

РЕФЕРАТ РОБОТИ

«Хвороби сої: діагностика, біоконтроль, профілактика»,

виконаного колективом авторів у складі
в.о. н.с., к.б.н. Булигіної Тетяни Володимирівни,
пров. інж. Гнатюк Тетяни Тарасівни,
н.с. Кислинської Анни Сергіївни,
асистента, здобувача Бойко Марії Вікторівни

Актуальність теми. Соя – одна з головних білково-олійних культур із широким спектром застосування у харчовій (технологія промислової переробки сої (соевий шрот, повножирова олія)), кормовій (використання соєвого білка у складі комбикормів та шротів для відгодівлі птиці, свиней, великої рогатої худоби, овець, кіз, кролів, хутряних звірів і риби), технічній і медичній (народна, офіційна медицина) галузях. Батьківщиною сої вважають Південно-Східну Азію, а в Україні вона відома з 70-х років XIX ст. [Лихочвор В.В., 2008]. Сої немає рівних за темпами росту виробництва – за останні 60 років вони зросли у світі майже в 9 разів, тоді як пшениця – у 4,6, кукурудза – 4,3, рис – 3,4 і ячмінь – у 4,2 рази.

Вчасне та якісне оцінювання фітосанітарного стану агроценозів є основою захисту культур і технологій їх вирощування. Інтегрована система захисту польових культур включає організаційно-господарські, агротехнічні, імунологічні, біологічні та хімічні заходи і забезпечує регулювання чисельності шкочинних організмів на високому рівні [Омелюта В.П. та ін., 1986]. Фітосанітарна діагностика потребує систематичних спостережень за агроценозами, збирання та оброблення інформації [Васильєв В.В. та ін., 1993].

Поряд з цим, актуальним є питання встановлення механізмів взаємодії різноманітних бактерій із рослиною-хазяїном. Опис на молекулярному рівні різних ефектів ЛПС на рослини є необхідним кроком на шляху розуміння механізмів трансдукції сигналу, за допомогою яких ЛПС ініціює ці процеси. Це дозволить оцінити внесок ЛПС у стійкість рослин до хвороб (природних інфекцій та у біоконтролі).

В останні десятиріччя значну увагу дослідників спрямовано на такий малодосліджений процес як ендofітія ґрунтових сапротрофних грибів у корені рослин. Сапротрофні ґрунтові гриби здатні формувати ендofітні асоціації з коренями рослин і слугують джерелами природних сполук, що здійснюють різноманітний біологічний вплив на макроорганізм. Співіснування між ендofітом та рослиною хазяїном є взаємовигідним для обох партнерів [Kogel K.H. et al., 2006; Singh D.P., et al 2016]. Так, у рослин, інфікованих ендofітними грибами, активізуються метаболічні та ростові процеси, підвищується імунний статус, збільшується резистентність до стресових факторів [Arnold A.E. et al., 2003; Waller F. et al., 2005; Marquez L.M. et al, 2007]. В свою чергу, локалізація ендofітів у рослинних тканинах захищає їх від несприятливих умов навколишнього середовища, при цьому вони позбавлені конкуренції з ризосферною мікрофлорою та отримують безпосередній доступ до поживних речовин, синтезованих макроорганізмом.

Встановлено, що застосування грибів-ендофітів у сільськогосподарському виробництві відіграє важливу роль в збереженні біорізноманіття угруповань, зменшенні степені деградації ґрунтів, що викликані надмірним використанням інсектицидів. Гриби-ендофіти відіграють значну роль в захисних процесах, індукуючи імунну систему макроорганізму і, як наслідок, підвищують резистентність рослин до фітопатогенних захворювань та формують стійкість до абіотичних (засуха, низькі температури і сольовий стрес) і біотичних стресових факторів. [Arnol A.E., Herge E.A., 2003; Waller F. et al., 2005; Marquez L.M. et al., 2007; Verma V. C. et al., 2012].

Для розв'язання проблеми захисту посівів сої від хвороб за допомогою ґрунтових мікроорганізмів важливе значення має передпосівне оброблення насіння, яке підсилює активність процесу фіксації атмосферного азоту в кореневій зоні рослин у 1,5-2,2 рази і сприяє зменшенню ураженості рослин кореневими гнилями [Патика В.П. та ін., 2014]. Ще недостатньо вивчено комплексне застосування біологічних препаратів різної дії та добрив, що створені на основі вітчизняної сировини, а також їх сумісну дію при обробленні насіння і вегетуючих рослин. На основі досліджень останніх років до перспективних, з погляду створення мікробних препаратів, можна віднести бактерії роду *Bacillus*. Ці бактерії виявляють високу антагоністичну активність щодо збудників бактеріальних і грибних хвороб.

Метою роботи було проведення моніторингу хвороб сої, ідентифікації збудників, з'ясування механізмів взаємодії бактерій-збудників і рослини-хазяїна та розробка профілактичних заходів для боротьби зі шкідниками.

Відповідно до поставленої мети сформульовані наступні **завдання**:

- Провести системний моніторинг поширення збудників бактеріозів сої в кліматичних зонах України та виділити з уражених тканин штами бактерій для подальшого їх вивчення;
- Охарактеризувати морфологічні та культуральні властивості, визначити жирнокислотний склад загальних клітинних ліпідів нових ізольованих штамів *Pantoea agglomerans* у порівнянні з колекційними штамами та охарактеризувати чутливість представників основних збудників бактеріальних захворювань сої до ряду препаратів хімічного походження;
- виділити, очистити та хімічно охарактеризувати ЛПС, а також їх структурні компоненти (ліпіди А та О-специфічні полісахариди) із представників *P. agglomerans*, ізольованих з різних географічних зон та різних рослин-хазяїв;
- вивчити деякі аспекти біологічної активності ЛПС (токсичність, пірогенність, адгезивність) та оцінити вплив ЛПС *P. agglomerans* на протеолітичну активність представників роду *Bacillus*.
- виявити здатність *Chaetomium cochliodes* колонізувати кореневу зону рослин сої, дослідити метаболічну відповідь рослин сої на інтродукцію *C. cochliodes* в кореневу систему та перевірити здатність досліджених штамів цього гриба до синтезу рiстрегулюючих речовин та з'ясувати роль їх метаболітів при утворенні рослинно-мікробної асоціації;

- провести ідентифікацію штаму-продуцента *Bacillus thuringiensis* 87/3 за нуклеотидною послідовністю гена 16S рРНК і встановити його біотехнологічні перспективи та аспекти використання щодо фітопатогенних мікроміцетів роду *Fusarium*, *Venturia* ssp.

За період з 2010-2017 рр. проаналізовано 1729 зразків рослин сої з характерними бактеріальними ураженнями, з яких виділено 1271 ізолят, а після бактеріологічного аналізу відібрано 860 штамів для подальшої роботи. Спостереження за появою і поширенням захворювань на смугастість стебла проводили протягом 10 років на стаціонарних сортовипробувальних, науково-дослідних ділянках та промислових посівах Київської, Вінницької, Черкаської, Рівненської та Херсонських областях.

Перерозподіл домінантних збудників бактеріозів сої, а саме спалах її ураження збудником захворювання смугастістю стебла (до 60%) у фазу квітнення рослин вперше було зафіксовано у 2003 році у ряді областей України [Житкевич Н.В. та Жмурко Л.Г., 2005]. Системні спостереження за розвитком інфекційного процесу протягом вегетаційного періоду дозволили визначити загальні закономірності поширення збудника цього захворювання в залежності від фази розвитку рослини. Якщо більшість бактеріальних патогенів сої уражують усі наземні частини рослини, то збудник «смугастості стебла» *Pantoea agglomerans*, як видно з досліджень, уражує переважно стебла рослин. На ранніх стадіях розвитку інфекційних процесів на стеблах сої були найбільш розповсюджені основні збудники бактеріозів *P. savastanoi* рв. *glycinea* (кутаста плямистість) та *X. axonopodis* рв. *glycines* (пустульний бактеріоз), симптоми яких подібні «смугастості». Тому спостереження за поширенням цього бактеріозу постійно контролювали ізолюванням та ідентифікацією патогена.

Проведені системні спостереження за розповсюдженням збудника протягом 2003-2013 р.р. виявили спочатку повний спад ураження рослин на *Pantoea agglomerans* після зафіксованого спалаху ураження сої даним патогеном з наступним дуже помірним зростанням відсотка хворих рослин. Відмічається також, що в період спалаху ураження на *Pantoea agglomerans* затримується розвиток популяцій інших високошкодочинних збудників бактеріозів сої [Klement Z., 1983; Гнатюк Т.Т., 2005], що може бути використане при застосуванні методів біоконтролю [Kovacs N., 1956; Vanneste J.L. та Beer S.V., 1992].

Відомо, що багато процесів, які визначають біологічні особливості мікроорганізмів, характер взаємовідносин між ними, а також мікро- і макроорганізмами у біоценозах, здійснюються за участю компонентів поверхневих структур бактеріальної клітини, які безпосередньо контактують з навколишнім середовищем. Серед них особливий інтерес викликають ЛПС [Raetz C.R. та Whitfield C., 2002], які складаються з гідрофобної частини, яка вбудована у зовнішню мембрану грамнегативних бактерій — ліпід А і гідрофільної – ОГ-кору та ОПС (О-антиген), ланцюги якого подібно антенам виставлені в оточуюче середовище. Серед речовин цього класу існує величезна кількість структурних варіантів, що зумовлено, перш за все, різноманітністю

хімічного складу полісахаридної частини, а також значними відмінностями у тонкій структурі ліпиду А.

Вихід ЛПС у клітинах досліджуваних представників виду *P. agglomerans* коливався у межах від 3,4 до 14,0 %, що перевищує середні показники, характерні для інших представників *Enterobacteriaceae* (5 %), але менший, ніж у деяких штамів роду *Pseudomonas*, вихід ЛПС у яких становив до 32 %. Досліджувані препарати ЛПС, крім доволі високого вмісту вуглеводів, містили слідові кількості білка та нуклеїнових кислот. Хімічна ідентифікація досліджуваних ЛПС показала, що вони виявились гетерогенними як за моносахаридним, так і за жирнокислотним складом. Домінуючими моносахаридами у всіх досліджуваних штамів були рамноза (2,28-45,8 %), галактоза (0,8- 28,49 %) та глюкоза (1,4- 41,2 %). У складі ліпідної частини досліджуваних ЛПС було ідентифіковано насичені, мононенасичені і гідроксикислоти, їх цис- та транс-ізомери із довжиною вуглеводневого ланцюга від C₁₂ до C₁₈.

Аналізуючи отримані дані щодо структури ліпідів А досліджуваних ЛПС *P. agglomerans*, можна зробити висновок, що вони є гетерогенними і характеризувались різним ступенем ацилювання і не містять ніяких моносахаридів як замісників при C₄'. Таким чином, методами деструктивного і бездеструктивного аналізу було встановлено структури ОПС ЛПС трьох штамів *P. agglomerans*, що при подальших дослідженнях може бути використано для з'ясування механізмів взаємодії між бактеріями та рослинами-хазяїнами. Встановлено, що структура ОПС типового штаму представлена розгалуженим пентасхаридом, який складається з трьох залишків рамнози і двох залишків глюкози, один з яких знаходиться у боковому положенні у β-конфігурації. Таку саму будову мав і ОПС *P. agglomerans* 7604, тільки відрізнявся α-конфігурацією глюкози у латеральному положенні. Раніше таку ж структуру, як і для основного ланцюга досліджуваних ОПС *P. agglomerans*, було встановлено для лінійного ОПС *Serratia marcescens* O29 [Holst O. et al., 1997]. Кардинально відрізнялась від попередніх двох структура ОПС *P. agglomerans* 7969, оскільки вона була представлена лінійним гетерополімером, який складався із залишків рамнози, фукози, манози та 2-ацетамідо-2-дезоксиглюкози. Ця структура є гетерогенною внаслідок нестехіометричного заміщення залишку глюкозаміну у 6 положенні гліцеро-1-фосфатом.

Показано, що ЛПС штамів *P. agglomerans* характеризуються різним ступенем пірогенності й токсичності. З 14 вивчених ЛПС чотири виявились не пірогенними, шість – слабо пірогенними, чотири – пірогенними. За токсичністю ЛПС досліджуваних штамів *P. agglomerans* є слабо- або середньотоксичними, у порівнянні з іншими представниками родини *Enterobacteriaceae*. Встановлена здатність ЛПС *P. agglomerans* брати активну участь в адгезивних процесах. ЛПС *P. agglomerans* усіх досліджуваних штамів знижували кількість адгезованих клітин *E. coli* на еритроцитах кроля шляхом конкуренції за зв'язування з їх поверхневими структурами. Результати щодо фітотоксичності ЛПС *P. agglomerans* свідчать, що дані макромолекули при обробці насіння характеризуються різною дією на розвиток проростків у залежності від штаму,

з якого одержано ЛПС. Встановлено, що дія ЛПС на досліджувані види активності пептидаз, одержаних з різних штамів бацил, була дуже різноманітною. Цікавим є результати щодо 100 % стимуляції ЛПС *P. agglomerans* 8674^T еластолітичної активності пептидази 1 *B. thuringiensis* IMB B-7465, а також ЛПС *P. agglomerans* П324 і 8674^T, які більш ніж на 300 % підвищували фібринолітичну активність пептидази 1 *B. thuringiensis* IMB B-7324. Таким чином, вивчення дії ЛПС *P. agglomerans* на пептидази *Bacillus* свідчить про можливість їх використання як активаторів, так і інгібіторів протеолітичної активності [Дентовская С.В. и др., 2007].

Перевірка здатності гриба *C. cochliodes* 3250 утворювати просторові взаємозв'язки з сільськогосподарськими культурами показала, що даний гриб здатен утворювати ендofітні асоціації з рослинами пшениці, ячменю, жита, тритикале, кукурудзи, соняшнику, гречки та сої. З рослинами льону *C. cochliodes* 3250 ендofітних асоціацій не утворює. Всі досліджувані рослини, за виключенням льону, реагували на обробку сапротрофним грибом *C. cochliodes* 3250 з підвищенням SDH активності у кореневій зоні. Активність SDH у коренях пшениці за дії сапротрофного гриба зростала на 22 %. Передпосівна обробка грибом впливала на підвищення сукцинатдегідрогеназної активності у коренях тритикале у 3,4 рази, ячменю у 3,2 рази, соняшника 1,6 рази, жита у 3,7 разів та сої у 2,9 разів. Отримані результати корелюють і з проведеними мікроскопічними дослідженнями, що дає нам підстави пропонувати використовувати SDH як цитохімічний маркер утворення грибами ендofітних асоціацій з сільськогосподарськими культурами.

Нами встановлено екзоглюконазну, ендоглюконазну та β -глюкозидазну активність у культуральній рідині *C. cochliodes* 3250. Екзоглюконазна активність у культуральній рідині гриба становила 0,67 од./мл на 9 добу культивування. Ендоглюконази забезпечують гідроліз аморфної целюлози до целобіози (ендоглюконазна активність *C. cochliodes* 3250 складала 0,52 од./мл на 9 добу). β -глюкозидаза завершує розщеплення целюлози і забезпечує гідроліз целобіози до глюкози [Борзова Н.В., Варбанець Л.Д., 2009] (β -глюкозидазна активність *C. cochliodes* 3250 становила 1,02 од./мл на 12 добу). Таким чином, сапротрофний гриб *C. cochliodes* 3250 здатен до синтезу ферментів целюлазного комплексу, що може забезпечити його проникнення у корені рослин. Полігалактуронозна активність культуральної рідини *C. cochliodes* 3250 зумовлює процес деполімеризації адгезивного шару пектину між сусідніми стінками рослинних клітин. Найвища полігалактуронозна активність зареєстрована на 9 добу культивування мікроміцету та складала 2,95 од./мл.

Для визначення здатності *C. cochliodes* 3250 продукувати фітогормональні речовини нами досліджена загальна фітостимульвальна активність гриба на рослинах озимої пшениці. Визначено якісний і кількісний склад екзометаболітів гриба *C. cochliodes* 3250, що зумовлюють не лише його фітостимулювальну активність, а й індукцію захисних реакцій у рослин. Показано здатність гриба до синтезу таких біологічно активних речовин, як індоліл-оцтова кислота, гіберелова кислота, 2,4-епібрасинолід та попередники

його синтезу холестерол та ергостерол. Фітогормони, що продукує *C. cochliodes* 3250, можуть позитивно впливати на ріст і розвиток рослин, відігравати захисну роль у відповіді рослини на несприятливі чинники зовнішнього середовища та виступати основними сигнальними молекулами в утворенні рослинно-мікробних асоціацій.

Оцінка антифунгальних властивостей відібраного ентомопатогенного штаму *B. thuringiensis* 87/3 щодо фітопатогенних мікроміцетів у модельних дослідах показала, що його можна успішно застосовувати в системі контролю патогенів рослин, зокрема проти збудників парші кісточкових культур, а також змішаних інфекцій. На фоні численних даних про ентомотоксичні властивості штамів *B. thuringiensis* особливої уваги вимагають дослідження з селекційних відборів таких штамів, які б володіли поліфункціональними ознаками та відзначалися високою антагоністичною активністю в польових умовах. Проведені дослідження відкривають перспективи використання природних агентів біоконтролю з р. *Bacillus* для вивчення патокомплексу агроценозів з подальшою розробкою сучасних технологій створення та застосування різних препаративних форм.

Молекулярно-біологічна оцінка дає можливість на стадії лабораторного тестування штаму *Bt* 87/3 контролювати чистоту біопрепарату, відібрати зразки, що несуть ентомотоксини, а також мають набір необхідних генетичних комбінацій, які зумовлюють біологічну активність та подібні до референтних штамів.

Наукова новизна одержаних результатів.

Завдяки багаторічному моніторингу (8 років) та фітопатологічного аналізу посівів сої на стаціонарних сортовипробувальних, науково-дослідних ділянках та промислових посівах 9-ти областей України вперше виявлено перерозподіл акцентів серед видового складу збудників захворювань: поряд з типовими і поширеними збудниками бактеріальних хвороб сої (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* та *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycinea*) активується факультативний фітопатоген *Pantoea agglomerans*. За результатами аналізу жирнокислотного складу загальних клітинних ліпідів уточнено систематичне положення штамів та встановлено їхню належність до видів *P. agglomerans*. Вперше проведено скринінг хімічних пестицидів, які теоретично могли б мати пригнічуючу дію на ряд фітопатогенних бактерій збудників хвороб сої, зокрема, *Pantoea agglomerans*.

Уперше було показано, що структури ліпідів А *P. agglomerans* 8674^T, 7604 та 7969 є гетерогенними, характеризуються різним ступенем ацилювання і представлені гекса-, пента- і тетраацильними формами. Описано структури О-специфічних полісахаридів (ОПС) ЛПС двох штамів *P. agglomerans* 8674^T та 7969, які виявились унікальними і представлені як розгалуженим пента-, так і лінійним тетрасахаридами. Структура ОПС *P. agglomerans* 7604 була майже така сама, як і в ОПС типового штаму, але єдина різниця полягає у конфігурації (α - або β -, відповідно) латерального залишку глюкози. Показано, що ЛПС штамів *P. agglomerans* характеризуються різним ступенем пірогенності й токсичності. Встановлено здатність ЛПС *P. agglomerans* брати активну участь в

адгезивних процесах. Вивчення дії ЛПС *P. agglomerans* на пептидази *Bacillus* свідчить про можливість їх використання як активаторів, так і інгібіторів протеолітичної активності

Вперше показано, що сапротрофний гриб *C. cochliodes* 3250 здатен до активного синтезу ферментів целюлазного комплексу (екзоглюконази, ендоглюконази, β -глюкозидази) та полігалактуронози, що має важливе значення для проникнення мікроміцета в корені рослин. Вперше виявлено здатність гриба до синтезу ергостеролу та 2,4-епібрасиноліду, які відіграють важливу роль в захисних реакціях рослин.

Вперше проведено комплекс досліджень біологічних особливостей нового штаму ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis* 87/3, що дозволяє створювати сучасні мікробні препарати, розробляти технологічні прийоми їх виробництва та застосування в агробіоценозах. Набули подальшого розвитку дослідження ентомоцидної, антифунгальної активності біоагентів *Bacillus thuringiensis* 87/3 і 800 відносно природної популяції *Leptinotarsa decemlineata* Say., фітопатогенів р. *Fusarium*, *Venturia* ssp. Обґрунтовано техніко-економічну ефективність біотехнології отримання і застосування рідких препаративних форм на основі ендоспорового штаму *Bacillus thuringiensis* 87/3 для контролю чисельності популяції колорадського жука, перспективи розширення спектру дії на шкодочинні об'єкти.

Практичне значення одержаних результатів.

Результати багаторічного моніторингу 9 областей у різних ґрунтово-кліматичних зонах України, дозволив помітити нові тенденції у розвитку і розповсюдженні бактеріальних хвороб сої. Такий моніторинг дозволяє прогнозувати спалахи та спади хвороб сої, викликані *Pantoea agglomerans*. Розроблено таблицю симптомів ураження на смугастість стебла сої в залежності від фази розвитку рослини, що спрощує процес діагностики захворювань сої. Доповнено Колекцію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного, що становить Національне надбання України, новими високо агресивними збудниками хвороб рослин сої.

Дослідження структурних особливостей та деяких аспектів біологічної активності ЛПС необхідні для розуміння впливу ЛПС на рослину-хазяїна та механізмів їх взаємодії з метою розробки заходів щодо боротьби з бактеріальними захворюваннями і їх біоконтролю.

Обґрунтовано доцільність передпосівної обробки насіння сої мікробним препаратом «Хетомік» на основі штаму *C. cochliodes* 3250, що сприяє індукуванню системного імунітету рослини.

Продемонстровано, що новий штам *Bacillus thuringiensis* 87/3 може бути перспективним для створення екологічно чистих біопрепаратів для захисту рослин від хвороб, регулювання розвитку фітопатогенних мікроміцетів-збудників змішаних інфекцій. Результати досліджень використано для розроблення практичних напрямів розвитку агробіотехнологій для господарств Київської, Житомирської, Чернігівської областей, зокрема, в частині перевірки і впровадження препаративних форм на основі штаму *Bacillus thuringiensis* 87/3 у ТОВ «Біотех ЛТД» Бориспільського району Київської області загальною

площею обробки 25 м², Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового комплексу НААН України (Чернігівська обл., с. Прогрес, 25 м²), Житомирській філії ТОВ «АСТ» (Попільнянський район Житомирської області, 25 м²).

Висновки:

У роботі системно досліджено специфіку моніторингу хвороб сої; хімічний склад, структуру та біологічну активність ліпополісахаридів (ЛПС) представників гетерогенного виду *Pantoea agglomerans* та сформовано основні принципи та засади профілактичних заходів проти розповсюдження бактеріальних хвороб сої. Встановлені особливості складу і структури ЛПС надалі можуть бути використані для детального вивчення механізмів взаємодії клітин бактерій із рослиною-хазяїном. Отримані результати розширюють знання щодо моніторингу, діагностики та профілактики хвороб сої.

Головні наукові результати роботи викладені у наступних висновках:

1. При багаторічному системному моніторингу посівів сої в Україні виявлено перерозподіл акцентів серед видового складу збудників захворювань: поряд з типовими збудниками (*Pseudomonas. savastanoi* pv. *glycinea* та *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycinea*) активується факультативний фітопатоген *Pantoea agglomerans*. В період спалаху ураження на *Pantoea agglomerans* затримується розвиток популяцій інших високошкодочинних збудників бактеріозів сої, що може бути використане при застосуванні методів біоконтролю.

2. Виявлено, що *P. savastanoi* pv. *glycinea*, *X. axonopodis* pv. *glycinea*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* та *P. agglomerans* проявляють високу чутливість до пестициду хімічного походження «Ридоміл», крім того *P. agglomerans* є середньо чутливий до пестициду «Татту».

3. З бактеріальних клітин 14 досліджуваних штамів *P. agglomerans* виділено ЛПС, гетерогенні як за моносахаридним, так і жирнокислотним складом. Уперше встановлено, що структури ліпідів А *P. agglomerans* 8674^r, 7604 та 7969 є гетерогенними, характеризуються різним ступенем ацилювання і представлені гекса-, пента- і тетраацильними формами. Встановлені структури О-специфічних полісахаридів (ОПС) ЛПС трьох штамів *P. agglomerans* є унікальними і представлені як розгалуженим пента-, так і лінійним тетрасахаридами. Дані щодо структури ліпідів А та ОПС можуть бути використані для з'ясування механізмів взаємодії між бактеріями та рослинами-хазяїнами.

4. Встановлено, що ЛПС штамів *P. agglomerans* характеризуються різним ступенем пірогенності та токсичності. Деякі з них навіть більш пірогенні, ніж фармацевтичний препарат пірогенал, але ні один з них не досягав рівня токсичності ЛПС *E. coli* O55:B5. Показана здатність ЛПС *P. agglomerans* знижувати кількість адгезованих клітин *E. coli* на еритроцитах кроля шляхом конкуренції за зв'язування з їх поверхневими структурами.

5. Найбільш активними щодо впливу на фібринолітичну, еластазну і колагеназну активності *Bacillus* виявились ЛПС двох штамів

P. agglomerans 8674^r і П324. Це свідчить про можливість їх використання як активаторів, так і інгібіторів протеолітичної активності.

6. Ґрунтовий сапротрофний гриб *S. cochliodes* 3250 здатен активно розвиватись у кореневій зоні сільськогосподарських культур, підвищуючи активність сукцинатдегідрогенази (SDH) у коренях оброблених рослин: пшениці (у 1,2 рази), ячменю (у 3,2 рази), жита (у 3,5 разів), тритикале (у 3,4 рази), кукурудзи (у 3,2 рази), соняшника (у 1,6 разів), гречки (у 1,4 рази) та сої (у 2,9 разів). Збільшення активності SDH у коренях рослин пропонується розглядати як цитохімічний маркер утворення ендofітних асоціацій між сапротрофним грибом та рослиною.

7. Вперше показано, що *S. cochliodes* 3250 здатен продукувати 2,4-епібрасинолід (у кількості 45,71 мкг/г сухої маси та 0,011 мкг/мл культуральної рідини), який відіграє важливу роль у стійкості рослин до збудників хвороб, та ергостерол (17,88 мкг/мл культуральної рідини). Крім того, гриб синтезує фітогормональні речовини: індоліл-оцтову кислоту (24,6 мкг/г сухої маси, 8,7 мкг/мл культуральної рідини) і гіберелову кислоту (301,5 мкг/г сухої маси, 56,4 мкг/мл КР). Синтезовані грибом індоліл-3-оцтова кислота та ергостерол можуть бути основними медіаторними молекулами в утворенні симбіотичних систем *S. cochliodes* 3250 з рослинами.

8. Сапротрофний гриб *S. cochliodes* 3250 здатен до синтезу ферментів целюлазного комплексу: екзоглюконази (0,67 од/мл), ендоглюконази (0,52 од/мл), β -глюкозидази (1,02 од/мл), що може забезпечити його проникнення у корені рослин.

9. В утворенні ендofітної асоціації гриб *S. cochliodes* 3250 – рослина, значну роль може відігравати полігалактуроаза активність мікроміцета, що становить 2,95 од/мл.

10. Комплексне дослідження біотехнологічних особливостей метаболітного споро-кристалічного комплексу з поліфункціональними властивостями і біорізноманіття бактерій *Bacillus thuringiensis* є актуальним, має науково-теоретичне і практичне значення. Створення і використання мікробних препаратів поліфункціональної дії може скласти конкуренцію хімічним пестицидам не тільки в плані екологічної безпеки, а й за економічними показниками, враховуючи їх різнобічний внесок в управління життєдіяльністю рослин.

11. За молекулярно-філогенетичним аналізом послідовності гена 16S рРНК штаму 87/3 підтверджено його видову належність до *Bacillus thuringiensis*. Сиквенс 16S рРНК цього штаму задепеновано у базі GenBank (MH719010).

12. Специфічна антагоністична дія метаболітного комплексу *Bacillus thuringiensis* 87/3 проявляється щодо ґрунтової мікробіоти (на прикладі контролю мікроміцетів родів *Fusarium* та *Venturia*), ступінь інгібування проростання конідій яких коливався у межах 86,0-93,0 %.

Загальна кількість публікацій – 81, **з них за темою роботи** – 45. Цикл робіт включає 17 статей, 6 з яких опубліковані у міжнародних журналах та збірках наукових статей, 11 – у вітчизняних профільних виданнях, а також 2

монографії. 1 методична рекомендація та 25 тез доповідей українських та міжнародних конференцій.

Загальна кількість посилань на публікації авторів за темою роботи:
33 (Google Scholar), 11 (Scopus), 3 (Web of science)

h-index: 4 (Google Scholar), 2 (Scopus), 1 (Web of science)

Виконавці:

в.о. н.с., к.б.н.

пров. інж.

н.с.

асист., здобув.

Булигіна Т.В.

Гнатюк Т.Т.

Кислинська А.С.

Бойко М.В.

Вчений секретар

Інституту мікробіології і вірусології

ім. Д.К. Заболотного НАН України,

к.б.н.

О.В. Андрієнко