demonstrated the most significant activity against BHET, which was used as an indicator of PET degradation enzymes. Impranil was generally degraded more effectively at 30 °C, whereas no clear temperature-dependent correlation was observed for BHET. These results provide a foundation for further studies and suggest the potential of Black Sea sediment bacteria as polymer degraders, as their enzymatic systems remain active at relatively low temperatures, offering the possibility of developing energy-efficient plastic biodegradation technologies.

The studied bacteria are facultative anaerobes; however, their polymer-degrading ability was tested only under aerobic conditions. Conducting similar experiments under anaerobic conditions could provide more data into the mechanisms of plastic biodegradation under natural conditions.

The experiment duration was compared with other studies. In experiments focused on PET biodegradation, strains of *Pseudomonas* and *Bacillus* were cultivated on LB media with Rhodamine B to test lipolytic activity, with cultivation lasting 24 hours. For general hydrolytic and polyesterase activity, agar plates with tributyrin were used, with cultivation lasting five days [19]. Impranil degradation using purified enzymes lasted for 24 hours [5], while an esterase from *Enterobacter sp.* degraded approximately 80% of BHET in 120 hours [19]. Thus, 14 days is sufficient for the enzymes of active strains to diffuse through the agar and react with Impranil and BHET.

The obtained data indicate a significant potential of the Black Sea bacteria in the decomposition of polymer compounds. Future research should focus on screening a broader range of spore-forming bacteria and other microbial groups from the Black Sea and investigating the nature of the degradation products.

Acknowledgements

We acknowledge the head of the General Microbiology Laboratory of the Christian Albrecht University (Kiel, Germany) Prof. Ruth Schmitz-Streit for providing commercially available Impranil and BHET for our research and PhD student Johanna Thomsen for excellent consultative assistance.



О. Ю. Зінченко, Н. С. Чебанов, М. Д. Штеніков

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

СКРИНІНГ ЧОРНОМОРСЬКИХ СПОРОУТВОРЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ЩОДО ЗДАТНОСТІ ДО БІОДЕГРАДАЦІЇ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ

Реферат

Розвиток методів утилізації пластиків потребує пошуку нових мікроорганізмів, здатних до їх біодеградації. **Метою роботи** був скринінг спороутворювальних бактерій, виділених з донних осадів Чорного моря, щодо здатності до розкладання поліетилентерефталату та Імпранілу. **Матеріали і методи.** Культивування шістдесяти чорноморських спороутворювальних бактерій здійснювали на агаризованому живильному середовищі LB, у яке додатково вносили Імпраніл (3–4 мл/л) або біс(гідроксиетил)терефталат (БГЕТ) (5 мМ). Здатність культур до розкладання полімерних добавок оцінювали за утворенням навколо колоній прозорої зони після інкубації при 30 °С та 37 °С упродовж 14 діб. **Результати.** З 60 штамів 40 показали позитивний результат. 22 штами були активні щодо обох видів пластику, 13 – тільки щодо Імпранілу, 5 – виключно щодо БГЕТ. 35 штамів з 40 активних належали до семи видів мікроорганізмів. Найбільшу кількість активних штамів виявлено серед культур *Bacillus subtilis*. Найактивніша культура належала до виду *Bacillus reuszeri*. Імпраніл децю активніше розкладався при 30 °С, ніж при 37 °С. Не знайдено чіткої залежності у розкладанні БГЕТ від температури. **Висновки.** Спороутворювальні бактерії, виділені з Чорного моря, здатні до деградації Імпранілу та БГЕТ. Найбільше ферменти, що викликають деградацію вказаних полімерів, поширені у представників видів *Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus* та *Bacillus reuszeri*. Найвищою активністю щодо Імпранілу характеризуються представники виду *Bacillus subtilis*, щодо БГЕТ – *Priestia megaterium*, *Bacillus reuszeri* та *Bacillus licheniformis*. Імпраніл ефективніше розкладається при 30 °С, для БГЕТ чіткої залежності швидкості деградації від температури не знайдено.

Ключові слова: морські спороутворювальні бактерії, Чорне море, полімерні матеріали, біодеградація.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Іваниця В.О., Штеніков М.Д., Остапчук А.М. Факультативно-анаеробні спороутворювальні бактерії глибоководних відкладень Чорного моря // Мікробіологія і біотехнологія. – 2017. – № 4. – С. 94–103. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2017.4\(40\).119560](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2017.4(40).119560)
2. Arena M., Abbate C., Fukushima K., Gennari M. Degradation of poly(lactic acid) and nanocomposites by *Bacillus licheniformis*// Environ Sci Pollut Res Int. – 2011. – 18, № 6. – P. 865–870. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0443-2>
3. Auta H.S., Emenike C.U., Fauziah S.H. Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic



- degradation // *Environmental Pollution*. – 2017. – 231, № 2. – P. 1552–1559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.043>
4. *Barclay A., Acharya K.R.* Engineering Plastic Eating Enzymes Using Structural Biology // *Biomolecules*. – 2023. – 13. – P. 1407. <https://doi.org/10.3390/biom13091407>
 5. *Biffinger J.C., Barlow D.E., Cockrell A.L., Cusick K.D., Hervey W.J., Fitzgerald L.A., Nadeau L.J., Hung C.S., Crookes-Goodson W.J., Russell Jr.J.N.* The applicability of Impranil®DLN for gauging the biodegradation of polyurethanes // *Polymer Degradation and Stability*. – 2015. – 120. – P. 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.06.020>
 6. *Danso D., Chow J., Streit W.R.* Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2019. – 85, № 19. – Article number: 85:e01095-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
 7. *Dhaka V., Singh S., An Am. G., Naik T.S.S.K., Garg Sh., Samuel J., Kumar M., Ramamurthy P.C., Singh J.* Occurrence, toxicity and remediation of polyethylene terephthalate plastics. A review // *Environ Chem Lett*. – 2022. – 20, № 3. – P. 1777–1800. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01384-8>
 8. *Aytan Ü., Senturk Y., Esensoy F.B.* Marine Litter in the Black Sea. – Turkish Marine Research Foundation (TUDAV); Istanbul, 2020. – Vol. 56. – 268 p.
 9. *Jaime S.B.M., Alves M.R.V., Bocoli P.F.J.* Moisture and oxygen barrier properties of glass, PET and HDPE bottles for pharmaceutical products // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2022. – 71. – Article number: 103330. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103330>
 10. *Kamli M.R., Malik A., Sabir J.S.M., Rather I.A., K. Chang-Bae.* Insights into the biodegradation and heavy metal resistance potential of the genus *Brevibacillus* through comparative genome analyses // *Gene*. – 2022. – 846. – Article number: 146853. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146853>
 11. *Kim H.T., Kim J.K., Cha H.G., Kang M.J., Lee H.S., Khang T.U.* Biological Valorization of Poly(ethylene terephthalate) monomers for Upcycling Waste PET // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2019. – P. 19396–19406. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03908>
 12. *Khairul A.N.F.S., Huyop F., Ur-Rehman G., Abdullah F., Normi Y.M., Sabullah M.K., Abdul Wahab R.* An Overview into Polyethylene Terephthalate (PET) Hydrolases and Efforts in Tailoring Enzymes for Improved Plastic Degradation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. 23(20):12644. <https://doi.org/10.3390/ijms232012644>
 13. *León-Zayas R., Roberts C., Vague M., Mellies J.L.* Draft Genome Sequences of Five Environmental Bacterial Isolates That Degrade Polyethylene Terephthalate Plastic // *MicrobiolResourAnnounc*. – 2019. – 8, № 25. – Article number: e00237-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00237-19>
 14. *Liu G., Wang J., Wand W., Yu D.* A novel PET fabric with durable anti-fouling performance for reusable and efficient oil-water separation // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2019. – 583, № 20. – Article number: 123941. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123941>



15. Markandan M., Umamaheswari S., Anuradha S. Bacterial (*Bacillus licheniformis*) biodegradation of UV exposed PET (poly ethylene terephthalate) // International Journal of Recent Scientific Research. – 2019. – 10, № 8. – P. 34310–34315. <https://doi.org/10.24327/ijrsr.2019.1008.3866>
16. Meng T.K., Mohd Kassim A.S.B., Bin A Razak A.H., Mohd Fauzi N.A.B. *Bacillus megaterium*: a Potential and an Efficient Bio-Degrader of Polystyrene // Brazilian Archives of Biology and Technology. – 2021. – 64. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190321>
17. Nistico R. Polyethylene terephthalate (PET) in the packaging industry // Polymer Testing. – 2020. – 90. – Article number: 106707. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106707>
18. Oliveira J., Belchior A., da Silva V.D., Rotter A., Petrovski Ž., Almeida P.L., Lourenço N.D., Gaudêncio S.P. Marine Environmental Plastic Pollution: Mitigation by Microorganism Degradation and Recycling Valorization // Frontiers in Marine Science. – 2020. – 7, № 1. – P. 1–35. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.567126>
19. Qiu L., Yin X., Liu T., Zhang H., Chen G., Wu S. Biodegradation of bis(2-hydroxyethyl) terephthalate by a newly isolated Enterobacter sp. HY1 and characterization of its esterase properties // Journal of Basic Microbiology. – 2020. – 60, № 8. – P. 699–711. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000053>
20. Ribitsch D., Herrero Acero E., Greimel K., Eiteljoerg I., Trotscha E., Freddi G., Schwab H., Guebitz G.M. Characterization of a new cutinase from *Thermobifida alba* for PET-surface hydrolysis // Biocatalysis and Biotransformation. – 2011. – 30, № 1. – P. 2–9. <https://doi.org/10.3109/10242422.2012.644435>
21. Roberts C., Edwards S., Vague M., León-Zayas R., Scheffer H., Chan G., Swartz N.A., Mellies J.L. Environmental Consortium Containing *Pseudomonas* and *Bacillus* Species Synergistically Degrades Polyethylene Terephthalate Plastic // mSphere. – 2020. – 5, № 6. – P. 01151–20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.01151-20>
22. Sabee M.M.S.M., Ahmad N., Thanh N.T.U., Hamid Z.A. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. – Nibong Tebal; Pulau Pinang, 2021. – Plastics Packaging for Pharmaceutical Products.
23. Sadler C.J., Wallace St. Microbial synthesis of vanillin from waste poly(ethylene terephthalate) // Green chemistry. – 2021. – № 3. – P. 4665–4672. <https://doi.org/10.1039/d1gc00931a>
24. Taniguchi I., Yoshida S., Hiraga K., Miyamoto K., Kimura Y., Oda K. Biodegradation of PET: Current Status and Application Aspects // Catalysis. – 2019. – 9, № 5. – P. 4089–4105. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b05171>
25. Weber G., Bornscheuer U.T., Wei R. Enzymatic Plastic Degradation // Elsevier Science. – 2021. – 7. – P. 145–151. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(21\)00076-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(21)00076-8)
26. Zeng C., Ding F., Zhou J., Dong W., Cui Z., Yan X. Biodegradation of Poly(ethylene terephthalate) by *Bacillus safensis* YX8 // Int J Mol Sci. – 2023. – 24, № 22. – Article number: 16434. <https://doi.org/10.3390/ijms242216434>



REFERENCES

1. Ivanytsia VO, Shtenikov MD, Ostapchuk AM. Facultatively-anaerobic endosporeforming bacteria of deep water bottom sediments of Black Sea. *Microbiology and biotechnology*. 2017. 4: 94–103 [in Ukrainian]. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2017.4\(40\).119560](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2017.4(40).119560)
2. Arena M, Abbate C, Fukushima K, Gennari M. Degradation of poly(lactic acid) and nanocomposites by *Bacillus licheniformis*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2011. 18 (6): 865–870. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0443-2>
3. Auta HS, Emenike CU, Fauziah SH. Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. *Environmental Pollution*. 2017; 231 (2): 1552-1559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.043>
4. Barclay A, Acharya KR. Engineering Plastic Eating Enzymes Using Structural Biology. *Biomolecules*. 2023. 13: 1407. <https://doi.org/10.3390/biom13091407>
5. Biffinger JC, Barlow DE, Cockrell AL, Cusick KD, Hervey WJ, Fitzgerald LA, Nadeau LJ, Hung CS, Crookes-Goodson WJ, Russell Jr JN. The applicability of Impranil®DLN for gauging the biodegradation of polyurethanes. *Polymer Degradation and Stability*. 2015; 120: 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.06.020>
6. Dhaka V, Singh S, An AmG, Naik TSSK, Garg Sh, Samuel J, Kumar M, Ramamurthy PC, Singh J. Occurrence, toxicity and remediation of polyethylene terephthalate plastics. A review. *Environ Chem Lett*. 2022. 20 (3): 1777-1800. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01384-8>
7. Danso D, Chow J, Streit WR. Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2019. 85 (19): 85:e01095-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
8. Aytan Ü, Senturk Y, Esensoy FB. Microbial biofilm on plastics in the southeastern Black Sea. In: *Marine Litter in the Black Sea*. Turkish Marine Research Foundation (TUDAV): Istanbul, 2020. 268 p.
9. Jaime SBM, Alves RMV, Bocoli PFJ. Moisture and oxygen barrier properties of glass, PET and HDPE bottles for pharmaceutical products. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2022. 71: 103330. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103330>
10. Kamli MR, Malik A, Sabir JSM, Rather IA, Chang-Bae K. Insights into the biodegradation and heavy metal resistance potential of the genus *Brevibacillus* through comparative genome analyses. *Gene*. 2022. 846: 146853. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146853>
11. Khairul A NFS, Huyop F, Ur-Rehman G, Abdullah F, Normi YM, Sabullah MK, Abdul Wahab R. An Overview into Polyethylene Terephthalate (PET) Hydrolases and Efforts in Tailoring Enzymes for Improved Plastic Degradation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. 23(20):12644. <https://doi.org/10.3390/ijms232012644>
12. Kim HT, Kim JK, Cha HG, Kang MJ, Lee HS, Khang TU. Biological Valorization of Poly(ethylene terephthalate) monomers for Upcycling Waste



- PET. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2019. 19396–19406. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03908>
13. León-Zayas R, Roberts C, Vague M, Mellies JL. Draft Genome Sequences of Five Environmental Bacterial Isolates That Degrade Polyethylene Terephthalate Plastic. *MicrobiolResourAnnounc*. 2019. 8 (25): e00237-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00237-19>
 14. Liu G, Wang J, Wand W, Yu D. A novel PET fabric with durable anti-fouling performance for reusable and efficient oil-water separation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2019. 583 (20): 123941. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123941>
 15. Markandan M, Umamaheswari S, Anuradha S. Bacterial (*Bacillus licheniformis*) biodegradation of UV exposed PET (poly ethylene terephthalate). *International Journal of Recent Scientific Research*. 2019. 10 (8): 34310 –34315. <https://doi.org/10.24327/ijrsr.2019.1008.3866>
 16. Meng TK, Mohd Kassim ASB, Bin A, Razak AH, Mohd Fauzi NA. *Bacillus megaterium*: a Potential and an Efficient Bio-Degrader of Polystyrene. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2021. 64. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190321>
 17. Nistico R., Polyethylene terephthalate (PET) in the packaging industry. *Polymer Testing*. 2020. 90: 106707. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106707>
 18. Oliveira J, Belchior A, da Silva VD, Rotter A, Petrovski Ž, Almeida PL, Lourenço ND, Gaudêncio SP. Marine Environmental Plastic Pollution: Mitigation by Microorganism Degradation and Recycling Valorization. *Frontiers in Marine Science*. 2020. 7 (1): 1–35. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.567126>
 19. Qiu L, Yin X, Liu T, Zhang H, Chen G, Wu S. Biodegradation of bis(2-hydroxyethyl) terephthalate by a newly isolated Enterobacter sp. HY1 and characterization of its esterase properties. *Journal of Basic Microbiology*. 2020. 60 (8): 699–711. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000053>
 20. Ribitsch D, Herrero Acero E, Greimel K, Eiteljoerg I, Trotscha E, Freddi G, Schwab H, Guebitz GM. Characterization of a new cutinase from *Thermobifida alba* for PET-surface hydrolysis. *Biocatalysis and Biotransformation*. 2011. 30 (1): 2–9. <https://doi.org/10.3109/10242422.2012.644435>
 21. Roberts C, Edwards S, Vague M, León-Zayas R, Scheffer H, Chan G, Swartz NA, Mellies JL. Environmental Consortium Containing *Pseudomonas* and *Bacillus* Species Synergistically Degrades Polyethylene Terephthalate Plastic. *mSphere*. 2020. 5 (6): 01151-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.01151-20>
 22. Sabee MMSM, Ahmad N, Thanh NTU, Hamid ZA. *Plastics Packaging for Pharmaceutical Products*. In: Reference Module in Materials Science and Materials, Nibong Tebal; Pulau Pinang, 2021.
 23. Sadler CJ, Wallace St. Microbial synthesis of vanillin from waste poly(ethylene terephthalate). *Green chemistry*. 2021. 3. 4665–4672. <https://doi.org/10.1039/d1gc00931>



24. Taniguchi I, Yoshida S, Hiraga K, Miyamoto K, Kimura Y, Oda K. Biodegradation of PET: Current Status and Application Aspects. *Catalysis*. 2019. 9 (5): 4089–4105. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b05171>
25. Weber G, Bornscheuer UT, Wei R. *Enzymatic Plastic Degradation*. Elsevier Science. – 2021. – 7. – P. 145–151. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(21\)00076-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(21)00076-8)
26. Zeng C, Ding F, Zhou J, Dong W, Cui Z, Yan X. Biodegradation of Poly (ethylene terephthalate) by *Bacillus safensis* YX8. *Int J Mol Sci*. 2023. 24 (22): 16434. <https://doi.org/10.3390/ijms242216434>

Стаття надійшла до редакції 16.08.2024 р.



О. В. Почка, Л. А. КолдарНаціональний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України,
вул. Київська, 12а, Умань, 20300, Україна
e-mail: lenapocka11@gmail.com**РЕГЕНЕРАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ЕКСПЛАНТІВ ВИДУ
*PRUNUS LAUROCERASUS L. IN VITRO***

Мета дослідження – з'ясувати особливості регенераційної здатності експлантів виду *Prunus laurocerasus L.* за культивування *in vitro*, залежно від типу живця та фітогормонального складу живильних середовищ. **Матеріали і методи.** Дослідження проводили у лабораторії мікроклонального розмноження рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України. Матеріалом для дослідження слугували нездерев'янілі пагони виду *Prunus laurocerasus L.*, які стерилізували за використання 0,1% водного розчину $HgCl_2$, 2% водного розчину медіоциду та 75% розчину $NaOCl$, після чого рослини висаджували на безгормонні живильні середовища Мурасіге-Скуга. **Результати.** У ході експерименту стерильні експланти культивували на безгормонних живильних середовищах, а впродовж 6–10 діб визначали стерильність та життєздатність експлантів, відбирали найбільш життєздатні і висаджували на живильні середовища із різним вмістом фітогормонів. У період культивування експлантів проводили спостереження за їх ростом та розвитком. Крайні морфометричні показники (кількість пагонів, довжина та коефіцієнт розмноження) виявлено у експлантів культивованих на живильному середовищі VI, які відповідно становили $2,27 \pm 0,18$; $2,12 \pm 0,14$; $2,34 \pm 0,12$. **Висновок.** За результатами дослідження виявлено, що найвищий відсоток стерильності (83,27%) та життєздатності (89,88%) мали експланти, отримані з медіальної частини пагонів за обробки 75% розчином гіпохлориту натрію ($NaOCl$) з експозицією шість хвилин. З'ясовано, що найвищу регенераційну здатність ($7,12 \pm 0,23$) мали експланти одержані із медіальної частини пагона. На живильному середовищі VI, модифікованому додаванням $0,22196$ мкм/л 6-БАП та $0,03936$ мкм/л β -ІМК, кількість утворених пагонів становила $6,95 \pm 0,19$ шт., а довжина $3,71 \pm 0,15$ см.

Ключові слова: *P. laurocerasus*, коефіцієнт розмноження, експланти, стерилізація, живильне середовище.

Лавровишня лікарська (*Prunus laurocerasus L.*) – вічнозелена декоративна сильно розгалужена деревна або кущова рослина з родини *Rosaceae* Juss, яка нараховує близько 60 декоративних сортів та форм. Походить від регіонів південно-західної Азії та південно-східної Європи, що межують із Чорним морем, де завдяки високим декоративним властивостям та невибагливості до умов росту, рослини активно використовують у зеленому будівництві [5].



Лавровишня, як інтродукований вид, трапляється на індійському субконтиненті, південно-західній частині Північноамериканського континенту, у Австралії, Новій Зеландії, Аргентині, та на всій території Європи [12].

В Україні *P. laurocerasus* – малопоширена декоративна рослина, яка у невеликих кількостях трапляється у різних регіонах, окрім сходу, але найкраще росте, цвіте та плодоносить на півдні та заході України, проте може рости і більш північніше (рис. 1.).



Рис. 1. Карта поширення виду *P. laurocerasus* в Україні

Fig. 1. The distribution map of *P. laurocerasus* in Ukraine

В даний час багато науковців світу проводять дослідження виду *P. laurocerasus*, які переважно стосуються вивчення хімічного складу рослин (плодів, листків, насіння), розшифрування генетичного коду, дослідження молекулярно-біологічних особливостей, а також розроблення різних способів розмноження: насінне, вегетативне, зокрема живцювання та *in vitro* [11].

В Україні трапляються лише поодинокі публікації, в яких епізодично представлено дослідження особливостей росту і розвитку рослин, залежно від кліматичних умов окремих регіонів України. Дослідженнями регенераційної здатності рослин виду *P. laurocerasus in vitro*, наскільки нам відомо, не займається жодна наукова установа, тому виникла необхідність провести дослідження з мікроклонального розмноження *P. laurocerasus*, зокрема введення його в стерильні умови та визначення регенераційної здатності рослин даного виду *in vitro*, залежно дії різних концентрацій фітогормонів.

Однією із складових росту та розвитку рослин *in vitro* є здатність до регенерації. Вона відіграє ключову роль у відновленні рослинних тканин після пошкоджень або впливу стресових факторів. Ефективна регенерація забезпечується завдяки оптимальним умовам культивування та правильному підбору

живильних середовищ і регуляторів росту. Ці умови сприяють швидкому формуванню нових органів і тканин, що дозволяє отримати здорові й життєздатні рослини. Таким чином, здатність до регенерації та підбір оптимального складу живильних середовищ є важливою передумовою для успішного мікророзмноження рослин *in vitro* [7; 8].

Одним із складних етапів мікроклонального розмноження є стерилізація рослинного матеріалу. На цьому етапі нами проводилася підготовка рослин до введення в стерильні умови *in vitro*, а також їх знезараження від патогенних мікроорганізмів. Тому підбір ефективних стерилізувальних речовин та дотримання правил стерилізації впливали на подальші результати дослідження *in vitro* [6].

Мета роботи – з'ясувати особливості регенераційної здатності експлантів виду *Prunus laurocerasus in vitro*, залежно від типу живця та фітогормонального складу живильних середовищ.

Матеріали та методи досліджень

Досліди проводили у лабораторії мікроклонального розмноження рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України за методичними рекомендаціями В. А. Кунаха (2005; 2008) та В. В. Мацкевича [1; 2; 4]. Живильні середовища готували за прописом Мурасіге і Скуга (1962) [10].

Стерилізацію матеріалів та інструментів проводили за використання автоклава ВК-75 (температура 150 °С) та сухожарової шафи (180 °С).

Для отримання асептичної культури первинних експлантів, у першій декаді травня брали апікальні та медіальні частини пагона з трьох–п'яти річних рослин, які перед введенням розділяли на мікропагони з однією-двома бруньками, завдовжки 10–15 мм. У кожному варіанті дослідження використовували по 22 мікропагони.

Попередню обробку мікропагонів проводили препаратом «Септодор», а основну – за використання 0,1% водного розчину $HgCl_2$, 2% водного розчину медіоциду (спирт ізопропіловий–60%, алкілдиметилбензіламоній хлорид–0,1%, вода) та 75% розчину $NaOCl$, експозиція кожного стерилізатора становила 1, 3 і 6 хв відповідно. Після цього рослини промивали у бідистильованій воді та висаджували на безгормонні живильні середовища за прописом Мурасіге–Скуга. Ефективність стерилізації визначали на 6–10 добу після введення *in vitro*, а життєздатність на 10–15 добу. Культивування експлантів проводили у культуральній кімнаті за температури 24 ± 1 °С, фотоперіоді 16 год., інтенсивності освітлення 3000 лк та відносній вологості повітря 70%.

Дослідження регенераційної здатності проводили за використання методу мікроклонального розмноження рослин під дією регуляторів росту.

Модифікацію живильних середовищ Мурасіге і Скуга (МС) для визначення регенераційної здатності проводили за використання шести концентрацій 6-бензіламінопурину (6-БАП) та індоліл-3-масляної кислоти (β -ІМК). За контроль брали живильне середовище без додавання фітогормонів (табл. 1). Регенераційну здатність експлантів розраховували за формулою: $P = a/bc$, де а – кількість утворених пагонів; b – кількість висаджених пагонів; c – кількість пасажів [9].



Таблиця 1

Вміст фітогормонів у модифікованих живильних середовищах

Table 2

Phytohormones content in modified nutrient media

Варіанти живильних середовищ	Фітогормони	
	6-БАП	β-ІМК
I (контроль)	–	–
II	0,04439	0,00492
III	0,08878	0,00984
IV	0,03333	0,01968
V	0,17757	0,06333
VI	0,22196	0,03936
VII	0,33333	0,09333

Статистичну обробку результатів досліджень виконано за використання програми Microsoft Excel 2016.

Результати та їх обговорення

Впродовж 10 діб після введення мікропагонів в культуру *in vitro* проводили огляд рослин і визначали відсоток стерильних та життєздатних мікропагонів, які відбирали та висаджували на живильні середовища із різним фітогормональним складом. З'ясовано, що експланти отримані із апікальної частини пагона мали вищий відсоток стерильності, проте нижчий – життєздатності. Експланти із медіальної частини пагона мали дещо нижчий відсоток стерильності при значно вищій життєздатності (табл. 2).

Таблиця 2

Показники стерильності та життєздатності експлантів виду *P. laurocerasus* L.

Table 2

Sterility and viability indicators of explants of the species *P. laurocerasus* L.

Стерилізувальна речовина, експозиція, хв	Частина пагона	Ефективність стерилізації, % від загальної кількості	
		Стерильних	Життєздатних
Медіоцид 2%, 3хв	Апікальна	1,52	1,15
	Медіальна	1,08	2,37
NaOCl 75%, 6хв	Апікальна	92,34	61,15
	Медіальна	83,27	89,88
HgCl ₂ 0,1%, 1хв	Апікальна	65,77	34,16
	Медіальна	51,34	55,24



Після стерилізації впродовж 8–10 діб спостерігали, що частина мікропагонів отриманих із медіальної частини пагона за стерилізації 75% розчином NaOCl з експозицією 6 хв., була менш стерильна (83,27%), але більш життєздатна (89,88%). в порівнянні із мікропагонами із апікальної частини пагона.

Для індукування процесів морфогенезу, стерильні та життєздатні експланти пересаджували на живильні середовища з додаванням фітогормонів різних концентрацій ауксинової та цитокінінової груп: 6-бензиламінопурину (6-БАП) та індоліл-3-масляної кислоти (β -ІМК) (табл. 3).

Таблиця 3

Морфометричні показники росту та розвитку експлантів одержаних із апікальної частини пагона залежно від вмісту 6-БАП та β -ІМК, мкм/л

Table 3

Morphometric indicators of growth and development of explants obtained from the apical part of the shoot depending on the content of 6-BAP and β -IMC, $\mu\text{m/l}$

Варіанти живильних середовищ	Компоненти середовища		Кількість утворених пагонів, шт.	Довжина пагонів, см	Коефіцієнт розмноження
	6-БАП	β -ІМК			
I (контроль)	–	–	–	–	–
II	0,04439	0,00492	1,12 \pm 0,10	1,26 \pm 0,18	1,13 \pm 0,10
III	0,08878	0,00984	1,18 \pm 0,13	1,38 \pm 0,10	1,24 \pm 0,15
IV	0,03333	0,01968	1,34 \pm 0,11	1,75 \pm 0,11	1,45 \pm 0,10
V	0,17757	0,06333	2,11 \pm 0,11	1,88 \pm 0,17	2,18 \pm 0,19
VI	0,22196	0,03936	2,27 \pm 0,18	2,12 \pm 0,14	2,34 \pm 0,12
VII	0,33333	0,09333	1,94 \pm 0,11	1,80 \pm 0,15	1,96 \pm 0,13

Впродовж 30–35 наступних діб, у експлантів одержаних із апікальної частини пагона спостерігали початок регенерації, який проявлявся в утворенні зачатків адвентивних бруньок, з яких починався активний ріст пагонів та поява першої пари листків. Протягом наступних 45–53 діб у експлантів продовжувався ріст пагонів та відбувалося формування другої–третьої пари листків.

За результатами проведених досліджень виявлено, що на відміну від експлантів одержаних із апікальної частини пагона, експланти із медіальної частини проявляли значно вищі морфометричні показники (кількість утворених пагонів, довжина та коефіцієнт розмноження) росту та розвитку (табл. 4).

Впродовж 14–18 діб у експлантів одержаних із медіальної частини пагона з'являлися ознаки утворення зачатків адвентивних бруньок, з яких починався активний ріст пагонів та поява першої пари листків. Протягом наступних 25–28 діб, продовжувався активний ріст пагонів, які досягали довжини від 2,15 до 3,71 см та з'являлася друга–третья пара листків.

Найвищий регенераційний потенціал був у експлантів із медіальної частини пагона культивованих на живильних середовищах V та VI із дода-



Таблиця 4

Морфометричні показники росту та розвитку експлантів одержаних із медіальної частини пагона залежно від вмісту 6-БАП та β -ІМК, мкм/л

Table 4

Morphometric indicators of growth and development of explants obtained from the medial part of the shoot depending on the content of 6-BAP and β -IMC, $\mu\text{m/l}$

Варіанти живильних середовищ	Компоненти середовища		Кількість утворених пагонів, шт.	Довжина пагонів, см	Коефіцієнт розмноження
	6-БАП	β -ІМК			
I (контроль)	–	–	1,12 \pm 0,05	2,15 \pm 0,13	1,28 \pm 0,17
II	0,04439	0,00492	2,41 \pm 0,25	2,17 \pm 0,15	2,87 \pm 0,22
III	0,08878	0,00984	3,15 \pm 0,17	2,28 \pm 0,10	3,67 \pm 0,34
IV	0,03333	0,01968	4,64 \pm 0,11	2,36 \pm 0,21	4,83 \pm 0,13
V	0,17757	0,06333	6,37 \pm 0,21	3,62 \pm 0,17	6,74 \pm 0,21
VI	0,22196	0,03936	6,95 \pm 0,19	3,71 \pm 0,15	7,12 \pm 0,23
VII	0,33333	0,09333	5,34 \pm 0,12	2,38 \pm 0,11	5,48 \pm 0,15

ванням 0,17757 та 0,22196 мкм/л 6-БАП та 0,06333 і 0,03936 мкм/л β -ІМК, де кількість утворених пагонів становила від 6,37 до 6,94 шт. з коефіцієнтом розмноження 6,74 та 7,12 (рис. 3).

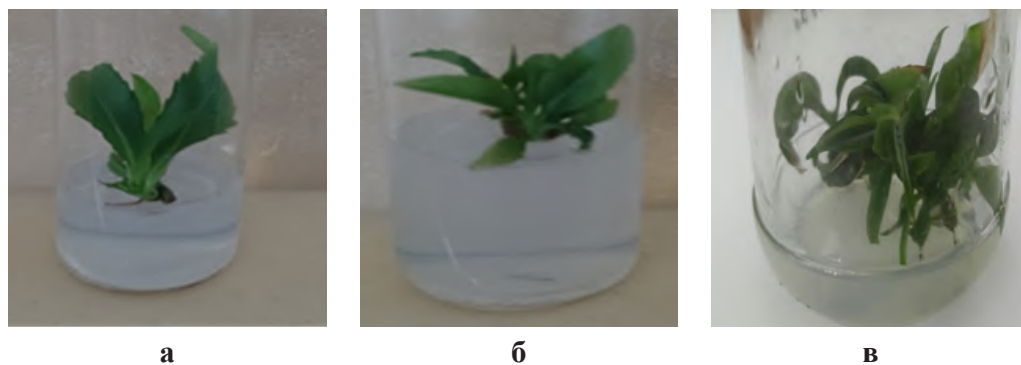


Рис. 3. Власне розмноження *P. laurocerasus*:
а – початок росту; б – пробудження адвентивних бруньок;
в – утворений конгломерат мікропагонів

Fig. 3. Propagation of *P. laurocerasus*
a – the beginning of growth; b – the awakening of adventitious buds;
c – the formed conglomerate of microshoots

За результатами проведених досліджень з'ясовано, що регенераційна здатність досліджуваних експлантів залежала від типу пагона, з якого він був взятий та фітогормонального складу живильних середовищ.

Виявлено, що найвищий відсоток стерильності (83,27%) та життєздатності (89,88%) мали експланти, отримані з медіальної частини пагонів за об-

робки 75% розчином гіпохлориту натрію (NaOCl) з експозицією шість хвилин.

Виявлено, що найбільш ефективним для росту й розвитку експлантів *P. laurocerasus*, введених із медіальної частини пагона, було живильне середовище модифіковане додаванням 0,22196 мкмоль/л 6-БАП та 0,03936 мкмоль/л β -ІМК, де кількість утворених пагонів становила 6,94 шт.; довжина пагонів 3,71 см з коефіцієнтом розмноження 7,12.

O. V. Pochka, L. A. Koldar

National Dendrological Park "Sophiiivka" of the National Academy of Sciences of Ukraine,
12a Kyivska St, Uman, 20300, Ukraine,
e-mail: lenapocka11@gmail.com

REGENERATION ABILITY OF TYPE EXPLANTS *P. LAUROCERASUS* L. *IN VITRO*

Summary

Aim. The aim of the study is to determine the features of the regeneration ability of explants of the species *Prunus laurocerasus* L. during in vitro cultivation, depending on the type of cutting and the phytohormonal composition of the nutrient media. **Materials and methods.** The study was conducted in the laboratory of microclonal propagation of the National Arboretum "Sofiyivka" of the NAS of Ukraine. The material for the study was non-lignified shoots of the species *Prunus laurocerasus* L., which were sterilized using 0.1% aqueous solution of HgCl₂, 2% aqueous solution of medicide and 75% solution of NaOCl, after which the plants were planted on hormone-free Murashige-Skoog nutrient media. **Results.** During the experiment, sterile explants were cultivated on hormone-free nutrient media, and within 6–10 days, the sterility and viability of the explants were determined, the most viable ones were selected and planted on nutrient media with different phytohormones. During the period of cultivation of the explants, their growth and development were monitored. The best morphometric indicators (number of shoots, length and reproduction coefficient) were found in explants cultivated on nutrient medium VI, which were 2.27±0.18; 2.12±0.14; 2.34±0.12, respectively. **Conclusion.** According to the results of the study, it was found that the highest percentage of sterility (83.27%) and viability (89.88%) were explants obtained from the medial part of the shoots after treatment with a 75% solution of sodium hypochlorite (NaOCl) with an exposure of six minutes. It was found that the highest regeneration ability (7.12±0.23) was possessed by explants obtained from the medial part of the shoot. On nutrient medium VI, modified by the addition of 0.22196 μ m/l 6-BAP and 0.03936 μ m/l β -IMC, the number of formed shoots was 6.95±0.19 pcs., and the length was 3.71±0.15 cm.

Key words: *P. laurocerasus*, multiplication factor, explants, sterilization, nutrient medium.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – Київ.: Логос, 2005. – 730 с.
2. Кунах В.А. Біотехнологія рослин для поліпшення умов життя людини // *Biotechnologia Acta*. – 2008. 1, № 1. – С. 28–39.
3. Лавровишня лікарська: опис, фото, вирощування. URL: https://dobrahata.com.ua/lavrovishnya-likarska-opis-foto-viroshhuvannya/#google_vignette.
4. Подгасецький А.А., Мацкевич В.В., Мацкевич А.Ан. / Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. – Біла Церка: БНАУ, 2018. – 209 с.
5. Почка О.В., Колдар Л.А. Лавровишня лікарська (*Prunus laurocerasus* L.) у природі та культурі // Міжнародна наук. конф. «Етноботанічні традиції в агрономії, фармації та садовому дизайні» (Умань, липень, 2023 р.): тез. доп. – У.: «Сочінський М. М.», 2023. – С. 223–228.
6. Шох С.С., Сич З.Д., Карпук Л.М. Визначення ефективного способу стерилізації рослинних експлантів лайму *Citrus aurantifolia* та сортів лимону *Citrus lemon* для введення в культуру *in vitro* // *Агробіологія*. – 2020. № 2. – С. 185–191.
7. Afrin S., Rahman M.A., Khalekuzzaman M., Hasan M.M., Fahim A.H.F., Alam M.A. Study on *in vitro* micropropagation of *Rosa* sp. // *Bangladesh Journal of Agriculture*. – 2022. – V. 47(1). – P. 66–74.
8. Yakhshiboeva D.T., Jumaniyozova N.D. Prospects of microclonal propagation of medicinal plant species // *American Journal of Agriculture and Horticulture Innovations*. – 2023. – V. 3(3). – P. 11–14.
9. Koldar L.A., Dzhus L.L., Nebykov M.V. Regeneration capacity of narrow-localized endemic species *Dianthus hypanicus* Andr. *in vitro* // *Biotechnologia Acta*. – 2021. – V. 14(3). – P. 39–45.
10. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Phys. Pia*. – 1962. – V. 15(3). – P. 473–497.
11. Alasania N., Lomtadze N., Gorgiladze L. Peculiarities of Morphogenesis of Cherry Laurel *Laurocerasus officinalis* Ro. (*Prunus laurocerasus* L.) *in Vitro* Culture // *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*. – 2021. – V. 15(1). – P. 83–90.
12. *Prunus laurocerasus* – Plants of the World Online. URL: <https://powo.science.kew.org/results?q=Prunus+laurocerasus>.

REFERENCES

1. Kunakh V A. Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical foundations. Kyiv: 2005. 730 (in Ukrainian).
2. Kunakh V A. Plant biotechnology for improving human living conditions. *Biotechnologia Acta*. 2008; 1(1): 28–39. (in Ukrainian).
3. Medicinal laurel: description, photo, cultivation. URL: https://dobrahata.com.ua/lavrovishnya-likarska-opis-foto-viroshhuvannya/#google_vignette (in Ukrainian).



4. Podhaiets'kyy A A, Matskevych V V, Matskevych A An. Peculiarities of microclonal reproduction of plant species: Monograph. Bila Tserka: BNAU; 2018. 209 p. (in Ukrainian).
5. Pochka O V, Koldar L A. (in Ukrainian). Laurel medical (*Prunus laurocerasus* L.) in nature and culture: all- International Scientific Conference, July 5–8, 2023. Uman: National dendrological park "Sophiivka" of the National Academy of Sciences of Ukraine: 223–228 (in Ukrainian).
6. Shokh S S, Sych Z D, Karpuk L M. Determination of an effective method of sterilization of *Citrus aurantifolia* lime plant explants and *Citrus lemon* varieties for introduction into *in vitro* culture. *Agrobiology*. 2020; (2): 185–191 (in Ukrainian).
7. Afrin, S, Rahman, M A, Khalekuzzaman M, Hasan M M, Fahim A H F. Alam, M. Study on *in vitro* micropropagation of Rosa sp. *Bangladesh Journal of Agriculture*. 2022; 47(1): 66-74.
8. Yakhshiboeva D T, Jumaniyozova N D. Prospects of microclonal propagation of medicinal plant species. *American Journal of Agriculture and Horticulture Innovations*. 2023; 3(3): 11–14.
9. Koldar L A, Dzhus L. L, Nebykov M V. Regeneration capacity of narrow-localized endemic species *Dianthus hypanicus* Andr. *in vitro*. *Biotechnologia Acta*. 2021; 14(3): 39–45 (in Ukrainian).
10. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Phys. Pia*. 1962; 15(3): 473–497.
11. Alasania N, Lomtadze N, Gorgiladze L. Peculiarities of Morphogenesis of Cherry Laurel *Laurocerasus officinalis* Ro. (*Prunus laurocerasus* L.) *in Vitro* Culture. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*. 2021; 15(1):83–90.
12. *Prunus laurocerasus*—Plants of the World Online. URL: <https://powo.science.kew.org/results?q=Prunus+laurocerasus>.

Стаття надійшла до редакції 05.11.2024 р.



**О. В. Андрищенко, І. В. Страшнова, Т. В. Іваниця,
С. І. Ракитська, М. Б. Галкін**

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

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЧОРНОМОРСЬКИХ АКТИНОБАКТЕРІЙ ПРОТИ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Біологічний метод захисту рослин є екологічно безпечною та пріоритетною формою в довготривалих програмах боротьби зі збудниками хвороб і одним із важливих інструментів переходу до органічного та екологічного землеробства України. **Мета.** Визначити антагоністичну активність чорноморських актинобактерій проти фітопатогенних мікроорганізмів. **Методи.** Антагоністичну активність 35 штамів актинобактерій, виділених із різних біотопів Одеської затоки Чорного моря, проти колекційних і виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних мікроорганізмів, визначено методом блоків після попереднього культивування актинобактерій на середовищі Гаузе 2 протягом 12 діб при 28 ± 1 °C. Антагоністичну активність екстрагованих вторинних метаболітів штамів *Streptomyces ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 проти штамів *Fusarium oxysporum* визначено диско-дифузійним методом. **Результати.** Із 35 досліджених ріст хоча б одного штаму фітопатогенних бактерій і грибів пригнічувало, відповідно, 77,1% і 65,7% штамів актинобактерій. Розміри зон відсутності росту чутливих колекційних штамів бактерій коливалися від $15,3 \pm 0,1$ мм до $29,6 \pm 0,3$ мм, штамів бактерій, виділених із уражених рослин, – від $14,5 \pm 0,1$ мм до $25,7 \pm 0,3$ мм за дії антагоністично активних актинобактерій. Цей показник для колекційних штамів грибів визначено у діапазоні від $16,0 \pm 0,2$ мм до $33,5 \pm 0,3$ мм, для ізольованих штамів грибів – від $15,0 \pm 0,1$ мм до $29,3 \pm 0,3$ мм. *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 проявили найкращу активність проти всіх штамів фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема проти виділених із уражених рослин *F. oxysporum*, зони відсутності росту понад 80,0% штамів яких перевищували 20,0 мм. Екстраговані вторинні метаболіти обох штамів *S. ambofaciens* пригнічували ріст колекційного і виділених штамів фузарій. Зони відсутності росту грибів коливалися у широких межах і залежали, передусім, від штамів фузарій, стрептоміцету, концентрації екстрактів і терміну обліку результатів. Мінімальні пригнічувальні концентрації екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 щодо виділених штамів *F. oxysporum* склали 250 мкг/мл – 500 мкг/мл і 250 мкг/мл – 100 мкг/мл, відповідно. **Висновки.** Штами актинобактерій, виділені із губок і мідій Одеської затоки Чорного моря, є антагоністично активними проти фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема грибів *F. oxysporum*. Колекційні штами фітопатогенів чутливіші до дії морських актинобактерій, ніж виділені із уражених рослин штами.



Штами S. ambofaciens ONU 1016 і S. ambofaciens ONU 561, які проявили високу антагоністичну активність, можна рекомендувати для розробки мікробного препарату для захисту рослин від бактеріальних і грибних патогенів.

Ключові слова: антагоністична активність, чорноморські актинобактерії, фітопатогенні мікроорганізми.

Одним із основних трендів сучасного агровиробництва є його біологізація і екологізація, що передбачає, передусім, впровадження екологічно безпечних біологічних засобів захисту сільськогосподарських культур, оскільки хвороби рослин здатні суттєво знизити врожайність і обсяги агровиробництва [2].

Широке розповсюдження захворювань рослин, які викликаються фітопатогенними бактеріями і грибами, завдає величезної шкоди сільському господарству, а використання хімічних методів захисту є нераціональним і небезпечним. Насамперед, це пов'язано із забрудненням рослин, ґрунтів, води і продуктів харчування залишками хімічних пестицидів, зниженням резистентності шкідників до засобів захисту, порушенням стійкості екосистем через втрату частини біоти внаслідок дії хімічних препаратів. Наслідком цього є негативний вплив на здоров'я людей і стан навколишнього середовища [25]. Окрім цього, хімічні препарати мають високу вартість. Натомість біологічні методи захисту рослин, зокрема розробка мікробних препаратів, мають низку суттєвих переваг, пов'язаних з покращенням екологічної безпечності і підвищенням продуктивності агросистем [14]. Попри значну кількість біопрепаратів, світовий ринок біопестицидів продовжує зростати і це спонукає до пошуку, передусім, антагоністично активних штамів мікроорганізмів.

Для створення біопрепаратів найбільший інтерес мають види та штами мікроорганізмів, які, окрім невибагливості до умов культивування, високої технологічності, екологічної пластичності, продукують різноманітні біологічно активні вторинні метаболіти. Одними із найбільш перспективних мікроорганізмів для агровиробництва є актинобактерії [7, 15, 18, 20, 25].

Актинобактерії — це велика група мікроорганізмів, що належать до філуму Actinobacteria, нещодавно перейменованого на Actinobacteriota. Завдяки значному спектру вторинних метаболітів, актинобактерії мають потужний біотехнологічний потенціал, який остаточно не з'ясований. Виділення актинобактерій із біотопів морського середовища і дослідження їх властивостей дало змогу виявити нові біоактивні речовини з різноманітними спектрами і механізмами дії [12, 29]. Більшість вторинних метаболітів, які синтезуються морськими актинобактеріями, проявляють ефективну антибактеріальну, антифунгальну, антипаразитарну, протиракову та протималарійну активність, що робить представників цього філуму перспективними біотехнологічними об'єктами [21, 24].

Науковцями Одеського національного університету імені І. І. Мечникова виявлено, що актинобактерії, виділені із різних біотопів Чорного моря, проявляють антагоністичну активність проти про- та еукаріотичних мікро-



організмів, потенційних збудників інфекційних захворювань людей, а також протипухлинну активність, що свідчить про необхідність їх подальших досліджень для можливого використання у медицині і фармакології [4, 10, 11]. На наш погляд, чорноморські актинобактерії також можуть мати перспективність (потенціал) для використання як основи для біопрепаратів для агропромисловості.

Метою даної роботи було визначити антагоністичну активність чорноморських актинобактерій проти фітопатогенних мікроорганізмів.

Матеріали і методи

Для дослідження антагоністичної активності проти фітопатогенних мікроорганізмів використано штами актинобактерій, виділені із різних біотопів Одеської затоки Чорного моря (м. Одеса, Україна, 46°27'01" N 30°46'14" E). Всього у даному дослідженні було задіяно 35 штамів актинобактерій, відібраних за результатами попередньо проведених досліджень по визначенню антагоністичної активності щодо тест-штамів індикаторних про- та еукаріотичних мікроорганізмів [4, 28]. Було використано 25 штамів (Hal 1...Hal 45), виділених у 2022 р. із морських губок (*Haliclona* spp.) і 10 штамів, виділених у 2020 р. – 5 штамів із мідій (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819): *Streptomyces ambofaciens* ONU 1014, *S. ambofaciens* ONU 1015, *S. ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, *S. ambofaciens* Myt 8, 4 штами із біологічних обростань бетону: *Streptomyces* spp. ONU 1042, Conc 10, Conc 11, Conc 32 і один штам з біологічних обростань черепашнику: *Streptomyces* sp. ONU 1028.

Для проведення досліджень штами актинобактерій попередньо культивували на агаризованому середовищі Гаузе 2 (бульйон Хоттингера – 30,0 мл/л глюкоза – 10,0 г/л, пептон – 5,0 г/л, NaCl – 5,0 г/л, агар-агар – 18,0 г/л) протягом 12 діб при температурі 28 ± 1 °C.

Досліджували антагоністичну активність актинобактерій проти штамів фітопатогенних бактерій і грибів, які зберігаються у Колекції морських та корисних для екологічної біотехнології штамів мікроорганізмів ОНУ імені І. І. Мечникова, і штамів фітопатогенів, виділених із уражених злакових культур. Використані колекційні штами фітопатогенних бактерій: *Pectobacterium carotovorum* ONU 318, *P. carotovorum* ONU 320, *P. carotovorum* ONU 321, *P. carotovorum* ONU 525, *Ralstonia solanacearum* ONU 376, *R. solanacearum* ONU 377, *R. solanacearum* ONU 378, *R. solanacearum* ONU 386, *Agrobacterium radiobacter* ONU 310, *A. radiobacter* ONU 440, *Allorhizobium vitis* ONU 479; колекційних штамів фітопатогенних грибів: *Alternaria alternata* ONU F 23, *Aspergillus niger* ONU F 25, *Aspergillus flavus* ONU F 31, *Aspergillus terreus* ONU F 32, *Cladosporium cladosporoides* ONU F 26, *Fusarium oxysporum* ONU F 27, *Paecilomyces variotii* ONU F 28, *Penicillium expansum* ONU F 29. Виділені із уражених злакових рослин штами бактерій були представлені: *Xanthomonas arboricola* (4 штами), *Pectobacterium carotovorum* (1 штам), штами грибів – *Fusarium oxysporum* (30 штамів), *Sclerotinia sclerotiorum* (16 штамів), *Alternaria alternata* (3 штами). Штами фітопатогенів попередньо культивували при 28 ± 1 °C на поверхні живильного агару (Nutrient Agar, Biolife Italiana



S.r.l., Milan, Italy) протягом 24 год (бактерії) і на поверхні середовища Сабуро (Sabouraud Dextrose Agar, Biolife Italiana S.r.l., Milan, Italy) протягом 10 діб (гриби).

Для досліджень готували суспензії кожного штаму фітопатогенів у концентрації 1×10^9 КУО/мл, які в об'ємі по 100 мкл кожна висівали на поверхні середовищ живильного агару і Сабуро, відповідно.

Визначення антагоністичної активності проводили методом блоків. Для цього блоки 12-ти добових культур актинобактерій розкладали на попередньо засіяні культурами фітопатогенів поверхні середовищ у чашках Петрі. На кожну засіяну чашку поміщали по 6 блоків актинобактерій на однаковій відстані один від одного і від країв чашки. Облік результатів здійснювали після інкубації при 28 ± 1 °C через 48 год (для бактерій) і 10 діб (для грибів), вимірюючи розміри зон відсутності росту фітопатогенів навколо блоків із актинобактеріями [19]. За контроль були посіви фітопатогенів на поверхні відповідних середовищ без накладання блоків актинобактерій.

Для отримання вторинних метаболітів штами *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 вирощували у середовищі TSB (Tryptic Soy Broth, Biolife Italiana S.r.l., Milan, Italy) на ротаційному шейкері при 180 об/хв протягом 3 діб при 28 ± 1 °C. Після чого вирощеною культурою у посівній дозі 1–2 мл інокулювали середовище SGB (Soy Glucose Broth, глюкоза – 20,0 г/л, дріжджовий екстракт – 5,0 г/л, соєвий пептон – 2,0 г/л). Культивували на роторному шейкері при 180 об/хв при 28 ± 1 °C протягом 9 діб. Подальші маніпуляції по виділенню (екстракції) вторинних метаболітів здійснювали згідно Ivanytsia et al. [10] і Paulus et al. [16].

Екстраговані вторинні метаболіти для переведення із висушеного у рідкий стан розчиняли у диметилсульфоксиді (DMSO, Gaylord Chemical Corp., USA) у концентрації 100 мг/мл. Робочі розчини у концентраціях 25 мкг/мл, 50 мкг/мл, 100 мкг/мл, 250 мкг/мл, 500 мкг/мл, 1000 мкг/мл готували із використанням стерильної дистильованої води. Після чого їх стерилізували з використанням мембранних фільтрів (діаметр пор 0,22 мкм, Millex Syringe Filter Unit, Millipore Corp.) і наносили по 5 мкл на стерильні диски (5 мм) для визначення їх пригнічувального впливу на штами фітопатогенних грибів *F. oxisporum* [3]. Підготовку штамів для проведення експерименту здійснювали так, як описано вище. На чашки Петрі із агаризованим середовищем Сабуро, засіяні відповідним штамом гриба, накладали диски, просочені екстрагованими метаболітами у робочих концентраціях. Посіви культивували при 28 ± 1 °C. Облік результатів проводили кожного дня протягом 10 діб, вимірюючи розміри зон відсутності росту штамів грибів навколо дисків. Мінімальною інгібуючою (пригнічувальною) вважали концентрацію (МІК), при якій спостерігали відсутність росту досліджуваного штаму гриба. Як контрольні були посіви штамів фітопатогенних грибів на агаризоване середовище Сабуро, а також посіви цих штамів на вказане середовище, на які накладали диски, просочені DMSO у концентрації 500 мкг/мл і стерильною дистильованою водою.

Усі дослідження проведено трикратно. Для аналізу отриманих результатів проведено описову статистику, яку здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel-2016.



Результати та їх обговорення

Дослідження антагоністичної активності 35 штамів актинобактерій, виділених із різних біотопів Одеської затоки Чорного моря проти фітопатогенів, показало, що ріст хоча б одного штаму фітопатогенних бактерій і грибів пригнічувало 27 (77,1%) і 23 (65,7%) штами актинобактерій, відповідно (рис. 1).

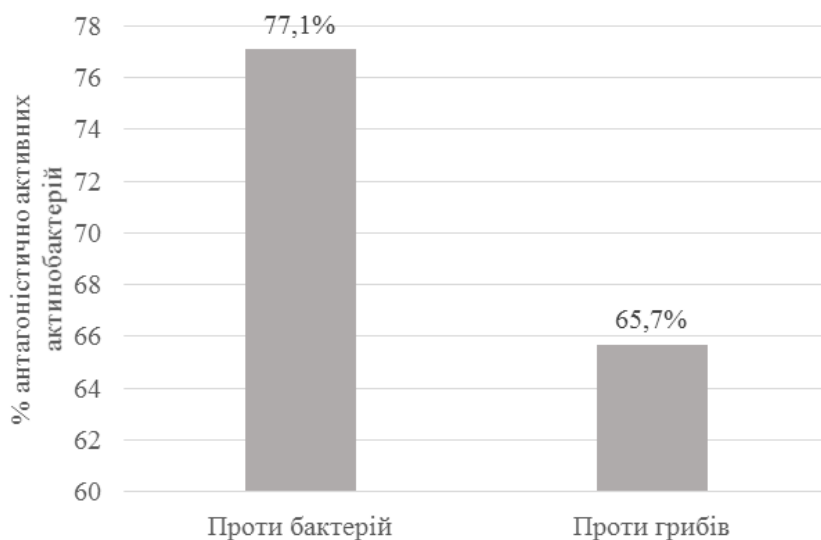


Рис. 1. Частка антагоністично активних штамів актинобактерій проти фітопатогенних мікроорганізмів

Fig. 1. The proportion of antagonistically active strains of actinobacteria against phytopathogenic microorganisms

Порівнюючи активність актинобактерій проти колекційних і виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних бактерій виявлено, що колекційні штами були дещо чутливішими до метаболітів актинобактерій. Розміри зон відсутності росту чутливих колекційних штамів коливалися від $15,3 \pm 0,1$ мм до $29,6 \pm 0,3$ мм. Натомість розміри зон відсутності росту штамів бактерій, виділених із уражених рослин, визначені у межах $14,5 \pm 0,1$ мм – $25,7 \pm 0,3$ мм. Із колекційних найчутливішими, що проявилось як в кількості штамів, так і в розмірах зон відсутності росту, були штами *Ralstonia solanacearum*; найстійкішими до дії актинобактерій були штами *Pectobacterium carotovorum*. Із уражених рослин було виділено всього 5 штамів бактерій, 4 із яких були ідентифіковані як *Xanthomonas arboricola*, і один – *Pectobacterium carotovorum* [26]. Виділені штами *X. arboricola* були чутливішими до актинобактерій, ніж *P. carotovorum*.

У таблицях 1 і 2 наведено результати визначення антагоністичного впливу найбільш активних штамів актинобактерій на фітопатогенні бактерії.

Ріст усіх досліджених фітопатогенних бактерій пригнічували штами: *Actinobacteria* Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45, *Streptomyces ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, *S. ambofaciens* Myt 8 і *Streptomyces* sp. Conc 32. За впливу метаболітів штамів, виділених із мідій,

Таблиця 1
 Зони відсутності росту колекційних штамів фітопатогенних бактерій (мм) за впливу чорноморських актинобактерій
 Table 1
 Zones of no growth of collection strains of phytopathogenic bacteria (mm) under the influence of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	<i>Pectobacterium carotovorum</i>					<i>Ralstonia solanacearum</i>					<i>Agrobacterium radiobacter</i>		<i>Allorhizobium vitis</i> ONU 479
	ONU 318	ONU 320	ONU 321	ONU 525	ONU 376	ONU 377	ONU 378	ONU 386	ONU 310	ONU 440			
Hal 11	19,1±0,2	19,4±0,2	19,4±0,2	19,8±0,2	23,2±0,2	24,9±0,2	23,5±0,2	23,8±0,2	20,5±0,2	19,8±0,2	20,0±0,2		
Hal 14	20,3±0,2	18,8±0,2	20,2±0,2	18,0±0,2	23,4±0,2	24,2±0,2	23,7±0,2	23,2±0,2	20,3±0,2	20,2±0,2	19,8±0,2		
Hal 15	18,7±0,2	18,7±0,2	20,2±0,2	20,2±0,2	24,1±0,2	24,6±0,2	24,3±0,2	25,6±0,3	21,2±0,2	21,6±0,2	22,4±0,2		
Hal 21	18,7±0,2	19,4±0,2	19,8±0,2	19,0±0,2	25,2±0,2	25,0±0,2	25,0±0,2	24,4±0,2	19,8±0,2	21,2±0,2	19,8±0,2		
Hal 43	19,0±0,2	18,4±0,2	18,8±0,2	19,2±0,2	23,0±0,2	23,7±0,2	23,4±0,2	24,4±0,2	22,1±0,2	22,1±0,2	23,0±0,2		
Hal 45	19,6±0,2	19,8±0,2	18,8±0,2	19,6±0,2	23,4±0,2	23,4±0,2	24,4±0,2	23,0±0,2	23,4±0,2	21,4±0,2	22,5±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	19,8±0,2	20,0±0,2	19,4±0,2	19,6±0,2	24,4±0,2	25,0±0,2	24,4±0,2	23,0±0,2	20,2±0,2	20,6±0,2	19,8±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	20,1±0,2	23,2±0,2	19,8±0,2	22,4±0,2	24,8±0,2	24,8±0,2	25,0±0,2	24,5±0,2	24,6±0,2	25,8±0,3	23,8±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	23,5±0,2	23,5±0,2	24,0±0,2	23,8±0,2	26,9±0,3	29,6±0,3	25,5±0,3	27,3±0,3	23,9±0,2	24,0±0,2	24,4±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	15,6±0,1	15,8±0,1	15,6±0,1	16,0±0,2	16,7±0,2	16,0±0,2	16,1±0,2	16,0±0,2	15,8±0,1	15,3±0,1	16,2±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	0	17,3±0,2	0	17,8±0,2	20,1±0,2	19,8±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2	18,5±0,2	17,2±0,2	0		
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	17,0±0,2	17,8±0,2	0	16,0±0,2	18,8±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2	17,4±0,2	17,0±0,2	0		



Таблиця 2

Зони відсутності росту виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних бактерій (мм)
за впливу чорноморських актинобактерій

Table 2

Zones of no growth of strains of phytopathogenic bacteria isolated from affected cereal plants (mm) under the influence
of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	<i>Xanthomonas arboricola</i>					<i>Pectobacterium carotovorum</i> W5
	W1	W2	B3	B4	B5	
Hal 11	24,7±0,2	20,8±0,2	19,5±0,2	22,8±0,2	18,3±0,2	18,3±0,2
Hal 14	23,3±0,2	21,3±0,2	20,2±0,2	22,3±0,2	17,7±0,2	17,7±0,2
Hal 15	18,3±0,2	19,8±0,2	19,0±0,2	18,7±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2
Hal 21	20,0±0,2	20,0±0,2	21,4±0,2	20,7±0,2	19,7±0,2	19,7±0,2
Hal 43	25,3±0,2	24,4±0,2	23,8±0,2	24,1±0,2	20,2±0,2	20,2±0,2
Hal 45	19,1±0,2	20,0±0,2	21,3±0,2	20,5±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	20,4±0,2	19,8±0,2	19,8±0,2	20,2±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	23,8±0,2	24,4±0,2	22,4±0,2	23,6±0,2	21,4±0,2	21,4±0,2
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	25,7±0,3	24,4±0,2	25,7±0,3	25,3±0,2	22,7±0,2	22,7±0,2
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	16,6±0,2	16,8±0,2	16,6±0,2	16,0±0,2	15,8±0,1	15,8±0,1
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	17,2±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	15,3±0,2	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	17,5±0,2	17,6±0,2	16,8±0,2	0	0	0



S. ambofaciens ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 розміри зон відсутності росту фітопатогенних бактерій були найбільшими і перевищували 20,0 мм. Доволі активними є актинобактерії, виділені із губок (Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45). За дії їх метаболітів розміри зон відсутності росту фітопатогенних бактерій теж були доволі значними. Найменшу активність продемонстрував штам *Streptomyces* sp. Conc 32, виділений із біологічних обростань бетону. Цей штам пригнічував ріст усіх досліджених бактерій, але зони відсутності їх росту не перевищували 17,0 мм.

Штами актинобактерій *Streptomyces* sp. Conc 10 і *Streptomyces* sp. ONU 1028, виділені, відповідно, із обростань бетону і черепашнику, були активніші за *Streptomyces* sp. Conc 32, проте менш активні за штамми, виділені із губок та мідій і пригнічували ріст не всіх штамів фітопатогенних бактерій.

Схожі результати були отримані при дослідженні антагоністичної активності актинобактерій проти фітопатогенних грибів. Була досліджена чутливість колекційних штамів грибів і штамів грибів, виділених із уражених злакових рослин. Розміри зон відсутності росту колекційних штамів грибів визначені у доволі широкому діапазоні від 16,0±0,2 мм до 33,5±0,3 мм, ізольованих штамів – від 15,0±0,1 мм до 29,3±0,3 мм. Найчутливішими із колекційних штамів грибів були *Paecilomyces variotii* ONU F 28, *Penicillium expansum* ONU F 29, зони відсутності росту яких перевищували 23,0 мм за впливу більшості актинобактерій, які проявили до них антагоністичну активність. Штами *Alternaria alternata* ONU F 23, *Cladosporium cladosporioides* ONU F 26, *Fusarium oxysporum* ONU F 27 виявилися найстійкішими (розміри зон відсутності їх росту були менші 22,0 мм).

У попередніх дослідженнях щодо визначення природи інфекційних агентів уражених злакових рослин нами було встановлено переважаання міцеліальних грибів, серед яких лєвова частка ідентифікована як *Fusarium oxysporum*, серед виділених були штамми *Sclerotinia sclerotiorum* і *Alternaria alternata* [1, 27]. Найчутливішими із виділених були штамми *S. sclerotiorum*, найстійкішими – окремі штамми *F. oxysporum*. Наприклад, за дії метаболітів штаму *Actinobacteria* Hal 13 розмір зони відсутності росту *F. oxysporum* B25 склав 15,0±0,1 мм, за дії *Actinobacteria* Hal 31 зона відсутності росту *F. oxysporum* B22 була 15,3±0,1 мм. Загалом, розміри зон відсутності росту патогенних фузарій коливалися в широких межах від 15,0±0,1 мм до 25,7±0,3 мм.

У таблицях 3 і 4 наведено результати визначення антагоністичного впливу найбільш активних штамів актинобактерій на окремі штамми фітопатогенних грибів.

Найактивнішими проти фітопатогенних грибів (колекційних і виділених із уражених рослин) були актинобактерії із губок (*Actinobacteria* Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45) та із мідій (*Streptomyces ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, *S. ambofaciens* Myt 8), які з різною інтенсивністю пригнічували ріст усіх досліджених штамів. Штами із біологічних обростань бетону (*Streptomyces* spp. Conc 10, Conc 32) і черепашнику (*Streptomyces* sp. ONU 1028) також пригнічували ріст усіх штамів грибів, але розміри зон відсутності росту були меншими, ніж за дії актинобактерій із губок і мідій.



Таблиця 3
Table 3

Зони відсутності росту колекційних штамів фітопатогенних грибів (мм) за впливу чорноморських актинобактерій

Zones of no growth of collection strains of phytopathogenic fungi (mm) under the influence of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	Штам колекційних грибів										
	ONU F 23	ONU F 25	ONU F 31	ONU F 32	ONU F 26	ONU F 27	ONU F 28	ONU F 29			
Hal 11	18,2±0,2	19,4±0,2	19,4±0,2	20,0±0,2	16,8±0,2	17,8±0,2	23,8±0,2	23,6±0,2			
Hal 14	20,8±0,2	22,5±0,2	20,0±0,2	20,0±0,2	16,0±0,2	18,2±0,2	22,8±0,2	23,4±0,2			
Hal 15	18,2±0,2	18,8±0,2	21,3±0,2	21,8±0,2	18,3±0,2	21,8±0,2	23,4±0,2	23,4±0,2			
Hal 21	19,6±0,2	21,7±0,2	21,7±0,2	20,9±0,2	16,0±0,2	20,4±0,2	23,8±0,2	23,1±0,2			
Hal 43	22,3±0,2	22,6±0,2	24,1±0,2	20,9±0,2	18,0±0,2	19,8±0,2	30,2±0,3	31,4±0,3			
Hal 45	21,5±0,2	21,8±0,2	28,5±0,3	27,9±0,3	16,2±0,2	20,7±0,2	33,5±0,3	32,0±0,3			
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	16,4±0,2	23,6±0,2	20,0±0,2	20,8±0,2	16,5±0,2	19,4±0,2	22,4±0,2	22,0±0,2			
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	20,2±0,2	22,7±0,2	22,2±0,2	23,6±0,2	16,0±0,2	21,7±0,2	24,0±0,2	23,2±0,2			
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	21,4±0,2	21,5±0,2	23,5±0,2	23,2±0,2	16,0±0,2	21,7±0,2	23,8±0,2	23,8±0,2			
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	16,4±0,2	16,4±0,2	16,7±0,2	18,0±0,2	16,0±0,2	16,7±0,2	19,1±0,2	16,2±0,2			
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	17,0±0,2	16,4±0,2	16,7±0,2	17,7±0,2	16,2±0,2	16,9±0,2	18,7±0,2	17,9±0,2			
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	16,0±0,2	17,3±0,2	16,3±0,2	18,0±0,2	16,7±0,2	16,7±0,2	19,4±0,2	17,1±0,2			

Примітка: ONU F 23 – *Alternaria alternata* ONU F 23; ONU F 25 – *Aspergillus niger* ONU F 25; ONU F 31 – *Aspergillus flavus* ONU F 31; ONU F 32 – *Aspergillus terreus* ONU F 32, ONU F 26 – *Cladosporium cladosporioides* ONU F 26, ONU F 27 – *Fusarium oxysporum* ONU F 27, ONU F 28 – *Paecilomyces variotii* ONU F 28, ONU F 29 – *Penicillium expansum* ONU F 29

Note: ONU F 23 – *Alternaria alternata* ONU F 23; ONU F 25 – *Aspergillus niger* ONU F 25; ONU F 31 – *Aspergillus flavus* ONU F 31; ONU F 32 – *Aspergillus terreus* ONU F 32, ONU F 26 – *Cladosporium cladosporioides* ONU F 26, ONU F 27 – *Fusarium oxysporum* ONU F 27, ONU F 28 – *Paecilomyces variotii* ONU F 28, ONU F 29 – *Penicillium expansum* ONU F 29



Таблиця 4

Зони відсутності росту виділених із уражених злакових рослин штамів фітопатогенних грибів (мм)
за впливу чорноморських актинобактерій

Table 4

Zones of no growth of strains of phytopathogenic fungi isolated from affected cereal plants (mm) under the influence
of the Black Sea actinobacteria

Штам мікроорганізму	<i>Fusarium oxysporum</i>										<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>				<i>Alternaria alternata</i> W46
	B1	B5	B11	B16	B17	B22	B27	B30	B51	B63	W66				
Hal 11	17,0±0,2	17,6±0,2	18,0±0,2	22,2±0,2	17,4±0,2	17,0±0,2	17,2±0,2	22,0±0,2	22,3±0,2	24,4±0,2	20,8±0,2	20,8±0,2	17,8±0,2		
Hal 14	18,4±0,2	17,9±0,2	17,6±0,2	17,6±0,2	18,2±0,2	19,0±0,2	17,8±0,2	17,6±0,2	22,9±0,2	20,8±0,2	21,6±0,2	21,6±0,2	18,2±0,2		
Hal 15	19,8±0,2	18,4±0,2	21,3±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2	19,8±0,2	20,6±0,2	18,8±0,2	23,6±0,2	23,6±0,2	21,6±0,2	21,6±0,2	18,8±0,2		
Hal 21	19,2±0,2	20,0±0,2	20,8±0,2	19,8±0,2	20,0±0,2	20,0±0,2	18,6±0,2	20,6±0,2	23,6±0,2	22,8±0,2	23,0±0,2	23,0±0,2	19,0±0,2		
Hal 43	23,8±0,2	20,5±0,2	22,8±0,2	23,2±0,2	24,4±0,2	24,4±0,2	19,8±0,2	20,8±0,2	25,6±0,3	26,6±0,3	23,8±0,2	23,8±0,2	19,0±0,2		
Hal 45	20,2±0,2	23,4±0,2	24,4±0,2	20,6±0,2	20,2±0,2	21,8±0,2	22,0±0,2	23,4±0,2	29,3±0,3	27,2±0,3	27,2±0,3	27,2±0,3	19,4±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> Myt 8	20,0±0,2	18,6±0,2	18,6±0,2	19,4±0,2	20,2±0,2	18,0±0,2	18,8±0,2	18,8±0,2	22,2±0,2	20,5±0,2	20,5±0,2	20,5±0,2	16,8±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016	25,7±0,3	24,3±0,2	25,2±0,2	24,8±0,2	25,7±0,3	23,3±0,2	22,9±0,2	23,4±0,2	27,8±0,3	26,9±0,3	26,4±0,3	26,4±0,3	20,0±0,2		
<i>S. ambofaciens</i> ONU 561	24,8±0,2	24,3±0,2	25,0±0,2	24,6±0,2	25,7±0,3	25,7±0,3	24,8±0,2	24,8±0,2	28,4±0,3	28,4±0,3	26,4±0,3	26,4±0,3	20,0±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 32	16,7±0,2	17,2±0,2	16,7±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	16,7±0,2	16,8±0,2	16,8±0,2	20,4±0,2	19,5±0,2	20,0±0,2	20,0±0,2	17,2±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. Conc 10	16,7±0,2	16,7±0,2	17,3±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	16,8±0,2	16,8±0,2	17,0±0,2	20,4±0,2	20,4±0,2	19,4±0,2	19,4±0,2	16,8±0,2		
<i>Streptomyces</i> sp. ONU 1028	16,7±0,2	16,7±0,2	16,7±0,2	16,8±0,2	17,0±0,2	16,8±0,2	16,8±0,2	17,2±0,2	19,8±0,2	20,4±0,2	19,6±0,2	19,6±0,2	16,8±0,2		



Загалом, порівнюючи чутливість колекційних і виділених із уражених рослин бактерій і грибів до дії актинобактерій, зауважимо, що ізольовані штами є більш стійкими. На наш погляд, це пов'язано із необхідністю у навколишньому середовищі, в умовах пресингу і активної конкуренції, формувати механізми резистентності. Окрім цього, штами ізольованих фітопатогенних бактерій стійкіші до метаболітів актинобактерій, у порівнянні із виділеними штамами грибів. Щодо актинобактерій, то активнішими до усіх досліджених фітопатогенів були штами, виділені із біотичних джерел (губок і мідій), що також можна пояснити необхідністю запускати метаболічні процеси, результатом яких є синтез вторинних метаболітів з антагоністичною активністю.

Прояв антагоністичної активності бактерій, як неодноразово було показано у численних дослідженнях багатьох науковців, і отримані нами результати це підтверджують, залежить від багатьох чинників, серед яких конкретні штами збудника захворювання і антагоніста, умови культивування антагоніста, умови проведення експерименту тощо [5, 30]. За результатами, отриманими при проведенні досліджень, було відібрано 8 штамів (*Actinobacteria* Hal 11, Hal 14, Hal 15, Hal 21, Hal 43, Hal 45, *S. ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561), 2 із яких, *S. ambofaciens* ONU 1016, *S. ambofaciens* ONU 561, були найбільш активними проти всіх штамів фітопатогенних мікроорганізмів.

Основними збудниками інфекційних хвороб злакових культур, що вирощується на угіддях південного регіону України, у 2021–2023 рр. були гриби *F. oxysporum* [1, 26]. Згідно інформації, оприлюдненої на сайті U. S. Wheat & Barley Scab Initiative (USWBSI), останніми роками у світі швидко поширюються і викликають численні захворювання сільськогосподарських рослин такі види фузарій як *Fusarium graminearum* та *F. oxysporum*, які ще недавно були притаманні лише Північній Америці, де вони інфікували тільки зернові культури [31]. Про збільшення кількості випадків ураження рослин грибами *F. oxysporum* свідчать також відповідні публікації у наукових виданнях [9, 22, 23].

При оцінці антагоністичного потенціалу відібраних штамів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 щодо виділених із уражених рослин *F. oxysporum* встановлено, що всі штами фузарій виявилися чутливими (рис. 2).

Зони відсутності росту понад 80,0% виділених штамів фузарій перевищували 20,0 мм під впливом відібраних штамів стрептоміцетів.

За літературними даними, представники роду *Streptomyces* є одними із найбільш ефективних агентів біоконтролю фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема грибів роду *Fusarium*, що пояснює пошук і скринінг антагоністично активних штамів стрептоміцетів як основи біопестицидів для агропромисловості [17, 18, 20].

Відомо, що багато антибіотиків, які синтезують стрептоміцети, можуть накопичуватися в міцелії і їх активність можна виявити після екстрагування [3, 6].

Тому наступним етапом досліджень було визначення антагоністичної активності і встановлення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) ек-



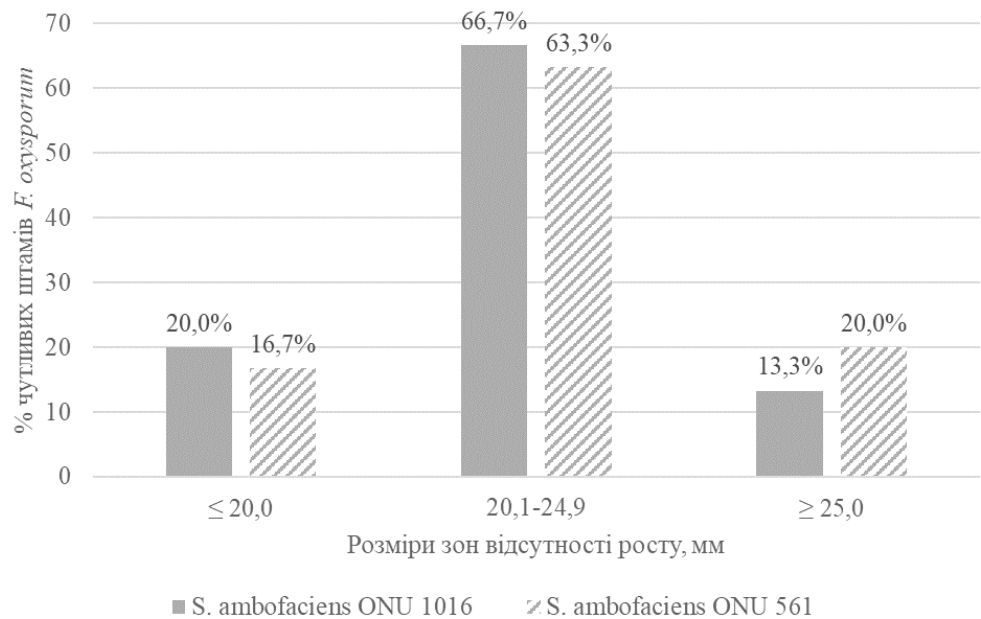


Рис. 2. Антагоністична активність *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 проти виділених штамів *F. oxysporum*

Fig. 2. Antagonistic activity of *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 against isolated strains of *F. oxysporum*

трагованих вторинних метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 щодо штамів грибів *F. oxysporum*.

У контрольних варіантах досліджу спостерігали активний ріст усіх штамів *F. oxysporum*. І колекційний, і виділені із уражених рослин штами фузарій проявили чутливість до екстрагованих вторинних метаболітів обох штамів *S. ambofaciens*. Зони відсутності росту грибів коливалися у широких межах і залежали, передусім, від штамів фузарій, стрептоміцету, концентрації екстрактів і терміну обліку результатів, що не суперечить результатам аналогічних досліджень [8, 13].

Враховуючи особливості росту грибів (тривалість lag-фази, швидкість росту), антагоністичний вплив екстрагованих метаболітів обох штамів стрептоміцетів на всі штами фузарій спостерігали, починаючи з 3-ї доби.

Колекційний штам *F. oxysporum* ONU F 27 виявив чутливість до метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561, починаючи з концентрацій 100 мкг/мл і 250 мкг/мл, відповідно, зони відсутності його росту при цьому склали $6,33 \pm 0,02$ мм. Збільшення концентрації метаболітів до 1000 мкг/мл не призвело до більш ранньої появи зони відсутності росту штаму, але вплинуло на її розміри, які склали $9,33 \pm 0,02$ мм (за дії екстрактів *S. ambofaciens* ONU 1016) і $7,66 \pm 0,02$ мм (*S. ambofaciens* ONU 561) на 3 добу. За дії такої концентрації екстрагованих метаболітів обох штамів зона відсутності росту збільшувалася і досягла максимуму ($15,66 \pm 0,02$ мм і $10,00 \pm 0,01$ мм, відповідно) на 6-ту добу спостережень.



Виділені із уражених злакових рослин штами *F. oxysporum* також проявили різну чутливість до екстрагованих вторинних метаболітів у досліджених концентраціях.

У таблиці 5, як приклад, наведено результати виміру розмірів зон відсутності росту штамів фузарій за впливу екстрактів стрептоміцетів у концентраціях 500 мкг/мл і 1000 мкг/мл на 3 і 6 добу спостережень. За впливу екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 у концентрації 500 мкг/мл розміри зон відсутності росту виділених фузарій коливалися від $6,33 \pm 0,02$ мм (на 3 добу) до $12,66 \pm 0,02$ мм (на 6 добу). У колекційного штаму, відповідно від $9,33 \pm 0,02$ мм до $14,66 \pm 0,02$ мм. При збільшенні концентрації екстрактів до 1000 мкг/мл, розміри зон відсутності росту виділених фузарій у більшості випадків також збільшилися. За дії такої концентрації екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 найбільша зона відсутності росту визначена для штаму *F. oxysporum* W26 ($14,33 \pm 0,02$ мм) на 6 добу спостережень. Для колекційного штаму цей показник склав $15,66 \pm 0,02$ мм. Менша антагоністична активність виявлена у екстрагованих метаболітів штаму *S. ambofaciens* ONU 561. Не всі виділені із уражених рослин фузарії виявилися чутливими до екстрактів цього штаму у концентрації 500 мкг/мл. Збільшення концентрації у 2 рази посилило антагоністичний ефект екстрактів цього штаму. Так, наприклад, зона відсутності росту *F. oxysporum* W13 досягла $15,00 \pm 0,01$ мм (на 6 добу). Штами *F. oxysporum* B2, B3 і B22, які були стійкими до екстрактів *S. ambofaciens* ONU 561 у концентрації 500 мкг/мл протягом всього терміну спостережень (10 діб), виявилися чутливими до їх дії у концентрації 1000 мкг/мл.

У більшості випадків найкращий антагоністичний ефект, що виявлявся у розмірах зон відсутності росту, реєстрували на 5–6 добу обліку результатів без суттєвих змін на кінець терміну спостережень.

Визначення мінімальної інгібуючої (пригнічувальної) концентрації (МІК) екстрагованих вторинних метаболітів обох штамів показало, що цей показник для екстрактів *S. ambofaciens* ONU 1016 був у діапазоні 250 мкг/мл – 500 мкг/мл, для екстрактів *S. ambofaciens* ONU 561 – 250 мкг/мл – 1000 мкг/мл (рис. 3).

За отриманими результатами встановлено, що для однієї половини штамів *F. oxysporum*, виділених із уражених рослин, МІК екстрагованих метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 склала 250 мкг/мл, для іншої – 500 мкг/мл. Для половини штамів фузарій МІК екстрактів *S. ambofaciens* ONU 561 склав – 500 мкг/мл, для 40,0% штамів – 250 мкг/мл, 20,0% штамів – 1000 мкг/мл. МІК екстрактів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 для колекційного штаму *F. oxysporum* ONU F 27 була меншою і склала 100 мкг/мл і 250 мкг/мл, відповідно.

Отже, підсумовуючи отримані результати, можемо констатувати, що досліджені штами актинобактерій, виділені із біотопів Одеської затоки Чорного моря, є антагоністично активними проти фітопатогенних мікроорганізмів, зокрема грибів *F. oxysporum*, збудників хвороб злакових рослин. Кращу активність проявили актинобактерії, виділені із губок і мідій,



Таблиця 5
Table 5

Зони відсутності росту штамів *F. oxysporum* (мм) за дії екстрагованих метаболітів стрептоміцетів
Zones of no growth of *F. oxysporum* strains (mm) under the action of extracted streptomycetes metabolites

Штам <i>F. oxysporum</i>	<i>S. ambofaciens</i> ONU 1016						<i>S. ambofaciens</i> ONU 561					
	500 мкг/мл		1000 мкг/мл		1000 мкг/мл		500 мкг/мл		1000 мкг/мл		1000 мкг/мл	
	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба	3 доба	6 доба
1	2	3	4	5	6	7	8	9				
B1	6,33±0,02	9,00±0,01	10,00±0,01	11,66±0,02	6,0±0,01	6,66±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02	8,33±0,02	8,33±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02
B2	6,33±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	9,33±0,02	0,00	0,00	6,33±0,02	7,66±0,02	6,33±0,02	6,33±0,02	6,33±0,02	7,66±0,02
B3	6,00±0,01	7,33±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02	0,00	0,00	7,33±0,02	8,66±0,02	7,33±0,02	7,33±0,02	7,33±0,02	9,00±0,01
B4	8,33±0,02	10,00±0,01	9,66±0,02	10,66±0,03	7,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02
B5	8,66±0,02	9,00±0,01	9,00±0,01	9,66±0,02	7,66±0,02	8,33±0,02	9,00±0,01	9,66±0,02	9,00±0,01	9,00±0,01	9,00±0,01	9,66±0,02
W6	8,66±0,02	9,33±0,02	9,33±0,02	10,00±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	7,00±0,03	7,66±0,02	7,00±0,03	7,00±0,03	7,66±0,02	7,66±0,02
W7	8,33±0,02	9,33±0,02	9,00±0,02	9,33±0,02	7,33±0,03	7,66±0,03	8,33±0,03	8,66±0,02	8,33±0,03	8,33±0,03	8,33±0,03	10,33±0,02
B8	9,33±0,03	9,33±0,02	10,33±0,02	10,33±0,02	8,66±0,02	11,66±0,03	12,66±0,03	13,00±0,01	12,66±0,03	12,66±0,03	12,66±0,03	13,00±0,01
B9	8,33±0,03	9,33±0,03	11,00±0,01	13,00±0,01	7,33±0,02	7,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02
B10	9,66±0,02	11,66±0,03	11,33±0,02	12,00±0,02	10,33±0,03	11,00±0,01	13,33±0,02	14,66±0,02	13,33±0,02	13,33±0,02	13,33±0,02	14,66±0,02
B11	6,66±0,02	8,33±0,03	8,66±0,02	9,66±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,03
W12	6,33±0,02	7,66±0,02	10,33±0,02	10,33±0,02	6,33±0,02	8,00±0,02	12,66±0,03	13,00±0,01	12,66±0,03	12,66±0,03	12,66±0,03	13,00±0,01
W13	6,66±0,02	7,66±0,02	7,33±0,02	10,33±0,02	8,66±0,02	12,33±0,02	11,33±0,02	15,00±0,01	11,33±0,02	11,33±0,02	11,33±0,02	15,00±0,01



Продовження таблиці 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
W14	8,66±0,03	11,66±0,03	11,33±0,02	13,33±0,02	7,66±0,02	8,66±0,03	11,66±0,03	13,00±0,01
W15	7,66±0,02	7,66±0,02	10,66±0,02	11,00±0,01	6,33±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02
B16	6,33±0,02	7,66±0,02	9,66±0,02	10,33±0,02	6,33±0,02	6,66±0,02	9,66±0,02	13,66±0,02
B17	7,66±0,02	7,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	9,00±0,01
B18	6,66±0,02	6,66±0,02	7,33±0,02	11,33±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	7,66±0,02	10,33±0,02
B19	7,66±0,02	7,66±0,02	10,66±0,02	11,00±0,01	6,33±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	8,66±0,02
W20	8,66±0,02	12,66±0,02	10,66±0,02	12,66±0,02	9,66±0,02	12,00±0,01	12,00±0,01	12,00±0,01
W21	8,33±0,03	8,33±0,03	9,33±0,02	11,33±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	10,66±0,02	11,66±0,02
B22	6,00±0,01	7,33±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02	0,00	0,00	7,33±0,02	9,00±0,01
W23	8,33±0,02	10,00±0,01	10,00±0,01	11,66±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	8,33±0,02	9,66±0,02
W24	8,33±0,02	9,66±0,02	10,66±0,02	11,66±0,03	6,66±0,02	6,66±0,02	9,33±0,02	10,33±0,02
B25	8,66±0,02	10,66±0,02	10,66±0,02	13,66±0,02	10,66±0,02	12,00±0,01	10,66±0,02	12,00±0,01
W26	8,33±0,02	9,33±0,02	11,66±0,02	14,33±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	12,66±0,03
B27	8,33±0,02	9,66±0,02	12,33±0,02	13,33±0,02	8,66±0,02	9,66±0,02	9,66±0,02	10,66±0,02
B28	6,66±0,02	6,66±0,02	7,66±0,02	8,66±0,02	6,66±0,02	6,66±0,02	8,66±0,02	9,00±0,01
W29	10,66±0,02	12,33±0,02	11,66±0,02	12,66±0,02	9,66±0,02	10,00±0,01	10,33±0,02	10,33±0,02
B30	8,33±0,02	9,33±0,02	9,00±0,01	9,33±0,02	7,33±0,02	7,66±0,02	8,33±0,02	10,33±0,02
ONU F 27	9,33±0,02	14,66±0,02	9,33±0,02	15,66±0,02	6,33±0,02	6,33±0,02	7,66±0,02	10,00±0,01

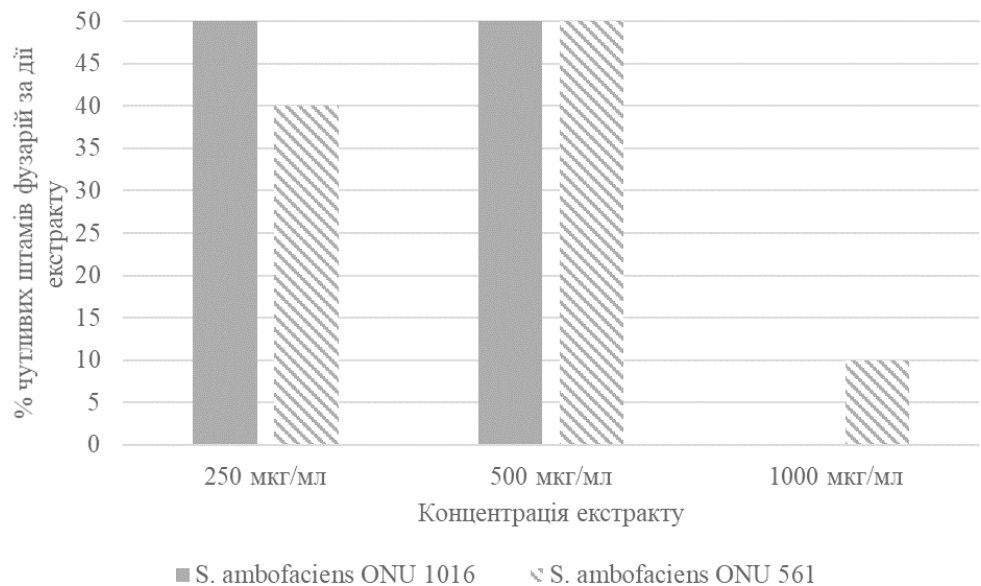


Рис. 3. Частка чутливих штамів виділених фузарій до екстрагованих вторинних метаболітів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561

Fig. 3. The proportion of sensitive strains of isolated fusarium to extracted secondary metabolites *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561

які пригнічували ріст більшості взятих у дослід фітопатогенних бактерій і грибів. Виявлена висока чутливість фітопатогенів до виділених із мідій штамів *S. ambofaciens* ONU 1016 і *S. ambofaciens* ONU 561 дозволяє рекомендувати їх для розробки мікробного препарату для захисту рослин від бактеріальних і грибних патогенів.

**O. V. Andriushchenko, I. V. Strashnova, T. V. Ivanytsia,
S. I. Rakytska, M. B. Galkin**

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Vsevoloda Zmiiienka St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF BLACK SEA ACTINOBACTERIA AGAINST PHYTOPATHOGENIC MICROORGANISMS

Summary

The biological method of plant protection is an environmentally safe and priority form in long-term programs to combat pathogens and one of the important tools for the transition to organic and ecological agriculture in Ukraine. **Aim.** To define the antagonistic activity of the Black Sea actinobacteria against phytopathogenic microorganisms. **Methods.** The antagonistic activity of 35 strains of actinobacteria isolated from different biotopes of the Odesa Bay of the Black Sea against collection



and isolated from affected cereal plants phytopathogenic microorganisms was determined by the block method after preliminary cultivation of actinobacteria on Gause 2 medium for 12 days at 28 ± 1 °C. The antagonistic activity of extracted secondary metabolites of *Streptomyces ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 against *Fusarium oxysporum* strains was determined by the disk-diffusion method. **Results.** Of the 35 studied, the growth of at least one strain of phytopathogenic bacteria and fungi was inhibited by 77.1% and 65.7% of actinobacterial strains, respectively. The sizes of the zones of no growth of sensitive collection strains of bacteria ranged from 15.3 ± 0.1 mm to 29.6 ± 0.3 mm, and of bacterial strains isolated from affected plants – from 14.5 ± 0.1 mm to 25.7 ± 0.3 mm under the action of antagonistically active actinobacteria. This indicator for collection strains of fungi was determined in the range from 16.0 ± 0.2 mm to 33.5 ± 0.3 mm, for isolated strains of fungi – from 15.0 ± 0.1 mm to 29.3 ± 0.3 mm. *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 showed the best activity against all strains of phytopathogenic microorganisms, in particular against *F. oxysporum* isolated from affected plants, the zones of no growth of more than 80.0% of the strains of which exceeded 20.0 mm. The extracted secondary metabolites of both *S. ambofaciens* strains inhibited the growth of the collection and isolated fusarium strains. The zones of no growth of fungi varied widely and depended, primarily, on the strains of fusarium, streptomyces, the concentration of extracts, and the period of recording the results. The minimum inhibitory concentrations of extracted metabolites of *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561 against the isolated strains of *F. oxysporum* were 250 µg/ml – 500 µg/ml and 250 µg/ml – 100 µg/ml, respectively. **Conclusions.** Actinobacterial strains isolated from sponges and mussels of the Odesa Bay of the Black Sea are antagonistically active against phytopathogenic microorganisms, in particular the fungi *F. oxysporum*. Collection strains of phytopathogens are more sensitive to the action of sea actinobacteria than strains isolated from affected plants. Strains *S. ambofaciens* ONU 1016 and *S. ambofaciens* ONU 561, which showed high antagonistic activity, can be recommended for the creation of a microbial preparation for protecting plants from bacterial and fungal pathogens.

Key words: antagonistic activity, the Black Sea actinobacteria, phytopathogenic microorganisms.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрющенко О., Страшнова І. Антагоністична активність ґрунтових штамів грибів роду *Trichoderma* щодо фітопатогенних мікроміцетів, виділених із уражених зернових рослин // Інновації у сучасному агропромисловому виробництві: Збірник матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. (Одеса, 21–22 вересня 2023 р.) [Електронне видання]. – 2023. – С. 118–123. <https://biotekhnika.od.ua/uk/diialnist/publikatsii/209-zbirnyk-materialiv-mnpk-innovatsiyi-u-suchasnomu-ahropromyslovomu-vyrobnytstvi>
2. Бараболя О. В. Використання біологічних препаратів у органічному землеробстві // Формування та перспективи розвитку підприємницьких структур в рамках інтеграції до європейського простору: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 24 березня 2021 р.). – 2021. – С. 24–26.



3. Білявська Л.О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рос-лин : дис. ... док. біол. наук : 03.00.07. Київ, 2018. – 485 с.
4. Страшнова І.В., Помапенко К.С., Коротаєва Н.В., Лісютін Г.В., Метеліцина І.П. Антагоністичні властивості чорноморських стрептоміцетів, виділених із обростань черепашнику і мідій // Мікробіологія і біотехнологія – 2022. – № 3 (56). – Р. 6–23. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)
5. Abdelrahman O., Yagi S., El Siddig M., El Hussein A., Germanier F. et al. Evaluating the antagonistic potential of actinomycete strains isolated from Sudan's soils against phytophthora infestans // Front. Microbiol. – 2022. – Vol. 13. – P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.827824>
6. Bernardi D.I., das Chagas F.O., Monteiro A.F., dos Santos G.F., de Souza Berlinck R.G. Secondary metabolites of endophytic actinomycetes: isolation, synthesis, biosynthesis, and biological activities / In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products / Eds. A. D. Kinghorn, H. Falk, S. Gibbons, J. Kobayashi, Y. Asakawa, J.-K. Liu. – Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2019. – Vol. 108. – P. 207–295. https://doi.org/10.1007/978-3-030-01099-7_3
7. Boubekri K., Soumare A., Mardad I., Lyamlouli K., Ouhdouch Y. et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review // Microbiological Research. – 2022. – Vol. 261. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>
8. Escalante-Réndiz D., de-la-Rosa-Garcia S., Tapia-Tussell R., Martin J., Reyes F. et al. Molecular identification of selected *Streptomyces* strains isolated from Mexican tropical soils and their anti-*Candida* activity // Int J Environ Res Public Health. – 2019. – V. 16 (11). – P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph16111913>
9. Gabrekiristos E., Demiyó T. Hot pepper fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. capsici): epidemics, characteristic features and management options // Journal of Agricultural Science. – 2020. – Vol. 12 (10). – P. 347–360. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n10p347>
10. Ivanytsia V.O., Shtenikov M.D., Strashnova I.V., Korotaieva N.V., Tytarenko N.V. et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic activity // Biosyst. Divers. – 2023. – V. 31 (4). – P. 451–459. <https://doi.org/10.15421/012354>
11. Ivanytsia V.O., Gudzenko T.V., Gorshkova O.H., Korotaieva N.V., Strashnova I.V. et al. Antitumor and antimicrobial activity of exometabolites of Black Sea actinobacteria // Biopolym. Cell. – 2024. – Vol. 40 (3). – P. 233. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AD4>
12. Jagannathan S.V., Manemann E.M., Rowe S.E., Callender M.C., Soto W. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products // Mar. Drugs. – 2021. – Vol. 19. – P. 1–30. <https://doi.org/10.3390/md19070365>
13. Kunova A., Bonaldi M., Saracchi M., Pizzatti C., Chen X., Cortesi P. Selection of *Streptomyces* against soil borne fungal pathogens by a standardized



- dualculture assay and evaluation of their effects on seed germination and plant growth // *BMC Microbiology*. – 2016. – V. 16. – P. 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s12866-016-0886-1>
14. *Lahlali R., Ezrari S., Radouane N., Kenfaoui J.; Esmazel Q. et al.* Biological control of plant pathogens: a global perspective // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10. – P. 1–33. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
 15. *Ngamcharungchit C., Chaimusik N., Panbangred W., Euanorasetr J., Intra B.* Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28 (15). – P. 1–33.
<https://doi.org/10.3390/molecules28155915>
 16. *Paulus C., Rebets Y., Tokovenko B., Nadmid S., Terekhova L.P. et al.* New natural products identified by combined genomics-metabolomics profiling of marine *Streptomyces* sp. MP131-18 // *Scientific Reports*. – 2017. – 7 (1). – P. 42382.
 17. *Perez J.V., Serrano L., Viteri R., Sosa D., Romero C.A., Diez N.* Antarctic streptomyces: promising biocontrol agents for combating *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* // *Biotechnology Reports*. – 2024. – Vol. 43. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00852>
 18. *Qi D., Liu Q., Zou L., Zhang M., Li K. et al.* Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi // *Front. Microbiol.* – 2024. – Vol. 15. – P. 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>
 19. *Rante H., Manggau M.A., Alam G., Pakki E., Erviani A.E. et al.* Isolation and identification of Actinomycetes with antifungal activity from karts ecosystem in Maros-Pangkep, Indonesia // *Biodiversitas*. – 2024. – Vol. 25 (2). – P. 458–464. <http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d250203>
 20. *Rejón-Martínez G.A., Ríos-Muñiz D.E., Contreras-Leal E.A., Evangelista-Martínez Z.* Antagonist activity of *Streptomyces* sp. Y20 against fungi causing diseases in plants and fruits // *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. – 2022. – Vol. 25 (049). – P. 1–9. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4179>
 21. *Ribeiro I., Girão M., Alexandrino D.A.M., Ribeiro T., Santos C.* Diversity and bioactive potential of actinobacteria isolated from a coastal marine sediment in Northern Portugal // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8 (11). – P. 1–16.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111691>
 22. *Rouzbeh M., Baradaran G. R.* Fungi associated with root and crown rot of wheat in the Kerman province of Iran // *Plant Protection*. – 2020. – Vol. 04 (01). – P. 29–34. <https://doi.org/10.33804/pp.004.01.3207>
 23. *Sahu A. K., Kumari P., Mitra B.* Fusarium induced anatomical and biochemical alterations in wild type and DPA-treated wheat seedlings // *J Pure Appl Microbiol.* – 2024. – Vol. 18 (1). – P. 229–242.
<https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.06>
 24. *Salwan R., Sharma V.* Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria // *Microbiological Research*. – 2020. – Vol. 231. – P. 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126374>
 25. *Silva G.C., Kitano I.T., Ribeiro I.A.F., Lacava P.T.* The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture // *Front.*



- Soil Sci. – 2022. – V. 2. – P. 1–20. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.833181>
26. *Strashnova I.V., Andriuschenko O.V.* Antimicrobial activity of soil bacilli against phytopathogenic microorganisms isolated from affected cereal plants // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2023. – № 2 (58). – С. 6–16. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2\(58\).286959](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2(58).286959)
27. *Strashnova I., Andriuschenko O., Vasylieva N., Shtnenikov M., Korotaieva N.* Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria // *Absract book of 9th International Weigl Conference, 27-29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024.* – P. 53–54.
28. *Strashnova I.V., Mashkova A.K., Lisiutin G.V., Ivanytsia T.V.* Antagonistic activity of actinobacteria isolated from sponges *Haliclona* spp. Odesa Bay // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2024. – № 2 (61). – С. 69–78. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2\(61\).310136](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2(61).310136)
29. *Subramani R., Sipkema D.* Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products // *Mar. Drugs*. – 2019. – Vol. 17 (5). – P. 1–40. <https://doi.org/10.3390/md17050249>
30. *Tian L., Hu S., Wang X., Guo Y., Huang L. et al.* Antagonism of rhizosphere *Streptomyces yangpuensis* CM253 against the pathogenic fungi causing corn rot in saffron (*Crocus sativus* L.) // *Pathogens*. – 2022. – Vol. 11. – P. 1–18. <https://doi.org/10.5539/pas.v12n10p347>
31. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://scabusa.org/home-page&ved=2ahUKEwj2wa7Uhe6JAxVkGBAIH evcOqYQFnoECB4QAQ&usg=AOvVaw1LbTDDWxy7v2zqC-EVqzhi>

REFERENCES

1. Andriuschenko O, Strashnova I. Antagonistic activity of soil strains of fungi of the genus *Trichoderma* against phytopathogenic micromycetes isolated from affected grain plants. *Innovations in modern agro-industrial production: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (Odesa, September 21–22, 2023)* [Electronic edition]. 2023: 118–123 [in Ukrainian].
2. Barabolia OV. Use of biological preparations in organic farming. *Formation and prospects for the development of business structures within the framework of integration into the European space: Materials of the IV International Scientific and Practical Conference (Poltava, March 24, 2021)*. 2021: 24–26 [in Ukrainian].
3. Bilyavs'ka LO. Actinobacteria of the genus *Streptomyces* and their metabolites in plant bioregulation: dis. ... doc. biol. nauk. Kyiv. 2018: 485 [in Ukrainian].
4. Strashnova IV, Potapenko KS, Korotaeva NV, Lisyutin GV, Metelitsyna IP. Antagonistic activity of the Black Sea streptomycetes isolated from the fouling of shell rock and mussels. *Microbiology and biotechnology*. 2022; 3(56): 6–23. [in Ukrainian]. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)
5. Abdelrahman O, Yagi S, El Siddig M, El Hussein A, Germanier F et al. Evaluating the antagonistic potential of actinomycete strains isolated from Sudan's soils against *Phytophthora infestans*. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.827824>



6. Bernardi DI, das Chagas FO, Monteiro AF, dos Santos GF, de Souza Berlink RG. Secondary metabolites of endophytic actinomycetes: isolation, synthesis, biosynthesis, and biological activities. *In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Eds. AD Kinghorn, H Falk, S Gibbons, J Kobayashi, Y Asakawa, J-K Liu. – Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2019; 108: 207–295. https://doi.org/10.1007/978-3-030-01099-7_3
7. Boubekri K, Soumare A, Mardad I, Lyamlouli K, Ouhdouch Y et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review. *Microbiological Research*. 2022; 261: 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>
8. Escalante-Réndiz D, de-la-Rosa-Garcia S, Tapia-Tussell R, Martin J, Reyes F et al. Molecular identification of selected *Streptomyces* strains isolated from Mexican tropical soils and their anti-*Candida* activity. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(11): 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph16111913>
9. Gabrekiristos E, Demiyó T. Hot pepper fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. capsici): epidemics, characteristic features and management options. *Journal of Agricultural Science*. 2020; 12(10): 347–360. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n10p347>
10. Ivanytsia VO, Shtenikov MD, Strashnova IV, Korotaieva NV, Tytarenko NV et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic activity. *Biosyst. Divers*. 2023; 31(4): 451–459. <https://doi.org/10.15421/012354>
11. Ivanytsia VO, Gudzenko TV, Gorshkova OH, Korotaieva NV, Strashnova IV et al. Antitumor and antimicrobial activity of exometabolites of Black Sea actinobacteria. *Biopolym. Cell*. 2024; 40(3): 233. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AD4>
12. Jagannathan SV, Manemann EM, Rowe SE, Callender MC, Soto W. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products. *Mar. Drugs*. 2021; 19: 1–30. <https://doi.org/10.3390/md19070365>
13. Kunova A, Bonaldi M, Saracchi M, Pizzatti C, Chen X, Cortesi P. Selection of *Streptomyces* against soil borne fungal pathogens by a standardized dualculture assay and evaluation of their effects on seed germination and plant growth. *BMC Microbiology*. 2016; 16: 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0886-1>
14. Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, Kenfaoui J, Esmaeel Q et al. Biological control of plant pathogens: a global perspective. *Microorganisms*. 2022; 10: 1–33. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
15. Ngamcharungchit C, Chaimusik N, Panbangred W, Euanorasetr J, Intra B. Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules*. 2023; 28(15): 1–33. <https://doi.org/10.3390/molecules28155915>
16. Paulus C, Rebets Y, Tokovenko B, Nadmid S, Terekhova LP et al. New natural products identified by combined genomics-metabolomics profiling of marine *Streptomyces* sp. MP131-18. *Scientific Reports*. 2017; 7(1): 42382.
17. Perez JV, Serrano L, Viteri R, Sosa D, Romero CA, Diez N. Antarctic streptomyces: promising biocontrol agents for combating *Fusarium*



- oxysporum* f. sp. *ubense*. *Biotechnology Reports*. 2024; 43: 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00852>
18. Qi D, Liu Q, Zou L, Zhang M, Li K et al. Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi. *Front. Microbiol.* 2024; 15: 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>
 19. Rante H, Manggau MA, Alam G, Pakki E, Erviani AE et al. Isolation and identification of Actinomycetes with antifungal activity from karts ecosystem in Maros-Pangkep, Indonesia. *Biodiversitas*. 2024; 25(2): 458–464.
<http://dx.doi.org/10.13057/biodiv/d250203>
 20. Rejón-Martínez GA, Ríos-Muñiz DE, Contreras-Leal EA, Evangelista-Martínez Z. Antagonist activity of *Streptomyces* sp. Y20 against fungi causing diseases in plants and fruits. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2022; 25(049): 1–9. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4179>
 21. Ribeiro I, Girão M, Alexandrino DAM., Ribeiro T, Santos C. Diversity and bioactive potential of actinobacteria isolated from a coastal marine sediment in Northern Portugal. *Microorganisms*. 2020; 8(11): 1–16.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111691>
 22. Rouzbeh M, Baradaran GR. Fungi associated with root and crown rot of wheat in the Kerman province of Iran. *Plant Protection*. 2020; 04 (01): 29–34. <https://doi.org/10.33804/pp.004.01.3207>
 23. Sahu AK, Kumari P, Mitra B. Fusarium induced anatomical and biochemical alterations in wild type and DPA-treated wheat seedlings. *J Pure Appl Microbiol.* 2024;18(1): 229–242. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.06>
 24. Salwan R, Sharma V. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. *Microbiological Research*. 2020; 231: 1–18.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126374>
 25. Silva GC, Kitano IT, Ribeiro IAF, Lacava PT. The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Front. Soil Sci.* 2022; 2: 1–20. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.833181>
 26. Strashnova IV, Andriuschenko OV. Antimicrobial activity of soil bacilli against phytopathogenic microorganisms isolated from affected cereal plants. *Microbiology and biotechnology*. 2023; 2(58): 6–16.
[http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2\(58\).286959](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2023.2(58).286959)
 27. Strashnova I, Andriuschenko O, Vasylieva N, Shtnenikov M, Korotaieva N. Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria. *Absract book of 9th International Weigl Conference, 27-29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024*: 53–54.
 28. Strashnova IV, Mashkova AK, Lisiutin GV, Ivanytsia TV. Antagonistic activity of actinobacteria isolated from sponges *Haliclona* spp. Odesa Bay. *Microbiology and biotechnology*. 2024; 2(61): 69–78.
[https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2\(61\).310136](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2024.2(61).310136)
 29. Subramani R, Sipkema D. Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. *Mar. Drugs*. 2019; 17(5): 1–40. <https://doi.org/10.3390/md17050249>



30. Tian L, Hu S, Wang X, Guo Y, Huang L et al. Antagonism of rhizosphere *Streptomyces yangpuensis* CM253 against the pathogenic fungi causing corm rot in saffron (*Crocus sativus* L.). *Pathogens*. 2022; 11: 1–18.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11101195>
31. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://scabusa.org/home-page&ved=2ahUKEwj2wa7Uhe6JAxVkGBAIH evcOqYQFnoECB4QAQ&usg=AOvVaw1LbTDDWxy7v2zqC-EVqzhi>

Стаття надійшла до редакції 26.11.2024 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 монографії

Андреюк К. І., Козлова І. П., Коптева Ж. П., Піляшенко-Новохатний А. І., Заніна В. В., Пуріш Л. М. Мікробна корозія підземних споруд. Київ: Наукова думка. – 2005. – 258 с.

Мікробіологічні методи очищення стічних вод від органічних забруднювачів: монографія / В. О. Іваниця, Т. В. Гудзенко, Б. М. Галкін, О. В. Волювач, О. Г. Горшкова – Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2020 – 135 с.

Капрельяню Л. В., Йоргачова О. Г. Функціональні продукти. – Одеса, 2003. – С. 229–237.

Гвоздяк Р. І., Пасічник Л. А., Яковлева Л. М., Мороз С. М., Литвинчук О. О. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин. – К.:ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 2020. – 364 p.

На журнальні статті

Страшнова І. В., Потапенко К. С., Коротаєва Н. В., Лісютін Г. В., Метеліцина І. П. Антагоністичні властивості чорноморських стрептоміцетів, виділених із обростань черепашнику і мідій // Мікробіологія і біотехнологія – 2022. – № 3 (56). – Р. 6–23. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)



Boubekri K., Soumare A., Mardad I., Lyamlouli K., Ouhdouch Y. et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review // *Microbiological Research*. – 2022. – Vol. 261. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>

Булигіна Т. В., Варбанець Л. Д., Пасічник Л. А., Житкевич Н. В. Резистентність до антимікробних препаратів бактерій *Pantoea agglomerans* // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2016. – No 1. – С. 68–75.

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

Защинська О. С. Мікробні сидерофори як можливі фактори антагонізму бактерій *Bacillus megaterium* щодо патогенних *Agrobacterium* spp. // Збірка матеріалів наукового товариства студентів, аспірантів і молодих учених. – Одеса: Репозитарій наукової бібліотеки ОНУ імені І. І. Мечникова, 2019. – С. 17–18.

На стандарти

ДСТУ 7355:1213 Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначення кількості біфідобактерій. – 14 с.

Державна служба статистики України. Посівні площі сільськогосподарських культур за їх видами. Доступ онлайн: <http://www.ukrstat.gov.ua/> [цитовано 28 берез. 2021].

На патенти

Патент України № 90119, МПК C02F 1/24. Спосіб мікробіологічного очищення води від іонів цинку / Волювач О. В., Горшкова О. Г., Беляєва Т. О., Конуп І. П., Баранов О. О. (Україна). – N 90119; заявл. 24.12.2013; опубл. 12.05.2014, Бюл. N 9.

Патент на винахід Україна, МПК A23G 3/34, 3/48. Спосіб одержання кондитерського антиоксидантного продукту, власник Одес. нац. технол. Університет / Пилипенко Л. М., Рогова Н. В., Килименчук О. О., Крусір Г. В., Севастьянова О. В., Біленька І. Р. Заявка на винахід No a 2022 03697 Україна, заявл. 04.10.22. Патент на винахід Україна, МПК A23G 3/34, 3/48.

На автореферати дисертацій

Білявська Л. О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рос-лин : дис. ... док. біол. наук : 03.00.07. Київ, 2018. – 485 с.

Зразки посилань літератури в романській абетці

References

Стиль шрифту для англомовного 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:

Shtenikov MD, Strashnova IV, Korotaieva NV, Tytarenko NV et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic



activity. *Biosyst. Divers.* 2023; 31(4): 451–459.

<https://doi.org/10.15421/012354>

Qi D, Liu Q, Zou L, Zhang M, Li K et al. Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi. *Front. Microbiol.* 2024; 15: 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>

Матеріали з'їздів, конференцій:

Strashnova I, Andriuschenko O, Vasylieva N, Shtnenikov M, Korotaieva N. Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria. *Absract book of 9th International Weigl Conference, 27-29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024*: 53–54.

Dikova B, Djournanski 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.

Дисертаційні роботи:

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

Збірники:

Zinchenko OYu, Shmatkova NV, Seyfullina IY Evaluation of antiviral activity 4-dimethylaminobenzaldehyde 2-hydroxybenzoyl-, nicotinoyl- and isonicotinoylhydrazones and their chelates with SnCl₄ on "phage-host" model. *«MODERN ASPECTS OF SCIENCE», 21th volume of the international collective monograph / Publishing Group «Vědecká perspektiva»*. 2022: 62-73.

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.

Патенти, заявки:

Patent Ukrai'ny na vynahid № 116299. Method of defenolization of industrial effluents / Ivanycja V.O., Gorshkova O.G., Gudzenko T.V., Voljuvach O.V., Konup I.P., Bjeljajeva T.O. Nomer zajavky № a201608635 vid 25.07.2016 r. Opubl. 26.02.2018, Bjul. № 4. [in Ukrainian].

Patent Ukrai'ny na vynahid №116058. Method of biological treatment of surface water / Gvozdyak P.I., Kaparnyk A.I., Dombrov's'kyj K.O., Ryl's'kyj O.F., Bolgova O.S. Opubl. 25.01.2018., Bjul. №2. [in Ukrainian].

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 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.



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 20.12.2024 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 7,23. Наклад 100 пр.
Зам. № 2887.

Видавець:

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

Виготовлювач: