

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

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал
Виходить 2 рази на рік
Заснований у липні 2006 року

№ 1(66)
2026

Одеса
ОНУ імені І. І. Мечникова
2026

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)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
Н. В. Бойко (Ужгород, Україна), Л. Д. Варбанець (Київ, Україна), С. О. Гнагуш, (Львів, Україна),
Т. В. Гудзенко (Одеса, Україна), Л. В. Капрельянц (Одеса, Україна), І. К. Курдіш (Київ, Україна),
М. В. Патика (Київ, Україна), В. С. Підгорський (Київ, Україна), Л. М. Сківка (Київ, Україна),
М. Я. Співак (Київ, Україна), Ф. П. Ткаченко (Одеса, Україна), Томас Хартле (Нантес, Франція),
Ніна (Ніно) А. Чанішвілі (Тбілісі, Грузія).

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР
Т. В. Бурлака (Одеса, Україна)

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

*Усі рукописи, що надійшли до редакції,
підлягають обов'язковому рецензуванню*

Затверджено до публікації Вченою радою Одеського національного університету імені І. І. Мечникова
Протокол № 10 від 26 травня 2026 р.

Відповідно до наказу Міністерства освіти та науки України № 1301 від 15.10.2019 р.
журнал внесено до Переліку наукових фахових видань України категорії «Б».

Журнал реферується та індексується у таких базах даних та пошукових системах:

Google Академія, Відкритий український індекс наукового цитування (OUCI),
Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського).

Літературне редагування: Т. В. Бурлака, Т. В. Іваниця, І. В. Райко

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

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2026

Founder

Odesa I. I. Mechnikov National University.

Identifier in the Registry of Media Entities: R30-01955

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

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

Nadiya Boyko (Uzhhorod, Ukraine), Liudmyla Varbanets (Kyiv, Ukraine), Svitlana Hnatush (Lviv, Ukraine), Tetiana Gudzenko (Odesa, Ukraine), Leonid Kaprelyants (Odesa, Ukraine), Ivan Kurdysh (Kyiv, Ukraine), Mykola Patyka (Kyiv, Ukraine), Valentyn Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), Larysa Skivka (Kyiv, Ukraine), Mykola Spivak (Kyiv, Ukraine), Fedir Tkachenko (Odesa, Ukraine), Thomas Haertlé (Nantes, France), Nina Chanishvili (Tbilisi, Georgia).

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

Scientific Editor V. O. Ivanytsia

All submissions are subject to peer review

Approved for publishing by the Academic Council of Odesa I. I. Mechnikov National University
Minutes No 10 dated 26 may 2026.

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 Scientific Professional Journals of Ukraine of the B category.

The journal is abstracted and indexed in the following databases and search engines:

Google Scholar, Open Ukrainian Citation Index (OUCI),
Scientific Periodicals of Ukraine (V. I. Vernadskyi National Library of Ukraine).

Literary editing: T. V. Burlaka, T. V. Ivanytsia, I. V. Raiko

Editorial Office:

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiienska Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine.
Tel.: +38 (048) 731-71-51, e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<https://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa I. I. Mechnikov
National University, 2026

ЗМІСТ

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

Н. В. Двінських, Н. В. Хохленкова ШТАМИ-ПРОДУЦЕНТИ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ, ШЛЯХИ ЇХ УДОСКОНАЛЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПРОМИСЛОВОГО ВИКОРИСТАННЯ	6
--	---

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

Г. І. Сліщук, Г. І. Дроздов, Н. Ю. Васильєва, Н. Е. Волкова БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ <i>ALTERNARIA MACROSPORA</i> ДЛЯ РОЗРОБКИ СИСТЕМИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ДЕТЕКЦІЇ	21
--	----

В. Ю. Іваніца, М. М. Чабан, Г. В. Лісютін, О. О. Ковтун, І. В. Страшнова ІЗОЛЯЦІЯ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МІКСОБАКТЕРІЙ ІЗ БІОТОПІВ ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ	37
--	----

Л. О. Конуп, М. Й. Піковський, В. Л. Чистякова, А. І. Конуп ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ДІАГНОСТИКА УРАЖЕНОСТІ ЗБУДНИКОМ ФІТОПЛАЗМОВОЇ ІНФЕКЦІЇ РОСЛИН <i>BERBERIS THUNBERGII</i> DC	58
--	----

С. І. Бурикiна, С. П. Ужевська, В. А. Руденко ЕФЕКТИВНІСТЬ БІОЛОГІЧНИХ ТА ОРГАНО-МІНЕРАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ В СИСТЕМІ ЗАХИСТУ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ВІД ХВОРОБ	69
--	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	86
---	----

CONTENTS

OBSERVATION ARTICLES

- N. V. Dvinskykh, N. V. Khokhlenkova**
HYALURONIC ACID-PRODUCING STRAINS, WAYS OF THEIR
IMPROVEMENT AND PROSPECTS OF INDUSTRIAL USE 6

EXPERIMENTAL WORKS

- H. I. Slishchuk, H. I. Drozdov, N. Yu. Vasylieva,
N. E. Volkova**
BIOINFORMATIC ANALYSIS OF *ALTERNARIA MACROSPORA*
FOR MOLECULAR DETECTION 21

- V. Y. Ivanitsa, M. M. Chaban, G. V. Lisiutin,
O. O. Kovtun, I. V. Strashnova**
ISOLATION AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS
OF MYXOBACTERIA FROM BIOTOPES OF THE ODESA BAY,
BLACK SEA 37

- L. O. Konup, M. Y. Pikovskyi, V. L. Chystiakova,
A. I. Konup**
IDENTIFICATION AND DIAGNOSIS OF PLANTS INFECTED BY THE CAUSANT
OF PHYTOPLASM INFECTION *BERBERIS THUNBERGII* DC 58

- S. I. Burykina, S. P. Uzhevskaya, V. A. Rudenko**
EFFICIENCY OF BIOLOGICAL AND ORGANO-MINERAL
PREPARATIONS IN THE WINTER WHEAT PROTECTION
SYSTEM AGAINST DISEASES 69

- INSTRUCTIONS FOR AUTHORS 86

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

УДК 66.065.25:615.46:577

[https://doi.org/10.18524/2307-4663.2026.1\(66\).360389](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2026.1(66).360389)

ШТАМИ-ПРОДУЦЕНТИ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ, ШЛЯХИ ЇХ УДОСКОНАЛЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПРОМИСЛОВОГО ВИКОРИСТАННЯ

Н. В. Двінських <https://orcid.org/0000-0003-3811-9317>

Н. В. Хохленкова <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

Національний фармацевтичний університет,
вул. Г. Сковороди, 53, м. Харків, 61002, Україна,
тел. +380667271373, e-mail: begunova1203@gmail.com

*В умовах зростаючого попиту на гіалуронову кислоту (ГК) у фармації, медицині та косметології, спричиненого її унікальними властивостями (гідратація, регенерація тканин, відновлення в'язкості суглобової рідини), актуальною є проблема її безпечного та масштабного виробництва. Традиційні джерела (тваринні тканини) та патогенні мікробні продуценти (*Streptococcus zooepidemicus*) мають суттєві обмеження щодо масштабованості та ризику контамінації ендотоксинами. Це стимулює перехід до рекомбінантних штамів зі статусом GRAS. **Мета** дослідження полягала в аналізі сучасних продуцентів ГК, стратегій їх удосконалення та перспектив застосування для промислового мікробного синтезу.*

*Проведено огляд продуцентів, де особливу увагу приділено непатогенній бактерії *Corynebacterium glutamicum* — перспективній платформі для гетерологічного синтезу ГК. За даними наукових статей з наукометричних баз даних (як Google Scholar та PubMed) виявлено значні результати системної метаболічної інженерії, спрямованої на підвищення продуктивності *C. glutamicum*. Вони включають інтеграцію генів біосинтезу (*hasA*, *hasB*, *hasC*), покращення поглинання субстрату, оптимізацію енергетичного балансу та блокування конкуруючих шляхів, таких як утворення лактату. З'ясовано, що рекомбінантні штами здатні досягати високих титрів ГК у режимі культивування з підживленням (*fed-batch*), забезпечуючи при цьому керованість молекулярною масою. Дані з проаналізованих джерел дають змогу зробити висновок, що ГК, отримана мікробним синтезом, має значні перспективи застосування в медицині (ортопедія, офтальмологія, дерматологія) та косметології (антивіковий ефект, філери) через високий рівень чистоти, контрольованість молекулярної маси, відсутність вірусних та пріонних забруднень, економічні переваги (потенціал до збільшення обсягів виробництва та нижча собівартість, ніж при використанні тваринної сировини).*

*Перехід до використання GRAS-продуцентів, зокрема *C. glutamicum*, забезпечує високу чистоту, безпеку та масштабованість, необхідні для відповідності вимогам Належної виробничої практики (GMP). Метаболічна інженерія є ключовою стратегією, що дозволяє не лише збільшувати вихід продукту, а й забезпечити синтез ГК з потрібною молекулярною масою. Подальше вдосконалення штамів, використання альтернативних субстра-*

© Н. В. Двінських, Н. В. Хохленкова, 2026



Це стаття відкритого доступу за ліцензією [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



тів для культивування та автоматизація біопроектів забезпечать стійке та економічно ефективно виробництво високоякісної ГК для задоволення потреб світового ринку.

Ключові слова: гіалуронова кислота, GRAS-продуценти, *Corynebacterium glutamicum*, метаболічна інженерія, біосинтез.

Гіалуронова кислота: будова, основні функції, використання в медицині, косметології, харчовій промисловості та інших галузях

В останні роки зростає попит на гіалуронову кислоту (ГК) в фармації, медицині, косметичі та інших галузях через її унікальні біологічні властивості та широкий спектр застосувань. Особливу увагу привертають дослідження зі стратегій та методів, спрямованих на удосконалення біосинтезу цього біополімера.

Гіалуронова кислота — природний лінійний глікозаміноглікан, що складається з повторюваних дицукридних одиниць N-ацетил-D-глюкозаміну та D-глюкуронової кислоти (рис. 1). Молекулярна маса варіює від 100 кДа до 10 МДа (10^5 – 10^7 Да), визначаючи в'язкопружні властивості. ГК є ключовим компонентом позаклітинного матриксу сполучної, епітеліальної та нервової тканин. Практично половина від загального обсягу ГК в людському організмі міститься в шкірі, друга половина — в зв'язках, сухожиллях, хрящах, нервах, волоссі та склоподібному тілі [2, 5, 17, 24].

Завдяки унікальній здатності утримувати воду в кількості, що в 1000 разів перевищує масу самої ГК, цей біополімер забезпечує гідrataцію, еластичність та амортизацію тканин. З віком синтез ГК знижується: до 50 років її

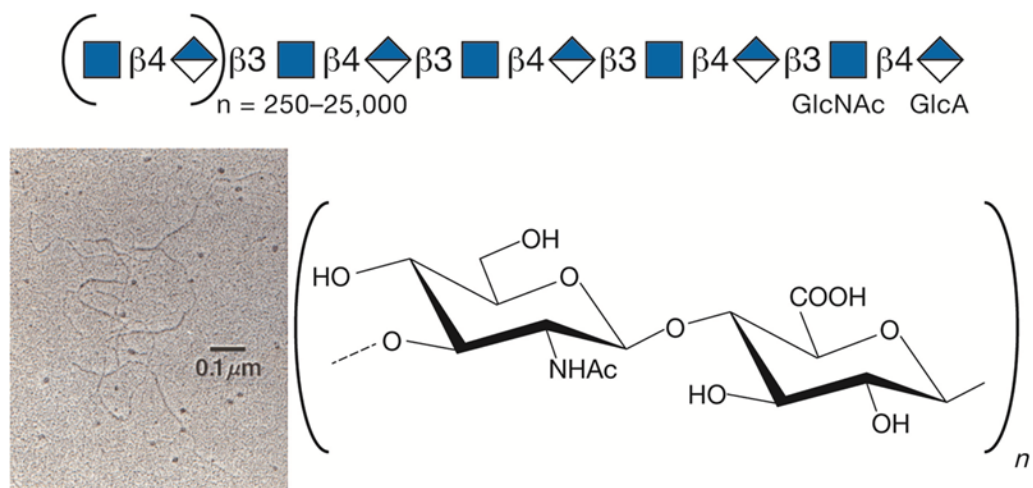


Рис. 1. Молекулярна структура повторюваних дицукридних одиниць, що складаються з N-ацетилглюкозаміну (GlcNAc) та глюкуронової кислоти (GlcA) (Електронна мікрофотографія надана доктором Річардом Мейном та доктором Рендольфом Брютоном, Університет Алабами в Бірмінгемі) [22].

Fig. 1. Molecular structure of repeating disaccharide units composed of N-acetylglucosamine and glucuronic acid, (Electron micrograph provided by Dr. Richard Mayne and Dr. Randolph Brewton, University of Alabama at Birmingham.) [22].



кількість в організмі стає вдвічі меншою, що призводить до дегенеративних змін [1, 2, 19].

Основні функції ГК [1, 2, 10, 17, 19, 24]:

- забезпечення гідратації тканин. Підтримуючи зволоження шкіри, ГК допомагає її відновити та зменшити появу дрібних зморшок, покращує еластичність, роблячи шкіру більш пружною та молодюю;
- регенерація епітелію, ушкоджених тканин при ранах, опіках, стимуляція проліферації фібробластів, участь в ангиогенезі;
- відновлення в'язкості синовіальної рідини, що зменшує біль у суглобах, збільшує еластичність, покращує рухливість, стимулює відновлення хрящової тканини;
- реабілітація слизових оболонок у післяопераційні періоди, при вагінальної сухості, при лікуванні інтерстиціального циститу;
- модуляція імунітету: взаємодія з CD44-рецептором, трансмембранним глікопротеїном на поверхні імунних клітин (макрофагів, Т-лімфоцитів, дендритних клітин). CD44 розпізнає ГК різної молекулярної маси, що визначає ефект. Високомолекулярна ГК (>1000 кДа) зв'язується з CD44, стабілізуючи клітинні взаємодії, зменшуючи вироблення прозапальних цитокінів. Це сприяє антизапальній відповіді, регенерації тканин і толерантності (наприклад, у ранах). Низькомолекулярна ГК (<500 кДа) активує CD44, запускає посилення прозапальної відповіді: активацію макрофагів, хемотаксис, вироблення IL-1 β , IL-12. Це корисно для імунного захисту, але може спричинити хронічне запалення при патологічних станах (при раку, артриті);
- протизапальні властивості сприяють зменшенню почервоніння та подразнення. Це зумовлює використання ГК в засобах для чутливої шкіри, а також для лікування розацеа або екземи.

Вказані функції зумовлюють використання ГК в медицині – у дерматології, ортопедії та травматології, в офтальмології, хірургії та регенеративній медицині, урології та гінекології, тощо.

У ветеринарній медицині ГК застосовують для лікування захворювань суглобів у тварин, для прискорення загоєння ран [2, 19].

У косметології ГК є ключовим компонентом ін'єкційних та дермальних філерів для корекції зморшок, препаратів для збільшення об'єму губ, контурної пластики обличчя. Вона входить до складу засобів для зволоження шкіри, підвищення її пружності та захисту від старіння. ГК діє як потужний гідратант, формуючи захисну плівку на поверхні шкіри, зменшуючи трансепідермальні втрати води.

У косметиці використовують і високомолекулярну ГК (800–2250 кДа), і низькомолекулярну (20–300 кДа). Перша залишається на поверхні шкіри, утворює захисну плівку, зменшує втрату вологи, забезпечує миттєвий ефект зволоження, розгладжує і захищає шкіру від зовнішніх факторів, але не проникає глибоко. Друга проникає у глибші шари епідермісу, забезпечує глибоке зволоження, стимулює вироблення колагену, підвищує еластичність шкіри та зменшує зморшки, має виражений антивіковий ефект.

Більшість сучасних косметичних засобів містять комбінацію різних молекулярних фракцій ГК для досягнення комплексного антивікового ефекту [1, 2, 4, 19, 24].



У фармацевтичній практиці ГК застосовується як допоміжна речовина у складі багатьох лікарських форм для пролонгації дії активних компонентів, підвищення біодоступності, покращення реологічних властивостей [2, 15, 19].

У харчовій промисловості ГК використовується як функціональний інгредієнт у продуктах для підтримки здоров'я суглобів, зволоження шкіри та покращення стану волосся [2, 19].

Зростання попиту на ГК у фармації, косметології та ветеринарії зумовлене її біосумісністю, відсутністю імуногенності та широким спектром застосувань [1, 2, 4, 5, 15, 19, 24].

Сучасні тенденції ринку ГК та біотехнологічні перспективи її виробництва в Україні

Ринок ГК оцінюється у \$10,73 млрд. у 2024 р. з прогнозованим ростом до \$16,7 млрд. до 2030 р. Сукупний річний темп зростання (CAGR) у період 2025–2030 рр. складе 7,81%. За іншим джерелом оціночний ринок гіалуронової кислоти у 2019 році становив 7,6 млрд євро. Очікується, що до 2027 року він зростатиме щорічно на 8,1%. Основними сегментами ринку є дермальні філери в косметичі (41,82% у 2024 р.), засоби для лікування остеоартриту та для використання в офтальмології [13, 19].

Традиційні джерела отримання ГК, такі як пуповина та гребені півнів, мають суттєві обмеження порівняно з мікробним синтезом. Вони поступаються за чистотою (ризик контамінації білками, ДНК, вірусами) та масштабованістю (обмеженість сировинних джерел, висока вартість екстракції). Мікробне виробництво забезпечує контрольовані умови, але використання патогенних продуцентів (*Streptococcus zooepidemicus*, *S. equi*) створює серйозні ризики наявності ендотоксинів (ліпополіцукридів клітинної стінки) в готовому продукті, що неприпустимо для фармацевтичних та косметичних застосувань [2, 12, 19].

Зростаюча потреба у ГК високої чистоти та високого рівня біобезпеки стимулює перехід до рекомбінантних продуцентів зі статусом GRAS (Generally Recognized As Safe). Завданням є пошук або селекція та всебічні дослідження таких штамів, які не утворюють токсинів, легко масштабуються і дозволяють контролювати молекулярну масу ГК [2, 6, 9, 19]. Шляхами удосконалення штамів є метаболічна інженерія для підвищення продуктивності, використання альтернативних (відновлюваних) субстратів, оптимізація умов ферментації та очищення продукту, впровадження автоматизованих систем контролю процесу. Особливу увагу приділяють також екологічній безпеці виробництва, мінімізації відходів і використанню «зелених» технологій.

В Україні відсутнє промислове виробництво ГК, що змушує компанії покладатися на імпорт сировини для фармацевтичних та косметичних потреб. Перспективи створення такого виробництва обнадійливі завдяки наявним біотехнологічним потужностям та дешевизні сировини, однак потребують значних інвестицій для закупівлі або адаптації обладнання та проведення сертифікації у відповідності до вимог Належної виробничої практики (GMP).

Отже, є актуальним дослідження щодо пошуку та удосконалення штамів продуцентів ГК для її отримання мікробним синтезом, що відкриває шлях



до безпечного, економічного та екологічного промислового виробництва цінного біополімеру для медицини, ветеринарії та косметології.

Огляд мікробних продуцентів ГК: характеристики, переваги, недоліки та шляхи біосинтезу

Мікробне виробництво ГК є перспективним напрямом біотехнології, що забезпечує високу чистоту, біосумісність та контрольовану молекулярну масу продукту. ГК, як лінійний глікозаміноглікан з повторюваних дицукридних одиниць N-ацетил-D-глюкозаміну та D-глюкуронової кислоти, синтезується мікроорганізмами як компонент позаклітинного матриксу або капсульного поліцукриду, що захищає клітини від імунної відповіді хазяїна [2, 5, 19].

Промислові продуценти поділяються на класичні (патогенні) та рекомбінантні GRAS-штами, які дозволяють уникнути ризиків контамінації ендотоксинами та патогенами. Сучасні тенденції фокусуються на метаболічній інженерії для підвищення виходу ГК (до 30–32 г/л) та оптимізації процесів ферментації [6–9, 17, 19].

Нами розглянуто основні групи продуцентів, їхні біотехнологічні характеристики, переваги, недоліки та стратегії удосконалення.

Історично першими мікроорганізмами для промислового синтезу ГК стали β -гемолітичні стрептококи, зокрема *Streptococcus zooepidemicus* та *Streptococcus equi*. Ці бактерії природно продукують ГК як капсульний поліцукрид, що захищає від фагоцитозу та забезпечує виживання в тканинах хазяїна. Біосинтетичний шлях у стрептококах включає утворення димеру з прекурсорів уридиндифосфат(UDP)-N-ацетилглюкозаміну та UDP-глюкуронової кислоти за участю гіалуронової синтази (кодується геном *hasA*), UDP-глюкозо-дегідрогенази (кодується геном *hasB*) та інших ферментів, з високими енергетичними витратами (3 молекули аденозинтрифосфату (АТФ), 2 молекули уридинтрифосфату (УТР), 2 молекули NAD^+ на один дицукридний димер ГК). У оптимальних умовах (*S. zooepidemicus* досягає виходу 6–7 г/л ГК з молекулярною масою 2–3 МДа, що ідеально для медичних застосувань [2, 5, 8, 12, 19].

Однак патогенність цих штамів є ключовим недоліком: вони продукують стрептолізини, гіалуронідази та ендотоксини, що ускладнює очищення та підвищує ризики для персоналу [8, 19].

Pasteurella multocida, інший класичний продуцент, синтезує капсульну ГК, але з низьким виходом (<1 г/л) та подібними проблемами токсичності [8, 12, 17].

Ці обмеження стимулюють перехід до безпечних альтернатив, адже чинні регуляторні документи — Настанова з належної виробничої практики (GMP) та керівництва Системи співробітництва фармацевтичних інспекцій (PIC/S) — регламентують обов'язкову відсутність патогенів у фармацевтичній продукції [3].

З урахуванням обмежень та вимог загальні критерії для вибору ідеального мікроорганізму для виробництва ГК такі: штам повинен мати статус GRAS, не виділяти жодних токсинів і бути здатним безперервно виробляти біополімер, щоб він міг досягти щонайменше 1 мегадальтон (МДа). Моле-



кулярна маса і чистота ГК свідчать про її якість: полімери з більшою масою (>0,5 МДа) мають більшу ринкову цінність [8].

Corynebacterium glutamicum — грампозитивна непатогенна GRAS-бактерія, відома як продуцент амінокислот (глутамінова, лізин) та інших біомолекул, — стала платформою для гетерологічного синтезу ГК завдяки генетичній стабільності та простоті культивування. Інтеграція генів *hasA*, *hasB*, *hasC* з *S. zooepidemicus* дозволяє синтезувати ГК з прекурсорів з гліколізу та пентозофосфатного шляху. Оптимізовані штами (наприклад, CgHA25) досягають титрів 28,7–32 г/л за 60 год у fed-batch режимі, з молекулярною масою >1 МДа. Переваги рекомбінантних штамів *C. glutamicum* включають відсутність патогенності та ендотоксинів, високу щільність клітин при культивуванні (до 100 г/л сухої біомаси), гнучкість складу середовищ (глюкоза + цукроза), здатність засвоювати альтернативні субстрати (агровідходи, гліцерин тощо) [2, 6–9, 23].

Bacillus subtilis, інший GRAS-продуцент, забезпечує вихід до 7–10 г/л завдяки спороутворенню та стійкості до стресів [7, 23]. Рекомбінантні штами з посиленою експресією структурних генів *hasA*, *hasB*, *hasC* та блокуванням лактатдегідрогенази зменшують побічні продукти, підвищуючи ефективність [9].

Lactococcus lactis (рекомбінантні штами) утворюють до 2–3 г/л ГК та мають перевагу як GRAS-продуценти [11, 12, 17].

Інші рекомбінантні продуценти – *Agrobacterium sp.*, *Streptomyces albulus*, *Escherichia coli*. Наприклад, *E. coli* (грамнегативна, генно-модифікована) досягає 3,8 г/л з швидким ростом, але потребує видалення ендотоксинів [8].

Одним з напрямів пошуку продуцентів ГК є використання дріжджів як платформи для виробництва ГК. Серед них *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Yarrowia lipolytica*. Дріжджі вирізняються високим рівнем біобезпеки, легко піддаються генетичним модифікаціям і не вимагають стерильних умов культивування на відміну від бактерій. Проте титри ГК у дріжджових системах залишаються нижчими за бактеріальні (0,5–2 г/л), а молекулярна маса продукту зазвичай менша. Ключовими завданнями є вдосконалення експресії гіалуронатсинтази та забезпечення достатнього рівня прекурсорів для біосинтезу ГК [8, 11, 12, 19].

Нещодавно досліджували для виробництва гіалуронової кислоти дріжджі *Pichia pastoris* [8]. Цей організм дає високий вихід високомолекулярної ГК (до 1,7 г/л, 1200–2500 кДа), що робить його придатним для використання у фармацевтичній промисловості. Процес виробництва є відносно дешевим і його можна легко масштабувати, що робить його перспективним кандидатом для великомасштабного виробництва.

Для забезпечення виробництва ГК дріжджами *Kluyveromyces lactis* був модифікований їх метаболізм. *K. lactis* має статус GRAS і зазвичай використовується для виробництва молочних продуктів. На відміну від інших дріжджів, *K. lactis* є вигідним для виробництва ГА, оскільки при його дихальному метаболізмі не утворюється етанол, його центральний метаболізм виробляє попередники, необхідні для синтезу ГА, його геном секвенований та використовується в протоколах генетичних маніпуляцій, під час оптимізації процесу



можна досягти високої щільності клітин у *K. lactis*, використовуючи недорогі джерела Карбону, такі як лактоза та сироватка.

Додавання гена *hasA* з *Pasteurella multocida* у поєднанні з геном *hasB* з *Xenopus laevis* забезпечило штамам *K. lactis* здатність продукувати ГК в концентрації 1,89 г/л з молекулярною масою 2,09 МДа. Інтеграція цих генів у геном GRAS-дріжджів створює повний біосинтетичний шлях ГК, уникаючи використання патогенних продуцентів типу *P. multocida* чи стрептококів.

Метаболічний шлях утворення ГК наведено на рис. 2. Зеленим кольором позначені ферменти UDP-глюкозо-6-дегідрогеназа (HASB) та гіалуронатсинтаза (HASA), які не присутні в природньому метаболізмі *K. lactis*, але синтезуються в рекомбінантному штамі [11].

Основні підходи для покращення продуктивності продуцентів ГК

Подальший огляд стратегій удосконалення продуцентів ГК проводили на прикладі *Corynebacterium glutamicum*. Це грампозитивна, аеробна, мезофільна бактерія з унікальною клітинною стінкою, що містить міколові кислоти, арабіногалактан та мезо-діамінопімелінову кислоту, що забезпечує високу стійкість до зовнішніх впливів. Відсутність ендотоксинів (на відміну від грамнегативних видів) та статус GRAS роблять її безпечною для фармацевтичного та косметичного виробництва [19, 21, 23].

Метаболічна гнучкість *C. glutamicum* — активний гліколіз, пентозофосфатний шлях (Pentose Phosphate Pathway, PPP) за наявності глюкози, активація глюконеогенезу та циклу трикарбонових кислот (Tricarboxylic Acid cycle, TCA) за дефіциту — дозволяє використовувати різноманітні джерела Карбону (глюкоза, ксиліоза, органічні кислоти), знижуючи витрати. Висока активність ключових ферментів (піруватдегідрогеназа, ізоцитратдегідрогеназа) та низька активність оксоглутаратдегідрогенази сприяють ефективному спрямуванню вуглецю до прекурсорів ГК [7, 8, 21].

C. glutamicum природно не продукує ГК. Для її синтезу використовують генетичну інженерію, що полягає у введенні чужорідних генів, відповідальних за повний шлях біосинтезу ГК. Ключовими є три гени: *hasA*, *hasB* та *hasC*, які кодують ферменти, необхідні для утворення та полімеризації біополімеру [14, 18]:

– *hasA* — гіалуронова синтаза (гіалуронатсинтаза, HASA), мембранний фермент, що каталізує послідовну полімеризацію ГК шляхом приєднання мономерів UDP-глюкуронової кислоти (UDP-GlcUA) та UDP-N-ацетилглюкозаміну (UDP-GlcNAc). Цей процес відбувається на внутрішній стороні плазматичної мембрани з подальшим транспортом полімеру назовні;

– *hasB* — UDP-глюкозо-6-дегідрогеназа (HASB), що окиснює UDP-глюкозу до UDP-глюкуронової кислоти за участю NAD^+ . Цей етап є енергетично витратним і часто стає лімітуючим у синтезі ГК;

– *hasC* — UDP-глюкозо-пірофосфорилаза (HASC), що перетворює глюкозо-1-фосфат на UDP-глюкозу — попередник обох мономерів ГК. Ефективність цього ферменту визначає загальний потік вуглецю до прекурсорів.

Введення цих генів (зазвичай у складі *hasAB* або *hasABC*) у геном *C. glutamicum* формує повний метаболічний шлях біосинтезу ГК, відсутній у



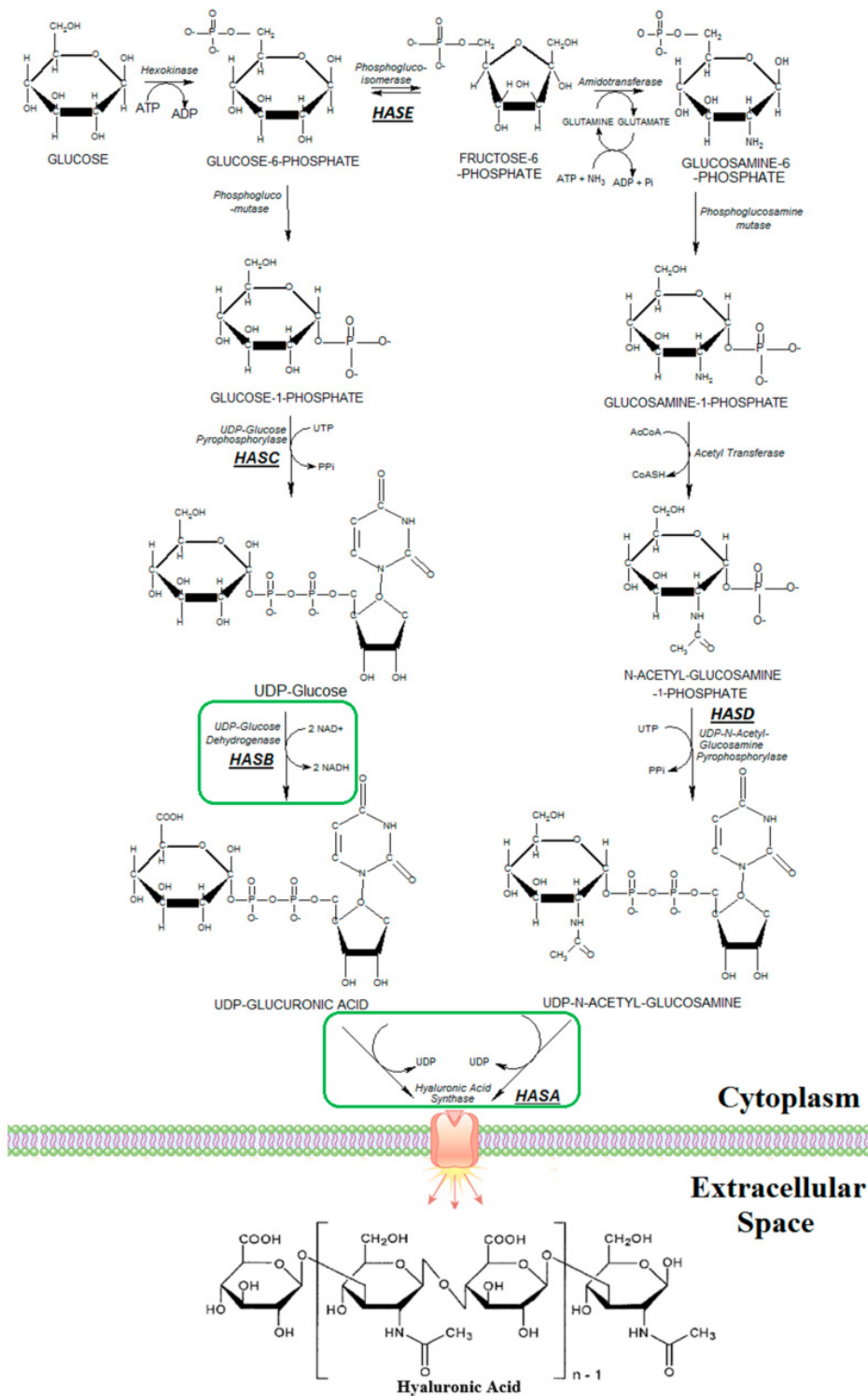


Рис. 2. Метаболічний шлях утворення гіалуранової кислоти [11].

Fig. 2. Metabolic pathway of hyaluronic acid formation [11].



дикого штаму. Це дозволяє перетворити промислового продуцента амінокислот на платформу для синтезу біополімерів.

Біосинтез ГК тісно пов'язаний із центральним вуглеводним метаболізмом клітини: гліколізом, PPP та TCA. Глюкоза, основне джерело вуглецю, надходить у клітину через транспортери iolT1/iolT2, далі метаболізується до фруктозо-1,6-бісфосфату, а потім — до пірувату. Частина потоку спрямовується в PPP для генерації NADPH — кофактора, необхідного для окиснення UDP-глюкози *hasB* [9].

Для підвищення продукції ГК застосовують комплексні стратегії метаболічної інженерії [9, 14, 18]:

- *покращення поглинання глюкози*. Репресор iolR пригнічує експресію транспортерів глюкози та глюкокінази. Його делеція знімає репресію, значно підвищуючи швидкість надходження субстрату та доступність прекурсорів для синтезу ГК;

- *підсилення синтезу кардіоліпіну*. Кардіоліпін — ключовий компонент мембрани, що стабілізує мембранні білки, зокрема гіалуронатсинтазу. Надекспресія генів *pgsA1*, *pgsA2* та *cls* збільшує вміст кардіоліпіну, покращуючи активність *hasA* та вихід ГК;

- *оптимізація енергетичного балансу*. Ген *vgb* аеробних бактерій *Vitreoscilla* кодує VHb (*Vitreoscilla hemoglobin*) — гем-білковий кисневий носій, що покращує доставку O₂ у мікроаеробних умовах з високою щільністю. Введення гена *vgb* підвищує експресію VHb у продуцента ГК та покращує постачання кисню в умовах високої щільності культури та збільшення в'язкості культуральної рідини на пізніх етапах ферментації. Це підвищує рівень АТФ, співвідношення NAD⁺/NADH та ефективність окиснювальних реакцій, зокрема *hasB*-каталізованої;

- *амінокислотне живлення*. Глутамін є джерелом азоту для синтезу UDP-GlcNAc. Додавання його в середовище (1–5 г/л) суттєво підвищує титри ГК, особливо в fed-batch режимі;

- *блокування конкуруючих шляхів*. Делеція лактатдегідрогенази (*ldh*) зменшує утворення лактату — основного побічного продукту анаеробного метаболізму. Це перенаправляє Карбон від пірувату до прекурсорів ГК, підвищуючи вихід на 20–30%.

Основні напрями розвитку виробництва ГК

Розробка високопродуктивних, безпечних та економічно вигідних штамів-продуцентів ГК орієнтована на промислове отримання безпечних, якісних та доступних продуктів. Подальший прогрес у генетичній інженерії та біопроцесах забезпечить виробництво ГК високої чистоти для медицини, косметології та ветеринарії.

Ключові напрями розвитку виробництва ГК охоплюють [1, 2, 6–9, 12, 14, 16–23]:

- метаболічну інженерію для збільшення титрів і контролю молекулярної маси;

- використання альтернативних відновлюваних субстратів (відходи промисловості та сільського господарства, гідролізати крохмалю та целюлози тощо);



- оптимізацію режимів ферментації (fed-batch, двофазні системи) та очищення (електрофільтрація, хроматографія);
- автоматизацію процесів з використанням сенсорів і систем реального часу.

Оптимізація біосинтезу ГК в *C. glutamicum*: результати метаболічної інженерії та перспективи масштабування

Результати системної інженерії метаболізму демонструють значні досягнення. Штам CgHA25, оптимізований за комплексом *hasAB*, досягає 28,7 г/л ГК у 5-літровому ферментері з молекулярною масою ~210 кДа (~0,2 МДа). Подальша інтеграція стратегій — покращення транспорту глюкози, підсилення синтезу кардіоліпіну, введення гена *vgb* та додавання глутаміну — дозволила отримати 32 г/л ГК за 60 годин у режимі fed-batch [2, 6–9, 14, 17]. Це один із найвищих титрів серед GRAS-продуцентів.

C. glutamicum має низку промислових переваг, які відповідають ключовим напрямкам розвитку виробництва ГК:

- статус GRAS, відсутність ендотоксинів, непатогенність забезпечують біобезпечність;
- висока щільність культури (до 100 г/л сухої біомаси), стійкість до стресів сприяють масштабуванню процесів культивування;
- використання відходів (меляса, гідролізати, агровідходи, гліцерин) в якості субстратів знижують собівартість.
- регуляція молекулярної маси ГК через температуру, рН, тривалість ферментації сприяють отриманню продукту очікуваного рівня якості.

ГК є критично важливим біополімером для фармацевтики, косметології та ветеринарії завдяки своїй здатності забезпечувати гідrataцію, регенерацію тканин та біосумісності. Зростання світового ринку ГК, спричинене її широким спектром застосування, стимулює перехід від традиційних джерел (тваринні тканини) та патогенних стрептококів до безпечніших рекомбінантних продуцентів зі статусом GRAS.

Проведений огляд підтверджує, що використання GRAS-продуцентів, зокрема *C. glutamicum*, є найбільш перспективним напрямом, оскільки забезпечує високу чистоту, відсутність ендотоксинів та масштабованість, що відповідає сучасним вимогам GMP та сталого розвитку.

Ключовим інструментом підвищення ефективності виробництва є системна метаболічна інженерія. Вона дозволяє не лише інтегрувати необхідні гени біосинтезу ГК (*hasA*, *hasB*, *hasC*), а й оптимізувати потік Карбону та енергетичний баланс клітини шляхом покращення поглинання субстрату, підсилення синтезу кардіоліпіну та блокування конкуруючих шляхів (наприклад, утворення лактату). Завдяки цим стратегіям, оптимізовані штами *C. glutamicum* можуть досягати високих титрів високоякісної ГК з контрольованою молекулярною масою (>1 МДа).

Подальший прогрес спрямований на використанні альтернативних (відновлюваних) субстратів (наприклад, агровідходи, гліцерин) та автоматизації біопроектів, що забезпечить економічно ефективно та екологічно стійке виробництво високоякісної ГК для задоволення потреб глобального ринку.



HYALURONIC ACID-PRODUCING STRAINS, WAYS OF THEIR IMPROVEMENT AND PROSPECTS OF INDUSTRIAL USE

N. V. Dvinskykh <https://orcid.org/0000-0003-3811-9317>

N. V. Khokhlenkova <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

National University of Pharmacy, 53 H. Skovorody St, Kharkiv, 61002, Ukraine,
e-mail: begunova1203@gmail.com

Summary

In the context of growing demand for hyaluronic acid (HA) in pharmacy, medicine, and cosmetology, driven by its unique properties (hydration, tissue regeneration, restoration of synovial fluid viscosity), the problem of its safe and large-scale production is relevant. Traditional sources (animal tissues) and pathogenic microbial producers (Streptococcus zooepidemicus) have significant limitations regarding scalability and risk of endotoxin contamination. This stimulates the transition to recombinant strains with GRAS status. The aim of the study was to analyze modern HA producers, strategies for their improvement, and prospects for industrial microbial synthesis. To achieve this goal, information from scientific publications in the scientometric databases Google Scholar and PubMed was analyzed.

A review of producers was conducted, with particular attention to the non-pathogenic bacterium Corynebacterium glutamicum — a promising platform for heterologous HA synthesis. According to scientific articles from scientometric databases (such as Google Scholar and PubMed), significant results of systematic metabolic engineering aimed at improving the productivity of C. glutamicum have been identified. These include the integration of biosynthesis genes (hasA, hasB, hasC), enhancement of substrate uptake, optimization of energy balance, and blocking of competing pathways, such as lactate formation. It has been established that recombinant strains can achieve high HA titers in fed-batch cultivation mode while maintaining control over molecular weight. Data from the analyzed sources allow us to conclude that microbially produced hyaluronic acid has significant prospects for application in medicine (orthopedics, ophthalmology, dermatology) and cosmetology (anti-aging effects, fillers) due to its high purity level, controllable molecular weight, absence of viral and prion contaminants, and economic advantages (potential for scaling up production volumes and lower cost compared to animal-derived raw materials).

The transition to the use of GRAS producers, particularly C. glutamicum, ensures high purity, safety, and scalability required to meet Good Manufacturing Practice (GMP) standards. Metabolic engineering is a key strategy that allows not only to increase product yield but also to ensure HA synthesis with the required molecular weight. Further strain improvement, use of alternative substrates for cultivation, and automation of bioprocesses will ensure sustainable and cost-effective production of high-quality HA to meet global market needs.

Keywords: hyaluronic acid, GRAS producers, Corynebacterium glutamicum, metabolic engineering, biosynthesis.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Грищенко М. І., Старовойтова С. О. Економічні, технологічні та нормативні аспекти глікозаміногліканів біотехнологічного походження в сучасній косметології. *Наукові праці НУХТ*. 2024. Т. 30, № 1. С. 51–67. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2024-30-1-3>
2. Лич І. В., Угрин А. О., Волошина І. М. Гіалуронова кислота: біосинтез та використання. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2(59). С. 6–13.
3. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ–Н МОЗУ 42-4.0:2020 / розроб. ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». Київ : МОЗ України, 2020. 356 с.
4. Advances in hyaluronic acid: structure, function, and applications [Електронний ресурс]. 2024. 16 квіт. URL: <https://www.chemh.com/advances-in-hyaluronic-acid-structure-function-and-applications/>
5. Alipoor R., Ayan M., Hamblin M. R., Ranjbar R., Rashki S. Hyaluronic acid-based nanomaterials as a new approach to the treatment and prevention of bacterial infections. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Article 913912. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.913912>
6. Cheng F., Yu H., Stephanopoulos G. Engineering corynebacterium glutamicum for high-titer biosynthesis of hyaluronic acid. *Metabolic Engineering*. 2019. Vol. 55. P. 276–289. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2019.07.003>
7. Cheng F., Yu H., Stephanopoulos G. Enhanced biosynthesis of hyaluronic acid using engineered corynebacterium glutamicum via metabolic pathway regulation. *Biotechnology Journal*. 2017. Vol. 12, no. 10. <https://doi.org/10.1002/biot.201700191>
8. De Oliveira J. D., Carvalho L. S., Vieira Gomes A. M., Queiroz L. R., Magalhães B. S., Parachin N. S. Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microbial Cell Factories*. 2016. Vol. 15. P. 119. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0517-4>
9. Du Y., Cheng F., Wang M., Xu C., Yu H. Indirect pathway metabolic engineering strategies for enhanced biosynthesis of hyaluronic acid in engineered corynebacterium glutamicum. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021. Vol. 9. Article 768490. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.768490>
10. Geloso M. C., Ria F., Corvino V., Di Sante G. Expression of CD44 and its spliced variants: innate and inducible roles in nervous tissue cells and their environment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, iss. 17. Article 8223. <https://doi.org/10.3390/ijms26178223>
11. Gomes A. M. V., Netto J. H. C. M., Carvalho L. S., Parachin N. S. Heterologous hyaluronic acid production in *Kluyveromyces lactis*. *Microorganisms*. 2019. Vol. 7, iss. 9. Article 294. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090294>
12. Grabowski M., Gmyrek D., Żurawska M., Trusek A. Hyaluronic acid: production strategies, gel-forming properties, and advances in drug delivery systems. *Gels*. 2025. Vol. 11, iss. 6. Article 424. <https://doi.org/10.3390/gels11060424>
13. Grand View Research. Hyaluronic acid market size, share & trends analysis report by application (dermal fillers, osteoarthritis, ophthalmic, vesicoureteral



- reflux), by region, and segment forecasts, 2024–2030. 2024. URL: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/hyaluronic-acid-market>
14. Hoffmann J., Altenbuchner J. Hyaluronic acid production with *Corynebacterium glutamicum*: effect of media composition on yield and molecular weight. *Journal of Applied Microbiology*. 2014. Vol. 117, iss. 3. P. 663–678. <https://doi.org/10.1111/jam.12553>
 15. Luo Z., Wang Y., Li J., Wang J., Yu Y., Zhao Y. Tailoring hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Advanced Functional Materials*. 2023. Vol. 33. Article 2306554. <https://doi.org/10.1002/adfm.202306554>
 16. Marwan-Abdelbaset E., Samy-Kamal M., Tan D., Lu X. Microbial production of hyaluronic acid: the current advances, engineering strategies and trends. *Journal of Biotechnology*. 2025. Vol. 403. P. 52–72. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2025.03.015>
 17. Pérez-Morales G., Poggi-Varaldo H. M., Ponce-Noyola T., Pérez-Valdespino A., Curiel-Quesada E., Galíndez-Mayer J., Ruiz-Ordaz N., Sotelo-Navarro P. X. A review of the production of hyaluronic acid in the context of its integration into GBAER-type biorefineries. *Fermentation*. 2024. Vol. 10, iss. 6. Article 305. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060305>
 18. Saadati F., Bahrulolum H., Talebi M., Karimi M., Bozorgchami N., Ghale R. A., Zafar Sh., Aghighi Y., Asiaei E., Tabandeh F. Advances and principles of hyaluronic acid production, extraction, purification, and its applications: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025. Vol. 312. Article 143839. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143839>
 19. Serra M., Dias J., Ferreira I.C., Teixeira V., Martins A., Pintado M. Microbial hyaluronic acid production: a review. *Molecules*. 2023. Vol. 28, iss. 5. Article 2084. <https://doi.org/10.3390/molecules28052084>
 20. Shikina E. V., Kovalevsky R. A., Shirkovskaya A. I., Toukach Ph. V. Prospective bacterial and fungal sources of hyaluronic acid: a review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2022. Vol. 20. P. 6214–6236. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.013>
 21. Shuting Y., Zheng Y., Du Y., Song M., Chen Sun C., Cheng F., Yu H. Fine-tuning the cell morphology of *Corynebacterium glutamicum* via dual-valve regulation for enhanced hyaluronic acid production. *Biotechnology Notes*. 2023. Vol. 4. P. 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2023.12.003>
 22. Simpson M., Schaefer L., Hascall V., Esko J. D. Hyaluronan. *Essentials of glycobiology* / eds.: A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko et al. 4th ed. Cold Spring Harbor (NY) : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2022. Chapter 16. <https://doi.org/10.1101/glycobiology.4e.16>
 23. Wang Y., Hu L., Huang H., Wang H., Zhang T., Chen J., Du G., Kang Z. Eliminating the capsule-like layer to promote glucose uptake for hyaluronan production by engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Nature Communications*. 2020. Vol. 11. Article 3120. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16962-7>
 24. Yasin A., Ren Y., Li J., Sheng Y., Cao C., Zhang K. Advances in hyaluronic acid for biomedical applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Article 910290. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.910290>



REFERENCES

1. Hryshchenko MI, Starovoitova SO. Ekonomichni, tekhnolohichni ta normatyvni aspekty hlikozaminohlikaniv biotekhnolohichnoho pohodzhennia v suchasni kosmetolohii [Economic, technological and regulatory aspects of glycosaminoglycans of biotechnological origin in modern cosmetology]. Naukovi pratsi NUKhT. 2024;30(1):51–67. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2024-30-1-3> [in Ukrainian].
2. Lych IV, Uhryn AO, Voloshyna IM. Hialuronova kyslota: biosyntezy ta vykorystannia [Hyaluronic acid: biosynthesis and application]. Ukrainskyi biofarmatsevychnyi zhurnal. 2019;(2)59:6–13. [in Ukrainian].
3. Likarski zasoby. Nalezna vyrobnycha praktyka. Nastanova ST-N MOZU 42-4.0:2020 [Medicinal products. Good manufacturing practice]. Kyiv: MOZ Ukrainy; 2020. 356 p. [in Ukrainian].
4. Advances in hyaluronic acid: structure, function, and applications. 2024, April 16. <https://www.chemh.com/advances-in-hyaluronic-acid-structure-function-and-applications>
5. Alipour R, Ayan M, Hamblin MR, Ranjbar R, Rashki S. Hyaluronic acid-based nanomaterials as a new approach to the treatment and prevention of bacterial infections. Front Bioeng Biotechnol. 2022;10:913912. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.913912>
6. Cheng F, Yu H, Stephanopoulos G. Engineering *Corynebacterium glutamicum* for high-titer biosynthesis of hyaluronic acid. Metab Eng. 2019;55:276–89. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2019.07.003>
7. Cheng F, Yu H, Stephanopoulos G. Enhanced biosynthesis of hyaluronic acid using engineered *Corynebacterium glutamicum* via metabolic pathway regulation. Biotechnol J. 2017;12(10). <https://doi.org/10.1002/biot.20170019>
8. De Oliveira JD, Carvalho LS, Vieira Gomes AM, Queiroz LR, Magalhães BS, Parachin NS. Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. Microb Cell Fact. 2016;15:119. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0517-4>
9. Du Y, Cheng F, Wang M, Xu C, Yu H. Indirect pathway metabolic engineering strategies for enhanced biosynthesis of hyaluronic acid in engineered *Corynebacterium glutamicum*. Front Bioeng Biotechnol. 2021;9:768490. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.768490>
10. Geloso MC, Ria F, Corvino V, Di Sante G. Expression of CD44 and its spliced variants: innate and inducible roles in nervous tissue cells and their environment. Int J Mol Sci. 2025;26(17):8223. <https://doi.org/10.3390/ijms26178223>
11. Gomes AMV, Netto JHCM, Carvalho LS, Parachin NS. Heterologous hyaluronic acid production in *Kluyveromyces lactis*. Microorganisms. 2019;7(9):294. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090294>
12. Grabowski M, Gmyrek D., Żurawska M, Trusek A. Hyaluronic acid: production strategies, gel-forming properties, and advances in drug delivery systems. Gels. 2025;11(6):424. <https://doi.org/10.3390/gels11060424>
13. Grand View Research. Hyaluronic acid market size, share & trends analysis report by application (dermal fillers, osteoarthritis, ophthalmic, vesicoureteral



- reflux), by region, and segment forecasts, 2024–2030. 2024. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/hyaluronic-acid-market>
14. Hoffmann J, Altenbuchner J. Hyaluronic acid production with *Corynebacterium glutamicum*: effect of media composition on yield and molecular weight. *J Appl Microbiol.* 2014;117(3):663–678. <https://doi.org/10.1111/jam.12553>
 15. Luo Z, Wang Y, Li J, Wang J, Yu Y, Zhao Y. Tailoring hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Adv Funct Mater.* 2023;33(52):2306554. <https://doi.org/10.1002/adfm.202306554>
 16. Marwan-Abdelbaset E, Samy-Kamal M, Tan D, Lu X. Microbial production of hyaluronic acid: the current advances, engineering strategies and trends. *J Biotechnol.* 2025;403:52–72. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2025.03.015>
 17. Pérez-Morales G, Poggi-Varaldo HM, Ponce-Noyola T, Pérez-Valdespino A, Curiel-Quesada E, Galíndez-Mayer J, Ruiz-Ordaz N, Sotelo-Navarro PX. A review of the production of hyaluronic acid in the context of its integration into GBAER-type biorefineries. *Fermentation.* 2024;10(6):305. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060305>
 18. Saadati F, Bahrulolum H, Talebi M, Karimi M, Bozorgchami N, Ghale RA, Zafar Sh, Aghighi Y, Asiaei E, Tabandeh F. Advances and principles of hyaluronic acid production, extraction, purification, and its applications: a review. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2025;312:143839. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143839>
 19. Serra M, Dias J, Ferreira IC, Teixeira V, Martins A, Pintado M. Microbial hyaluronic acid production: a review. *Molecules.* 2023;28(5):2084. <https://doi.org/10.3390/molecules28052084>
 20. Shikina EV, Kovalevsky RA, Shirkovskaya AI, Toukach PhV. Prospective bacterial and fungal sources of hyaluronic acid: a review. *Comput Struct Biotechnol J.* 2022;20:6214–36. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.013>
 21. Shuting Y, Zheng Y, Du Y, Song M, Chen Sun C, Cheng F, Yu H. Fine-tuning the cell morphology of *Corynebacterium glutamicum* via dual-valve regulation for enhanced hyaluronic acid production. *Biotechnol Notes.* 2023;4:135–145. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2023.12.003>
 22. Simpson M, Schaefer L, Hascall V, Esko JD. Hyaluronan. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD et al., editors. *Essentials of Glycobiology*. 4th ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022. Chapter 16. <https://doi.org/10.1101/glycobiology.4e.16>
 23. Wang Y, Hu L, Huang H, Wang H, Zhang T, Chen J, Du G, Kang Z. Eliminating the capsule-like layer to promote glucose uptake for hyaluronan production by engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Nat Commun.* 2020;11:3120. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16962-7>
 24. Yasin A, Ren Y, Li J, Sheng Y, Cao C, Zhang K. Advances in hyaluronic acid for biomedical applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:910290. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.910290>

Стаття надійшла до редакції 29.12.2025
 Стаття затверджена до друку 20.03.2026
 Стаття опублікована 29.05.2026



БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ *ALTERNARIA MACROSPORA* ДЛЯ РОЗРОБКИ СИСТЕМИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ДЕТЕКЦІЇ

²Г. І. Сліщук <https://orcid.org/0000-0003-4245-8557>

¹Г. І. Дроздов <https://orcid.org/0009-0004-1922-1433>

¹Н. Ю. Васильєва <https://orcid.org/0000-0001-8856-3497>

²Н. Е. Волкова <https://orcid.org/0000-0002-9333-4872>

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,

вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна

e-mail: drozdov.hlib@stud.onu.edu.ua, tatkamic@gmail.com

²Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства НААН,

Маяцька дор., 24, смт Хлібодарське, Одеський район, Одеська область, 67667, Україна

e-mail: natavolki@ukr.net, geoncrfqq@gmail.com

Мета. Розробити специфічні праймери та TaqMan-зонди для детекції фітопатогенного гриба *Alternaria macrospora* методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. **Методи.** Біоінформатичний аналіз послідовностей *A. macrospora*, наявних у генетичній базі даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI). Пошук гомологів здійснювали з використанням інструменту «BLAST» (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для оцінки роздільної здатності генетичних локусів проводили філогенетичний аналіз у програмі raxmlGUI. Множинне вирівнювання послідовностей виконували за допомогою алгоритму MAFFT. Дизайн праймерів та TaqMan-зондів здійснювали за допомогою інструменту «Primer3» (<https://primer3.ut.ee/>). Специфічність праймерів перевіряли *in silico* із використанням інструменту «Primer-BLAST». **Результати.** Проаналізовано 82 нуклеотидні послідовності *A. macrospora*, з них 48 послідовностей ITS регіону (Internal Transcribed Spacer) та послідовності генетичних локусів 18S rRNA і 28S rRNA (Ribosomal RNA), RPB2 (RNA Polymerase II Second Largest Subunit), GAPDH (Glyceraldehyde 3 Phosphate Dehydrogenase), TEF1 (Translation Elongation Factor 1-alpha), histone H3, calmodulin, actin, allergen alt a 1. Встановлено, що традиційний молекулярний маркер ITS має низьку роздільну здатність для ідентифікації *A. macrospora* та не дозволяє відрізнити цей вид від інших представників *Alternaria*. Виявлено, що гени calmodulin та histone H3 містять видоспецифічні ділянки, які можуть бути використані для диференціації *A. macrospora*. На основі послідовностей цих генів розроблено дизайн пар праймерів (прямий та зворотний) та внутрішніх TaqMan-зондів, що показали специфічність до *A. macrospora* при перевірці *in silico*. **Висновки.** Гени calmodulin та histone H3 виявилися перспективними молекулярними маркерами для специфічної детекції *A. macrospora*. Розроблена TaqMan-система дозволяє *in silico* специфічно ідентифікувати *A. macrospora*.

Ключові слова: *Alternaria macrospora*, бавовник, біоінформатика, молекулярна детекція, ПЛР у реальному часі.



В умовах глобальних кліматичних змін вирощування бавовнику (*Gossypium L.*), який вважався нетиповою культурою для України, стає економічно виправданим. Окрім текстильної промисловості, бавовник має стратегічне значення для оборонного сектору як сировина для виробництва нітроцелюлозного пороху, що є важливим завданням для держави в сучасних умовах. Попри втрати насінневого фонду внаслідок воєнних дій, українські вчені розмножують та підтримують збережені сорти [1]. Хоча наразі через тривалу відсутність промислового культивування бавовнику в Україні специфічні патогени практично не зафіксовані, досвід сусідніх регіонів свідчить про їх потенційну появу в майбутньому. Для забезпечення фітосанітарної безпеки та успішної інтродукції культури необхідною є розробка методів превентивного моніторингу та ранньої молекулярної детекції патогенів.

Alternaria macrospora Zimm. є фітопатогенним грибом, що спричиняє альтернаріозну плямистість листя бавовнику, відому більше ніж століття. Цей патоген має глобальне поширення і був ідентифікований у багатьох бавовносіючих регіонах світу. Захворювання характеризується появою коричнево-сірих плям на листках, які згодом висихають і можуть випадати, утворюючи характерний симптом «дірчастості». За високого ступеня ураження спостерігається передчасна дефоліація рослин, що спричиняє значний недобір врожаю, сумарні втрати волокна та насіння можуть сягати 30% [2].

Розповсюдження фітопатогену відбувається через насіння після розкриття коробочок і експозиції насіння до середовища, де присутній патоген, який також здатний зберігатися в ґрунті на рослинних залишках, перезимовуючи в них [3, 4].

Для ефективного контролю захворювання важливою є швидка та точна ідентифікація патогена. Традиційні методи діагностики, засновані на морфологічних ознаках, та імунологічні методи є трудомісткими та часовитратними [5]. Метод полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (РЧ-ПЛР) пропонує значні переваги порівняно з традиційними підходами, він характеризується високою чутливістю, специфічністю, широким динамічним діапазоном кількісного визначення та швидкістю, особливо перспективним є використання TaqMan-технології, яка базується на гідролізних зондах із подвійним флуоресцентним міченням.

TaqMan-зонди підвищують специфічність детекції порівняно з інтеркалюючими барвниками, оскільки вимагають специфічної гібридизації зонда з цільовою послідовністю для генерації флуоресцентного сигналу. Метод дозволяє проводити мультиплексування до шести мішеней в одній реакції завдяки використанню різних флуорофорів. Метою роботи є розробка специфічних праймерів та TaqMan-зондів для детекції фітопатогенного гриба *Alternaria macrospora* методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі.

Матеріали та методи

Пошук нуклеотидних послідовностей

Проведено пошук усіх доступних нуклеотидних послідовностей *A. macrospora* у генетичній базі даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI) підбази «nucleotide collection nr/nt» [6]. Використано



82 послідовності, серед яких 48 послідовностей — *ITS*, внутрішні транскрибовані спейсерні області *ITS1* та *ITS2*, що оточують ген *5.8S rRNA*; по 2 — *28S rRNA*, *18S rRNA* (*Ribosomal RNA*), 7 — *RPB* (*RNA Polymerase II Second Largest Subunit*), по 5 — *GAPDH* (*Glyceraldehyde 3 Phosphate Dehydrogenase*), *TEF1* (*Translation Elongation Factor 1-alpha*), 4 — *histone H3*, по 3 — *calmodulin*, *actin*, *allergen alt a 1* (станом на 01.03.2026 р.). Для філогенетичного аналізу використовували нуклеотидні послідовності, вказані в таблиці 1, як зовнішні групи використано види *Curvularia lunata*, *Setosphaeria rostrata*, *Curvularia spicifera*.

Таблиця 1

Нуклеотидні послідовності, використані для проведення філогенетичного аналізу *Alternaria macrospora*

Table 1

Nucleotide sequences used for the phylogenetic analysis of *Alternaria macrospora*

Локус	Вид	Ідентифікатор
1	2	3
<i>ITS</i> та <i>18S rRNA</i> , <i>28S rRNA</i>	<i>A. macrospora</i>	AF229469.1, AY154689.1, DQ156342.1, JQ936189.1, KC584204.1, KJ718193.1, KM186140.1, KM213867.1, KM514668.1, KM514669.1, KU877347.1, KX099951.2, KX139165.1, KX139166.1, MG571434.1, MH397128.1, MH553176.1, MK247907.1, MK304108.1, MK571458.1, MK605693.1, MK605694.1-MK605696.1, MN049541.1, MT908714.1, MW686901.1, MW686903.1, MW750591.1, MW750594.1-MW750596.1, MZ919476.1, NG_062890.1, NG_069135.1, OK447930.1, OK447931.1, OK639093.1, OK668228.1, OL597910.1, ON920832.1, OQ555157.1, PP593850.1, PQ433119.1, PQ483101.1, PQ483102.1, PV738943.1, PV770024.1, PV793674.1, PV888613.1
	<i>A. sp.</i>	KM246290.1, MK279381.1, MK640610.1, MK649891.1, MK649892.1, MN955465.1, MN955469.1-MN955476.1, OM780227.1, OM780228.1
	<i>A. cucumerina</i>	KJ718153.1, MK684057.1, MK684058.1, MK798648.1, MK798651.1, MK798652.1, OQ555092.1-OQ555094.1, OQ555148.1, OQ555150.1, OQ555155.1, OQ555168.1, OQ555171.1
	<i>A. alternata</i>	MK796105.1, MK796106.1, OQ555091.1
	<i>A. acalyphicola</i>	NR_136069.1, OW984575.1
	<i>A. blumeae</i>	MN612547.1, MN612548.1
	<i>A. agerati</i>	KJ718098.1
	<i>A. aragakii</i>	NR_136073.1
	<i>A. citrullicola</i>	NR_136084.1
	<i>A. cyatopsidis</i>	KJ718156.1
<i>C. lunata</i>	PX061231.1	



Продовження таблиці 1

1	2	3
<i>Histone H3</i>	<i>A. macrospora</i>	MK605862.1-MK605865.1
	<i>A. solani</i>	CP022031.1, KF308917.1-KF308919.1, KF308930.1, KF308934.1, KF308935.1, KF308960.1, KT384305.1, MG012348.1-MG012355.1, MN506006.1, MZ687141.1-MZ687191.1, OR122992.1-OR123002.1
	<i>A. cucumerina</i>	MK683962.1, MK799383.1, MK799386.1, MK799387.1, OR572276.1-OR572278.1, OR572280.1-OR572284.1, PQ610997.1, PQ610998.1, PQ611000.1, PQ611001.1
	<i>S. rostrata</i>	LT860200.1
<i>Calmodulin</i>	<i>A. macrospora</i>	JQ646243.1, OL804164.1, OL804165.1
	<i>A. linariae</i>	KR911771.1, KR911772.1, KR911777.1, MH243769.1, MH243778.1-MH243781.1, MH243783.1, MH243789.1, MH243792.1-MH243795.1, MH243800.1, MH243807.1, MZ558743.1, OP297204.1, PP842242.1-PP842244.1
	<i>A. grandis</i>	JQ646249.1, KR911763.1, MH243770.1, MH243771.1, MH243773.1-MH243775.1, MH243777.1, MH243782.1, MH243784.1, MH243785.1, MH243787.1, MH243790.1, MW591988.1-MW591992.1, PP842230.1, PP842231.1
	<i>A. protenta</i>	JQ646236.1, MW591972.1-MW591983.1, PP842232.1-PP842236.1
	<i>A. solani</i>	CP022027.1, JQ646232.1, KJ397979.1, MW591958.1-MW591971.1
	<i>A. tomatophila</i>	KJ397980.1, MW591984.1-MW591987.1
	<i>A. porri</i>	JQ646235.1, MH175192.1
	<i>A. agripestis</i>	JQ646266.1
	<i>A. carthami</i>	JQ646238.1
	<i>A. cichorii</i>	JQ646247.1
	<i>A. cirsinoxia</i>	JQ646261.1
	<i>A. cretica</i>	JQ646250.1
	<i>A. cyphomandrae</i>	JQ646270.1
	<i>A. danida</i>	JQ646237.1
	<i>A. dichondrae</i>	JQ646267.1
	<i>A. linicola</i>	JQ646273.1
	<i>A. multirostrata</i>	JQ646272.1
	<i>A. passiflorae</i>	JQ646263.1
	<i>A. scorzonerae</i>	JQ646234.1
	<i>A. solani-nigri</i>	JQ646233.1
<i>A. subcylindrica</i>	JQ646254.1	
<i>C. spicifera</i>	MN599705.1	
<i>RPB2</i>	<i>A. macrospora</i>	KC584410.1, KJ718366.1, KU877349.1, MK605901.1, MK605902.1, MK605903.1, MK605904.1



1	2	3
GAPDH	<i>A. macrospora</i>	AY278805.1, KC584124.1, KJ718032.1, OL754654.1, OL754655.1
	<i>A. cucumerina</i>	AY562409.1, MK683869.1, MK683871.1, MT515306.1, OR572169.1, OR572170.1, OR572171.1, OR572172.1, OR572173.1, OR572174.1, OR572175.1, OR572176.1, OR572177.1, OR572178.1, OR572179.1, OR572180.1, OR572181.1, OR572182.1, OR572183.1
	<i>A. anodae</i>	KJ717963.1
	<i>A. rostellata</i>	JQ646332.1
TEF1	<i>A. macrospora</i>	KC584668.1, KJ718540.1, KU877348.1, OL962435.1, OL962436.1
	<i>A. zinniae</i>	LC480241.1, OM522523.1
	<i>A. cassiae</i>	EU130543.1
	<i>A. citrullicola</i>	KJ718492.1
	<i>A. physalidis</i>	MN087408.1
Actin	<i>A. macrospora</i>	JQ671734.1, OL830293.1, OL830294.1
	<i>A. porri</i>	JQ671726.1
	<i>A. solani</i>	CP022029.1
Allergen alt a 1	<i>A. macrospora</i>	AY563294.1, KJ718701.1, KJ718702.1

Примітка: Як зовнішні групи використано *Curvularia lunata*, *Curvularia spicifera*, *Setosphaeria rostrata*.

Note: *Curvularia lunata*, *Curvularia spicifera*, and *Exserohilum rostratum* were used as outgroups.

Аналіз специфічності послідовностей

Пошук гомологів проводили з використанням «BLASTn» (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) [7]. Послідовності локусів *A. macrospora* порівнювали з усіма доступними послідовностями у базі даних NCBI для оцінки ступеня подібності з іншими видами роду *Alternaria* та спорідненими таксонами.

Множинне вирівнювання послідовностей (MSA) виконано на сервері GUIDANCE2 [8] з алгоритмом MAFFT [9]. Видалено позиції з низькою вірогідністю вирівнювання. Філогенетичні дерева побудовано методом максимальної правдоподібності (ML) у програмі *raxmlGUI* [10] з моделлю заміщення нуклеотидів GTR+G. Бутстреп-аналіз виконано з 1000 повторними вибірками. Візуалізацію дерев здійснено в iTOL v6 [11].

Дизайн праймерів та TaqMan-зондів

Дизайн праймерів та TaqMan-зондів розроблено з використанням програми «Primer3» [12]. Параметри дизайну: розмір праймерів 18–25 нуклеотидів, температура плавлення 58–62 °C, вміст GC 40–65%, розмір ампліконів 70–150 пар нуклеотидів. Для TaqMan-зондів встановлено такі параметри: розмір 20–30 нуклеотидів, температура плавлення на 5–10 °C вище ніж у праймерів, вміст GC 40–70%, відсутність G на 5'-кінці для запобігання гасінню флуоресценції.



Перевірка специфічності праймерів *in silico*

Специфічність розроблених праймерів перевірено за допомогою інструменту «Primer-BLAST» [13] на веб-сайті NCBI. Оцінювали можливість формування неспецифічних ампліконів не лише з ДНК інших видів роду *Alternaria*, але й з генетичним матеріалом інших таксонів.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз молекулярних маркерів

В ході дослідження було показано, що для локусів *ITS*, *TEF1*, *GAPDH* та *actin* зафіксовано 100% ідентичність з низкою сторонніх видів, що ускладнює розробку специфічних праймерів на їх основі. Послідовності *18S rRNA* та *28S rRNA* входять до складу рибосомального оперону разом з *ITS* регіоном і демонструють такий самий високий рівень консервативності, як і сам *ITS* регіон.

Послідовності гену *allergen alt a 1* між штамами *A. macrospora* мають генну варіативність з внутрішньовидовою ідентичністю лише 98,52%. Між послідовностями гена *RPB2* показник ідентичності становить 99,90%. За результатами аналізу, найнижчі показники ідентичності порівняно з іншими встановлено для генів *calmodulin* та *histone H3*. Для *calmodulin* максимальний рівень ідентичності з іншими видами не перевищував 99,74%, а для *histone H3* цей показник становить 99,80%. Ці локуси обрані як найбільш перспективні.

Виявлення специфічних ділянок у генах *calmodulin* та *histone H3*

За допомогою множинного вирівнювання послідовностей генів *calmodulin* та *histone H3* виявлено наявність видоспецифічних ділянок для *A. macrospora*. У гені *calmodulin* видоспецифічна нуклеотидна ділянка виявлена лише для розробки прямого праймера, тоді як зворотний праймер є специфічним у межах роду. Окремі сегменти гена *histone H3* демонструють високу ідентичність з *A. solani*, тоді як інші з *A. cucumerina*, така гетерогенність свідчить про виражену «мозаїчність» нуклеотидної послідовності гена. Теоретично це може свідчити про інтрагенну рекомбінацію та гібридне походження *A. macrospora*. Система на основі гена *histone H3* забезпечує видоспецифічність завдяки комбінації праймерів, що взаємно виключають ампліфікацію ДНК близьких видів за рахунок невідповідностей на 3'-кінцях.

Оцінка роздільної здатності

Філогенетичний аналіз на основі *ITS* послідовностей підтвердив низьку роздільну здатність цього регіону для диференціації *A. macrospora* від близькоспоріднених видів [14]. На філогенетичному дереві (рис. 1) послідовності *A. macrospora* не формують чітко відокремленої клади, а натомість перемішані з послідовностями інших видів роду *Alternaria*, що робить цей маркер непридатним для точної ідентифікації. Показники бутстреп-аналізу для більшості внутрішніх вузлів виявилися низькими, що свідчить про статистичну ненадійність топології дерева. Як зовнішню групу використано ізолят *C. lunata* UP7(1) (PX061231.1).

Дендрограма, отримана на підставі проведеного філогенетичного аналізу, демонструє, що для гена *calmodulin* всі ізоляти *A. macrospora* сформували окремий кластер (рис. 2). Отримана топологія свідчить про обмежену роздільну здатність гену *calmodulin* для певних видів, наприклад він не дозволяє



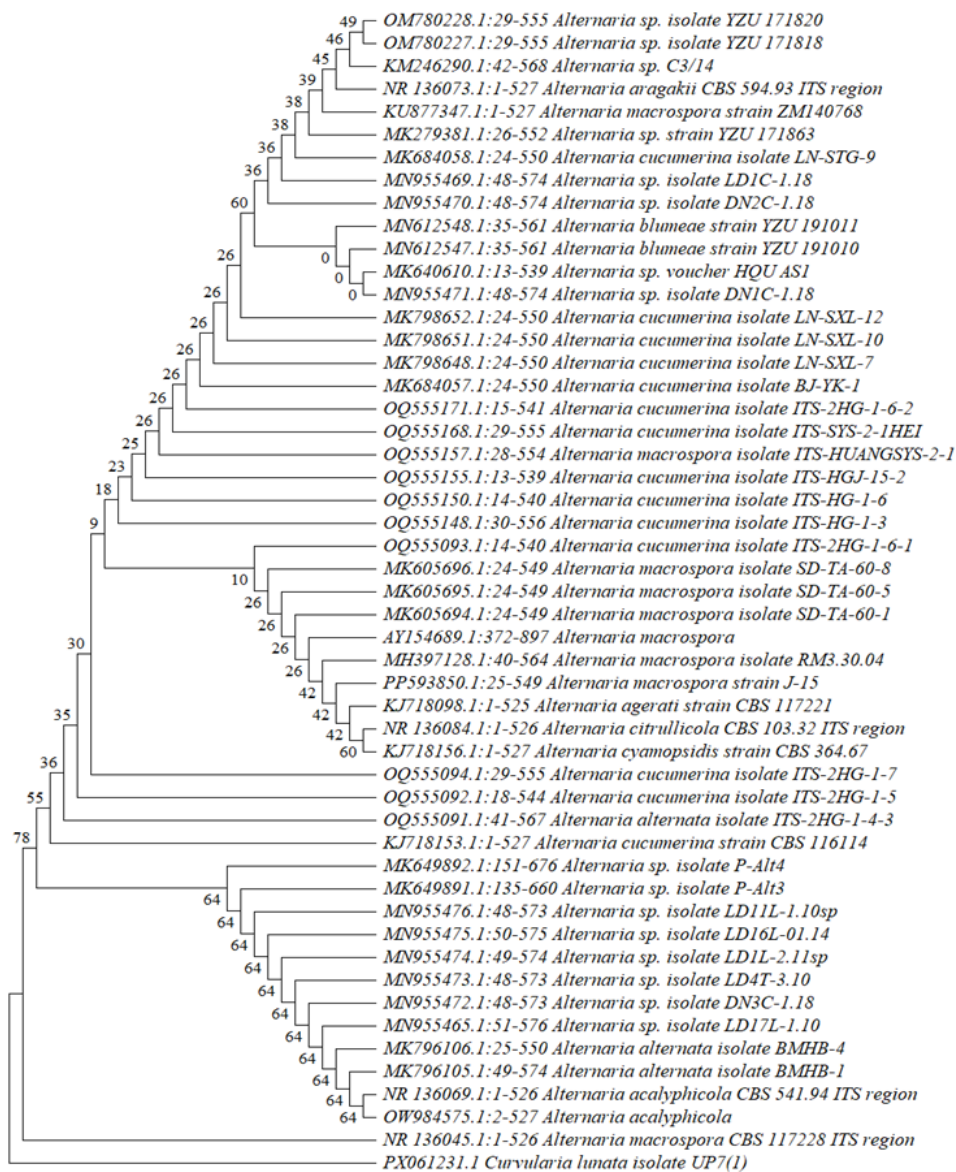


Рис. 1. Філогенетичне дерево, побудоване на основі ITS-регіону.

Як зовнішню групу використано послідовність *Curvularia lunata* (PX061231.1). Бутстреп-аналіз було проведено з 1000 повторними вибірками, і значення вище 50% показано на відповідних гілках

Fig. 1. Phylogenetic tree based on the ITS region.

Curvularia lunata (PX061231.1) was used as an outgroup. Bootstrap analysis was performed with 1000 replicates, and values above 50% are shown on the corresponding branches.

The symbol * indicates type material sequences.



диференціювати *Alternaria solani* та *A. protenta*, які на дендрограмі є поліфілетичними, цей кластер згорнуто у єдину таксономічну одиницю, яка об'єднує 34 ідентичні послідовності ізолятів із GenBank (16 ізолятів *A. solani* та 18 ізолятів *A. protenta*). Кластер *A. linariae* об'єднав 29 послідовностей, серед яких 21 належить *A. linariae*, 5 — *A. tomatophila*, по одній — *A. subcylindrica* та *A. cretica* (зазначені види є таксономічними синонімами), а також одна послідовність *A. solani*. Кластер *A. grandis* сформували 21 послідовність (20 ізолятів *A. grandis* та 1 — *A. danida*). Високі значення бутстрепа (87–89%) для кластера *A. macrospora* свідчать про достовірність формування топології. Як зовнішню групу використано послідовність *C. spicifera* (MN599705.1).

Аналіз локусу *histone H3* виявив складну топологічну структуру, за якої ізоляти *A. macrospora* не утворюють єдиної монофілетичної групи (рис. 3). Послідовності досліджуваних ізолятів демонструють вищу подібність з *A. cucumerina*, що призводить до їхнього фактичного змішування в топології філогенетичного дерева. Це узгоджується з ключовим дослідженням філогенії секції *Porri* роду *Alternaria*, де встановлено, що *A. macrospora* філогенетично ближча до *A. cucumerina*, ніж до *A. solani* [15]. Ізолят XJ-BZ-16-8 (МК605862.1) розташований відокремлено від інших зразків. На відміну від локусу *calmodulin*, де цільовий вид був монофілетичним із високою підтримкою, тут спостерігаються помірні значення бутстрепа (65–67%) для вузлів, що об'єднують ізоляти *A. macrospora*. Як зовнішню групу використано ізолят *S. rostrata* (LT860200.1).

На основі виявлених видоспецифічних ділянок у генах *calmodulin* (табл. 2, рис. 4) та *histone H3* (табл. 3, рис. 5) розроблено два набори праймерів (прямий, зворотний) та TaqMan-зонди для кожного гена. Для системи на основі гена *calmodulin* розмір амплікону становить 110 (п.н.). При цьому індекс взаємодоповнюваності між праймерами становить PAIR ANY_TH COMPL 0,00 (загальна взаємодія) та PAIR 3'_TH COMPL 0,00 (взаємодія на 3'-кінцях), що вказує на малий потенціал утворення димерів праймерів. Для гена *histone H3* розроблено аналогічний набір, що утворює довший амплікон розміром 155 п.н. Індокси взаємодоповнюваності для пари праймерів *histone H3* дорівнюють PAIR ANY_TH COMPL 0,00 та PAIR 3'_TH COMPL 3,90, що свідчить про високу специфічність і мінімальний ризик утворення неспецифічних продуктів. Попри виявлену філогенетичну неоднорідність локусу, специфічність розробленої ПЛР-системи забезпечується дизайном праймерів до консервативної ділянки на основі виявлених одонуклеотидних замінів, яка залишається стабільною для всіх штамів *A. macrospora*, включаючи дивергентний ізолят XJ-BZ-16-8. Прямий праймер для гена *histone H3* сконструйований таким чином, що його 3'-термінальний нуклеотид утворює невідповідність (*англ.* mismatch) із послідовностями *A. cucumerina*, аналогічно, зворотний праймер розроблений із розрахунком на невідповідність 3'-кінця із послідовностями *A. solani*. Оскільки ефективність роботи Taq-полімерази критично залежить від комплементарності саме 3'-кінця праймера, це гарантує відсутність неспецифічної ампліфікації. Обидві системи відповідають вимогам РЧ-ПЛР: температура плавлення праймерів перебуває у вузькому діапазоні, а температура плавлення зондів є суттєво вищою.



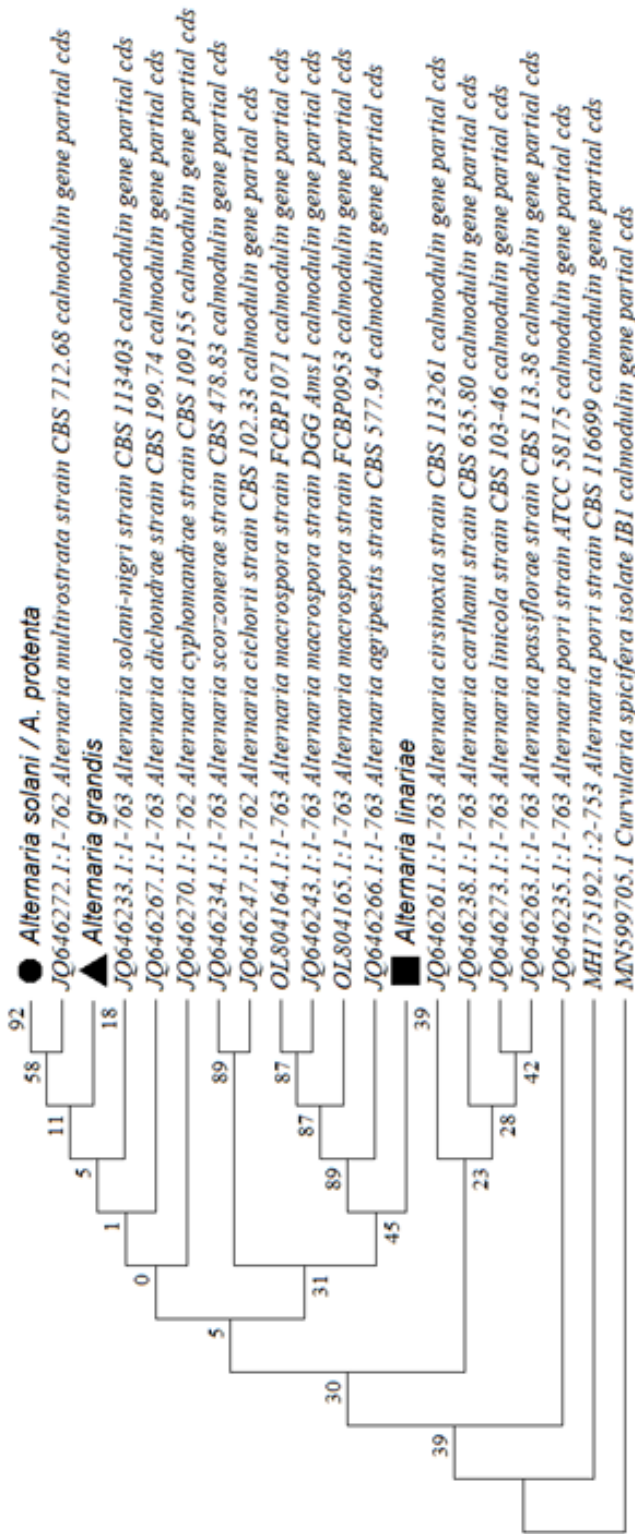


Рис. 2 Філогенетичне дерево, побудоване на основі послідовності гена *calmodulin*.

Як зовнішню групу використано послідовність *Curvularia spicifera* (MN599705.1). Символами позначено згорнуті кластери: ● — 34 послідовності (16 *A. solani* та 18 *A. protenta*); ▲ — 21 послідовність (20 *A. grandis* та 1 *A. danida*); ■ — 29 послідовностей (21 *A. linariae*, 5 *A. tomatophila*, 1 *A. subcylindrica*, 1 *A. cretica*, дані види є таксономічними синонімами та 1 *A. solani*).

Бутстреп-аналіз було проведено з 1000 повторними вибірками, і значення вище 50% показано на відповідних гілках

Fig. 2. Phylogenetic tree based on the *calmodulin* gene sequence.

Curvularia spicifera (MN599705.1) was used as an outgroup. Symbols denote collapsed clusters: ● — 34 sequences (16 *A. solani* and 18 *A. protenta*); ▲ — 21 sequences (20 *A. grandis* and 1 *A. danida*); ■ — 29 sequences (21 *A. linariae*, 5 *A. tomatophila*, 1 *A. subcylindrica*, 1 *A. cretica*, these species are taxonomic synonyms, and 1 *A. solani*). Numbers at the nodes represent bootstrap support values (1000 replicates).

Bootstrap analysis was performed with 1000 replicates, and values above 50% are shown on the corresponding branches.



За результатами порівняльного аналізу локусів-кандидатів найбільш перспективними маркерами обрано гени *calmodulin* та *histone H3*, які продемонстрували найнижчі показники гомології з іншими представниками роду. На основі видоспецифічних ділянок у генах *calmodulin* та *histone H3* розроблено дві системи РЧ-ПЛР (праймери та TaqMan-зонди) для ампліфікації коротких ампліконів (110 п.н. для *calmodulin* та 155 п.н. для *histone H3*). Верифікація специфічності *in silico* показала, що обидва набори праймерів і зонди є специфічними до *A. macrospora* і не утворюють неспецифічних продуктів з ДНК рослини-господаря. Розроблені TaqMan-системи на основі генів є потенційним інструментом для виявлення патогену та посилення фітосанітарного контролю. Наступним етапом дослідження є експериментальна верифікація розроблених TaqMan-систем *in vitro* з використанням ДНК ізольованих штамів *A. macrospora*, а також ДНК близькоспоріднених видів роду *Alternaria* для підтвердження відсутності перехресної ампліфікації. Підтвердження специфічності та чутливості розроблених систем у тестуванні *in vitro* дозволить використовувати їх для аналізу листя, насіння бавовнику з метою діагностики альтернаріозної плямистості, також системи можуть бути використані для молекулярного моніторингу ґрунтів і рослинних решток як потенційних резервуарів інфекції та у наукових дослідженнях, спрямованих на вивчення поширення та екології *A. macrospora*.

BIOINFORMATIC ANALYSIS OF *ALTERNARIA MACROSPORA* FOR MOLECULAR DETECTION

²H. I. Slishchuk <https://orcid.org/0000-0003-4245-8557>

¹H. I. Drozdov <https://orcid.org/0009-0004-1922-1433>

¹N. Yu. Vasylieva <https://orcid.org/0000-0001-8856-3497>

²N. E. Volkova <https://orcid.org/0000-0002-9333-4872>

¹Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiiienka Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: drozdov.hlib@stud.onu.edu.ua

²Institute of Climate-Smart Agriculture of the National Academy
of Agrarian Sciences of Ukraine,

24 Maiatska Rd, Khlibodarske village, Odesa district, Odesa region, 67667, Ukraine

Summary

Aim. To develop specific primers and TaqMan probes for the detection of the phytopathogenic fungus *Alternaria macrospora* using real-time polymerase chain reaction. **Methods.** Bioinformatics analysis was conducted on *A. macrospora* sequences available in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) genetic database. Homolog searches were performed using the BLAST tool. To evaluate the resolution of genetic loci, phylogenetic analysis was carried out using raxmlGUI software. Multiple sequence alignment was performed using the ClustalW algorithm. Primers and TaqMan probes were designed using the Primer3 tool, and their specificity was verified *in silico* using Primer-BLAST. **Results.** A total of 82 nucleotide sequences of *A. macrospora* were analyzed, including 48 sequences of the ITS (Internal Transcribed Spacer) region, as well as sequences of the 18S rRNA and 28S rRNA (Ribosomal RNA), RPB2 (RNA



Polymerase II Second Largest Subunit), *GAPDH* (Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase), *TEF1* (Translation Elongation Factor 1-alpha), histone H3, calmodulin, actin and allergen alt a 1 genetic loci. It was established that the traditional ITS molecular marker has low resolution for the identification of *A. macrospora* and does not allow for the differentiation of this species from other members of the *Alternaria* genus. The calmodulin and histone H3 genes were found to contain species-specific regions that can be utilized for *A. macrospora* differentiation. Based on these gene sequences, primer pairs (forward and reverse) and internal TaqMan probes were designed, showing high specificity to *A. macrospora* during *in silico* testing. **Conclusions.** The calmodulin and histone H3 genes proved to be promising molecular markers for the specific detection of *A. macrospora*. The developed TaqMan system enables the specific *in silico* identification of *A. macrospora*.

Keywords: *Alternaria macrospora*, bioinformatics, *Gossypium*, molecular detection, real-time PCR.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Vozhehova R., Borovyk V., Zaiets S., Serhieiev L., Kohut I. Ecological plasticity and sustainability of cotton in the Southern Steppe of Ukraine. *Scientific Horizons*. 2024. Vol. 27, no 2. P. 43–53.
2. Chaudhari R., Parmar G., Parmar S., Talpada M., Detroja A. Field evaluation of fungicides for management of *Alternaria* leaf blight in cotton. *International Journal of Advanced Biochemistry Research*. 2024. Vol. SP-8, no 6. P. 105–109.
3. Raut L., Hamde V. Screening of antifungal potential of rhizospheric isolates against *Alternaria* leaf blight disease of Bt-cotton *in vitro*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2016. Vol. 5, no 8. P. 769–784.
4. Rotem J. Overwintering of *Alternaria macrospora* in cotton debris. *Phytoparasitica*. 1990. Vol. 18, no 2. P. 143–152.
5. Luchi N., Ioos R., Santini A. Fast and reliable molecular methods to detect fungal pathogens in woody plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020. Vol. 104. P. 2453–2468.
6. National Center for Biotechnology Information. (n.d.). GenBank database. U.S. National Library of Medicine. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (Accessed March 01, 2026).
7. Altschul S., Gish W., Miller W., Myers E., Lipman D. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 1990. Vol. 215, no 3. P. 403–410.
8. Sela I., Ashkenazy H., Katoh K., et al. GUIDANCE2: accurate detection of unreliable alignment regions accounting for the uncertainty of multiple parameters // *Nucleic Acids Research*. – 2015. – V. 43. – P. W7–W14.
9. Katoh K., Standley D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability // *Molecular Biology and Evolution*. – 2013. – V. 30(4). – P. 772–780.
10. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies // *Bioinformatics*. – 2014. – V. 30(9). – P. 1312–1313.



11. Letunic I., Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool // *Nucleic Acids Research*. – 2024. – V. 52(W1). – P. W78–W82.
12. Untergasser A., Cutcutache I., Koressaar T., Ye J., Faircloth B., Remm M., Rozen S. Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*. 2012. Vol. 40, no 15. Article e115.
13. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 2012. Vol. 13. Article 134.
14. Woudenberg J., Groenewald J., Binder M., Crous P. *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*. 2013. Vol. 75. P. 171–212.
15. Woudenberg J., Truter M., Groenewald J., Crous P. Large-spored *Alternaria* pathogens in section Porri disentangled. *Studies in Mycology*. 2014. Vol. 79. P. 1–47.
16. Simmons E. *Alternaria* themes and variations (74-105). *Mycotaxon*. 1994. Vol. 50. P. 219–270.

REFERENCES

1. Vozhehova R, Borovyk V, Zaiets S, Serhieiev L, Kohut I. Ecological plasticity and sustainability of cotton in the Southern Steppe of Ukraine. *Sci. Horiz*. 2024;27(2):43–53.
2. Chaudhari R, Parmar G, Parmar S, Talpada M, Detroja A. Field evaluation of fungicides for management of *Alternaria* leaf blight in cotton. *Int. J. Adv. Biochem. Res*. 2024;SP-8(6):105–109.
3. Raut L, Hamde V. Screening of antifungal potential of rhizospheric isolates against *Alternaria* leaf blight disease of Bt-cotton in vitro. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*. 2016;5(8):769–784.
4. Rotem J. Overwintering of *Alternaria macrospora* in cotton debris. *Phytoparasitica*. 1990;18(2):143–152.
5. Luchi N, Ioos R, Santini A. Fast and reliable molecular methods to detect fungal pathogens in woody plants. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2020;104:2453–2468.
6. National Center for Biotechnology Information. (n.d.). GenBank database. U.S. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
7. Altschul S, Gish W, Miller W, Myers E, Lipman D. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol*. 1990;215(3):403–410.
8. Sela I, Ashkenazy H, Katoh K, et al. GUIDANCE2: accurate detection of unreliable alignment regions accounting for the uncertainty of multiple parameters. *Nucleic Acids Res*. 2015;43:W7–W14.
9. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol*. 2013;30(4):772–780.
10. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 2014;30(9):1312–1313.



11. Letunic I, Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(W1):W78-W82.
12. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth B, Remm M, Rozen S. Primer3--new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(15):e115.
13. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden T. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics.* 2012;13:134.
14. Woudenberg J, Groenewald J, Binder M, Crous P. *Alternaria* redefined. *Stud. Mycol.* 2013;75:171–212.
15. Woudenberg J, Truter M, Groenewald J, Crous P. Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentangled. *Stud. Mycol.* 2014;79:1–47.
16. Simmons E. *Alternaria* themes and variations (74-105). *Mycotaxon.* 1994; 50:219–270.

Стаття надійшла до редакції 26.03.2026
Стаття затверджена до друку 04.05.2026
Стаття опублікована 29.05.2026



ІЗОЛЯЦІЯ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МІКСОБАКТЕРІЙ ІЗ БІОТОПІВ ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ

В. Ю. Іваніца <https://orcid.org/0009-0000-0443-7283>
М. М. Чабан <https://orcid.org/0000-0002-1306-9993>
Г. В. Лісютін <https://orcid.org/0009-0006-4470-9857>
О. О. Ковтун <https://orcid.org/0000-0001-8820-5606>
І. В. Страшнова <https://orcid.org/0000-0002-4264-466X>


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

Міксобактерії, виділені із морського середовища, є перспективним природним джерелом унікальних біологічно активних вторинних метаболітів. **Мета.** Виділити у чисті культури міксобактерії із природних біотопів Чорного моря та дослідити їх морфологічні характеристики. **Методи.** Для виділення міксобактерій використовували зразки морського ґрунту, біологічних обростань пірсу, мідії і макроводорості. Виділення проводили на різних модифікаціях середовища WAT-агар із використанням *Escherichia coli* як приманки. Очищення культур здійснювали шляхом багаторазових пересівів та термообробки плодових тіл. Культуральні та морфологічні властивості вивчали на щільному середовищі VY/2 і в рідкому середовищі СУ/Н із використанням світлової мікроскопії. **Результати.** Із 35 досліджених зразків морських субстратів було отримано 91 ізолят бактерій із ознаками міксобактерій, з яких 35 вдалося одержати у вигляді чистих культур. Найбільшу кількість ізолятів виділено зі зразків макроводоростей. Найефективнішим для ізоляції виявилось середовище WAT-агар на основі відфільтрованої морської води. Досліджені штами характеризувалися значним фенотиповим різноманіттям, що проявлялося у варіабельності морфології колоній, характеру ковзного руху та морфогенезу плодових тіл. **Висновки.** Отримані результати свідчать про значне різноманіття міксобактерій у морських біотопах Чорного моря та зумовлюють подальше вивчення їх біосинтетичного потенціалу як джерела нових біологічно активних сполук.

Ключові слова: морські біотопи, Чорне море, міксобактерії, ізоляція, різноманіття, морфологічні характеристики.

Міксобактерії — це непатогенні, сапрофітні, одноклітинні, паличкоподібні, ковзні, грамнегативні бактерії, що належать до філуму *Myxococcota*. Представники цієї групи дуже поширені як у наземних, так і у водних екосистемах та відіграють важливу роль у мікробних трофічних взаємодіях завдяки вираженій хижацькій активності [6, 26]. Вони є прикладом «екзобіотичного» способу бактеріального хижацтва з механізмом «вовчої зграї» і секретуван-

© В. Ю. Іваніца, М. М. Чабан, Г. В. Лісютін, О. О. Ковтун, І. В. Страшнова, 2026

 Це стаття відкритого доступу за ліцензією [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



ням широкого спектру антимікробних молекул у позаклітинне середовище [1, 3].

Міксобактерії характеризуються незвичайним циклом розвитку, характером руху по поверхнях, агрегацією вегетативних клітин у слизову клітинну масу, що має щільну структуру, яка перетворюється на багатоклітинні плодові тіла, всередині яких вегетативні клітини диференціюються у міккоспори. Завдяки координованому руху великої групи клітин міксобактерії утворюють колонії, які поширюються по твердій поверхні субстрату і носять назву шварм, або рій. Рій міксобактерій активно переміщується, змінюючи свій напрям залежно від наявності їжі. На поверхні агару рій виглядає як тонка плівка, що постійно розширюється.

Хоча міксобактерії відомі вже понад 100 років, особливо інтенсивно їх досліджують протягом останніх 3–4 десятиліть у зв'язку з тим, що вони є високоефективними продуцентами унікальних біологічно активних вторинних метаболітів, зокрема літичних ферментів. Наразі остаточно не з'ясовано причини синтезу міксобактеріями великої кількості метаболітів, однак більшість дослідників сходяться на думці, що вони відіграють ключову роль у регуляції міжклітинних взаємодій у популяції та забезпеченні процесів хижацтва [32].

Завдяки здатності синтезувати численні структурно різноманітні вторинні метаболіти з високою біологічною активністю, міксобактерії розглядають як перспективне природне джерело нових фармакологічних агентів і біокаталізаторів для біотехнологічних застосувань і розробок лікарських засобів [13, 26].

Більше того, один штам міксобактерій зазвичай продукує багато структурно різноманітних біоактивних сполук [26]. Ці метаболіти, як правило, є штамоспецифічними, що підкреслює необхідність виділення великої кількості штамів з різних середовищ існування для всебічного вивчення їхньої біологічної активності і скринінгу найактивніших штамів. Особливий інтерес становлять міксобактерії, виділені з екстремальних середовищ, зокрема морського, оскільки адаптація до стресових умов, ймовірно, стимулює синтез «екзотичних» вторинних метаболітів [8]. Галофільні та/або галотолерантні міксобактерії демонструють значний біосинтетичний потенціал і є джерелом структурно унікальних вторинних метаболітів, що відрізняються від наземних аналогів. Така хімічна різноманітність, ймовірно, пов'язана з адаптацією до умов підвищеної солоності та інших стресових факторів морського середовища, що робить ці мікроорганізми перспективними для біотехнологічних розробок [2, 5, 8, 29].

Незважаючи на високий потенціал морських міксобактерій як джерела біоактивних метаболітів, із морських середовищ в чисті культури виділено поки порівняно невелику їх кількість. Це зумовлено певними труднощами, серед яких обмежена кількість клітин і їх повільний ріст, низька щільність колоній, вибагливість до специфічних живильних середовищ та солоності, а також потреба для росту приманки-здобичі, необхідність колективної поведінки клітин для утворення плодових тіл і не завжди ці структури утворюються на живильних середовищах [12, 16, 27]. Усі ці фактори ускладнюють отриман-



ня чистих культур та, як наслідок, обмежують широкомасштабний скринінг і фармакологічну оцінку вторинних метаболітів морських міксобактерій.

Метою роботи було виділити чисті культури міксобактерії із біотопів Чорного моря та дослідити їх морфологічні характеристики.

Матеріали і методи

Ізоляцію міксобактерій здійснювали з природних субстратів прибережної зони Чорного моря в районі м. Одеси (рис. 1).



Рис. 1. Місця відбору проб для виділення міксобактерій в Одеській затоці Чорного моря (Одеса, Україна)

◆ – обростання пірсу, ▲ – морський ґрунт, ● – водорості-макрофіти, ■ – мідії *Mytilus galloprovincialis*

Fig. 1. Sampling sites for myxobacteria isolation in Odessa Bay, Black Sea (Odessa, Ukraine)

◆ – pier fouling, ▲ – seabed, ● – macrophyte algae, ■ – mussels *Mytilus galloprovincialis*

Для виділення міксобактерій використані зразки: біологічних обростань пірсу (3 проби), відібрані весною; морського ґрунту (6 проб), відібрані поблизу узбережжя у весняно-літній період; водорості-макрофіти, зібрані у весняно-осінній період (18 проб), мідій (*Mytilus galloprovincialis*), зібрані у весняно-літній період (8 проб);.

Усі зразки відбирали у стерильні пластикові контейнери, доставляли у лабораторію Наукового центру морської біології та біотехнології ОНУ, де проводили подальшу пробопідготовку.



Зразки морського ґрунту проціджували із дотриманням правил асептики і видаляли грубі частки, залишаючи дрібні фракції, які були використані для посіву. Із зразків мідій стерильними інструментами виймали внутрішні тканини, які до посіву поміщали у стерильні чашки Петрі. Зразки водоростей стерильним скальпелем розрізали на невеликі фрагменти по 2–3 см, для зручності посіву.

Кожен зразок (окрім мідій) було розділено на дві частини, одну з яких відразу наносили на поверхню відповідних щільних середовищ у чашках Петрі [18]. Іншу частину висушували при кімнатній температурі впродовж 1–3 тижнів для мінімізації росту супутньої мікробіоти і потім також робили посіви шляхом накладання відібраного зразка на живильні середовища [12, 25]. Внутрішні тканини мідій відразу висівали на живильні середовища.

Для виділення хижих (бактеріолітичних) міксобактерій використано декілька варіантів базового середовища голодний агар (WAT-агар) і його модифікацій, а також маніпуляційних технік. Середовище WAT-агар: $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,1%, агар-агар — 1,5%, 20 мМ HEPES (N-2-(гідроксил-етил) піперазин-N'-2-етансульфокислот), дистильована вода [28]. Модифікації середовища WAT-агар полягали у: 1) заміні агар-агару на клерігель (CleriGel) (0,8%); 2) додаванні морської солі (1%); 3) використанні клерігелю (0,8% — замість агар-агару) і морської солі (1%); 4) використанні відфільтрованої морської води замість дистильованої; 5) WAT-агар, приготований на штучній морській воді [21] в нашій модифікації: NaCl (1%), MgSO_4 (0,8%), H_3BO_3 (0,2%), $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (0,1%), NaHCO_3 (0,04%), KI (0,02%), MnCl_2 (0,01%), CoCl_2 (0,002%), CuSO_4 (0,002%). Перед використанням в усі варіанти середовища, розплавлені й остуджені до 50–55 °C вносили циклогексимід із розрахунку 50 мкг/мл для пригнічення росту мікроміцетів.

Як приманку використовували живі й інактивовані бактерії *Escherichia coli* ATCC 25922, які перехресно наносили на поверхню середовища, підсушували в асептичних умовах, після чого периферію або центр перехресного посіву інокулювали аліквотою відповідної проби (рис. 2).

Чашки з посівами культивували у вологих умовах (40–60%) при 28–30 °C впродовж 14–21 днів, оцінюючи візуально та за допомогою мікроскопу Zeiss Primo Star 5 (Німеччина) просвітлення газону з приманкою, поширення колоній міксобактерій (рою) на секторах середовища без приманки та утворення плодових тіл.

Для отримання чистих культур міксобактерій використовували два методичні прийоми [25]. У першому випадку, край колонії, морфологічно подібної до моношарових роїв міксобактерій, вирізали стерильним скальпелем або плодове тіло обережно проколювали стерильною ін'єкційною голкою. У другому випадку, плодове тіло переносили у 1 мл фізіологічного розчину (рН 7,0) та прогрівали при 60 °C упродовж 20 хв. Після цього отриманий матеріал переносили на чашки Петрі зі свіжоприготованим середовищем WAT-агар, що містило циклогексимід, із нанесеною культурою *E. coli* як приманкою [17, 28]. Культивування проводили за тих самих умов, що й первинні посіви. Пересіви міксобактерій проводили декілька разів до отримання чистих культур.





Рис. 2. Приклад нанесення зразків природних субстратів на живильне середовище з приманкою *E. coli*

Fig. 2. Example of natural substrate samples inoculation onto nutrient medium containing *E. coli* as bait

Чистоту культур міксобактерій оцінювали візуально та мікроскопічно за характером росту колоній на WAT-агарі і мікроскопічно за морфологічними ознаками клітин у фіксованих і забарвлених за Грамом препаратах.

Для подальших досліджень чисті культури міксобактерій пересівали на агаризоване середовище VY/2 (дріжджовий екстракт – 0,1%, $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1%, агар-агар – 1,5%; перед посівом у розплавлене і остигнуте до 50–55 °C середовище додавали вітамін B_{12} із розрахунку 0,5 мг/л) та в колби з рідким середовищем CY/H (казитон – 0,15%, дріжджовий екстракт – 0,15%, крохмаль – 0,4%, соєве борошно – 0,1%, D-глюкоза – 0,1%, $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1%, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,05%, Fe-EDTA – 8 мг/л, вітамін B_{12} – 0,5 мг/л, NEPES – 1,2%).

Чисті культури зберігаються при –86 °C в гліцеринових стоках (0,5 мл суспензії культури, що виросла у середовищі CY/H, та 1,0 мл гліцерину, 50% об/об) [4, 18].

У отриманих чистих культур вивчали культуральні і морфологічні ознаки. На агаризованому середовищі VY/2 упродовж 3–21 діб при 28–30 °C визначали розміри бактерій, форму і пігментацію роїв, характер і швидкість їх руху, здатність і швидкість утворення плодових тіл, а також їх форму та пігментацію. Рух клітин оцінювали методом прямого мікроскопічного спостереження за допомогою тайм-лєпс відео (серії знімків, зроблених через рівні проміжки часу для спостереження руху клітин) з відомим інтервалом між кадрами. Використовували програмне забезпечення Zeiss Zen 2 Lite для побудови кривої руху окремих клітин у проміжку між кадрами, після чого обчислювали швидкість руху клітин за формулою $v = d/\Delta t$, де d — переміщення клітини між кадрами, а Δt — часовий інтервал між ними.

У рідкому середовищі CY/H (посіви культивували у 50/100 мл колбах упродовж 3–14 діб, при 180 об/хв, 28–30 °C) відмічали характер росту – осад,

помутніння, утворення облямівки на стінках колб і плівки на поверхні середовища та інші ознаки росту.

Морфологічні ознаки клітин і спор міксобактерій визначали у прижиттєвих та фіксованих і забарвлених за Грамом препаратах за допомогою мікроскопу Zeiss Primo Star 5 на початку росту культур та впродовж усього терміну культивування, приділяючи увагу фазам (періодам) початку формування та розвитку плодових тіл, і при цьому відзначали розміри, форму клітин та їх розташування, а також утворення і форму міксоспор.

Результати та їх обговорення

Незважаючи на значущість міксобактерій, як одних із ключових продуцентів біологічно активних метаболітів, їх скринінг є порівняно невисоким через труднощі у процесі виділення, очищення та підтримки в лабораторних умовах. Враховуючи низку чинників: джерела виділення міксобактерій, особливості їх життєвого циклу і швидкість росту, для ізоляції було використано декілька варіантів пробопідготовки, живильних середовищ і технік посіву.

Зважаючи на те, що міксобактерії — «соціальні» бактерії, яким для початку росту (роїння) і формування колоній потрібна певна щільність клітин у точці посадки [19, 24], на живильні середовища з нанесеною приманкою бактеріями *E. coli* наклали невеликі фрагменти відібраних зразків посівного матеріалу.

Оцінюючи результати посіву нативних зразків різних морських субстратів (за винятком зразків мідій), на середовищі WAT-агар спостерігали значну кількість морфологічно різноманітних колоній, переважна більшість яких відрізнялася від колоній, характерних для міксобактерій. Такий результат узгоджується з даними T. F. Schäberle et al. (2010), які зазначають, що повільний ріст і низька щільність клітин морських міксобактерій зумовлюють їх легке витіснення мікроорганізмами, що швидко ростуть [27]. При посіві внутрішніх тканин мідій різноманіття і кількість колоній були меншими.

При посіві на WAT-агар висушених зразків тих самих субстратів виявляли більше колоній, характерних для міксобактерій (рис. 3), бактерії формували характерні «треки» руху всередині рою, що відзначено у роботах інших дослідників [14, 15]. Такий підхід допомагає знизити рівень росту супутньої мікробіоти, сприяє виходу міксобактерій із стану спокою, активує роїння колоній та формування характерних плодових тіл.

З урахуванням специфічних біологічних особливостей та вибагливості міксобактерій до умов культивування в лабораторії для їх виділення було застосовано декілька модифікацій середовища WAT-агар. Отримані результати (таблиця), свідчать, що найбільш придатним для виділення міксобактерій із досліджених зразків морських субстратів виявився варіант WAT-агар, приготовлений на відфільтрованій морській воді, що наближує фізико-хімічні умови середовища до природного біотопу морських міксобактерій, сприяючи їх адаптації, що підвищує ефективність їх ізоляції. На цьому середовищі спостерігали ріст 36 ізолятів, причому найбільшу їх кількість отримано зі зразків макроводоростей (31 ізолят).



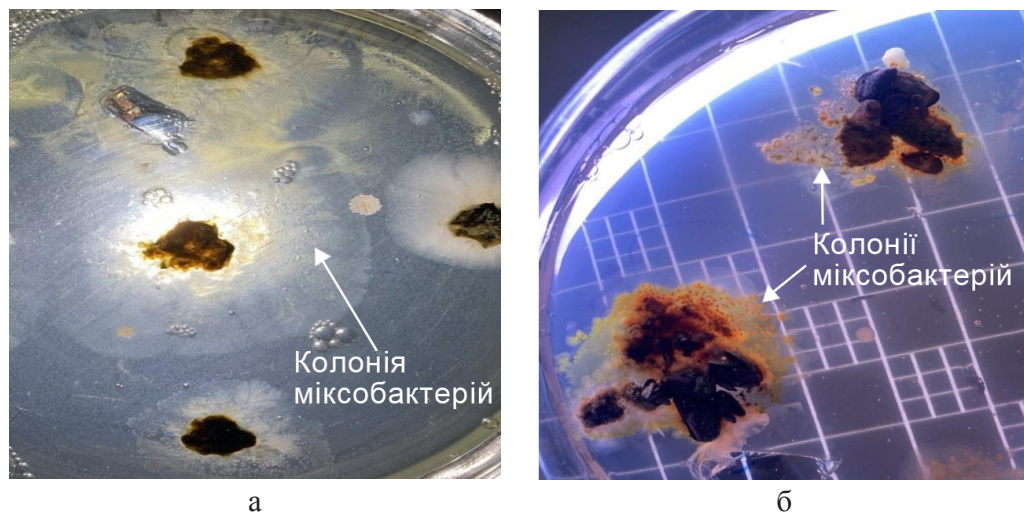


Рис. 3. Ріст міксобактерій на WAT-агарі
 а — Ізолят A55, виділений із зразка водорості *Cladophora sericea*,
 б — Ізолят P2.10, виділений із біообростань пірсу.

Fig. 3. Growth of myxobacteria on WAT agar
 а — Isolate A55 obtained from the macroalga *Cladophora sericea*,
 б — Isolate P2.10 obtained from pier biofouling.

Таблиця

**Кількість ізолятів міксобактерій із морських субстратів,
 виявлених на різних живильних середовищах**

Table

**Number of myxobacterial isolates obtained from marine substrates
 on different culture media**

Варіант середовища WAT-агар	Зразки для посіву			
	морський грунт	обростання пірсу	мідії	макроводорості
Базове середовище WAT-агар	5	5	4	18
WAT + CleriGel	1	—	—	3
WAT-агар + морська сіль	2	1	1	6
WAT + CleriGel + морська сіль	2	—	2	4
WAT-агар + морська вода	3	—	2	31
WAT-агар + штучна морська вода*	—	—	—	1

Примітка: * Склад штучної морської води: NaCl (1%), MgSO₄ (0,8%), H₃BO₃ (0,2%), FeC₆H₅O₇ (0,1%), NaHCO₃ (0,04%), KI (0,02%), MnCl₂ (0,01%), CoCl₂ (0,002%), CuSO₄ (0,002%)

Note: * Composition of artificial seawater: NaCl (1%), MgSO₄ (0,8%), H₃BO₃ (0,2%), FeC₆H₅O₇ (0,1%), NaHCO₃ (0,04%), KI (0,02%), MnCl₂ (0,01%), CoCl₂ (0,002%), CuSO₄ (0,002%)



На базовому середовищі WAT-агар кількість виділених міксобактерій також була великою (32 ізоляти), при цьому найбільшу кількість, як і в попередньому варіанті, було виділено зі зразків водоростей. Натомість на середовищі WAT-агар + CleriGel було виділено лише чотири представники цієї групи бактерій. Можливо, використання цього альтернативного гелеутворювача призводить до зміни фізико-механічних властивостей поверхні середовища (щільності, структури, водоутримувальної здатності), що може обмежувати ковзний рух клітин, формування рою та плодових тіл міксобактерій. Такі зміни поверхневих характеристик потенційно знижують ефективність їх росту та візуальної ідентифікації під час ізоляції.

Нами встановлено, що живі клітини *E. coli* ефективніше стимулюють ріст і хижацьку поведінку міксобактерій, ніж інактивовані клітини. До такого висновку прийшли також W. Shang et al. (2020) при порівнянні поведінки *Mycobacterium xanthus* на живих, термічно чи інактивованих ультрафіолетом клітинах *E. coli* [31]. Показано, що живі клітини більшою мірою стимулюють розмноження та рухливість міксобактерій ніж мертві. Автори пов'язують це з тим, що міксобактерії не лише споживають поживні молекули, а й реагують на сигнали, які надходять від живих клітин здобичі у процесі прямого контакту [31].

Загалом із 35 зразків, відібраних із різних природних субстратів Чорного моря, виділено 91 ізолят бактерій, здатних поширюватися по поверхні живильного середовища ковзанням, при цьому 85 ізолятів формували плодові тіла, що відрізнялися між собою забарвленням і розмірами. Слід звернути увагу, що утворення плодових тіл спостерігали не в усіх ізолятах. Можливо, формування плодових тіл не є універсальною ознакою і чітким маркером морських міксобактерій або склад середовища та умови культивування не є сприятливими для їх формування [1]. Зокрема, відомо, що представники міксобактерій підпорядку *Nannocystineae* часто демонструють спрощений життєвий цикл без формування плодових тіл, що може розглядатися як адаптація до морського середовища [7].

Загалом найбільшу кількість ізолятів отримано зі зразків макроводоростей (таблиця), що може бути пов'язано із наявністю розвиненої поверхні, органічного субстрату для формування епіфітних консорціумів та мікробних біоплівки, які слугують джерелом живлення для міксобактерій.

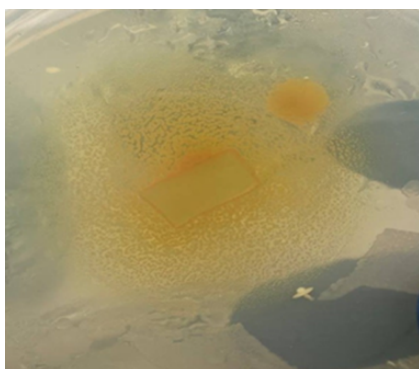
Не тільки виділення, але й очищення і отримання чистих культур міксобактерій є також доволі складною і затратною процедурою. З урахуванням різного рівня контамінації ізолятів супутньою мікробіотою для отримання чистих культур міксобактерій застосовано диференційований підхід очищення. Стратегію підбирали індивідуально залежно від ступеня забруднення, морфології колоній та їх розташування, а також наявності плодових тіл. Для ізолятів із помірною контамінацією використовували багаторазові пересіви з периферичної зони краю колоній або окремих плодових тіл на середовище WAT-агар із живою приманкою *E. coli* та додаванням циклогексимиду для пригнічення росту мікроміцетів.

Пересіви проводили до отримання морфологічно однорідного росту. Для ізолятів із високим рівнем мікробного забруднення застосовували корот-

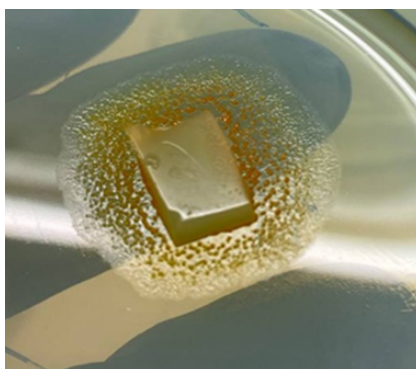


кочасну термообробку суспензій плодкових тіл у фізіологічному розчині з подальшим висівом на поверхню WAT-агару з приманкою та циклогексимідом. Згідно з літературними даними, така обробка дає змогу селективно знизити кількість контамінантів при збереженні життєздатності мікоспор [25]. Однак, у проведених нами дослідженнях зазначений підхід виявився малоефективним: із застосуванням попередньої термообробки плодкових тіл виділено лише один штам міксобактерій. Послідовні багаторазові пересіви дали змогу отримати 34 штами. Імовірно, низька ефективність методу термообробки плодкових тіл може бути пов'язана з особливостями досліджуваних ізолятів, зокрема з недостатньою стійкістю до температури 60 °С мікоспор морських бактерій. Крім того, не можна виключати, що супутня мікробіота, у першу чергу мікроміцети, адаптована до умов морського середовища, характеризується підвищеною стійкістю до короточасного нагрівання, що знижує селективний ефект процедури термообробки. Із 35 штамів один виділено із мідій, два — із морського ґрунту, п'ять — із обростань пірсу, решта — із водоростей.

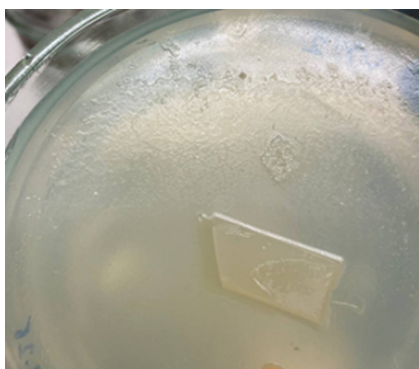
Вивчення культуральних і морфологічних властивостей штамів міксобактерій показало їх значне фенотипове різноманіття (рис. 4).



Штам V8
Strain V8



Штам V14
Strain V14



Штам V1
Strain V1



Штам V2
Strain V2

Рис. 4. Ріст міксобактерій на середовищі VY/2

Fig. 4. Growth of myxobacteria on VY/2 medium



Форма, розмір і забарвлення колоній, характер та швидкість їх радіального поширення по поверхні живильних середовищ, а також здатність до формування плодових тіл, їх морфологія й колір варіювали залежно від штаму, віку культури, умов культивування та складу середовищ.

Частина штамів на середовищі VY/2 формувала безбарвні рої (штами V1 і V2; рис. 4), однак більшість утворювала пігментовані колонії (наприклад, штами V8, V14; рис. 4), інтенсивність забарвлення яких посилювалася і ставала виразнішою у процесі старіння культури. Це, ймовірно, пов'язано з активацією біосинтезу каротиноїдів, меланіноподібних сполук та полікетидних пігментів у пізніших фазах росту, що узгоджується із даними сучасних досліджень, які свідчать, що міксобактерії здатні синтезувати різноманітні пігментні вторинні метаболіти [22, 30]. Аналіз їхніх геномів та метаболомів демонструє наявність численних біосинтетичних генних кластерів, що кодуєть продукцію каротиноїдів та інших пігментних сполук, які можуть виконувати фотопротекторні й антиоксидантні функції, забезпечувати адаптацію до стресових умов середовища і покращувати виживання клітин [22, 30].

Окремі штами проявляли агаролітичну активність (штам V2; рис. 4), що супроводжувалося частковою деградацією щільного агарового середовища. У результаті колонії спричиняли локальне прогинання шару агару та частково занурювалися в нього, що, ймовірно, зумовлено синтезом агаролітичних екзоферментів.

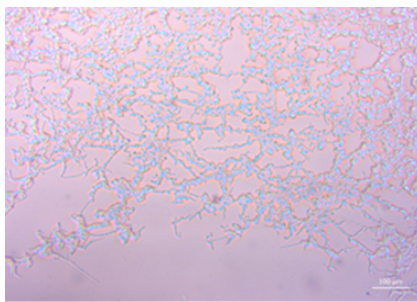
Колонії міксобактерій при рості на живильних середовищах поширювалися, утворюючи характерні концентричні зони, хвилясті краї або дендрито-подібні структури (рис. 4). Їх утворення, як описано в літературних джерелах, пов'язано із «соціальною» поведінкою, що полягає у колективному і скоординованому ковзному русі клітин, який супроводжується інтенсивним продукуванням екзополіцукридів [23, 24].

Екзополіцукриди формують слизовий матрикс і забезпечують як ковзання клітин по поверхні субстрату, так і підтримання цілісності рою через локальні контактні взаємодії та спільні впорядковані траєкторії руху (патерни) сусідніх клітин у колонії [23]. Така кооперативна поведінка (S-ковзання) є характерною для міксобактерій і пояснює утворення складних мультиклітинних візерунків під час росту на поверхні живильних середовищ, що найбільш яскраво проявляється у різноманітні країв шварму (рис. 5).

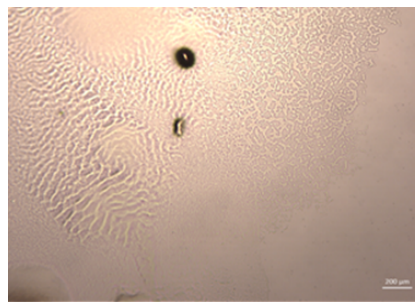
Частина штамів формували рої, край яких характеризувався наявністю масивної структури, утвореної щільно агрегованими клітинами (наприклад, штам V18; рис. 5). Подібні структури є типовою морфологічною ознакою активного ковзного росту (так званим фенотиповим маркером) міксобактерій, що належать до підпорядку *Nannocystineae*, для яких характерні великі, щільні скупчення клітин і помітні вузли або «горбки» на периферії колоній при рості на живильних середовищах [5, 28].

Рухливість досліджених міксобактерій мала виражений штамоспецифічний характер. Швидкість ковзання окремих клітин становила в середньому 40–75 нм/с, при цьому в межах одного рою відзначали значну варіабельність цього показника. Навіть у межах однієї колонії спостерігалася виражена неоднорідність характеру руху клітин.

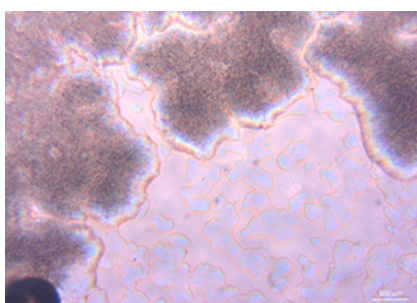




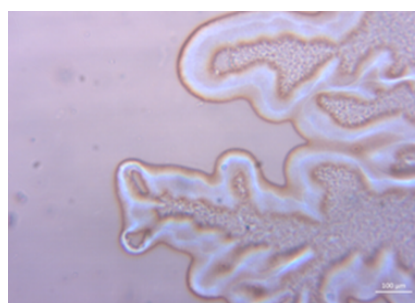
Штам V1 на середовищі WAT
Strain V1 on WAT medium



Штам V8 на середовищі VY/2
Strain V8 on VY/2 medium



Штам V2 на середовищі WAT
Strain V2 on WAT medium



Штам V18 на середовищі WAT
Strain V18 on WAT medium

Рис. 5. Краї колоній мікобактерій на поверхні живильних середовищ
(зображення отримані за допомогою Ахіосам 503, мікроскоп Zeiss Primo star 5,
збільшення x100)

Fig 5. Margins of mycobacterial colonies on the surfaces of nutrient media
(images captured using Axioacam 503, Zeiss Primo Star 5 microscope, magnification $\times 100$)

Частина клітин демонструвала індивідуальне ковзання (А-рухливість), що переважно проявлялося на периферії рою, тоді як інші клітини брали участь у координованому колективному русі (S-рухливість), який переважав у центральній зоні колонії. Клітини переміщувалися з різною швидкістю та в різних напрямках, із варіабельною частотою реверсій (періодичних змін напрямку руху клітини на протилежний), формуючи індивідуальні траєкторії руху (рис. 6).

Це узгоджується з сучасними дослідженнями рухливості *M. xanthus*, які показали, що варіабельність швидкості ковзання, частоти реверсій і ступеня залучення до колективного руху зумовлена співвідношенням механізмів А- та S-рухливості, функціонуванням пілі IV типу, продукцією екзополісахаридів, впливом локальних сигналів і мікроградієнтів поживних речовин, фенотиповою гетерогенністю клітин у межах рою [10, 11, 20, 24].

Через 14–18 днів інкубації в умовах обмеження живильних речовин усі досліджені штами мікобактерій формували морфологічно зрілі плодові тіла. Незважаючи на те, що здатність до утворення плодових тіл, швидкість їх появи і дозрівання, морфологія та інтенсивність пігментації мали специфічний характер, у досліджених штамів простежувалися спільні ознаки. Поява пло-

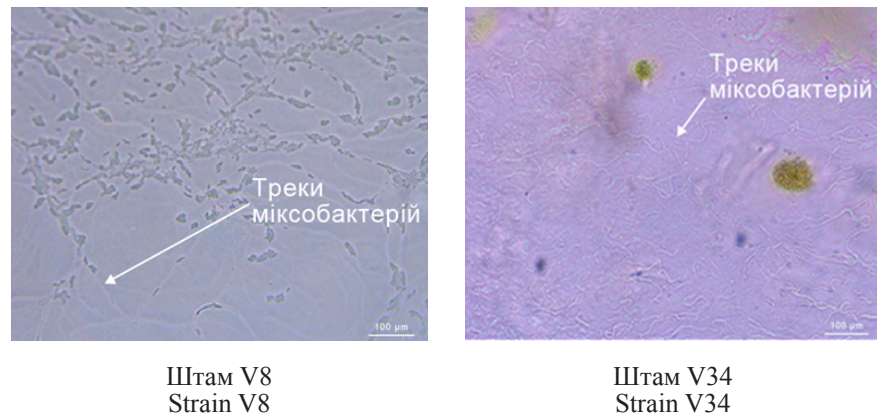


Рис. 6. Треки, що утворюють міксобактерії, ковзаючи по поверхні середовища VY/2 (зображення отримані за допомогою AxioCam 503, мікроскоп Zeiss Primo star 5, збільшення $\times 400$)

Fig. 6. Tracks formed by myxobacteria gliding on the surface of VY/2 medium (images obtained using AxioCam 503, Zeiss Primo Star 5 microscope, magnification $\times 400$)

дових тіл супроводжувалася чітко вираженими ознаками клітинної диференціації та переходу частини вегетативної популяції у стан спокою (утворення мікроспор). У процесі морфогенезу міксобактерій спостерігали послідовні етапи. Спочатку відбувалася поступова агрегація і формування локальних щільних зон із клітин внаслідок їх координованого ковзного руху (рис. 7).

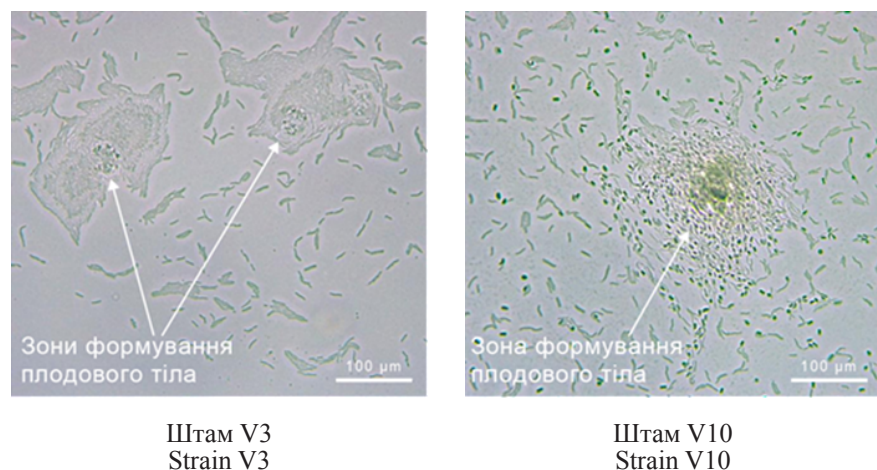


Рис. 7. Локації формування плодових тіл міксобактеріями (зображення отримано за допомогою AxioCam 503, мікроскоп Zeiss Primo star 5, збільшення $\times 400$)

Fig. 7. Sites of fruiting body formation by myxobacteria (images obtained using AxioCam 503, Zeiss Primo Star 5 microscope, magnification $\times 400$)

Потім відбувалося ущільнення, збільшення об'єму і підняття агрегату, що супроводжувалося диференціацією клітин, частина із яких зменшувалася у розмірах, частина, зменшуючись, перетворювалася у мікроспори.

Сформовані плодові тіла мали щільну будову та окреслені межі, були сферичними, куполоподібними, мали чітку локалізацію на поверхні живильного середовища без глибокого занурення в агар і зберігали стабільну форму протягом подальшого періоду спостережень (рис. 8). Два штами утворювали деревоподібні плодові тіла.

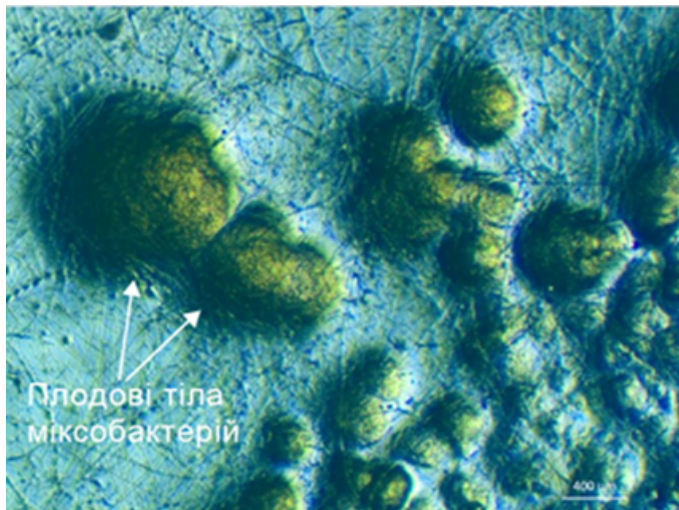


Рис. 8. Плодові тіла штаму V6 на поверхні середовища VY/2 (зображення отримано за допомогою AxioCam 105, стереомікроскоп, збільшення x56)

Fig. 8. Fruiting bodies of strain V6 on the surface of VY/2 medium (images obtained using AxioCam 503, stereomicroscope, magnification x56)

Всередині зрілих плодових тіл мікроспори мали округлу або овальну форму. Щодо пігментації – у випадках, коли вегетативні клітини у рогах синтезували пігменти, сформовані плодові тіла зберігали відповідні колірні відтінки, інтенсивність яких із часом посилювалася.

При культивуванні у бульйоні СУ/Н всі штами демонстрували різноманітний характер росту. Упродовж 3–14 діб спостерігали формування великих пластівців, зернисті скупчення, щільні макроскопічні клітинні агрегати або клітини були дисперговані у товщі середовища. Для всіх штамів було характерно утворення слизового шару на стінках колб (рис. 9), що пов'язують зі здатністю клітин міксобактерій до продукції екзополіцукридів, які беруть участь в адгезії клітин та формуванні біоплівкоподібних структур у рідких культурах міксобактерій, зокрема, *M. xanthus* [9].

Вивчення морфологічних ознак вегетативних клітин рідкої культури у прижиттєвих та фіксованих і забарвлених за Грамом препаратах показало, що на початкових етапах росту це гнучкі з рівномірною товщиною по всій довжині грамнегативні палички, середні розміри яких 3–10 мкм (рис. 10а). У фазі активного росту клітини мали паличкоподібну форму, але спостерігалася варіабельність довжини і рухливості. У цей період формувалися щільні клітинні агрегати (рис. 10б), добре помітні при мікроскопії, завдяки адгезивним властивостям клітин та продукції екзополіцукридів, які забезпечують міжклітинні контакти та стабілізацію клітинних скупчень.



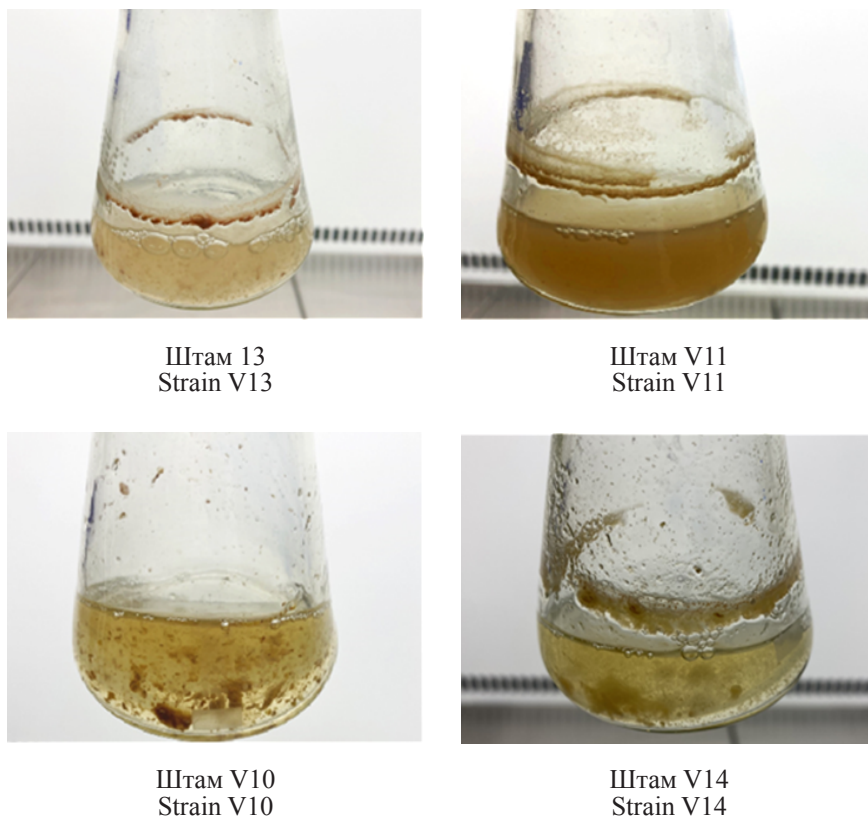


Рис. 9. Ріст міксобактерій у рідкому середовищі CY/H

Fig. 9. Growth of mycobacteria in liquid CY/H medium

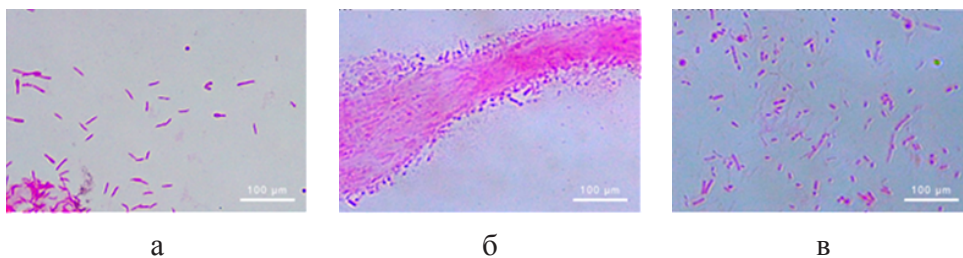


Рис. 10. Морфологія клітин міксобактерій штаму V8: а) через 5 діб; б) через 8 діб; в) через 14 діб (забарвлення за Грамом, мікроскоп Zeiss Primo star 5, збільшення x1000)

Fig. 10. Morphology of mycobacteria cells of strain V8: a) after 5 days; b) after 8 days; c) after 14 days (Gram stain, Zeiss Primo star 5 microscope, magnification x1000)

На пізніх стадіях розвитку, під час формування плодових тіл, клітини ставали коротшими і товстішими, знижувалася їх рухливість, відзначали варіативність інтенсивності забарвлення що проявлялася у частковій невиразності кольору та появи нерівномірно забарвлених клітин, частина клітин трансформувалася в округлі або овальні мікроспори (рис. 10в). Отже, у процесі культивування міксобактерій спостерігаються послідовні зміни морфології

клітин – від рухливих паличкоподібних вегетативних клітин на початкових етапах росту до формування клітинних агрегатів і подальшої диференціації частини клітин у мікроспори на пізніх стадіях розвитку.

У природних біотопах Одеської затоки Чорного моря виявлено та виділено представників міксобактерій, що свідчить про важливу роль чорноморської екосистеми як джерела цієї групи бактерій. Ефективність ізоляції міксобактерій значною мірою визначається типом субстрату та складом живильного середовища; найбільш результативним джерелом виявилися зразки макроводоростей і використання WAT-агару на основі морської води.

Виділені штами характеризуються значним різноманіттям культуральних і морфологічних ознак, включаючи варіабельність морфології колоній і клітин, характер ковзного руху та формування плодових тіл.

Дослідження проведені за фінансової підтримки в рамках виконання завдань НДР (номер держреєстрації 0125U001707). Дослідження мікроскопічних зразків проводили з використанням обладнання Центру колективного користування науковим обладнанням ОНУ за напрямом «Морська біологія, екологія та біотехнологія».

ISOLATION AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MYXOBACTERIA FROM BIOTOPES OF THE ODESA BAY, BLACK SEA

V. Y. Ivanitsa <https://orcid.org/0009-0000-0443-7283>
 M. M. Chaban <https://orcid.org/0000-0002-1306-9993>
 G. V. Lisiutin <https://orcid.org/0009-0006-4470-9857>
 O. O. Kovtun <https://orcid.org/0000-0001-8820-5606>
 I. V. Strashnova <https://orcid.org/0000-0002-4264-466X>

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

Summary

*Myxobacteria isolated from marine environments represent a promising natural source of unique biologically active secondary metabolites. **Aims.** To isolate myxobacteria in pure cultures from natural biotopes of the Black Sea and to investigate their morphological characteristics. **Methods.** Samples of marine sediment, pier biofouling, mussels, and macroalgae were used for the isolation of myxobacteria. Isolation was carried out on different modifications of WAT agar using *Escherichia coli* as bait. Culture purification was carried out by repeated subculturing and heat treatment of fruiting bodies. Cultural and morphological characteristics were studied on VY/2 agar and in CY/H broth using light microscopy. **Results.** From 35 examined samples of marine substrates, 91 bacterial isolates exhibiting characteristics typical of myxobacteria were obtained, of which 35 were successfully purified to pure cultures. The highest number of isolates was recovered from macroalgae samples. The most effective isolation medium was WAT agar prepared with filtered seawater. The studied strains exhibited considerable phenotypic diversity manifested in variability of colony morphology,*



gliding motility, and fruiting body morphogenesis. Conclusions. The obtained results indicate a considerable diversity of myxobacteria in marine biotopes of the Black Sea and justify further investigation of their biosynthetic potential as a source of novel biologically active compounds.

Keywords: marine biotopes, Black Sea, myxobacteria, isolation, diversity, morphological characteristics.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Іваніца В. Ю., Страшнова І. В. Морські міксобактерії – унікальна група з високим біосинтетичним потенціалом. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2025. № 3(65). С. 78–111. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2025.3\(65\).344039](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2025.3(65).344039)
2. Albataineh H., Stevens D. C. Marine myxobacteria: a few good halophiles. *Mar. Drugs*. 2018. Vol. 16(6). Article 209. <https://doi.org/10.3390/md16060209>
3. Arakal B. S., Rowlands R. S., Maddocks S. E., Whitworth D. E., James P. E., Livingstone P. G. Myxobacteria from soil can substantially reduce the bacterial load in a wound infection model. *Journal of Applied Microbiology*. 2025. Vol. 136, iss. 1. Article lxae315. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae315>
4. Charousová I., Medo J., Javoreková S. Isolation, antimicrobial activity of myxobacterial crude extracts and identification of the most potent strains. *Arch Biol Sci*. 2017. Vol. 69, iss. 3. P. 561–568. <https://doi.org/10.2298/ABS161011132C>
5. Dávila-Céspedes A., Hufendiek P., Crüsemann M., Schäberle T.F., König G.M. Marine-derived myxobacteria of the suborder Nannocystineae: an underexplored source of structurally intriguing and biologically active metabolites. *Beilstein J. Org. Chem*. 2016. Vol. 12. P. 969–984. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.96>
6. Dawid W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiol. Rev*. 2000. Vol. 24(4). P. 403–427. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00548.x>
7. Garcia R., La Clair J.J., Müller R. Future directions of marine myxobacterial natural product discovery inferred from metagenomics. *Mar Drugs*. 2018. Vol. 16(9). Article 303. <https://doi.org/10.3390/md16090303>
8. Gemperlein K., Zaburanyi N., Garcia R., La Clair J.J., Müller R. Metabolic and biosynthetic diversity in marine myxobacteria. *Mar Drugs*. 2018. Vol. 16, iss. 9. Article 314. <https://doi.org/10.3390/md16090314>
9. Hu W., Wang J., McHardy I., Lux R., Yang Z. et al. Effects of exopolysaccharide production on liquid vegetative growth, stress survival, and stationary phase recovery in *Myxococcus xanthus*. *J Microbiol*. 2012. Vol. 50, iss. 2. P. 241–248. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1349-5>
10. Hu W., Gibiansky M. L., Wang J., Wang C., Lux R., Li Y., Wong G. C. L., Shi W. Interplay between type IV pili activity and exopolysaccharides secretion controls motility patterns in single cells of *Myxococcus xanthus*. *Sci Rep*. 2016. Vol. 6. Article 17790. <https://doi.org/10.1038/srep17790>



11. Khan T. T., Murphy P., Zhang J., Igoshin O. A., Welch R. D. Genetic and environmental determinants of streaming and aggregation in *Myxococcus xanthus*. *Sci Rep*. 2025. Vol. 15, iss. 1. Article 30673. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-15915-8>
12. Li Y. Z., Hu W., Zhang Y. Q., Qiu Z. J., Zhang Y., Wu B. H. A simple method to isolate salt-tolerant myxobacteria from marine samples. *J Microbiol Methods*. 2002. Vol. 50, iss. 2. P. 205–209. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(02\)00029-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(02)00029-5)
13. Li Z., Zgang L., Ye X., Huang Y., Ji Y., Li Y., Wall D., Cui Z. Myxobacteria: Versatile cell factories of novel commercial enzymes for bio-manufacturing. *Biotechnology Advances*. 2025. Vol. 82. Article 108594. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2025.108594>
14. Liu L, Xu F, Lei J, Wang P, Zhang L, Wang J, Zhao J, Mao D, Ye X, Huang Y, Hu G, Cui Z and Li Z. Genome analysis of a plasmid-bearing myxobacterium *Myxococcus* sp. strain MxC21 with salt-tolerant property. *Front Microbiol*. 2023. Vol. 14. Article 1250602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1250602>
15. Meng K., Jiang W., Cai H., Yang Z., Yuan Y., Su Z. Diversity of myxobacteria isolated from Weizhou Island, Guangxi, and their potential biological activities. *Arch Biol Sci*. 2025. Vol. 77, iss. 5. P. 123–136. <https://doi.org/10.2298/ABS250324010M>
16. Moghaddam A. J., Crüsemann M., Alanjary M., Harms H., Dávila-Céspedes A., Blom J., Poehlein A., Ziemert N., König G. M., Schäberle T. F. Analysis of the genome and metabolome of marine myxobacteria reveals high potential for biosynthesis of novel specialized metabolites. *Sci Rep*. 2018. Vol. 8, iss. 1. Article 16600. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34954-y>
17. Mohr K. I., Stechling M., Wink J., Wilharm E., Stadler M. Comparison of myxobacterial diversity and evaluation of isolation success in two niches: Kiritimati Island and German compost. *Microbiologyopen*. 2016. Vol. 5, iss. 2. P. 268–278. <https://doi.org/10.1002/mbo3.325>
18. Mohr K. I., Zindler T., Wink J., Wilharm E., Stadler M. Myxobacteria in high moor and fen: an astonishing diversity in a neglected extreme habitat. *Microbiologyopen*. 2017. Vol. 6, iss. 4. Article e00464. <https://doi.org/10.1002/mbo3.464>
19. Muñoz-Dorado J., Marcos-Torres F. J., García-Bravo E., Moraleda-Muñoz A., Pérez J. Myxobacteria: moving, killing, feeding, and surviving together. *Front Microbiol*. 2016. Vol. 7. Article 781. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00781>
20. Murphy P., Comstock J., Khan T., Zhang J., Welch R., Igoshin O.A. Cell behaviors underlying *Myxococcus xanthus* aggregate dispersal. *mSystems*. 2023. Vol. 8 (5). Article e0042523. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00425-23>
21. Nguyen T. V. Preparation of artificial sea water (ASW) for culturing marine bacteria. 2018. ResearchGate Lab. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20641.71528>



22. Padmanabhan S., Monera-Girona A. J., Pérez-Castaño R., Bastida-Martínez E., Pajares-Martínez E., Bernal-Bernal D., Galbis-Martínez M. L., Polanco M. C., Iniesta A. A., Fontes M., Elías-Arnanz M. Light-triggered carotenogenesis in *Myxococcus xanthus*: new paradigms in photosensory signaling, transduction and gene regulation. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9, iss. 5. Article 1067. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051067>
23. Pérez-Burgos M., García-Romero I., Jung J., Schander E., Valvano M. A., Søgaard-Andersen L. Characterization of the exopolysaccharide biosynthesis pathway in *Myxococcus xanthus*. *J Bacteriol*. 2020. Vol. 202, iss. 19. Article e00335-20. <https://doi.org/10.1128/jb.00335-20>
24. Ritchie L. J., Curtis E. R., Murphy K. A., Welch R. D. Profiling *Myxococcus xanthus* swarming phenotypes through mutation and environmental variation. *J Bacteriol*. 2021. Vol. 203, iss. 23. Article e0030621. <https://doi.org/10.1128/jb.00306-21>
25. Rouhizohrab N., Mohammadipناه F. Suppression of predominant interfering bacteria in the purification process of myxobacteria. *Iran J Microbiol*. 2022. Vol. 14, iss. 5. P. 721–729. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i5.10968>
26. Saggi S. K., Nath A., Kumar S. Myxobacteria: biology and bioactive secondary metabolites. *Research in Microbiology*. 2023. Vol. 174, iss. 7. Article 104079. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104079>
27. Schäberle T. F., Goralski E., Neu E., Erol Ö., Hölzl G., Dörmann P., Bierbaum G., König G. M. Marine myxobacteria as a source of antibiotics – comparison of physiology, polyketide-type genes and antibiotic production of three new isolates of *Enhygromyxa salina*. *Mar Drugs*. 2010. Vol. 8, iss. 9 P. 2466–2479. <https://doi.org/10.3390/md8092466>
28. Shimkets L. J., Dworkin M., Reichenbach H. The Myxobacteria. *The Prokaryotes* / eds.: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, E. Stackebrandt. Springer : New York, NY, 2006. P. 31–115. https://doi.org/10.1007/0-387-30747-8_3
29. Sun Y., Feng Z., Tomura T., Suzuki A., Miyano S., Tsuge T., Mori H., Suh J.-W., Iizuka T., Fudou R., Ojika M. Heterologous production of the marine myxobacterial antibiotic haliangicin and its unnatural analogues generated by engineering of the biochemical pathway. *Sci Rep*. 2016. Vol. 6. Article 22091. <https://doi.org/10.1038/srep22091>
30. Wang C.-Y., Hu J.-Q., Wang D.-G., Li Y.-Z., Wu C. Recent advances in discovery and biosynthesis of natural products from myxobacteria: an overview from 2017 to 2023. *Nat. Prod. Rep*. 2024. Vol. 41. P. 905–934. <https://doi.org/10.1039/D3NP00062A>
31. Zhang W., Wang Y., Lu H., Liu Q., Wang C., Hu W., Zhao K. Dynamics of solitary predation by *Myxococcus xanthus* on *Escherichia coli* observed at the single-cell level. *Appl Environ Microbiol*. 2020. Vol. 86, iss. 3. Article e02286-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02286-19>
32. Zhang L., Bao L., Li S., Liu Y., Liu H. Active substances of myxobacteria against plant diseases and their action mechanisms. *Front Microbiol*. 2024. Vol. 14. Article 1294854. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1294854>



REFERENCES

1. Ivanitsa VY, Strashnova IV. Morski miksobakterii – unikalna grupa z vysokym biosyntetychnym potentsialom [Marine myxobacteria – a unique group with high biosynthetic potential]. *Microbiology and biotechnology*. 2025;3(65):78–111. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2025.3\(65\).344039](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2025.3(65).344039) [in Ukrainian].
2. Albataineh H, Stevens DC. Marine myxobacteria: a few good halophiles. *Mar. Drugs*. 2018;16(6):209. <https://doi.org/10.3390/md16060209>
3. Arakal BS, Rowlands RS, Maddocks SE, Whitworth DE, James PE, Livingstone PG. Myxobacteria from soil can substantially reduce the bacterial load in a wound infection model. *Journal of Applied Microbiology*. 2025;136(1):lxae315. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae315>
4. Charousová I, Medo J, Javoreková S. Isolation, antimicrobial activity of myxobacterial crude extracts and identification of the most potent strains. *Arch Biol Sci*. 2017;69(3):561–568. <https://doi.org/10.2298/ABS161011132C>
5. Dávila-Céspedes A, Hufendiek P, Crüsemann M, Schäberle TF, König GM. Marine-derived myxobacteria of the suborder Nannocystineae: an underexplored source of structurally intriguing and biologically active metabolites. *Beilstein J. Org. Chem*. 2016;12:969–984. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.96>
6. Dawid W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiol. Rev*. 2000;24(4):403–427. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00548.x>
7. Garcia R, La Clair JJ, Müller R. Future directions of marine myxobacterial natural product discovery inferred from metagenomics. *Mar Drugs*. 2018;16(9):303. <https://doi.org/10.3390/md16090303>
8. Gemperlein K, Zaburanyi N, Garcia R, La Clair JJ, Müller R. Metabolic and biosynthetic diversity in marine myxobacteria. *Mar Drugs*. 2018;16(9):314. <https://doi.org/10.3390/md16090314>
9. Hu W., Wang J., McHardy I., Lux R., Yang Z. et al. Effects of exopolysaccharide production on liquid vegetative growth, stress survival, and stationary phase recovery in *Myxococcus xanthus*. *J Microbiol*. 2012;50(2):241–248. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1349-5>
10. Hu W., Gibiansky M. L., Wang J., Wang C., Lux R., Li Y., Wong G. C. L., Shi W. Interplay between type IV pili activity and exopolysaccharides secretion controls motility patterns in single cells of *Myxococcus xanthus*. *Sci Rep*. 2016;6:17790. <https://doi.org/10.1038/srep17790>
11. Khan TT, Murphy P, Zhang J, Igoshin OA, Welch RD. Genetic and environmental determinants of streaming and aggregation in *Myxococcus xanthus*. *Sci Rep*. 2025;15(1):30673. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-15915-8>
12. Li YZ, Hu W, Zhang YQ, Qiu ZJ, Zhang Y, Wu BH. A simple method to isolate salt-tolerant myxobacteria from marine samples. *J Microbiol Methods*. 2002;50(2):205–209. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(02\)00029-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(02)00029-5)



13. Li Z, Zgang L, Ye X, Huang Y, Ji Y et al. Myxobacteria: Versatile cell factories of novel commercial enzymes for bio-manufacturing. *Biotechnology Advances*. 2025;82:108594. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2025.108594>
14. Liu L, Xu F, Lei J, Wang P, Zhang L et al. Genome analysis of a plasmid-bearing myxobacterium *Myxococcus* sp. strain MxC21 with salt-tolerant property. *Front Microbiol*. 2023;14:1250602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1250602>
15. Meng K, Jiang W, Cai H, Yang Z, Yuan Y, Su Z. Diversity of myxobacteria isolated from Weizhou Island, Guangxi, and their potential biological activities. *Arch Biol Sci*. 2025;77(5):123–136. <https://doi.org/10.2298/ABS250324010M>
16. Moghaddam A. J., Crüsemann M., Alanjary M., Harms H., Dávila-Céspedes A., Blom J., Poehlein A., Ziemert N., König G. M., Schäberle T. F. Analysis of the genome and metabolome of marine myxobacteria reveals high potential for biosynthesis of novel specialized metabolites. *Sci Rep*. 2018;8(1):16600. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34954-y>
17. Mohr KI, Stechling M, Wink J, Wilharm E, Stadler M. Comparison of myxobacterial diversity and evaluation of isolation success in two niches: Kiritimati Island and German compost. *Microbiologyopen*. 2016;5(2):268–278. <https://doi.org/10.1002/mbo3.325>
18. Mohr KI, Zindler T, Wink J, Wilharm E, Stadler M. Myxobacteria in high moor and fen: an astonishing diversity in a neglected extreme habitat. *Microbiologyopen*. 2017;6(4):e00464. <https://doi.org/10.1002/mbo3.464>
19. Muñoz-Dorado J, Marcos-Torres FJ, García-Bravo E, Moraleda-Muñoz A, Pérez J. Myxobacteria: Moving, killing, feeding, and surviving together. *Front Microbiol*. 2016;7:781. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00781>
20. Murphy P, Comstock J, Khan T, Zhang J, Welch R, Igoshin OA. Cell behaviors underlying *Myxococcus xanthus* aggregate dispersal. *mSystems*. 2023;8(5):e0042523. <https://doi.org/10.1128/msystems.00425-23>
21. Nguyen TV. Preparation of artificial sea water (ASW) for culturing marine bacteria. 2018. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20641.71528>
22. Padmanabhan S, Monera-Girona AJ, Pérez-Castaño R, Bastida-Martínez E, Pajares-Martínez E, Bernal-Bernal D, Galbis-Martínez ML, Polanco MC, Iniesta AA, Fontes M, Elías-Arnanz M. Light-triggered carotenogenesis in *Myxococcus xanthus*: new paradigms in photosensory signaling, transduction and gene regulation. *Microorganisms*. 2021;9(5):1067. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051067>
23. Pérez-Burgos M, García-Romero I, Jung J, Schander E, Valvano MA, Søgaard-Andersen L. Characterization of the exopolysaccharide biosynthesis pathway in *Myxococcus xanthus*. *J Bacteriol*. 2020;202(19):e00335-20. <https://doi.org/10.1128/jb.00335-20>
24. Ritchie LJ, Curtis ER, Murphy KA, Welch RD. Profiling *Myxococcus xanthus* swarming phenotypes through mutation and environmental variation. *J Bacteriol*. 2021;203(23):e0030621. <https://doi.org/10.1128/jb.00306-21>



25. Rouhizohrab N, Mohammadipanah F. Suppression of predominant interfering bacteria in the purification process of myxobacteria. *Iran J Microbiol.* 2022;14(5):721–729. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i5.10968>
26. Saggi SK, Nath A, Kumar S. Myxobacteria: biology and bioactive secondary metabolites. *Research in Microbiology.* 2023;174(7):104079. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104079>
27. Schäberle TF, Goralski E, Neu E, Erol O, Hölzl G et al. Marine myxobacteria as a source of antibiotics – comparison of physiology, polyketide-type genes and antibiotic production of three new isolates of *Enhygromyxa salina*. *Mar Drugs.* 2010;8(9):2466–2479. <https://doi.org/10.3390/md8092466>
28. Shimkets LJ, Dworkin M, Reichenbach H. The Myxobacteria. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editors. *The Prokaryotes*. Springer: New York, NY; 2006. p. 31–115. https://doi.org/10.1007/0-387-30747-8_3
29. Sun Y, Feng Z, Tomura T, Suzuki A, Miyano S, Tsuge T, Mori H, Suh J.-W, Iizuka T, Fudou R, Ojika M. Heterologous production of the marine myxobacterial antibiotic haliangicin and its unnatural analogues generated by engineering of the biochemical pathway. *Sci Rep.* 2016;6:22091. <https://doi.org/10.1038/srep22091>
30. Wang C-Y, Hu J-Q, Wang D-G, Li Y-Z, Wu C. Recent advances in discovery and biosynthesis of natural products from myxobacteria: an overview from 2017 to 2023. *Nat. Prod. Rep.* 2024;41:905–934. <https://doi.org/10.1039/D3NP00062A>
31. Zhang W, Wang Y, Lu H, Liu Q, Wang C, Hu W, Zhao K. Dynamics of solitary predation by *Myxococcus xanthus* on *Escherichia coli* observed at the single-cell level. *Appl Environ Microbiol.* 2020;86(3):e02286-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02286-19>
32. Zhang L, Bao L, Li S, Liu Y, Liu H. Active substances of myxobacteria against plant diseases and their action mechanisms. *Front Microbiol.* 2024;14:1294854. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1294854>

Стаття надійшла до редакції 19.03.2026

Стаття затверджена до друку 08.04.2026

Стаття опублікована 29.05.2026



ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ДІАГНОСТИКА УРАЖЕНОСТІ ЗБУДНИКОМ ФІТОПЛАЗМОВОЇ ІНФЕКЦІЇ РОСЛИН *BERBERIS THUNBERGII* DC

¹Л. О. Конуп <https://orcid.org/0000-0002-1102-1697>

²М. Й. Піковський <https://orcid.org/0000-0003-0689-604X>

¹В. Л. Чистякова <https://orcid.org/0000-0002-1453-0796>

¹А. І. Конуп <https://orcid.org/0000-0002-8717-3136>

¹Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства імені В. С. Таїрова» НААН України,
вул. Перемоги, 27, м. Одеса, 65496, Україна,
e-mail: lkmicrobiol@ukr.net

²Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

За шкідливістю фітоплазмової інфекції рослин відносяться до катастрофічних захворювань, які часто приймають характер епіфітотій. Фітоплазма пов'язана із хворобами декількох видів рослин, серед них особливе місце займає барбарис, останнім часом виявлено ураження цим збудником інших рослин, таких як яблуні, груші, айстри, селера і список цих рослин постійно зростає. Ця інфекція знижує врожай багатьох важливих сільськогосподарських культур у всьому світі. За останні роки відбувається значне поширення фітоплазмової інфекції на різні рослини, які раніше не уражувалися цим збудником. Тому питання виявлення та ідентифікації збудника цієї хвороби різних рослин є досить актуальним. **Мета роботи** — виявити та ідентифікувати збудника у хворих рослин барбарису (*Berberis thunbergii* DC). **Матеріали і методи.** У роботі проводили візуальне обстеження кущів рослин. Для діагностики виявлених рослин з характерними симптомами і ідентифікації збудника використовували молекулярно-генетичний метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі. Дослідження проводили відповідно до атестованої методики з використанням обладнання ПЛР-лабораторії. В роботі використовували як універсальні тест-набори для виявлення фітоплазми, так і підібрані праймери і умови проведення ПЛР. **Результати.** Було обстежено 17 кущів рослин *Berberis thunbergii* DC, п'ять з них мали характерні симптоми фітоплазмової інфекції, а саме: аномальне видовження міжвузля, загальне пригнічення рослин, знебарвлювання листків або пагонів, скручування листків, кущистість наприкінці зростання пагонів і загальне пригнічення. За результатами лабораторного випробування методом ПЛР було ідентифіковано збудника фітоплазмової інфекції. **Висновки.** Вперше в Україні було виявлено і ідентифіковано збудника фітоплазмової хвороби на рослині *Berberis thunbergii* DC з симптомами ураження цією хворобою. Було підібрано концентрації праймерів і флуоресцентного зонду, умови проведення ПЛР реакції для визначення збудника.

Ключові слова: фітоплазма, ПЛР, *Berberis thunbergii* DC, хвороби рослин.

© Л. О. Конуп, М. Й. Піковський, В. Л. Чистякова, А. І. Конуп, 2026



Це стаття відкритого доступу за ліцензією [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



Серед небезпечних хвороб плодкових та культурних рослин особливе місце займають вірусні [11, 17], бактеріальні [1], грибні [2, 3] та фітоплазмові хвороби [1]. Вони наносять великих збитків сільському господарству. Кількість їх є значною і з кожним роком з'являються все нові форми фітопатогенів. Вони дуже впливають на якість цих рослин, продукцію сільського господарства, при цьому знижуються такі показники як цукристість, якість врожаю, зовнішній вид рослини. Останнє десятиріччя характеризується значними змінами епідеміологічної ситуації, що є наслідком антропогенного впливу на екосистеми і живі організми, що їх населяють. При цьому рівень ураження рослин збудниками хвороб, їх шкідливість і розповсюдження зростає. Фітоплазмози рослин дуже небезпечні хвороби, що призводять до великих втрат врожаю плодкових рослин. Фітоплазми — мікоплазмоподібні організми, прокаріоти, відносяться до класу *Mollicutes*, рід *Mycoplasma*. Встановлено, що деякі представники класу *Mollicutes* є збудниками більше 600 захворювань рослин [12]. За шкідливістю фітоплазмові інфекції рослин відносяться до катастрофічних захворювань, які часто приймають характер епіфітотій. Переносяться вони комахами, в яких циркулюють і розмножуються. За допомогою молекулярних методів фітоплазми було виявлено у рослинах та комах-переносниках. На основі аналізу 16S рДНК фітоплазми були класифіковані щонайменше на 15 груп та понад 38 підгруп [12, 15]. Фітоплазми, що належать до шести основних груп по 16S рПНК (16SrI, 16SrIII, 16SrV, 16SrX, 16SrXI та 16SrXII), було зареєстровано в Європі [5, 10, 12, 15, 17]. Група 16SrI (жовті айстри) є найбільшою, найрізноманітнішою та найпоширенішою групою фітоплазм [13, 15]. Симптоми ураження рослин фітоплазмами приблизно однакові і звичайно полягають у: розвитку зелених квіточок, втраті їх нормальної пігментації, стерильності, філлодіях (перетворення частини квіточки у листову структуру); утворенні «відьминих мітел» у результаті проліферації пагонів; у аномальному видовженні міжвузля, у результаті чого пагони стають тонкими; знебарвлюванні листків або пагонів; скручуванні або чашовидної форми листків; загальному пригніченні рослини незалежно від сезону почервоніння або пожовтіння листя. У ряді випадків спостерігається сильне пригнічення росту й навіть загибель рослин.

Для діагностики хвороби існують різні методи [4, 6, 7, 8, 19]. Основні проблеми щодо їх виявлення полягають у низькому титрі мікроорганізмів, залежності їх поширення в рослині від періоду вегетації і року, наявності в тканинах рослин інгібіторів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), а також використанні специфічних методів для виявлення тієї або іншої фітоплазми [14].

Метою нашої роботи було виявити і ідентифікувати збудника фітоплазмової інфекції у рослинах барбарису (*Berberis thunbergii* DC) з симптомами ураження і без них (латентну інфекцію) за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією у зв'язку з тенденцією подальшого поширення цієї хвороби.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були кущі рослини барбарису *Berberis thunbergii* DC у кількості п'яти рослин з характерними симптомами ураження



фітоплазмою і дванадцять — без них. Обстеження проводили на території передмістя м. Києва на початку літнього періоду вегетації рослин.

Зразки листя рослин барбарису для виділення ДНК фітоплазми у кількості десять штук з однієї рослини було відібрано згідно з методикою [9], які зростали в однакових умовах на території передмістя м. Києва. Відбір проб листя рослин барбарису проводили з липня по жовтень 2023 року. Наважку листових жилок — 1,5 г гомогенізували у 20 мл крижаного буфера та центрифугували протягом 5 хв. при 2500 g (4 °C) з подальшим центрифугуванням супернатанту протягом 25 хв. при 18 000 g (4 °C). Лізис проводили у модифікованому буфері СТАВ (4% СТАВ, 1% PVP 10 000, без 2-меркаптоетанолу) при 65 °C. Після екстракції хлороформом/ізоаміловим спиртом (24:1) ДНК осаджували холодним (–20 °C) ізопропанолом, інкубували при кімнатній температурі протягом 20 хв. та центрифугували протягом 15 хв. при 15 000 g. Потім осад промивали холодним 80% етанолом (–20 °C), сушили за кімнатної температури та ресуспендували у 50 мкл ТЕ-буфера (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0) протягом ночі при 4 °C [9]. Виділену ДНК використовували для подальшої ампліфікації і ідентифікації збудника методом ПЛР у реальному часі.

Ампліфікацію проводили з універсальною парою праймерів до різних ділянок геному, специфічною для фітоплазм UniRNA Forward/UniRNA Reverse і флуоресцентного зонду UniRNA Probe (FAM) [9]. Синтез праймерів було здійснено за нашим замовленням компанією «ThermoFisher Scientific». Реакційна суміш (40 мкл) складалася із 4 мкл буферу 10x для ПЛР; 1,2 мкл 1,6 mM MgCl₂; 5 мкл 2,5 mM dNTPs; 2 мкл 5 μM праймеру UniRNA Forward (aaa-tat-agt-gga-ggt-tat-cag-gga-tac-ag); 2 мкл 5 μM праймеру UniRNA Reverse (aac-cta-aca-tct-cac-gac-acg-aac-t); 2 мкл 5 μM флуоресцентного ДНК-зонду UniRNA Probe ((FAM)ac-gac-aac-cat-gca-cca(RTQ1); 0,4 мкл 5U/μl Taq ДНК-полімерази (реактиви фірми «ThermoFisher Scientific»); 22,8 мкл дейонізованої води і 2 мкл нерозведеної виділеної ДНК фітоплазми. Для збільшення виходу продукту ПЛР проводили дві ампліфікації, оскільки після першої візуально продукт ПЛР не спостерігався. Для підтвердження отриманих результатів також використовували комерційний набір для виявлення фітоплазми (Qualiplante, Франція). Протокол ампліфікації: 35 циклів: 95 °C 3 хв. — денатурації, 55 °C 1 хв. — відпалу і 72 °C 6 хв. 30 сек. — елонгації, проводили у програмованому термоциклері Rotor-Gene 6000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралія), який має роторний формат реакційного блоку. Концентрацію прямого, зворотного праймерів, флуоресцентного ДНК-зонду було підібрано емпірично. Для контролю проведення реакції використовували негативний контрольний зразок (НКЗ) — 10xПЛР-буфер і позитивний контрольний зразок (ПКЗ) — із тест-системи для визначення фітоплазми (Qualiplante, Франція). Накопичення флуоресцентного сигналу вимірювали по 5-ти каналах відповідно: FAM/Green (470 нм/510 нм), JOE/Yellow/HEX (530 нм/555 нм), ROX/Orange (585 нм/610 нм), Cy5/Red (625 нм/660 нм) — для ідентифікації вірусів і Cy3.5/ Orange (585 нм/610 нм) — для сигналу ендogenous внутрішнього контролю. Облік результатів аналізу, розрахунок порогових циклів проводили за допомогою програми Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7.



Результати та їх обговорення

Для попереднього виявлення природи хвороби в практиці рослинництва широко використовується візуальний метод, який дозволяє цілеспрямовано відібрати зразки для подальших спеціальних аналізів. Разом із тим, в окремих випадках візуальний метод може досить чітко свідчити про фітоплазмову природу хвороби. В липні 2023 року на території передмістя Києва було виявлено рослини барбарису з характерними симптомами ураження фітоплазмозом (рис. 1). Вони проявлялися у другій половині липня і посилювались до кінця вегетації.



Рис. 1. Симптоми фітоплазмозу в умовах м. Києва на початку літнього періоду вегетації рослин *Berberis thunbergii* DC

Fig. 1. Symptoms of phytoplasma disease in *Berberis thunbergii* DC under the conditions of Kyiv region at the onset of the summer growing season

Вони характеризувалися фасціацією та деформацією пагонів, укороченням міжвузлів і підвищеною куцистістю верхівок, симптомами філоїдії квіток, загальним пожовтінням та затримкою росту рослин. У всіх уражених рослин можна було спостерігати спільні ознаки, пов'язані зі специфічними змінами вегетативних та репродуктивних органів, що дозволило візуально ідентифікувати хворобу як фітоплазмозу. У природних умовах у рослин, інфікованих фітоплазмами, як правило, спостерігалися різні поєднання ознак ураження, що значною мірою пов'язано, очевидно із екологічними умовами регіону. Рослини з симптомами ураження (5 рослин) і рослини, які знаходилися поруч з ними, але без характерних симптомів (7 рослин), були використані для дослідження.

Для цього попередньо виділяли ДНК збудника, з якою проводили ампліфікацію методом ПЛР у реальному часі з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією. Проби розводили у співвідношенні 1:50. У результаті оптимізації методики кількість досліджуваної проби було зменшено до 0,5 мкл з 2 мкл, а також концентрація магнію збільшена до 3 мМ з 1,6 мМ, що привело до утворення більш чітких сигналів реакції (рис. 2).



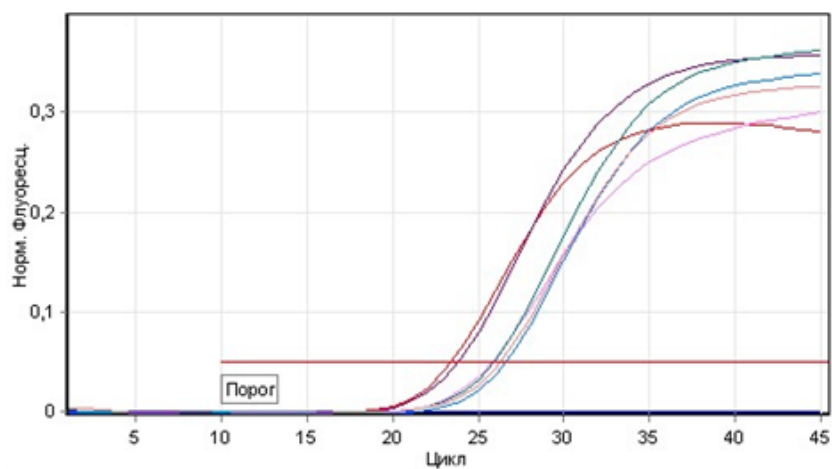


Рис. 2. Ідентифікація збудника фітоплазмової інфекції у рослин *Berberis thunbergii* DC методом ПЛР у режимі реального часу з підібраними умовами проведення реакції: 1 — ПКЗ, позитивний зразок з комерційного тест-набору для визначення фітоплазми (*Qualiplante*, Франція); 2–6 — позитивні зразки уражених фітоплазмою рослин, 7 — НКЗ (негативний контрольний зразок)

Fig. 2. Identification of the phytoplasma pathogen in *Berberis thunbergii* DC plants by real-time PCR using optimized reaction conditions: 1 — PCR (positive control), a positive sample from a commercial phytoplasma detection kit (*Qualiplante*, France); 2–6 — positive samples from phytoplasma-infected plants; 7 — NC (negative control sample)

У результаті проведеного ПЛР-аналізу встановлено, що у 5-ти рослин з характерними симптомами було виявлено позитивний сигнал на наявність збудника фітоплазмової інфекції. Ефективність ампліфікації була вищою за 89%. Для підтвердження ураженості рослин барбарису фітоплазмою провели ПЛР у реальному часі з використанням комерційного набору для виявлення збудника з універсальною парою праймерів (рис. 3).

Подальший аналіз результатів ПЛР з використанням комерційного набору (рис. 2) і підібраними умовами проведення реакції (рис. 3) підтвердив інфекцію на барбарисі. Результати показують, що розроблена система виявлення фітоплазми за допомогою ПЛР у реальному часі була дуже чутливою. Порівняння двох (або більше) діагностичних прийомів є поширеним підходом для визнання достовірності результатів і розрахунку діагностичної чутливості та специфічності.

Діагностика фітоплазмової інфекції наразі переважно базується на ПЛР у реальному часі, хоча раніше використовували звичайну ПЛР з електрофоретичною детекцією. Якість та кількість ізольованої ДНК значно впливають на ідентифікацію збудника. Моніторинг значень C_t ендогенних контролів дозволяє оцінити якість отриманих результатів. Таким чином, за допомогою ПЛР у реальному часі з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією можна ідентифікувати кожну реакцію з низькою кількістю ДНК. Вищі значення C_t були показником меншої кількості рослинної ДНК та, ймовірно, меншої кількості фітоплазматичної ДНК, присутньої в реакції. Вищі значення C_t рослинної ДНК вказують на хибнопозитивні результати ПЛР, і ДНК зразка слід

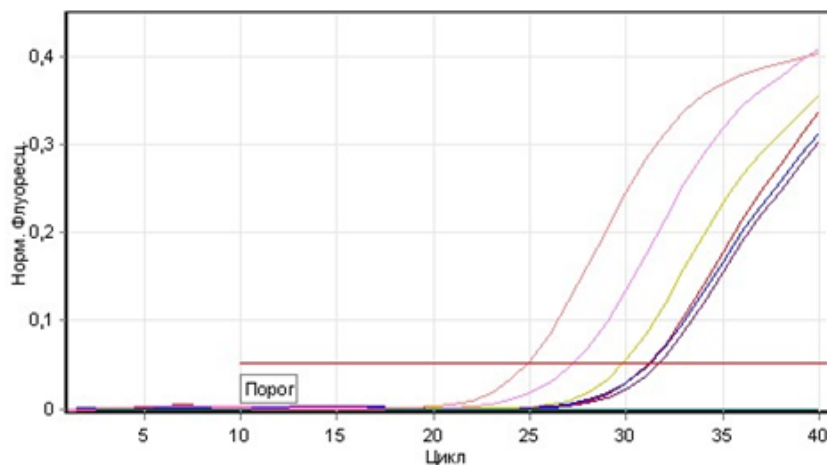


Рис. 3. Ідентифікація збудника фітоплазмозної інфекції у рослин *Berberis thunbergii* DC методом ПЛР у режимі реального часу з комерційним набором (*Qualiplante*, Франція): 1 — ПКЗ, позитивний зразок з комерційного тест-набору для визначення фітоплазми (*Qualiplante*, Франція); 2-6 — позитивні зразки уражених фітоплазмозною рослин, 7 — НКЗ (негативний контрольний зразок)

Fig. 3. Identification of the phytoplasma pathogen in *Berberis thunbergii* DC plants by real-time PCR using a commercial kit (*Qualiplante*, France): 1 — PCR (positive control), a positive sample from the commercial phytoplasma detection kit (*Qualiplante*, France); 2–6 — positive samples from phytoplasma-infected plants; 7 — NC (negative control sample)

повторно виділяти і ампліфікувати. Підвищена чутливість ПЛР у реальному часі може бути частково пов'язана з короткими ділянками цільової ДНК, які ампліфікуються в ПЛР у реальному часі на основі флуоресцентних зондів. Тому ПЛР у реальному часі можуть бути менш чутливими до деградації ДНК або інгібіторів зв'язування з ДНК, присутніх у зразках. При аналізі рослин із симптомами ураження фітоплазмозною значення C_t були високими (>30), навіть у нерозведений ДНК. Тому слід зазначити, що методом ПЛР у реальному часі з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією можна виявити фітоплазму, навіть у невеликій концентрації.

Вперше в Україні на території передмістя м. Києва було виявлено і ідентифіковано збудника фітоплазмозної хвороби на рослині *Berberis thunbergii* DC, які мали симптомами ураження фітоплазмозною.

Для ідентифікації збудника було підібрано концентрації праймерів і флуоресцентного зонду, умови проведення ПЛР. Ця інформація публікується вперше.

Аналіз підгрупи фітоплазм на основі 16S рДНК, які було виявлено у хворих рослин *Berberis thunbergii* DC, буде предметом подальших досліджень.

IDENTIFICATION AND DIAGNOSIS OF PLANTS INFECTED BY THE CAUSANT OF PHYTOPLASM INFECTION *BERBERIS THUNBERGII* DC

¹L. O. Konup <https://orcid.org/0000-0002-1102-1697>

²M. Y. Pikovskyi <https://orcid.org/0000-0003-0689-604X>

¹V. L. Chystiakova <https://orcid.org/0000-0002-1453-0796>

¹A. I. Konup <https://orcid.org/0000-0002-8717-3136>

¹National Scientific Centre “Institute of Viticulture and Winemaking named after V. E. Tairov” of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
27 Peremohy St, Odesa, 65496, Ukraine,
e-mail: lkmicrobiol@ukr.net

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
15 Heroiv Oborony St, Kyiv, 03041, Ukraine

Summary

*In terms of harmfulness, phytoplasma infections of plants are catastrophic diseases that often take the form of epiphytotia. Phytoplasma is associated with diseases of several plant species, among which barberry occupies a special place, recently other plants, such as apple trees, pears, asters, celery, have been affected by this pathogen, and the list of these plants is constantly growing. This infection reduces the yield of many important agricultural crops around the world. In recent years, there has been a significant spread of phytoplasma infection to various plants that were not previously affected by this pathogen. Therefore, the issue of detecting and identifying the causative agent of this disease of various plants is quite relevant. **Aim.** The aim of the work is to detect and identify the pathogen in diseased barberry plants. **Materials and methods.** The work involved a visual examination of plant bushes. For the diagnosis of detected plants with characteristic symptoms and identification of the pathogen, the molecular genetic method of polymerase chain reaction (PCR) in real time was used. The studies were conducted according to a certified methodology using PCR laboratory equipment. The work used both universal test kits for phytoplasma detection, and selected primers and PCR conditions. **Results.** Seventeen *Berberis thunbergii* DC bushes were examined, five of which had characteristic symptoms of phytoplasma infection, namely: abnormal elongation of the internode, general plant suppression, discoloration of leaves or shoots, leaf curling, bushiness at the end of shoot growth and general suppression. According to the results of laboratory testing by PCR, the causative agent of phytoplasma infection was identified. **Conclusions.** For the first time in Ukraine, the pathogen of phytoplasma disease was detected and identified on a *Berberis thunbergii* DC plant. with symptoms of damage by this disease. The concentrations of primers and fluorescent probe, as well as the conditions for conducting the PCR reaction to determine the pathogen, were selected. The information is published for the first time.*

Keywords: phytoplasma, PCR, Berberis thunbergii DC, plant diseases.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Конуп А. І., Мулюкіна Н. А., Конуп Л. О. Виявлення вірусних, бактеріальних і фітоплазмових хвороб виноградних рослин на виноградниках Одеської області та їхня діагностика. *Вісник аграрної науки*. 2019. Вип. 4. С. 24–29. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201904-04>
2. Піковський М. Й., Кирик М. М., Шевчук В. К., Конуп Л. О., Мельник В. І., Азаїкі С. С. Хвороби квітково-декоративних рослин : підручник. Київ : Ямчинський О. В., 2022. 379 с.
3. Піковський М. Й., Кирик М. М., Конуп Л. О. Патологія насіння сільськогосподарських культур : підручник. Київ : РВВ НУБіП України, 2023. 343 с.
4. Bejat A., Clair D., Angelini E., Boudon-Padieu E. Etude comparative de methods d'extraction et de detection moleculaire de phytoplasmes dans la pervenche de Madagascar et dans la vigne. *5eme congres de la Societe francaise de phytopathologie. Programme et resumes des communications* (Angers, France, 26–29 mars 2001). Angers, France, 2001. P. 22.
5. Bertaccini A., Vibio M., Stefani E. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 1995. Vol. 34. P. 137–141.
6. Davis M. J., Tsai O. P., Cox R. L., McDaniel L. L., Harrison N. A. Cloning of chromosomal and extrachromosomal DNA of the mycoplasma-like organism that causes maize bushy stunt disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1988. Vol. 1. P. 295–302.
7. Davis R. E., Prince O. 3., Hammond R. W., Dally E. L., Lee I.-M. Polymerase chain reaction detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organisms (MLO) and evidence for relatedness with aster yellows MLOs. *Petria*. 1992. No 2. P. 183–192
8. Davis R. E., Jomantiene R., Dally E. L. Interoperon sequence heterogeneity and differential PCR-mediated amplification of sequences from the two rRNA operons in phytoplasma. *Proceedings of the 12th International Meeting of the International Organization for Mycoplasmaology* (Sydney, Australia, 22–28 July 1998). Sydney, Australia, 1998. P. 173.
9. Hren M., Boben J., Rotter A., Kralj P., Gruden K., Ravnikar M. Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant Pathology*. 2007. Vol. 56. P. 785–796. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01688.x>
10. Kamińska M. Phytoplasma diseases of ornamental plants in Poland. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 2000. Vol. 7. P. 79–86.
11. Kovaleva I. A., Janse L. A., Konup L. A., Zelenyanskaya N. N., Vlasov V. V., Konup A. I., Muljukina N. A., Kyryk N. N., Pikovskyi M. Y. Detection of the infection of the Caberne Sauvignon variety of clone origin by grape viruses. *Cytology and Genetics*. 2022. Vol. 56, iss. 6. P. 504–512. <https://doi.org/10.3103/S0095452722060044>
12. Lee I.-M., Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E. Bartoszyk I. M. Revised classification scheme of Phytoplasmas based on RFLP analyses of 16 rRNA



- and ribosomal prosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1998. Vol. 48. P. 1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
13. Lee I.-M., Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E., Bottner K. D., Marcone C., Seemüller E. ‘Candidatus Phytoplasma asteris’, a novel phytoplasma taxon associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004. Vol. 54. P. 1037–1048. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02843-0>
 14. Lee I.-M., Davis R. Mycoplasmas. Molecular biology and pathogenicity / eds. Maniloff J. et al. Washington, DC : ASM, 1992. P. 379–390.
 15. Marcone C., Lee I.-M., Davis R. E., Ragozzino A., Seemüller E. Classification of aster yellows-group phytoplasmas based on combined analyses of RNA and tuf gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000. Vol. 50. P. 1703–1713. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1703>.
 16. Mishchenko L. T., Konup L. O., Dunich A. A., Gorobets V. F., Konup A. I., Zaimenko N. V., Kozub N. O., Dashchenko A. V., Chistyakova V. L., Shcherbakova T. O., Sovinska R. S. First report of grapevine leafroll-associated virus-3 on peony plants in Ukraine. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2023. Vol. 130. P. 189–198 <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00665-w>
 17. Samuitienė M., Navalinskienė M. Molecular detection and characterization of phytoplasma infecting *Celosia argentea* L. plants in Lithuania. *Agronomy Research*. 2006. Spec. iss. 4. P. 345–348.
 18. Samuitiene M., Navalinskiene M., Davis R. E., Jomantiene R. Molecular characterization of phytoplasmas of subgroup 16SrI–A, 16SrI–B, 16SrI–L, and 16SrI. Minfecting ornamental plants in Lithuania. *Bulletin OEPP/EPPO* 36, 2006.
 19. Schaff D., Lee I.-M., Davis R. E. Sensitive detection and identification of mycoplasma-like organisms in plants by polymerase chain reactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1992. Vol. 186, iss. 3. P. 1503–1509. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(05\)81576-1](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(05)81576-1)
 20. Seemüller E., Schneider B., Maurer R., Ahrens U., Daire X., Kison H., Lorenz K.-H., Firrao G., Avinent L., Sears B. B., Stackebrandt E. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1994. Vol. 44, iss. 3. P. 440–446. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-3-440>

REFERENCES

1. Konup AI, Mulyukina NA, Konup LO. Vyiavlennia virusnykh, bakterialnykh i fitoplazmovykh khvorob vynohradnykh roslyn na vynohradnykakh Odeskoi oblasti ta yikhnia diahnozyka [Detection of viral, bacterial and phytoplasma diseases of grape plants in vineyards of Odessa region and their diagnostics]. *Bulletin of Agricultural Science*. 2019;4:24–29. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201904-04> [in Ukrainian].



2. Pikovskyi MY, Kyryk MM, Shevchuk VK, Konup LO, Melnyk VI, Azaiki SS. Khvoroby kvitkovo-dekoratyvnykh roslyn [Diseases of flower and ornamental plants]. Kyiv: Yamchynskyi OV; 2022. 379 p. [in Ukrainian].
3. Pikovskyi MY, Kyryk MM, Konup LO. Patolohiia nasinnia silskohospodarskykh kultur [Pathology of agricultural crop seeds]. Kyiv: RVV NUBiP Ukrainy; 2023. 343 p. [in Ukrainian]
4. Bejat A, Clair D, Angelini E, Boudon-Padieu E. Etude comparative de methods d'extraction et de detection moleculaire de phytoplasmes dans la pervenche de Madagascar et dans la vigne. 5eme congres de la Societe francaise de phytopathologie. Programme et resumes des communications; Angers, France; 26–29 mars 2001. Angers, France ; 2001. p. 22.
5. Bertaccini A, Vibio M, Stefani E. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 1995;34:137–141.
6. Davis MJ, Tsai OP, Cox RL, McDaniel LL, Harrison NA. Cloning of chromosomal and extrachromosomal DNA of the mycoplasma-like organism that causes maize bushy stunt disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1988;1:295–302.
7. Davis RE, Prince O3, Hammond RW, Dally EL, Lee I-M. Polymerase chain reaction detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organisms (MLO) and evidence for relatedness with aster yellows MLOs. *Petria*. 1992; 2:183–192.
8. Davis RE, Jomantiene R, Dally EL. Interoperon sequence heterogeneity and differential PCR-mediated amplification of sequences from the two rRNA operons in phytoplasma. 12th International Organization for Mycoplasma Conference; Sydney, Australia; 22-28 July 1998. Sydney, Australia; 1998. p. 173.
9. Hren M, Boben J, Rotter A, Kralj P, Gruden K, Ravnikar M. Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant Pathology*. 2007;56:785–796. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01688.x>
10. Kamińska M. Phytoplasma diseases of ornamental plants in Poland. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 2000;7:79–86.
11. Kovaleva IA, Janse LA, Konup LA, Zelenyanskaya NN, Vlasov VV, Konup AI, Muljukina NA, Kyryk NN, Pikovskyi MY. Detection of the infection of the Caberne Sauvignon variety of clone origin by grape viruses. *Cytology and Genetics*. 2022;56(6):504–512. <https://doi.org/10.3103/S0095452722060044>
12. Lee I-M, Gundersen-Rindal DE, Davis RE, Bartoszyk IM. Revised classification scheme of Phytoplasmas based on RFLP analyses of 16 rRNA and ribosomal prosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1998;48:1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
13. Lee I-M, Gundersen-Rindal DE, Davis RE, Bottner KD, Marcone C, Seemüller E. 'Candidatus Phytoplasma asteris' a novel phytoplasma taxon



- associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004;54:1037–1048.
14. Lee I-M, Davis R. *Mycoplasmas*. Molecular Biology and Pathogenicity. Washington, DC: ASM; 1992. p. 379–390.
 15. Marccone C, Lee I-M, Davis RE, Ragozzino A, Seemüller E. Classification of aster yellows–group phytoplasmas based on combined analyses of RNA and tuf gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000;50:1703–1713. [https://doi: 10.1099/00207713-50-5-1703](https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1703)
 16. Mishchenko LT, Konup LO, Dunich AA, Gorobets VF, Konup AI, Zaimenko NV, Kozub NO, Dashchenko AV, Chistyakova VL, Shcherbakova TO, Sovinska RS. First report of grapevine leafroll-associated virus-3 on peony plants in Ukraine. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2023;130:189–198. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00665-w>
 17. Samuitienė M, Navalinskienė M. Molecular detection and characterization of phytoplasma infecting *Celosia argentea* L. plants in Lithuania. *Agronomy Research*. 2006;4:345–348.
 18. Samuitiene M, Navalinskiene M, Davis RE, Jomantiene R. Molecular characterization of phytoplasmas of subgroup 16SrI–A, 16SrI–B, 16SrI–L, and 16SrI–M infecting ornamental plants in Lithuania. *Bulletin OEPP/EPPO* 36. 2006.
 19. Schaff D, Lee IM, Davis RE. Sensitive detection and identification of mycoplasma-like organisms in plants by polymerase chain reactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1992;186(3):1503–1509. [https://doi: 10.1016/s0006-291x\(05\)81576-1](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(05)81576-1)
 20. Seemüller E, Schneider B, Maurer R, Ahrens U, Daire X, Kison H, Lorenz K-H, Firrao G, Avinent L, Sears BB, Stackebrandt E. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1994;44(3):440–446. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-3-440>

Стаття надійшла до редакції 10.03.2026
Стаття затверджена до друку 23.04.2026
Стаття опублікована 29.05.2026




ЕФЕКТИВНІСТЬ БІОЛОГІЧНИХ ТА ОРГАНО-МІНЕРАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ В СИСТЕМІ ЗАХИСТУ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ВІД ХВОРОБ

С. І. Бурикїна <https://orcid.org/0000-0002-5197-6586>
С. П. Ужєвська <https://orcid.org/0000-0002-9827-6210>
В. А. Руденко <https://orcid.org/0000-0002-8651-7689>

Одеська державна сільськогосподарська дослідна станція Інституту
кліматично орієнтованого сільського господарства НААН України
Маяцька дор., 24, смт Хлібодарське,
Одеський район, Одеська область, 67667, Україна
e-mail: burykina@ukr.net; grass_snake@ukr.net; slavic.deinos@gmail.com

Одне із найважливіших питань в адаптивній системі рослинництва це захист пшениці від шкочочинних грибних хвороб. **Мета.** Визначити ефективність біофунгіцидів на фоні передпосівного обробітку насіння пшениці озимої органо-мінеральними препаратами в зоні Південного Степу України. **Методи.** Польовий: закладання досліду, проведення обробок біопрепаратами, моніторинг, облік поширення та розвитку хвороб, статистично-розрахунковий: математична обробка результатів, розрахунок технічної ефективності. **Результати.** В період досліджень (2022–2025 рр.) найбільш поширеними хворобами рослин пшениці озимої були борошніста роса (збудник *Blumeria graminis* Speer.), бура та жовта іржі (збудники *Puccinia recondite* Rob. та *Puccinia striiformis* Westt), септоріоз (збудник *Septoria tritici* Desm.) Встановлена кореляційна залежність поширення хвороб від гідротермічних умов весняно-літньої вегетації пшениці озимої: поширення всіх хвороб, окрім септоріозу, визначалося кількістю опадів від 30,3% до 64,0%; температурні умови максимально (на 81,0–86,5%) впливали на розвиток септоріозу та жовтої плямистості, а рівень зволоження (ГТК) — від 37,2 до 41,0% детермінував розвиток іржастих патогенів. Розвиток хвороб на рослинах контрольного варіанту в середньому за роки досліджень не перевищував 10% за фазами вегетації і коливався від 2,5 до 0,6% (борошніста роса); 0,1–7,6% (піренофороз); 3,4–9,2% (септоріоз); 0,2–5,1–5,6 (іржа) та 0–3,5% (фузаріоз), а поширення хвороб складало 9,5–38,5%; 0,6–36,0%; 8,0–25,5%; 1,0–29,5% та 0–26,5%, відповідно. Максимальну технічну ефективність отримано при комбінації Триходермін + Планриз (28,9%–58,8%), залежно від виду хвороби та препарату передпосівного обробітку насіння. **Висновки.** В підходах до управління біологізацією систем захисту від хвороб для запобігання забруднення довкілля слід звернути увагу на підбір комплексу біофунгіцидів; профілактичне та системне внесення біопрепаратів за основними фазами росту; комбінування обробітку розчинами біофунгіцидів по вегетації з передпосівною інокуляцією насіння стресопротекторами та стимуляторами росту, які підсилюють дію біопрепаратів. Ефективність біологічних фунгіцидів зростає на фоні передпосівної обробки насіння препаратами.

© С. І. Бурикїна, С. П. Ужєвська, В. А. Руденко, 2026

 Це стаття відкритого доступу за ліцензією [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



ми *Seed Treatment*, *Vitazim*, *Гумiстар* в середньому на 37,2; 36,1 та 39,4%, вiдповiдно, а на фонi хiмiчного протруйника — на 44,3% проти варiанту вiдсутностi передпосiвного обробiтку. Бiологiчні препарати *Триходермiн М* + *Планриз М*, *Вiтастим БТ*, *Бiогiбервiт БТ* проявляють високу ефективнiсть на посiвах пшеницi озимої проти хвороб грибної етiологiї за умови їх системного використання впродовж всього перiоду активної весняно-лiтньої вегетацiї, але стабiльнiсть їх дiї визначається погодними умовами та препаратом передпосiвного обробiтку насiння. Найбiльш ефективним є використання сумiшi *Триходермiну М* з *Планризом М* на тлi хiмiчного протруювання, яке наближається до варiанту хiмiчного захисту; ефективнiсть *Вiтастиму БТ* та *Бiогiбервiту БТ* у порiвняннi з комплексом *Триходермiн М* + *Планриз М* несуттєво (на 2,2–4,0%) менше.

Ключовi слова: бiологiчні фунгiциди, борошниста роса, пiренофороз, септорiоз, iржа, фузарiоз.

Одне iз найважливиших питань в адаптивнiй системi рослинництва це захист пшеницi вiд грибних хвороб. Науковцi вiдмiчають, що хвороби рослин можуть виникати в усьому ланцюжку виробництва сiльськогосподарських культур i залишаються однiєю з найбільших загроз сталому розвитку суспiльства, що призводить до щорiчної втрати врожаю на 13–22% [16, 18, 19]. В епiфiтотiйнi роки втрати зростають до 40–50%, при цьому в листках уражених рослин пшеницi вiмiст хлорофiлу знижується на 19–71%, iнтенсивне дихання – на 4–17%, а iнтенсивнiсть фотосинтезу — у 4–9 разiв [1, 15]. Недобiр урожаю вiд такої хвороби, як кореневої гнилi може досягти вiд 5 до 50% i бiльше [5]. До теперiшнього часу основним методом захисту посiвiв вiд шкiдливих патогенiв є використання пестицидiв [4].

Хiмiчні препарати захисту мають негативний вплив не лише на довкiлля, але й на здоров'я людини [21]. С. Є. Окрушко та О. В. Письменний в своїх дослiдженнях наводять данi ФАО та ВООЗ: щорiчно у свiтi використовується близько 3-х млн. тонн пестицидiв, залишки яких виявляють в 40% зразкiв зерна, плодiв i овочiв; кожного року реєструється 25 млн. випадкiв отруєння пестицидами, в тому числi 20 тис. смертельних. Але стосовно впливу на здоров'я людини є данi лише про 10% хiмiчних пестицидiв, обмежена iнформацiя щодо токсичностi — для 25%, дуже обмежена iнформацiя — для 22% та iнформацiї взагалi немає — для понад 40% хiмiчних пестицидiв, якi широко та активно використовуються в сiльському господарствi [8, 9]. Для зменшення залежностi вiд токсичних синтетичних речовин, ФАО та ВООЗ рекомендують перехiд на екологiчно чистi (зеленi) методи сiльського господарства, до яких вiдноситься i бiологiчна система захисту [6].

Бiофунгiциди здебiльшого використовують для боротьби з хворобами грибової етiологiї. За даними дослiджень науковцiв степової зони України [2], технiчна ефективнiсть бiологiчних фунгiцидiв проти септорiозу становила 30,8–42,5%, бурої iржi — 17,6–44,6%, жовтої iржi — 41,7–55,0%. Iншi автори, за умови трьохразового використання препаратiв *Мiкосан* та *Триходермiн* отримали технiчну ефективнiсть на рiвнi 32–38% (септорiоз листя), 81% (бура iржа) [3]. Результати дослiджень вказаних авторiв проведенi при ураженостi рослин вiд 1,0% до 10,5% та не менш нiж 3-х кратної обробки рослин розчи-



нами біофунгіцидів. Важливість вказаних нюансів в технології використання біологічних фунгіцидів підкреслюють й інші дослідники [11, 14].

В досліджах Г. Д. Поспелової з колегами [10] виявлено фунгістатичний ефект біопрепаратів відносно збудників корневих гнилей за умови передпосівного обробітку насіння; найвищий рівень антифугальної дії проявився за комплексного використання біопрепаратів Фітоцид+Біомаг: технічна ефективність відносно корневих гнилей становила 51,8%.

Науковці відмічають, що діючий агент біофунгіцидів (ендофітні гриби) можуть діяти безпосередньо в конфронтації з патогенами, чи опосередковано, через виробництво сполук індукції стійкості рослин [17, 20]. Продукуванням індукторів стійкості рослин до хвороб пояснюють фунгістатичний ефект біопрепаратів і відносно збудників корневих гнилей [10].

Основними факторами, які визначають появу, поширення та розвиток хвороб, є наявність необхідного рівня тепла й вологи у певних фазах онтогенезу патогенів і рослини, що відмічається всіма дослідниками [7].

Динамічність погодних умов упродовж доби, сезону, року визначають мінливість та різноманіття екологічного стану, в якому розвиваються збудники хвороб рослин. На Півдні України основним чинником, що лімітує розвиток збудників хвороб є волога. Оскільки більшість років у нашій зоні є посушливими, з високою середньодобовою температурою в період із квітня до серпня, то періодичність спалахів більшості хвороб і, зокрема бурої листкової іржі, відбувається раз на п'ять років.

Метою роботи було визначити ефективність біофунгіцидів на тлі передпосівного обробітку насіння пшениці озимої органо-мінеральними препаратами в зоні Південного Степу України.

Матеріали і методи

Дослідження проводилися на науково-технічній базі Одеської державної сільськогосподарської дослідної станції Інституту кліматично орієнтованого сільського господарства НААН в с. Хлібодарське Одеського району Одеської області.

Проведення польових досліджень, розміщення дослідів в натурі, відбір зразків рослин та їх аналізування проводилося у відповідності до стандартних методик.

Польові дослід з вивчення систем захисту пшениці озимої та оцінки ефективності препаратів різного походження проти її хвороб проводили впродовж 2023–2025 років на природному фоні зараження. Захист пшениці озимої передбачав такі варіанти передпосівного обробітку насіння (фактор А): контроль без обробітку; хімічний протруйник (Вітавакс 200 ФФ), органо-мінеральні препарати (Humistar, Seed Treatment та Вітазим). Фактор Б — обробіток вегетуючих рослин: синтетичні фунгіциди та біологічні препарати (Триходермін М + Планриз М, Вітастим БТ, Біогібервіт БТ). Біофунгіциди застосовували у весняний період від початку активної вегетації до молочної стиглості у вигляді 3% розчинів по кожному варіанту передпосівного обробітку. Фази обробітку: кінець кушення (ВВСН 25–30); вихід в трубку (ВВСН–31–33); ко-



лосiння (ВВСН–55); цвiтiння (ВВСН–65); молочна стиглiсть (ВВСН–71). Розмiр елементарної дiлянки 30 м², облiкової – 23,4 м².

Вiзуальна дiагностика хвороб пшеницi озимої проводилася методом маршрутних обстежень. Поширення хвороби та ефективнiсть препаратiв встановлювали методом огляду по дiагоналi дiлянки в 10 мiсяцях по 50 рослин, розмiщених пiдряд в одному рядку [12, 13].

Коротка характеристика бiопрепаратiв фунгiцидної та комплексної дiї: Бiогiбервiт БТ — бiологiчний фунгiцид на основi мiкроорганiзмiв iз роду *Trichoderma* з титром 2,0*10⁹ КУО см³. *Vimastim БТ* — бiологiчний фунгiцид на основi мiкроорганiзмiв iз родiв *Trichoderma* та *Pseudomonas* з титром 1,0*10⁶ КУО см³. *Триходермiн М* — мiстить спори i мiцелiй гриба антагонiста *Trichoderma lignorum* Harz. *Планриз М* — мiкробiологiчний препарат з фунгiцидною дiєю на основi бактерiї *Pseudomonas fluorescens* Migula (штам AP33) з титром не нижче 4,0*10⁹ КУО/см³ i бiологiчно-активними речовинами (БАР): феназин-карбоновi кислоти, сидерофори, цитокiнiни.

Всi штами мiкроорганiзмiв, якi були використанi в дослiдженнях, пройшли гiгiєнiчне регламентування: вони депонованi в Депозитарiї Інституту мiкробiологiї i вiрусологiї iм. Д. К. Заболотного НАН, отриманi висновки щодо дослiдження їх патогенностi на моделi бiлих мишей, а препарати на їх основi безпечнi для людей, теплокровних тварин, корисної фауни та довкiлля. Всi вищезазначенi штами – бiотехнологiчнi об'єкти, що застосовуються для виробництва бiопрепаратiв фунгiцидної дiї, якi здатнi за певних умов суттєво обмежити щiльнiсть фiтопатогенiв та знизити iндекс їх шкодочинностi в агробiоценозi.

Humistar натуральний продукт, виготовлений за сучасними технологiями з леонардиту, мiстить гумiновi (165 г/л) та фульвокислоти (33 г/л). *Seed Treatment* — це органo-мiнеральне добриво на основi фульвокислот, аiно-кислот та фулерену C₆₀ для передпосiвної обробки насiння нормою 1,5–2,0 л/т. *Vimazim (Vitazyme)* вклучає натуральнi компоненти, як-то брасиностероїди, триаконтанол, вiтамiни групи В (В1, В2, В6), органiчнi кислоти (галова, глiкуронова), аiнокислоти, ензими, мiкроелементи (Cu — 0,07%, Zn — 0,06%, Fe — 0,2%) у хелатнiй формi, екстракти водоростей, лiгносульфат кальцiю та К₂O — 0,8%. При обробцi насiння норма — 1,0 л/т.

Хiмiчний фунгiцидний протруйник Вітавакс 200 ФФ застосовується для передпосiвного обробки насiння нормою 2,5–3,0 л/тонну. Дiюча речовина: карбоксил (200г/л), тирам (200 г/л). Хiмiчна група — дитiокарбамати, карбоксамiди. Клас токсичностi за класифiкацiєю ВООЗ – III.

Облiки хвороб проводили перед обробкою рослин та на 10-й день пiсля використання препаратiв; поширення хвороби та технiчну ефективнiсть обчислювали за загально прийнятими методиками i формулами [12, 13].

Результати дослiдженнь та їх обговорення

В перiод дослiдженнь (2022–2025 рр.) найбільш поширеними хворобами рослин пшеницi озимої були борошниста роса (збудник *Blumeria graminis* Speer.), бура та жовта iржi (збудники *Puccinia recondite* Rob. та *Puccinia striiformis* Wesst), септорiоз (збудник *Septoria tritici* Desm.) Погоднi умови



років досліджень дуже відрізнялися за показниками волого-температурного забезпечення і кореляційний аналіз підтвердив наявність тісного зв'язку між параметрами погоди та поширенням хвороб: поширення всіх хвороб, окрім септоріозу, визначалося кількістю опадів від 30,3% до 64,0%; температурні умови максимально (на 81,0–86,5%) впливали на розвиток септоріозу та жовтої плямистості, а рівень зволоження (ГТК) — від 37,2 до 41,0% детермінував розвиток іржастих патогенів.

Прояв більшості хвороб спостерігали з фази виходу в трубку, а борошнистої роси і септоріозу — з фази весняного кушення, що особливо помітно на варіанті чистого контролю, де не проводили ніяких захисних обробок (рис. 1).

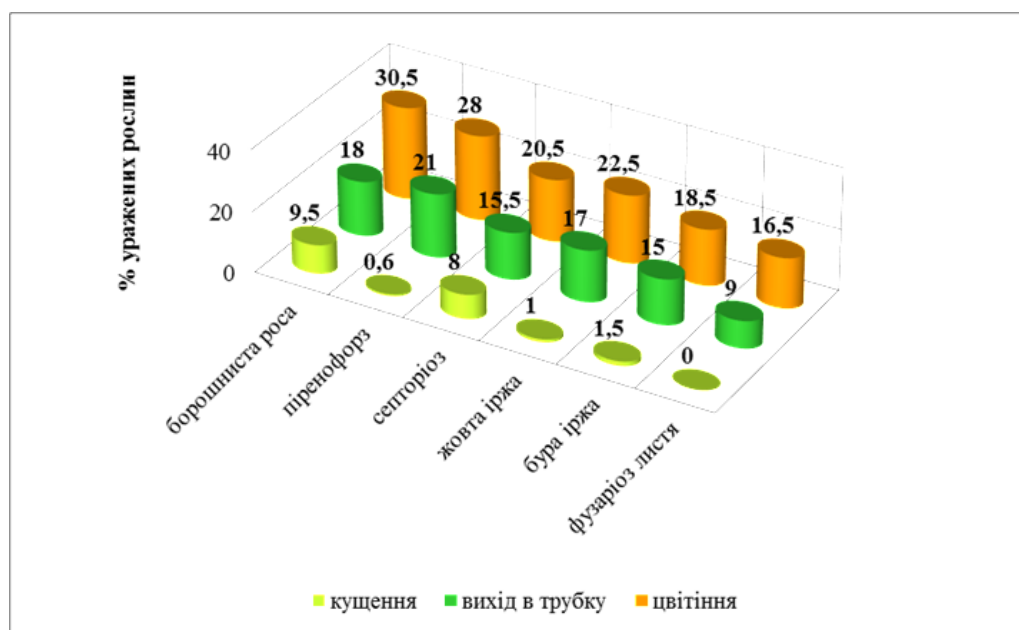


Рис. 1. Поширення хвороб у весняний період розвитку пшениці озимої (контрольний варіант)

Fig. 1. Spread of diseases in spring period of winter wheat development (control variant)

До фази молочної стиглості зерна пшениці озимої відсоток уражених рослин контрольного варіанту збільшувався і максимальна кількість рослин була уражена борошнистою росою (38,5%) та піренофорозом (36,0%) (рис. 2).

Розвиток хвороб на рослинах в середньому за роки досліджень не перевищував 10% за фазами вегетації і коливався від 2,5 до 6,4% (борошниста роса); 0,1–7,6% (піренофороз); 3,4–9,2% (септоріоз); 0,2–5,1–5,6 (іржа) та 0–3,5 (фузаріоз) (табл. 1).

При обстеженні дослідних ділянок було зафіксовано різну ступінь поширення збудників хвороб в залежності від виду обробітку препаратами перед посівом та по вегетації (рис. 3).





Рис. 2. Поширення хвороб в посiвi пшеницi озимой на початку молочної стиглостi (контрольний варiант)

Fig. 2. Spread of diseases in winter wheat crops at the beginning of milk maturity (control variant)

Таблиця 1

Розвиток хвороб на рослинах пшеницi озимой за фазами вегетацiї (варiант без обробiтку)

Table 1

Disease development of winter wheat plants by vegetation phases (no-treatment option)

Фаза вегетацiї	Борошниста роса	Пiренофорз	Септорiоз	Жовта iржа	Бура iржа	Фузарiоз листя
	% розвитку хвороби (n=50)					
Кiнець кущєння	2,5 ± 0,12	0,1 ± 0,02	3,4 ± 0,1	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0 ± 0
Вихiд в трубку	4,6 ± 0,4	5,6 ± 0,4	6,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2	1,9 ± 0,2	0,5 ± 0,1
Цвiтiння	5,6 ± 0,3	7,4 ± 0,3	8,6 ± 0,3	4,9 ± 0,2	5,1 ± 0,2	1,4 ± 0,2
Молочна стиглiсть	6,4 ± 0,2	7,6 ± 0,3	9,2 ± 0,3	5,1 ± 0,3	5,6 ± 0,3	3,5 ± 0,4

Примiтка: * — % розвитку хвороби, n = 50.
Note: * — % of disease development, n = 50.

До фази цвiтiння борошниста роса поширилася на 30% рослин контрольного варiанту. Протруєвання насiння хiмiчним препаратом Вiтавакс 200 ФФ зменшило поширення хвороби до 14,8%, а передпосiвний обробiток органо-мiнеральними препаратами Seed Treatment та Вiтазим до 18,0–18,5%. Така тенденцiя зберiгалася вiдносно всiх захворювань: при використаннi органо-мiнеральних препаратiв поширенiсть хвороби була на 5,5–7,0% вища за варiант хiмiчного протруєвання.

Загальну дiєвiсть препаратiв вiдслiдковують за їх ефективнiстю. Серед препаратiв важко видiлити бiльш ефективний, але можна вiдмитити, що усе-



реднена за біопрепаратами ефективність на тлі протруйника вище за варіант відсутності передпосівного обробітку на 44,3%, на тлі Seed Treatment, Вітазиму та Humistar — на 37,2; 36,1 та 39,4%, відповідно (рис. 4).

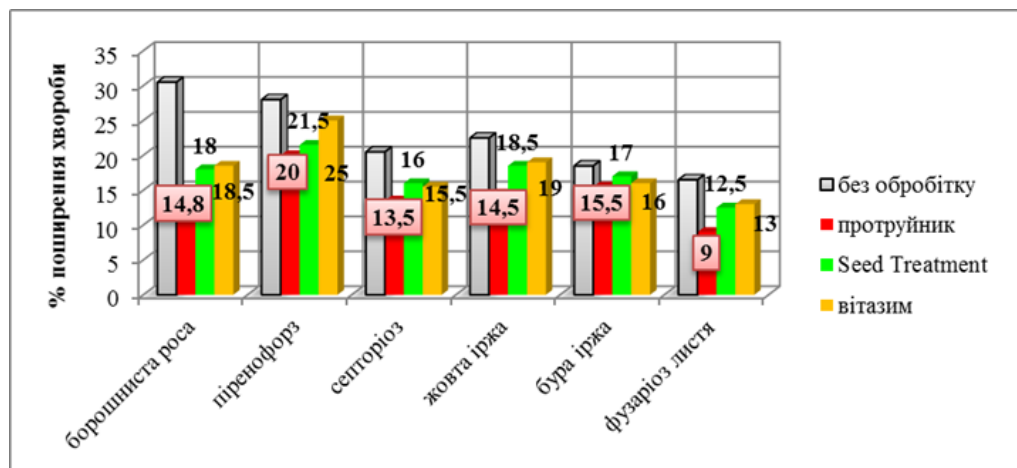


Рис. 3. Вплив передпосівного обробітку насіння пшениці озимої на поширення хвороб (фаза — цвітіння)

Fig. 3. The effect of pre-sowing treatment of winter wheat seeds on the spread of diseases (phase — flowering)

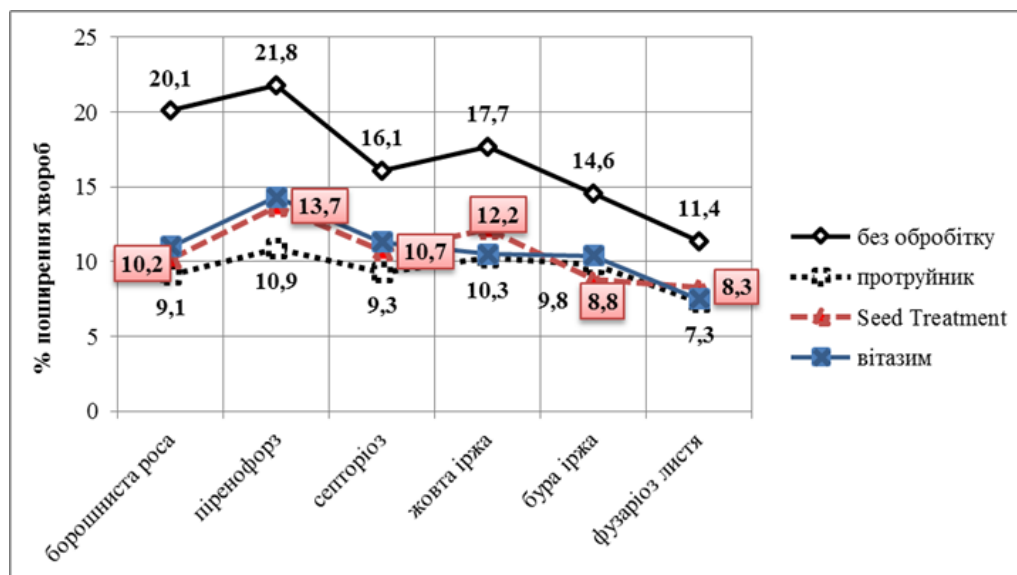


Рис. 4. Поширеність хвороб за сумісної дії передпосівного обробітку насіння пшениці озимої та обробітку по вегетації розчинами біопрепаратів (середнє за варіантами біопрепаратів, фаза — цвітіння).

Fig. 4. Disease prevalence under the combined action of pre-sowing treatment of winter wheat seeds and post-vegetation treatment with solution of biological preparations (average by biological preparation variants, phase — flowering).



Вiдзначаємо, що ефективнiсть дiї бiофунгiцидiв не була стабiльною, як за роками дослiджень, так i за фонами передпосiвного обробiтку. Так, варiабельнiсть iх дiї на тлi чистого контролю була досить велика i коливалася в iнтервалi 23,1–41,8 %, а найбільш стабiльною вона була на фонi передпосiвного обробiтку хiмiчним протруйником (коефiцiєнт варiацiї найменший — $V = 11,0\text{--}13,2\%$), а на фонi Seed Treatment, Вiтазиму займала промiжне мiсце ($V = 15,0\text{--}25,0\%$) (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив бiологiчних фунгiцидiв на поширення хвороб у фазу цвiтiння за варiантами дослiду (середнє 2023–2025 рр.)

Table 2

The impact of biological fungicides on the spread of diseases in the flowering phase by experimental options (average 2023–2025)

Фактор		Хвороба*					
А	Б	БР	ПФ	СТ	ЖІ	БІ	Ф
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль без обробки	Контроль	30,5	28,0	20,5	22,5	18,5	16,5
	Триходермін М+ Планриз М	17,7	20,5	14,6	14,0	12,5	10,8
	Вітастим БТ	20,0	23,0	17,6	20,0	15,5	11,2
	Біогібервіт БТ	22,6	22,0	16,0	19,0	15,8	12,1
	Хімічний захист	17,5	20,0	11,3	12,8	8,8	6,4
	$V, \%$ (коефiцiєнт варiацiї)	33,0	26,8	23,1	32,1	30,3	41,8
Контроль протруйвач	Контроль	14,8	20,0	13,5	14,5	15,5	9,0
	Триходермін М+ Планриз М	7,8	10,8	8,5	9,5	6,7	6,4
	Вітастим БТ	10,4	11,0	10,1	10,5	11,5	8,0
	Біогібервіт БТ	9,1	11,0	9,2	11,0	11,2	7,5
	Хімічний захист	3,5	10,5	8,8	9,2	5,4	4,0
	$V, \%$	13,2	13,0	11,0	11,5	12,5	12,0
Seed Treatment	Контроль	18,0	21,5	16,0	18,5	17,0	12,5
	Триходермін М+ Планриз М	7,5	12,5	10,0	9,5	7,0	6,8
	Вітастим БТ	11,0	14,0	11,0	12,0	9,5	9,0
	Біогібервіт БТ	12,0	14,0	11,5	15,0	10,0	9,0
	Хімічний захист	4,5	13,0	9,5	9,0	6,5	5,5
	$V, \%$	22,5	20,0	19,5	16,0	18,0	22,6
Вітазім	Контроль	18,5	25,0	15,5	19,0	16,0	13,0
	Триходермін М+ Планриз М	8,5	13,0	10,0	9,0	7,2	5,5
	Вітастим БТ	12,0	15,0	12,0	11,0	12,0	8,0
	Біогібервіт БТ	12,5	15,0	12,0	11,5	12,0	8,0
	Хімічний захист	5,5	14,0	10,0	10,0	7,0	4,0
	$V, \%$	24,0	19,0	20,0	15,5	17,0	25,0



Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6	7	8
Гумістар	Контроль	19,0	21,0	15,0	19,0	15,8	13,5
	Триходермін М+ Планриз М	8,2	11,5	11,0	9,5	8,5	6,5
	Вітастим БТ	10,5	13,5	12,0	11,0	10,0	7,0
	Біогібервіт БТ	10,5	13,0	13,0	12,5	9,5	7,0
	Хімічний захист	8,5	12,0	10,5	9,0	8,0	6,0
	V,%	21,0	17,0	21,0	16,5	15,0	20,0

Примітка: * — БР — борошниста роса; ПФ — піренофороз; СТ — септоріоз; ЖІ — жовта іржа; БІ — бура іржа; Ф — фузаріоз.

Note: * — BR — powdery mildew; PF — pyrenophorosis; ST — septoria blight; JI — yellow rust; BI — brown rust; F — fusarium wilt.

Технічна ефективність біофунгіцидів та хімзахисту на тлі варіантів обробітку насіння представлена в таблиці 3.

Слід відзначити, що в наших дослідах ефективність біологічних препаратів проти борошнистої роси, септоріозу та піренофорозу коливалася в інтервалі 25,9–58,3%, 14,1–37,5% та 17,9–48,0% і не досягала показників, отриманих також в умовах Південного Степу, авторами Т. А. Ходос та В. В. Урсал (62,5–75,0%), біозахист яких базувався на препараті Фітопсин з діючою речовиною *Pseudomonas aureofaciens* (Kluuver 1956) [14], але близькі до результатів С. О. Заєць та ін. [2]. Це свідчить про необхідність порівняльного вивчення біофунгіцидів з різними діючими агентами залежно від розвитку і поширення хвороб при змінах погоди, бажано, в умовах довгострокового дослідження.

Дія біопрепаратів на тлі Seed Treatment суттєво перевищувала чистий контроль без обробітку насіння (окрім фузаріозу) і менша за тло хімпротруювача на математично недостовірну величину. На тлі гумінового інокулянта (Гумістар) біопрепарати проявили максимальну ефективність проти борошнистої роси, піренофорозу, фузаріозу та бурої іржі (табл. 4).

При використанні по вегетуючим рослинам дія композиції Триходермін + Планриз наближається до хімзахисту проти піренофорозу, септоріозу та іржі, але поступається йому на математично суттєву різницю в боротьбі з борошнистою росю (–12,2% при НСР₀₅ по фактору Б 7,4%) та фузаріозом (–15,9% при НСР₀₅ = 9,0).

В підходах до управління біологізацією систем захисту від хвороб для запобігання забруднення довкілля слід звернути увагу на підбір комплексу біофунгіцидів; профілактичне та системне внесення біопрепаратів за основними фазами росту; комбінування обробітку розчинами біофунгіцидів по вегетації з передпосівною інокуляцією насіння стрессопротекторами та стимуляторами росту, які підсилюють дію біопрепаратів.

Ефективність біологічних фунгіцидів зростає на тлі передпосівної обробки насіння препаратами Seed Treatment, Вітазим, Гумістар в середньому на 37,2; 36,1 та 39,4%, відповідно, а на тлі хімічного протруйника — на 44,3 % проти варіанту відсутності передпосівного обробітку.



Таблиця 3

Технiчна ефективнiсть систем захисту вiд хвороб

Table 3

Technical efficiency of disease protection systems

Фактор		Хвороба *					
А	Б	БР	ПФ	СТ	ЖІ	БІ	Ф
Контроль без обробітку	Триходермін М+ Планриз М	42,0	26,8	28,8	37,8	32,4	34,5
	Вітастим БТ	34,4	17,9	14,1	11,1	16,2	32,1
	Біогібервіт БТ	25,9	21,4	22,0	15,6	14,6	26,7
	Хімічний захист	42,6	28,6	44,8	43,1	52,4	61,2
Контроль-прогрювач	Триходермін М+ Планриз М	47,3	46,0	37,0	34,5	56,8	28,9
	Вітастим БТ	29,7	45,0	25,2	27,6	25,8	11,1
	Біогібервіт БТ	38,5	45,0	31,9	24,1	27,7	16,7
	Хімічний захист	76,4	47,5	34,8	36,6	65,2	55,6
Seed Treatment	Триходермін М+ Планриз М	58,3	41,9	37,5	48,6	58,8	45,6
	Вітастим БТ	38,9	34,9	31,3	35,1	44,1	28,0
	Біогібервіт БТ	33,3	34,9	28,1	18,9	41,2	28,0
	Хімічний захист	75,0	39,5	40,6	51,4	61,8	56,0
Вітазим	Триходермін М+ Планриз М	54,1	48,0	35,5	52,6	55,0	57,7
	Вітастим БТ	35,1	40,0	22,6	42,1	25,0	38,5
	Біогібервіт БТ	32,4	40,0	22,6	39,5	25,0	38,5
	Хімічний захист	70,3	44,0	35,5	47,4	56,3	69,2
Гумістар	Триходермін М+ Планриз М	56,8	45,2	26,7	50,0	46,2	51,9
	Вітастим БТ	44,7	35,7	20,0	42,1	36,7	48,1
	Біогібервіт БТ	44,7	38,1	13,3	34,2	29,9	48,1
	Хімічний захист	55,3	42,9	30,0	52,6	49,4	55,6
HCP ₀₅ -LSD ₀₅	АБ	2,0	2,6	2,7	2,6	2,5	2,4

Примітка * — БР — борошниста роса; ПФ — піренофороз; СТ — септоріоз; ЖІ — жовта іржа; БІ — бура іржа; Ф — фузаріоз; HCP₀₅ — найменша істотна різниця при рівні значущості 0,05.

Note: * — BR — powdery mildew; ПФ — pyrenophorosis; СТ — septoria blight; ЖІ — yellow rust; БІ — brown rust; Ф — fusarium wilt; LSD₀₅ — Least Significant Difference at the 0.05 probability level.

Біологічні препарати Триходермін М + Планриз М, Вітастим БТ, Біогібервіт БТ проявляють високу ефективність на посівах пшениці озимої проти хвороб грибної етіології за умови їх системного використання впродовж всього періоду активної весняно-літньої вегетації, але стабільність їх дії визначається погодними умовами та препаратом передпосівного обробітку насіння.



Таблиця 4

Технічна ефективність препаратів за основними факторами досліду

Table 4

Technical effectiveness of drugs according to the main factors of the experiment

Варіант фактору	Борошнеста роса	Піренофороз	Септоріоз	Жовта іржа	Бура іржа	Фузаріоз
А — Передпосівний обробіток насіння						
Контроль	36,2	23,7	27,4	26,9	29,0	38,7
Протруювач	48,0	45,9*	32,2	30,7	43,9*	28,1
Seed Treatment	51,4*	37,8*	34,4*	38,5*	51,5*	39,4
Вітазим	48,0	43,0*	29,1	45,4*	40,3	51,0*
Гумістар	50,4*	40,5*	22,5	44,7*	40,5	51,0*
HCP ₀₅ -LSD ₀₅	12,2	3,4	6,7	8,9	12,4	11,6
Б — Обробіток по вегетації						
Триходермін+ Планриз	51,7*	41,6	33,1	43,4	49,9	43,7*
Вітастим	36,6*	34,7	22,6*	29,0*	29,6*	31,6*
Біогібервіт	35,0*	35,9	23,6*	24,5*	27,7*	31,6*
Хімічний захист	63,9	40,5	37,2	44,6	57,0	59,6
HCP ₀₅ -LSD ₀₅	7,4	7,1	5,1	8,9	8,6	9,0

Примітка: * — різниця математично достовірна; HCP₀₅ — найменша істотна різниця при рівні значущості 0,05.

Note: * — the difference is mathematically significant; LSD₀₅ — Least Significant Difference at the 0.05 probability level.

Найбільш ефективним є використання суміші Триходерміну М з Планризом М на фоні хімічного протруювання, яке наближається до варіанту хімічного захисту; ефективність Вітастиму БТ та Біогібервіту БТ у порівнянні з комплексом Триходермін М + Планриз М несуттєво менше (на 2,2–4,0%).



EFFICIENCY OF BIOLOGICAL AND ORGANO-MINERAL PREPARATIONS IN THE WINTER WHEAT PROTECTION SYSTEM AGAINST DISEASES

S. I. Burykina <https://orcid.org/0000-0002-5197-6586>

S. P. Uzhevskya <https://orcid.org/0000-0002-9827-6210>

V. A. Rudenko <https://orcid.org/0000-0002-8651-7689>

Odesa State Agricultural Experimental Station of the Institute
of Climate-Smart Agriculture of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
24 Mayatska Rd, Khlіbodarske village, Odesa district, Odesa region, 67667, Ukraine
e-mail: burykina@ukr.net; grass_snake@ukr.net; slaviv.deinos@gmail.com

Summary

*One of the most important issues in the adaptive crop production system is the protection of wheat from harmful fungal diseases. **Objective.** To determine the effectiveness of biofungicides against the background of pre-sowing treatment of winter wheat seeds with organo-mineral preparations in the Southern Steppe zone of Ukraine. **Methods.** Field methods: establishment of field experiments, application of biological preparations, monitoring, and assessment of disease incidence and development; statistical and analytical methods: mathematical processing of the results and calculation of technical efficiency. **Results.** During the research period (2022–2025), the most widespread diseases of winter wheat plants were powdery mildew (causative *Blumeria graminis* Speer.), brown and yellow rust (causative agents *Puccinia recondite* Rob. and *Puccinia striiformis* Wesst), and *Septoria* leaf blotch (causative *Septoria tritici* Desm.). A correlation dependence of disease spread on hydrothermal conditions during the spring–summer vegetation of winter wheat was established: the spread of all diseases, except *Septoria*, was determined by precipitation from 30.3% to 64.0%; temperature conditions had the greatest influence (81.0–86.5%) on the development of *Septoria* and yellow leaf spot, while the moisture level (hydrothermal coefficient) determined the development of rust pathogens by 37.2–41.0%. The development of diseases on plants in the control variant averaged over the years of research did not exceed 10% during vegetation phases and ranged from 2.5 to 6.6% (powdery mildew); 0.1–7.6% (pyrenophorosis); 3.4–9.2% (*Septoria*); 0.2–5.6% (rust), and 0–3.5% (*Fusarium*), while disease incidence amounted to 9.5–38.5%; 0.6–36.0%; 8.0–25.5%; 1.0–29.5%, and 0–26.5%, respectively. The maximum technical efficiency was observed for the combination *Trichodermin* + *Planriz*, which ranged from 28.9% to 58.8% depending on the disease type and the preparation used for pre-sowing seed treatment. **Conclusions.** In approaches to managing the biologization of plant protection systems in order to prevent environmental contamination, attention should be paid to the following: selection of an appropriate complex of biofungicides; preventive and systematic application of biological preparations at key growth stages; and the combination of foliar applications of biofungicides during vegetation with pre-sowing seed inoculation with stress protectors and growth stimulants that enhance the action of biological preparations. The effectiveness of biological fungicides increases against the background of pre-sowing seed treatment with *Seed Treatment*, *Vitazim*, and *Humistar* preparations by an average of 37.2%, 36.1%, and 39.4%, respectively, and by 44.3% when used against the background of chemical seed dressing compared with the variant*



without pre-sowing treatment. Biological preparations *Trichodermin M + Planriz M*, *Vitastim BT*, and *Biogibervit BT* demonstrate high efficiency in winter wheat crops against fungal diseases when systematically applied throughout the entire period of active spring–summer vegetation; however, the stability of their action is determined by weather conditions and the preparation used for pre-sowing seed treatment. The most effective approach is the use of a mixture of *Trichodermin M* with *Planriz M* against the background of chemical seed dressing, which approaches the effectiveness of chemical protection; the efficiency of *Vitastim BT* and *Biogibervit BT* compared with the *Trichodermin M + Planriz M* complex is slightly lower (by 2.2–4.0%).

Keywords: biological fungicides, powdery mildew, pyrenophorosis, *Septoria*, rust, *Fusarium*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біловус Г., Ващишин О., Пристацька О. Шкідливість грибних хвороб пшениці озимої в умовах Лісостепу Західного. *Вісник аграрної науки*. 2021. № 3(816). С. 31–38. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202103-04>
2. Заець С. О., Пілярський В. Г., Юзюк С. М. Біологічний захист рослин пшениці озимої в системі органічного виробництва. *Вісник аграрної науки*. 2024. № 12(861). С. 14–22. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202412-02>
3. Заїма О. А., Дергачов О. Л. Біологічні засоби захисту від хвороб при вирощуванні пшениці м'якої озимої. *Зернові культури*. 2023. Т. 7, № 2. С. 358–364. <https://doi.org/10.31867/2523-4544/0298>
4. Григор'єв В. М., Тарасюк В. А., Козіна Т. В. Ефективність фунгіцидів у захисті пшениці озимої від хвороб листя. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка*. 2020. Вип. 33. С. 17–22. <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2020-2-2>
5. Грицюк Н. В., Дереча О. А., Бакалова А. В., Складановська Я. М., Попелянська Т. В. Ефективність комплексного застосування препаратів різного походження проти фузаріозної кореневої гнилі пшениці озимої. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2019. № 3. С. 57–64. <https://doi.org/10.31210/visnyk2019.03.07>
6. Домарацький Є. О. Екологізація технології вирощування пшениці озимої. *Сільське господарство – 2020* : матеріали міжнар. наук.-практ. Інтернет-конф. (Миколаїв, 10 квіт. 2020 р.). Миколаїв, 2020. С. 9. URL: <http://hdl.handle.net/123456789/350>
7. Мостов'як І. І. Вплив гідротермічних чинників на поширення і розвиток хвороб в агроценозі зернових культур Правобережного Лісостепу. *Вісник Уманського національного університету садівництва*. 2020. № 1. С. 103–108. <https://doi.org/10.31395/2310-0478-2020-1-103-108>
8. Окрушко С. Є Безпека сучасних інсектицидів для корисної ентомофауни. *International independent scientific journal*. 2020. № 16. С. 6–12.
9. Письменний О. В. Екологізація інтегрованого захисту озимої пшениці в степовій зоні України. *Продовольча безпека України в умовах війни і післявоєнного відновлення: глобальні та національні виміри* : доп. учасників міжнар. наук.-практ. конф. (Миколаїв, 01–02 черв. 2023 р.).



- Миколаїв : МНАУ, 2023. С. 114–118. URL: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/14611>
10. Поспєлова Г. Д., Ковалєнко Н. П., Поспєлов С. В., Литвинєнко С. О., Сиваш К. С. Ефективнiсть застосування бiопрепаратiв на пшеницi озимiй. *Scientific Progress & Innovations*. 2024. № 27(4). С. 37–42.
 11. Рєтьман С., Ткаленко Г., Михайленко С. Бiологiчнi препарати для захисту зернових колосових вiд хвороб. *Пропозицiя*. 2017. URL: <https://propozitsiya.com/articles/ahrokhimiya-rehulatory-rostu/biopreparaty-dlya-zakhystu-zernovykh-kolosovykh-vid-khvorob> (дата звернення 04.03.2026).
 12. Трибель С. О., Гєтьман М. В., Стригун О. О., Ковалишина Г. М., Андриушенко А. В. Методологiя оцiнювання стiйкостi сортiв пшеницi проти шкiдникiв i збудникiв хвороб / за ред. С. О. Трибєля. Київ : Колобiг, 2010. 392 с.
 13. Трибель С. О., Д. Д. Сiгарьов, Секун М. П., Iвашенко О. О. Методиكي випробування i застосування пєстицидiв / за ред. С. О. Трибєля. Київ : Свiт, 2001. 448 с.
 14. Ходос Т. А., Урсал В. В. Порiвняльна ефективнiсть бiологiзованої та хiмiчної системи захисту озимої пшеницi вiд шкiдливих органiзмiв в умовах Пiвдня України. *Таврiйський науковий вiсник*. 2025. № 145, ч. 2. С. 142–148. <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2025.145.2.15>
 15. Яцух К. I., Пристацька О. Н., Нiкiшичева К. С., Тимчук I. С. Вплив комплексного застосування протруйникiв, стимуляторiв росту та мiкродобрих для передпосiвної обробки насiння на ураженiсть кореневими гнилями та продуктивнiсть пшеницi озимої. *Передгiрне та гiрське землеробство i тваринництво*. 2023. Вип. 74(1). С. 164–183. [https://doi.org/10.32636/01308521.2023-\(74\)-1-11](https://doi.org/10.32636/01308521.2023-(74)-1-11)
 16. He D. C., He M. H., Amalin D. M., Liu W., Alvindia D. G., Zhan J. Biological control of plant diseases: an evolutionary and eco-economic. *Pathogens*. 2021. Vol. 10, iss. 10. Article 1311. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101311>
 17. Kemp N. D., Vaughan M. M., Mc Cormick S. P., Brown J. A., Bakker M. G. *Sarocladium zeae* is a systemic endophyte of wheat and an effective biocontrol agent against *Fusarium* head blight. *Biological Control*. 2020. Vol. 149. Article 104329. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104329>
 18. Oerke E. C. Crop losses to pests. *Journal Agricultural Science*. 2006. Vol. 144, iss. 1. P. 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
 19. Savary S., Willocquet L., Pethybridge S. J., Esker P., McRoberts N., Nelson A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*. 2019. Vol. 3. P. 430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
 20. Shi W. Q., Xiang L. B., Yu D. Z., Gong S. J., Yang L. J. Impact of the biofungicide tetramycin on the development of *Fusarium* head blight, grain yield and deoxynivalenol accumulation in wheat. *World Mycotoxin Journal*. 2020. Vol. 13, iss. 2(12). P. 235–246. <https://doi.org/10.3920/WMJ2019.2494>
 21. Yastrub A. M., Omelchuk S. T., Blagaia A. V., Stavnichenko P. V. Hygienic regulations for the safe application of combined pesticides in the cereal crops' chemical protection system. *Wiadomości Lekarskie*. 2023. Vol. 76, iss. 2. P. 332–338. <https://doi.org/10.36740/WLek202302113>



REFERENCES

1. Bilovus H, Vashchychyn O, Prystatska O. shkidlyvist hrybnykh khvorob pshenytsi ozymoi v umovakh Lisostepu Zakhidnoho [Harmfulness of fungal diseases of winter wheat in the conditions of Western Forest Steppe]. *Visnyk Ahrarnoi Nauky*. 2021;3(816):31–38. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202103-04> [in Ukrainian].
2. Zayets SO, Pilyarskyi VH, Yuzhyuk SM. Biolohichni zakhyst Roslyn pshenytsi ozymoi orhanichnoho vyrobnytstva [Biological plant protection of winter wheat in the organic production system]. *Visnyk Ahrarnoi Nauky*. 2024;12(861):14–22. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202412-02> [in Ukrainian].
3. Zaima OA, Derhachov OL. Biolohichni zasoby zakhystu vid khvorob pry vyroshchuvanni pshenytsi miakoi ozymoi [Biologicals for protection of winter wheat from diseases during growing]. *Grain Crops*. 2023;7(2):358–364. <https://doi.org/10.31867/2523-4544/0298> [in Ukrainian].
4. Hryhoriev VM, Tarasyuk VA, Kozina TV. Efektyvnist funhitsydiv u zakhysti pshenytsi ozymoi vid khvorob lystia [Efficiency of fungicides in protection of winter wheat from leaf diseases]. *Podilian Bulletin: agriculture, engineering, economics*. 2020;33:17–22. <https://doi.org/10.37406/2706-9052-2020-2-2> [in Ukrainian].
5. Gritsyuk NV, Derecha OA, Bakalova AV, Skladanovska YaM, Popelyanska TV. Efektyvnist kompleksnoho zastosuvannya preparative riznoho pokhodzhennia proty fuzarioznoi korenevoi hnyli pshenytsi ozymoi [The effectiveness of complex applying preparations of different origin against fusarium root rot of winter wheat]. *Visnyk Poltavskoyi Derzhavnoyi Akademiyi*. 2019;3:57–64. <https://doi.org/10.31210/visnyk2019.03.07> [in Ukrainian].
6. Domaratsky EO. Ekolohizatsiia tekhnolohii vyroshchuvannya pshenytsi ozymoi [Ecologization of winter wheat growing technology]. *Silskhe gospodarstvo–2020 [Agriculture-2020]: proceedings of the international scientific and practical Internet conference; 10 April 2020: Mykolaiv. Mykolaiv; 2020. p. 9. <http://hdl.handle.net/123456789/3505> [in Ukrainian].*
7. Mostoviak II. Vplyv hidrotermichnykh chynnykiv na poshyrennia I rozvytok khvorob v ahrotsenozi zernovykh kultur pravoberezhnoho Lisostepu [The influence of hydrothermal factors on the spread and development of diseases in agrocenoses of cereals of the Right-bank Forest-Steppe]. *Bulletin of Uman National University of Horticulture*. 2020;1:103–108. <https://doi.org/10.31395/2310-0478-2020-1-103-108> [in Ukrainian].
8. Okrushko S. Bezpeka suchasnykh insektytsydiv dlia korysnoi entomofauny [Safety of current insecticides for useful entomofauna]. *International Independent Scientific Journal*. 2020;16:6–12. [in Ukrainian].
9. Pysmennyi OV. Ekolohizatsiia intehrovanoho zakhystu ozymoi pshenytsi v stepovii zoni Ukrainy [Ecologization of integrated protection of winter wheat in the Steppe zone of Ukraine]. *Prodovolcha bezpeka Ukrainy v umovakh viiny I pisliavoiennoho vidnovlennia: hlobalni ta natsionalni vymiry [Food security of Ukraine in conditions of war and post-war recovery: global and national dimensions]: reports of participants of the international scientific*



- and practical conference; 1–2 June 2023; Mykolaiv. Mykolaiv:MNAU;2023. p. 114–118. <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/14611> [in Ukrainian].
10. Pospelova G, Kovalenko N, Pospelov S, Lytvynenko S, and Syvash K. Efektyvnist zastosuvannya biopreparativ na pshenytsi ozymii [The effectiveness of using bio-preparations on winter wheat]. *Scientific Progress & Innovations*. 2024;27(4):37–42. <https://doi.org/10.31210/spi2024.27.04.07> [in Ukrainian].
 11. Retman S, Tkalenko G, Mykhailenko S. Biolohichni preparaty dlia zakhystu zernovykh kolosovykh vid khvorob [Biological preparations for the protection of cereal crops from diseases]. *Propozytsiya*. <https://propozitsiya.com/articles/ahrokhimiya-rehulatory-rostu/biopreparaty-dlya-zakhystu-zernovykh-kolosovykh-vid-khvorob> [in Ukrainian].
 12. Tribel SO, Getman MV, Stryhun OO, Kovalishina GM, Andryushenko AV. Metodolohiia otsiniuvannya stiihosti sortiv pshenytsi proty shkidnykiv i zbudnykiv khvorob [Methodology for assessing the resistance of wheat varieties to pests and pathogens]. Kyiv: Kolobig; 2010. 392 p. [in Ukrainian].
 13. Tribel SO, Sigaryova DD, Sekun MP, Ivachenko OO. Metodyky vyprobuvannya i zastosuvannya pestytsydiv [Methods of testing and application of pesticides]. Kyiv: Svit; 2001. 448 p. [in Ukrainian].
 14. Khodos TA, Ursal VV. Porivnialna efektyvnist biolohizovanoi ta khimichnoi systemy zakhystu ozymoi pshenytsi vid shkidlyvykh orhanizmiv v umovakh Pivdnia Ukrainy [Comparative effectiveness of biological and chemical protection systems for winter wheat against harmful organisms under the conditions of Southern Ukraine]. *Tavria Scientific Bulletin*. 2025;145(2):142–148. <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2025.145.2.15> [in Ukrainian].
 15. Yatsukh K, Prystatska O, Nikishycheva K, Tymchuk I. Vplyv kompleksnoho zastosuvannya protruinykiv, stymuliatoriv rostu ta mikroдобryv dlia peredposivnoi obrobky nasinnia na urazhenist korenevymy hnyliamy ta produktyvnist pshenytsi ozymoi [The influence of the complex application of poisons, growth stimulants and microfertilizers for pre-sowing seed treatment on root rot affection and productivity of winter wheat]. *Foothill and mountain agriculture and animal husbandry*. 2023;74(1):164–183. [https://doi.org/10.32636/01308521.2023-\(74\)-1-11](https://doi.org/10.32636/01308521.2023-(74)-1-11) [in Ukrainian].
 16. He DC, He MH, Amalin DM, Liu W, Alwindia DG, Zhan J. Biological control of plant diseases: an evolutionary and eco-economic consideration. *Pathogens*. 2021;10(10):1311. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101311>
 17. Kemp ND, Vaughan MM, McCormick SP, Brown JA, Bakker MG. *Sarocladium zeae* is a systemic endophyte of wheat and an effective biocontrol agent against *Fusarium* head blight. *Biological Control*. 2020;149:104329. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104329>
 18. Oerke EC. Crop losses to pests. *Journal Agricultural Science*. 2006;144:31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
 19. Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, Esker P, McRoberts N, Nelson A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*. 2019;3:430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>



20. Shi WQ, Xiang LB, Yu DZ, Gong SJ, Yang LJ. Impact of the biofungicide tetramycin on the development of Fusarium head blight, grain yield and deoxynivalenol accumulation in wheat. *World Mycotoxin Journal*. 2020;13(2(12)):235–246. <https://doi.org/10.3920/WMJ2019.2494>
21. Yastrub AM, Omelchuk ST, Blagaia AV, Stavnichenko PV. Hygienic regulations for the safe application of combined pesticides in the cereal crops' chemical protection system. *Wiadomości Lekarskie*. 2023;76(2):332–338. <https://doi.org/10.36740/WLek202302113>

Стаття надійшла до редакції 11.03.2026

Стаття затверджена до друку 21.04.2026

Стаття опублікована 29.05.2026



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

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

Вимоги до оформлення та порядок подання публікації для оприлюднення

До статті додається рекомендація установи, організації, де виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівника установи, організації, де працюють автори.

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і містити 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 наукового журналу «Мікробіологія і біотехнологія» подаються:

- експериментальні праці обсягом до 20 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату, списків літератури), список літератури не повинен перевищувати 25 джерел;
- огляди обсягом до 30 стор., список літератури не більше 100 джерел;
- рецензії – до 3 стор.,
- короткі повідомлення – до 2 стор.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, відстань між рядками 1,5 інтервали, не більше 30 рядків на сторінці, усі 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, ORCID 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);
- 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.

За необхідності висловлюється подяка співробітникам, які брали участь у зборі інформації, виконанні деяких частин дослідження тощо, але не є співавторами статті.

Текст статті має включати такі складові:

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

До кожного примірника статті додається реферат мовою українською/англійською мовами.

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 (українською та англійською мовами) має бути інформативним та 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 англомовних 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.

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

Вказати поштову та електронну адресу, науковий ступінь, вчене звання, посаду одного з авторів, відповідального за листування, для опублікування в журналі; ORCID; номери телефонів для забезпечення співпраці з авторами.

Додатково двома мовами надаються: прізвища, імена, по батькові всіх авторів, назви установ, в яких працюють автори, міста, наукові ступені, звання, посади, контактні дані. **Прізвища та імена редколегію не коригуються, друкуються в авторській редакції. Просимо перевіряти правильність написання.** Транслітерацію виконувати згідно з Постановою № 55 Кабінету Міністрів України від 27 січня 2010 р. «Про впорядкування транслітерації українського алфавіту латиницею».



Авторські тексти надсилаються в електронній формі на адресу редколегії у такий спосіб:

- через сайт журналу <http://mbt.onu.ua>
- на електронну пошту: journal.mbt@onu.edu.ua

Для прискорення публікації рекомендуємо одразу підготувати і надіслати Ліцензійний договір, підписаний усіма авторами на останній сторінці.

Звертаємо Вашу увагу на те, що договір про передачу авторських прав набуває чинності лише після прийняття статті до друку. При відхиленні статті договір автоматично втрачає силу. Підписання договору автором (авторами) означає, що він (вони) ознайомлені та погоджуються з умовами договору.

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 абрєвіатури за першого вживання пишуть у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером 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).
- Молекулярна маса (Мм).
- При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.
- Активність ферментів виражають в мкмолях 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 ммоль/хв на 1 мг протеїну.
- 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 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-наслідкові зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.

Список використаної літератури

Бібліографічні посилання оформлюються відповідно до адаптованого ДСТУ 8302:2015, зокрема в описі перед заголовком наводять прізвища усіх авторів. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку джерела кирилицею, потім — латиницею). Якщо перший автор у декількох працях той самий, такі праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань слід пронумерувати, а в тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках). В експериментальних працях має бути не більше 25 літературних джерел: в оглядах – не більше 100 джерел. Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

Транслітерований латиницею список літератури (References) оформлюється відповідно до стилю NLM (National Library of Medicine). Прізвища та ініціали авторів, назви публікацій та цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) транслітерують латиницею; після транслітерованої назви джерела у квадратних дужках наводять переклад англійською. Порядок подання посилань References (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури мовою оригіналу (список 1).

Зразки оформлення бібліографічних посилань

Відповідно до адаптованого ДСТУ 8302:2015

Книги

Мікробіологічні дослідження Чорного моря / за ред. В. О. Іваниці. Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2021. 282 с.

Федоренко Е. М., Алдошин А. В., Черенкова П. Т. Методика виробництва насіння кукурудзи : монографія. Дніпропетровськ : Акцент, 2013. 52 с.

Статті у періодичних виданнях

Страшнова І. В., Ковтун І. О., Коротаєва Н. В. Характеристика молочнокислих бактерій губок Чорного моря. Мікробіологія та біотехнологія. 2020. № 1(48). С. 79–94. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1\(48\).2015677](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1(48).2015677)

Матеріали з'їздів, конференцій

Strashnova I., Strashnova O., Vasylieva N., Shtnenikov M., Korotaieva N. Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria. Abstract book of the 9th



International Weigl Conference (Rzeszow, Poland, 27–29 June 2024). Rzeszow, 2024. P. 53–54.

Стандарти

ДСТУ 4808:2007. Джерела централізованого питного водопостачання. Гігієнічні та екологічні вимоги щодо якості води і правила вибирання. Чинний від 2007-07-05. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2007. 36 с.

Дисертації

Гончар А. М. *Bacillus subtilis*: характеристика біологічних властивостей та особливості мікробно-рослинної взаємодії в ризосфері пшениці озимої : дис. ... д-ра філос. у галузі 20 Аграрні науки та продовольство : 201. Київ, 2023. 215 с.

References (транслітерований список літератури)

Відповідно до стилю оформлення бібліографічних посилань NLM (National Library of Medicine)

Статті в періодичних виданнях

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

Klochkov VK, Kavok NS, Maluykin Yu V. The effect of specific interaction of nanocrystals $GdYVO_4:Eu^{3+}$ with cell nuclei. *Dop Nats Akad Nauk Ukr*. 2010;(10):81–86.

Книги

Kunakh VA. *Biotekhnolohiia likarskykh roslyn. Henetychni ta fiziolo-hiobkhimichni osnovy* [Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical foundations]. Kyiv: Lohos; 2005. 724 p. [in Ukrainian].

Fedorenko EM, Aldoshyn AV, Cherenkova T. *Methodology of maize seed production*. Dnipro: Aktsent; 2013. 52 p.

Матеріали з'їздів, конференцій

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

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

Дисертації

Honchar AM. *Bacillus subtilis*: kharakterystyka biolohichnykh vlastyvostei ta osoblyvosti mikrobno-roslynnoi vzaiemodii v ryzosferi pshenytsi ozymoi [PhD thesis]. Kyiv; 2023. 215 p. [in Ukrainian].



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 28.05.2026 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 7,39. Наклад 100 пр.
Зам. № 3162.

Видавець:

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
вул. Змієнка Всеволода, буд. 2, м. Одеса, 65001, Україна
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 8592 від 23.03.2026 р.
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua

**Надруковано з готового оригінал-макета
у видавництві ФОП Назарчук С. Л.**

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 7024 від 23.12.2019 р.
Фонтанська дорога, 10, м. Одеса, 65009, Україна
Тел.: +38 (050) 905 23 77
e-mail: selen_odessa@ukr.net