

НУБІП України

**МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

НУБІП України

06.07. – МР.675 «З». 2022.09.12. 01 ПЗ

**ДІДУК МАРИНИ АНДРІЇВНИ**

НУБІП України

НУБІП України

**2022**

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет (ННІ) захисту рослин, біотехнології та екології

УДК 635.64: 663.12

ПОГОДЖЕНО ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Декан факультету (Директор ННІ)

Завідувач кафедри

захисту рослин, біотехнології та екології

Екобіотехнології та біорізноманіття

(назва факультету (ННІ))

(назва кафедри)

Коломієць Ю. В. Кваско О. Ю.  
(підпис) (ПІБ) (підпис) (ПІБ)  
“ ” 20\_\_ р. “ ” 20\_\_ р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему Особливості використання ендоефітних бактерій роду *Bacillus* spp. в агроценозі томатів

Спеціальність

162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітня програма

«Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

(назва)

Орієнтація освітньої програми

освітньо-професійна

(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Гарант освітньої програми

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи  
Доктор с.-г. наук, доцент Бородай В. В.  
(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ) (науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Виконав

Дідук М. А.

КІЇВ – 2022  
(підпис) (ПІБ студента)

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факкультет (ННІ) захисту рослин, біотехнології та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри  
Екобіотехнології та біорізноманіття

кандидат біол. наук Кваско О.Ю.

(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ПІБ)

“ ” 20 року

ЗАВДАННЯ  
ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ  
СТУДЕНТУ

Дідук Марині Андріївні

(прізвище, ім'я, по-батькові)

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код і назва)  
Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоденергетика»  
(назва)  
Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна  
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Тема магістерської кваліфікаційної роботи Особливості використання ендofітних  
бактерій роду *Bacillus* spp. в агроценозі томатів

затверджена наказом ректора НУБіП України від 12 вересня 2022 р. № 676 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру 2022 р.  
(рік, місяць, число)

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи:

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

Дата видачі завдання “ ” 20 р.

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи (підпис) Бородай В.В.

Завдання прийняв до виконання (підпис) Дідук М.А.

НУБіП України

## Реферат

НУБІП України

**Тема магістерської роботи:** Вплив регулятора росту Потейтіну на ріст, розвиток і продуктивність рослин картоплі *in vitro*. Робота містить 62 сторінки, 3 розділи: 1 розділ містить 3 підрозділів; 2 розділ містить 3 підрозділів; 3 розділ містить 3 підрозділи, 50 пунктів наукової літератури. Робота вміщує в собі 17 ілюстрацій і 2 таблиці.

**Об'єкт дослідження:** процеси

**Предметом дослідження:** штами

**Мета роботи:** дослідити. В першому розділі висвітлено основні положення про

В другому розділі магістерської роботи було викладено детальний опис методів, які були використані в роботі.

В третьому розділі було описано основні результати досліджень, Згідно з якими у ході проведення досліджень наведено особливості

**Ключові слова:**

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	
ВСТУП.....	

### РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....

1.1. Втрати томатів за вирощування в умовах закритого ґрунту

1.2. Застосування бактеріальних біологічних препаратів

1.3. Біологічна активність бактерій з роду *Bacillus*

### РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика об'єктів досліджень

2.2. Методи досліджень

### РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Дослідження фізіолого-біохімічних властивостей

бактерій

3.2. Генетична ідентифікація ізолятів

3.3. Антибактеріальна та ріст стимулююча активність

ендофітних бактерій

3.4. Ефективність застосування *Bacillus amyloliquefaciens* в

умовах закритого ґрунту на рослинах томатів

ВИСНОВКИ.....

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....

ДОДАТКИ.....

НУБІП України

НУБІП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

НУБІП України

*B. amyloliquefaciens* – *Bacillus amyloliquefaciens*

КГА – картопляно-глюкозний агар

МПА – м'ясо-пептонний бульйон

НУБІП України

КУО – колоніє утворююча одиниця

мм- міліметр

кг- кілограм

СР- сухі речовини

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

## ВСТУП

НУБІП України

Біопрепарати є екологічно безпечною альтернативою хімічним пестицидам, що сприяє їх активному впровадженню в технологію використання в сільськогосподарській практиці, оскільки як виробник, так і

НУБІП України

споживач зацікавлені у вирощуванні екологічно чистої продукції. Наприклад, у країнах Європейського Союзу застосування хімічних препаратів у рослинництві було значно обмежено завдяки поєднанню

хімічних і біологічних методів боротьби.

НУБІП України

Ендоефітні бактерії є внутрішніми симбіонтами рослин. Їх виділяють з будь-яких органів і частин рослин, у тому числі з насіння (Посада, 2005).

Використання правильного поєднання штамів ендоефітних бактерій у складі біопрепаратів може сприяти найбільш ефективному вирощуванню рослинної продукції.

НУБІП України

Біопрепарати є екологічно безпечною альтернативою хімічним пестицидам, що сприяє їх активному впровадженню в технологію використання в сільськогосподарській практиці, оскільки як виробник, так і

споживач зацікавлені у вирощуванні екологічно чистої продукції.

НУБІП України

Наприклад, у країнах Європейського Союзу застосування хімічних препаратів у рослинництві було значно обмежено завдяки поєднанню хімічних і біологічних методів боротьби.

За деякими даними, з 1986 року світове виробництво біопрепаратів зросло в середньому від 5 до 20% від загального обсягу вироблених засобів захисту рослин.

НУБІП України

Одним з найбільш привабливих і активно використовуваних об'єктів для промислового виробництва біопрепаратів є штами бактерій роду

*Bacillus*. Ендоефітними можна назвати бактерії, які здатні колонізувати

НУБІП України

внутрішні тканини рослин, не викликаючи захворювань і не впливаючи на їх розвиток [9, 10]. Актуальним є пошук, виділення та дослідження нових

видів ендоситних бактерій, які позитивно впливають на розвиток рослин, з метою створення нових мікробіологічних препаратів для адаптивного рослинництва.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Втрати томатів за вирощування в умовах закритого ґрунту

Овочі є основним джерелом багатьох вітамінів, мінеральних речовин, органічних кислот. Однією з найцінніших овочевих культур є томат, у структурі посівних площ помідори складають близько 24,6%. Помідори містять від 4 до 6% сухих речовин, білків 0,6-1,6%, клітковини 0,84%, пектинових речовин 0,03-0,23%, вітаміну С (20-40 мг%), а також вітаміни.

К, РР, В, В2, В3 та інші корисні сполуки та елементи. Особлива цінність томатів полягає в тому, що свіжу продукцію можна отримувати у відкритому та захищеному ґрунті протягом усього року [5].

Важливо не лише вирощувати, а й якомога повніше зберігати та ефективно переробляти сільськогосподарську продукцію, перетворюючи її на високоякісну продукцію [2].



Серйозною причиною відсутності врожаю овочевих культур і зниження його якості є різні захворювання. Значною мірою томат щорічно уражається грибовими збудниками, такими як септоріоз і фітофтороз. Так



розвиток септоріозу до середини серпня досягає 60%, фітофторозу – до 30%.

Втрати врожаю в окремі роки досягають 50% [3].

Ця культура дуже схильна до псування, причинами якого можуть бути, наприклад: природне схуднення (втрата вологи); мікробіологічне псування; механічні пошкодження [3].

Відомі різні збудники мікробіологічного псування томатів:

*Pseudomonas solanacearum* corrugate (некроз або порожнистість стебла)

*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (чорна плямистість), *Phytophthora infestans* (фтороз), *Alternaria solani* sorauer (альтернаріоз або бура гниль),

*Tomato mosaic virus* (потіпова мозаїка), *Pycnochaeta lycopersici* (коренева

гниль), *Didymella lycopersici* (стеблова гниль), *Erwinia carotovora* subsp.

*carotovora* (мокра бактеріальна гниль) та інші [4, 5, 6].

Фітопатогенна мікрофлора агроєкосистем дуже різноманітна і

численна, її розвитку сприяють сучасні інтенсивні агротехнології. У зв'язку

з ним виникло кілька методичних підходів до охорони цієї культури:

хімічний, фізичний і біологічний.



Спектр дії призначення засобів хімічного захисту томатів дуже

різноманітний: гербіциди, ад'юванти, інкрустуючі засоби та ін. Ці

препарати, безсумнівно, ефективні, але вони здатні проникати в окремі

частини рослини, що переміщуються в ньому, впливати на життєво важливі

процеси рослин, а також піддаються метаболізму під дією ферментів або інших речовин, що містяться в рослинах і основах, з утворенням менш (або більш) токсичних продуктів.

До фізичних методів захисту томатів відносять використання низьких і високих температур, вакууму, ультразвуку, струмів високої частоти, електромагнітного випромінювання з різною довжиною хвилі: інфрачервоне, видиме, ультрафіолетове, рентгенівське, гамма-випромінювання. Для знезараження плодів застосовують їх охолодження (холодильник).

Інноваційним методом захисту та обробки томатів є використання електромагнітних полів дуже низької частоти.

У зв'язку з цим важливою ланкою у зниженні шкочочинності хвороб овочевих культур є використання біопрепаратів, тому ці продукти використовують переважно у свіжому вигляді.

## 1.2. Застосування бактеріальних біологічних препаратів

В даний час створено широкий набір нових біологічних препаратів для боротьби з хворобами сільськогосподарських культур.



Цей спосіб захисту сільськогосподарських культур, зазвичай, не супроводжується негативними наслідками. Біопрепарати не викликають забруднення навколишнього середовища та не накопичуються у



сільськогосподарській продукції. До таких організмів належать деякі види бактерій та грибів, які легко включаються в екологічну систему, іноді доповнюючи та покращуючи природні спільноти [4].

Штами *Bacillus subtilis* та *Pseudomonas* sp. виявляють різнобічну дію на збудників захворювання: виробляють антибіотики, є антагоністами стосовно фітопатогенів, підвищують імунітет рослини. Крім того, в більшості випадків вони виявляють стимулюючий ефект щодо культури, що захищається. Препарати на основі кожної з діючих речовин мають свої особливості [6].

Біологічний спосіб захисту вважається на сьогодні найбільш ефективним, перспективним та екологічно чистим, наприклад, препарат Триходермін, створений на основі грибів роду Триходерма (*Trichoderma lignorum*) широко застосовується практично. При правильному та своєчасному застосуванні препарату на 20–30% підвищується врожайність овочевих культур та у 2-2,5 рази знижується ушкоджувальність кореновими гнилями. Інший препарат лепідоцид на основі бактерій *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, призначений для обмеження чисельності листогризучих шкідників на овочевих культурах. Препарат "Біотроф-600"

на основі гетероферментативних молочних бактерій призводить до збільшення врожайності томатів від 8,2 до 13,6% залежно від сорту. При цьому відмічено скорочення термінів дозрівання плодів на 3-4 доби.

На відміну від хімічних препаратів, біологічні засоби захисту мають вузьку вибіркочувальність, тому безпечні для людини та навколишнього середовища. Все залежить від виду шкідника, культури і умов, у яких він застосовується. Найкращі результати досягаються, як правило, у захищеному ґрунті.

Сучасна стратегія захисту сільськогосподарських рослин, спрямована на обмеження застосування хімічних пестицидів, пов'язана з розробкою та

широким впровадженням біологічних, у тому числі мікробіологічних методів боротьби з фітопатогенами різної природи.

### 1.3. Біологічна активність бактерій з роду *Bacillus*

Одним із найперспективніших напрямків у боротьбі зі збудниками хвороб рослин є використання біопрепаратів на основі бактерій роду *Bacillus* (Сіраєва, 2012). Багатьом штамам бацил властива висока антагоністична активність по відношенню до фітопатогенних

мікроорганізмів, а також виражена здатність колонізувати ризосферу рослин. Властивість бацил утворювати спори забезпечує їм переваги в ґрунтових мікробіоценозах під дією несприятливих факторів середовища (Romero et al., 2007). У зв'язку з посиленням контролю якості харчових

продуктів сьогодні все більше уваги приділяється максимально екологічним технологіям, які дозволяють, з одного боку, продовжити термін зберігання, а з іншого - забезпечити високий рівень безпеки на всіх етапах виробництва.

Високий рівень антагонізму бацил проти фітопатогенних бактерій і грибів зумовлений тим, що вони синтезують широкий спектр різноманітних екзометаболітів, у тому числі циклопептиди з антибіотичними властивостями: ітурини, сурфактини, фенгіцини та інші (Mouney et al., 2001).

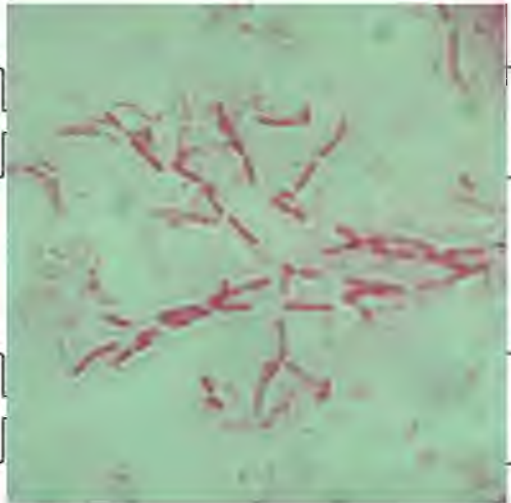
Однак деякі з цих екзометаболітів можуть пригнічувати ріст і розвиток рослин під час онтогенезу. Тому при відборі штамів бактерій, перспективних для створення препаратів для біоконтролю хвороб сільськогосподарських культур, враховують не лише антагоністичну активність конкретного штаму, а й його біобезпеку та відсутність фітотоксичної дії.

Бактерії роду *Bacillus* є однією з основних груп мікробного угруповання ґрунту та ризосфери та є найважливішим об'єктом пошуку нових антагоністів для придушення патогенної та умовно-патогенної мікробіоти [5, 6].

НУ



У



И

НУ

У

И

Основним критерієм майбутньої придатності їх як діючого початку є наявність антагоністичної активності до широкого спектру фітопатогенів. Одним з найважливіших властивостей, що сприяють антагонізму, є синтез

антибіотиків та антимікробних з'єднань широкого спектра дії: ліпопептиди,

окрім того, *Bacillus* мають величезний потенціал біологічного контролю проти широкого спектру агрономічно важливих грибних фітопатогенів. Група *B. subtilis* здатна синтезувати безліч антагоністичних сполук, що

виявляють широкий спектр біологічних функцій. Ця універсальність

підвищує інтерес до штамів *B. subtilis*, особливо при розгляді їх діапазону дії як основу біопрепаратів для захисту рослин. Ця обставина пов'язана також з такими особливостями цих мікроорганізмів, як наявність спороутворюючої здібності, необхідної для виживання в стресових умовах, та їх

можливості виявляти антагоністичні властивості до збудників небезпечних

хвороб рослин. *B. subtilis* може підтримувати постійний контакт із вищими рослинами та стимулювати їх зростання. Завдяки широкому колу господарів, здатності формувати ендоспори та продукувати різні антибіотики краще за інших представників роду *Bacillus* вид *B. subtilis*

придатний як агент біоконтролю (12). Бактерія має супресивні якості in vitro

по відношенню до більш ніж 20 типів фітопатогенних організмів за рахунок

здатності продукувати значну кількість вторинних метаболітів: циклічних ліпопептидів, поліпептидів, білків і непептидних сполук (13, 14). Ці речовини, переважно пептиди, мають або рибосомальне або нерибосомальне походження (15).

*B. subtilis* поряд з пептидними антибіотиками продукує полікетони, які є активними агентами в біологічному контролі фітопатогенів. Полікетони – сімейство метаболітів, що представляють собою ферменти полікетонсинтази, які виявляють антимікробну активність завдяки здатності збирати багатofункціональні поліпептиди у великі пестицидні комплекси. За будовою це лінійні молекули з двома амідними зв'язками, що складаються з різноманітних залишків та заміників. Залежно від будови та функцій ці метаболіти об'єднані у наступні групи: бацілоєни, дегідробацілоєни, диффіцидін, оксидиффіцидін, макролацин (40, 43).

Усередині клітин *B. subtilis* безпосередньо після припинення зростання та перед формуванням термостабільних спор виробляється фосфоліпідний антибіотик бацілізоцин. Його активність більшою мірою проявляється проти еукаріотичного організму *Sacharomyces cerevisiae*, а також нижчих грибів *Candida pseudotropicalis* та *Cryptococcus neoformans*.

Ендofіти зустрічаються у різних частинах рослини: як в кореневій, так і в надземній частині, включаючи квіти і насіння (Wang et al., 2009; Chen et al., 2010; Li et al., 2010; Roesch et al., 2008; Smith et al., 2008; West et al., 2010). Ендofіти приймають участь у захисті рослини від хвороб (Haggag et al., 2010), проявляють антагоністичну активність щодо збудників хвороб (Vetrivelkalai et al., 2010), здатні фіксувати азот (Sessitsch et al., 2012; Бровко та ін., 2014), синтезувати регулятори росту рослин (Focchetti et al., 2007; Palaniappan et al., 2010; Ambrose et al., 2013; Haroim et al., 2015; Wani et al., 2015).

Останніми роками зростає науковий інтерес до біорізноманіття та функцій ендofітних бактерій, а також перспектив їх практичного

використання (Gora, Gurta, 2016). Велику увагу приділяють дослідженню таксономічних груп ендofітів, що колонізують репродуктивні органи рослин, потенційні шляхи їх колонізації та рослинно-мікробні взаємодії (Compant S., Clément C., Sessitsch A., 2010).

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



## РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Характеристика об'єктів досліджень

Дослідження проводились у навчально-науковій лабораторії біотехнології та клітинної інженерії та лабораторії промислової біотехнології Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Об'єктами дослідження були ізоляти ендоефітних мікроорганізмів роду *Bacillus* з колекції штамів промислових мікроорганізмів лабораторії промислової біотехнології та гібрид томата Ефемера F1.

Характеристика бактерій *Bacillus amyloliquefaciens*

Domain:	<u>Bacteria</u>
Phylum:	<u>Bacillota</u>
Class:	<u>Bacilli</u>
Order:	<u>Bacillales</u>
Family:	<u>Bacillaceae</u>
Genus:	<u>Bacillus</u>
Species:	<b><i>B. amyloliquefaciens</i></b>

Бактерії *Bacillus amyloliquefaciens* є грам-позитивними. Вони мають джгутик, який забезпечує рух. Оптимальна температура для росту клітин 30-40 °C. Подібно до інших типів *Bacillus*, *Bacillus amyloliquefaciens* утворює ендоспори, які дозволяють йому тривалий час виживати в несприятливих умовах.

Ефемер – ранньостиглий детермінантний гібрид томату, вегетаційний період від появи сходів до початку плодоношення триває 80-90 днів.

Рослина являє собою штамп, кущ висотою 40-50 см.

Плоди з гладкою поверхнею, слаборебристі, округлої форми, червоного кольору, масою 90-115 г. М'якоть смачна, соковита, ароматна. Один сорт стійкий до хвороб, транспортабельний, має відмінні смакові якості.

Призначений для консервування, засолювання, споживання у свіжому вигляді та кулінарної переробки.



## 2.2. Методи досліджень

Для вивчення фізіологічних та біохімічних властивостей бактеріальних ізолятів була використана тест-система NEFERMtest24 (MikroLaTEST®. Erba Labema, Чеська Республіка).





Ферментативний та окислювальний метаболізм глюкози (OF-тест) визначали за допомогою мікропланшетної пластинки (OFtest, Erba Lachema).

Антагоністичну активність ізолятів ендofітних бактерій визначали методом перпендикулярних штрихів, в якості тест-культур використовували фітопатогенні бактерії *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (van Hall) УКМ В-1027, *P. fluorescens* Migula 7769, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) УКМ В-1075, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson УКМ В-1049, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Spieckermann & Kothoff) 10<sub>2</sub> Davis et al.), *Rhizobium vitis* (Ophel and Kerr) Young et al. УКМ В-1000. Ступінь чутливості фітопатогенних бактерій до ендofітних бактерій визначали за шириною зони відсутності росту (Патика В.П. Фітопатогенні бактерії. Методи досліджень, 2017).

Для проведення молекулярно-генетичної ідентифікації ізолятів методом секвенування досліджувані мікроорганізми вирощували на картопляно-глюкозному агарі (КГА) впродовж 48 годин. Геномну ДНК виділяли з суспензії клітин, використовуючи набір GeneJet Genomic DNA Purification Kit (ThermoScientific), згідно з інструкцією виробника.

Отриману нуклеотидну послідовність порівнювали з внесеними до бази даних GenBank за допомогою програми NCBI Blastn.



Філогенетичний аналіз, вирівнювання нуклеотидних послідовностей здійснювали за допомогою програми MEGA 6 [Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiak A., Kumar S., 2013]. Дендрограму філогенетичних зв'язків будували методом найближчого зв'язування (Neighbor Joining) з використанням 2-параметричної моделі Кімури.

Бактерії культивували на рідкому живильному середовищі згідно з методами (Патика В.П. та ін., 2006) на універсальних поживних середовищах: м'ясо-пептонному бульйоні, оптимізованих лабораторно-промислових середовищах дріжджо-полісахаридного складу, отриману композицію застосовували в умовах закритого ґрунту згідно загальноприйнятими методами (Методи..., 2016).



НУБ

НУБ

НУБ



іні

іні

іні

Застосовували препаративні форми за схемою: 1 – контроль (обробка водою); 2 – біологічний препарат Фітоцид, 3 - 4-х кратне обприскування та полив у теплиці, починаючи з фази 4, з інтервалом в 14 днів.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

# НУБІП України

## 3.1. Дослідження фізіолого-біохімічних властивостей бактерій

Досліджено фізіолого-біохімічні властивості, ферментативний та окислювальний метаболізм бактеріальних ізолятів. Керуючись вищевикладеними результатами біохімічних аналізів, ізоляти B1S, B5S, B9S, B14S, BXS ідентифіковані як *Bacillus amyloliquefaciens*, а ізоляти B3S, B4S – як *Bacillus* sp.

# НУБІП України

Таблиця 3.1

Фізіологічні та біохімічні властивості бактерій, виділених з тканин насіннєвого зачатку квітів пасльону чорного

# НУБІП України

Тест	Ізоляти						
	B1S	BXS	B3S	B4S	B5S	B9S	B14S
Форма клітин	п	п	п	п	п	п	п
Утворення спор	+	+	+	+	+	+	+
Фарбування за Грамом	+	+	+	+	+	+	+
Утилізація глюкози:							
Без масла	-	-	+	-	-	++	-
Під маслом	-	-	-	-	-	++	-
NEFERMtest24 (MikroLaTEST®, ErbaLachema)							
Уреаза	-	-	-	+	-	-	-
Аргінін	-	-	-	-	-	-	-
Орнітин	+	-	-	+	-	-	-
Лізин	+	-	-	+	-	++	+
Ацетамід	-	-	-	-	-	++	-
β-глюкозидаза	+	-	-	+	-	+	+
N-ацетил-β-D-глюкозамідаза	-	-	-	-	-	+	-
Цитрат Сімпсона	-	-	-	+	-	-	-
Лактоза	-	-	-	-	-	++	-
Манітол	-	-	-	+	-	++	-

# НУБІП України

# НУБІП України

Трегалоза			+		-	-
Ксиліоза	-		-		-	-
Арабіноза	-		-		-	-
α-галактозидаза	+		-		+	+
β-галактозидаза	-		-		-	-
Малонат	-		-		-	-
Галактоза	-		-		-	-
Мальтоза	-		-		-	-
Целлобіоза			+		-	+
Сахароза	-		+		-	+
Інозітол	-		-		-	-
γ-глутамілтрансфераза			-		+	-
Фосфатаза	+		-		+	+
Ескулін	+		+		+	+

Для подальшої генетичної ідентифікації були обрані ізоляти B1S, BXS

та Y8S.

### 3.2. Генетична ідентифікація ізолятів

За допомогою методу секвенування визначено нуклеотидні послідовності гену 16S рРНК штамів BA1S-OSN-0820 (ізолят B1S) і BAXS-OSN-0820 (ізолят BXS), довжиною 1454 нукл. кожен, а також фрагменту ITS-послідовності штаму RHC-OSN-0820 (ізолят Y8S) довжиною 578 нукл.

Первинний порівняльний аналіз секвенованих фрагментів за допомогою програми BLAST виявив 99,65% подібності штамів BA1S-OSN-0820 і BAXS-OSN-0820 (ізолят BXS) зі штамми *Bacillus amyloliquefaciens*.

Видову приналежність досліджуваних штамів підтверджено також за допомогою дендрограм генетичної подібності між різними видами роду *Bacillus* (рис. 1,2).

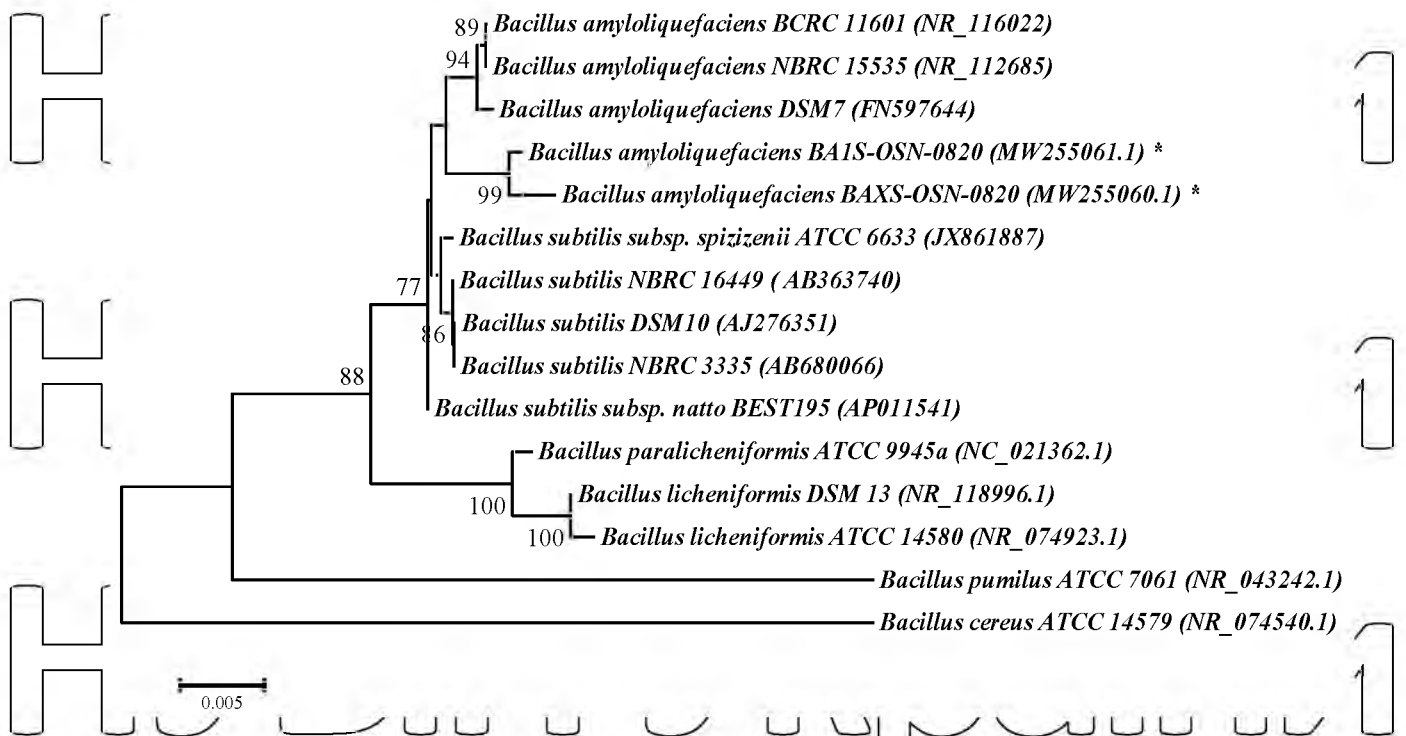


Рис. 3. 1. Дендрограма генетичної подібності між представниками роду *Bacillus*, побудована на основі сиквенсів гену 16S рРНК з використанням 2-параметричної моделі Кімури та методу Neighbour-Joining. Досліджувані штами позначено \*.

### 3.3. Антибактеріальна та ріст стимулююча активність ендofітних бактерій

Ізоляти не характеризувалися фітотоксичною дією для томатів. Вони проявляли рістстимулюючу дію, включаючи підвищення схожості насіння (97,0-98,5% порівняно з контролем 91,2%). Встановлено ефект стимуляції росту коренів та пагонів томатів у присутності чистих культур ендofітів (їх довжина була більшою в 1,4-1,6 рази порівняно з контрольним варіантом). Аналіз морфометричних показників інoкульованих ендofітними бактеріями рослин показав, що композиція метаболітів ізолятів B1S, BXS, Y8S мала високу рістстимулюючу дію.



Здатність ендоефітних бактерій до біоконтролю фітопатогенів обумовлює можливість їх застосування в якості біопрепаратів, тому було проведено скринінг антимікробної активності ізолятів.

Встановлено диференціацію бактеріостатичної та бактеріоцидної дій та селективність ендоефітів щодо штамів фітопатогенних бактерій *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027, *P. fluorescens* 7769, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* УКМ В-1075, *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10<sub>2</sub>, *R. vitis* УКМ В-1000. (табл.2).

Виділені ізоляти не виявили антагоністичної дії щодо збудника корончатого галу томатів *R. vitis*, хвороби, вперше описаної на томатах закритого ґрунту у країнах СНД у 2013 році, яка спричиняє суттєві зниження товарного урожаю на 15 - 50%. Відсутність антагоністичної дії можна пояснити тим, що збудником хвороби є ризогенні бактерії, а виділені ізоляти були з тканин насінневих зачатків. Це свідчить про важливість дослідження специфічності дії ізолятів-антагоністів щодо збудників хвороб.

Відносно збудника м'якої гнилі томатів *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* УКМ В-1075 – найбільшу антагоністичну активність має ізолят ВХS. При цьому спостерігалась найбільша зона відсутності росту фітопатогена – 25,6 мм. Ізолят ВХS характеризувався також високою антагоністичною активністю стосовно збудника чорної бактеріальної плямистості томатів *X. campestris*.

Ізолят В1S проявив високу антагоністичну активність *P. fluorescens* 7769. Метаболіти ізолятів В4S та В1S мали високий бактеріостатичний ефект щодо збудника чорної бактеріальної плямистості томатів *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, В4S, В1S та ВХS – щодо збудника бактеріального в'яннення томатів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10<sub>2</sub> (15,7-18,6 мм), особливо небезпечного у закритому ґрунті, оскільки він спричиняє ураження рослин помідора у період їхнього плодоношення, та

Ізолят В1S проявив високу антагоністичну активність *P. fluorescens* 7769. Метаболіти ізолятів В4S та В1S мали високий бактеріостатичний ефект щодо збудника чорної бактеріальної плямистості томатів *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, В4S, В1S та ВХS – щодо збудника бактеріального в'яннення томатів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10<sub>2</sub> (15,7-18,6 мм), особливо небезпечного у закритому ґрунті, оскільки він спричиняє ураження рослин помідора у період їхнього плодоношення, та

спричиняє ураження рослин помідора у період їхнього плодоношення, та

невисокий бактеріостатичний ефект щодо *P. syringae* pv. *syringae* (5,2 - 8,9 мм).

Таблиця 3.2

**Антибактеріальна активність ендofітних бактерій  
щодо збудників бактеріозів**

Фітопатогенні бактерії	Ширина зони відсутності росту, мм, за дії ізолятів ендofітних бактерій			
	B3S	B4S	B1S	BXS
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> УКМ В-1027	–	5,2±0,12	8,9±0,21	7,2±0,3
<i>P. fluorescens</i> 7769	–	–	>30	–
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> УКМ В-1075	–	0	0	25,6±1,5
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	0	18,5±1,3	18,7±1,1	>30
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 10 <sub>2</sub>	–	18,4±1,1	18,6±1,2	15,7±1,1
<i>R. vitis</i> УКМ В-1000	–	–	–	–

Примітка: – немає зони відсутності росту (відсутня антагоністична активність).

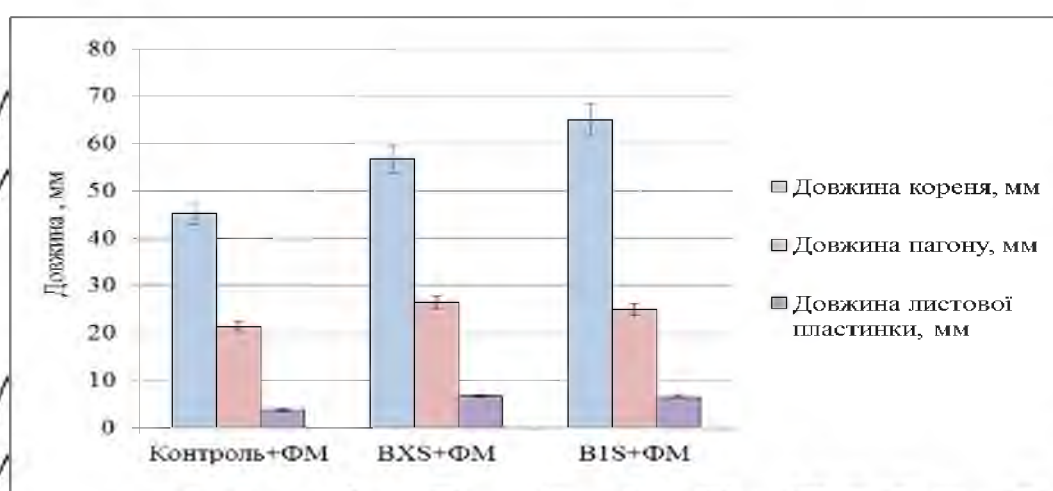
Погіршення фітопатологічної ситуації на томатах за рахунок посилення розповсюдженості (до 35-45%) і шкідливості корневих гнилей,

бактеріозів, фузаріозного і вертицильозного в'янення спостерігається останніми роками. Ці хвороби можуть досить часто мати епіфітотійний розвиток, і втрати в кінці вегетації – від 25 до 50% рослин.

На основі багаторічного моніторингу хвороб томатів встановлено, що в зимово-весняній і весняно-літній культурозмінах у теплицях із плівковим укриттям фітопатологічний комплекс представлений широким складом хвороб. Значного поширення набули кореневі та прикореневі гнилі (34,3%) вертицильозне і фузаріозне в'янення (6,5 і 4,6%), бактеріальні (некроз серцевини стебла та бактеріальний рак) – 13,1%, біла і сіра гнилі - 12,5 і 9,8%. У другій половині вегетації посадки томатів уражуються альтернаріозом і бурю плямистістю листків - 5,8 і 8,3% (Ткаленко Г.М., 2020).

Встановлено підвищення стійкості рослин томатів до збудників хвороб за інокуляції ендоефітними мікроорганізмами в модельних дослідах. Аналіз морфометричних параметрів інокульованих рослин показав, що у відповідь на інокуляцію ендоефітними бактеріями та зараженням збудниками хвороб рослини проявляли різну стратегію. Рослини сорту гібриду Ефемер F<sub>1</sub>, інокульовані штамми BXS і BIS, навіть за ураження збудниками хвороб, характеризувалися збільшенням довжини кореня, пагонів, листової пластинки порівняно з контрольним варіантом (рис.3.2).

За ураження збудником бурі плямистості спостерігались достовірно збільшення довжини коренів томатів, інокульованих ендоефітними бактеріями, в 1,4 – 1,7 раз порівняно з контролем (61,8-74,6 мм проти 43,3 мм відповідно).



**Рис.3.2. Вплив інокуляції насіння томатів ендоефітними бактеріями на ріст проростків за ураження збудником бурі плямистості**

(гібрид Ефемер F<sub>1</sub>, ФМ – фітопатогенні мікроміцети)

Довжина пагонів змінювалась в незначному ступені – 27,6-28,6 мм порівняно з контролем (25,3 мм), а довжина листової пластинки – в середньому в 1,5 рази (рис.5).

### 3.4. Ефективність застосування *Bacillus amyloliquefaciens*

в умовах закритого ґрунту на рослинах томатів

Вивчення впливу передпосівного замочування насіння томату в розчинах біопрепаратів на їхню енергію проростання, схожість та розвиток розсади

Використання передпосівного замочування насіння біопрепаратами гарантує отримання рівних, дружних сходів, а отже, і хорошої врожайності.

Передпосівне замочування насіння в розчині ендofітних бактерій підвищує лабораторну схожість на 3,2% (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Вплив передпосівної обробки насіння томату біопрепаратами на енергію проростання та схожість

Варіант	Енергія проростання		Лабораторна схожість	
	%	прибавка до контролю, %	%	прибавка до контролю, %
Контроль	91,9	-	94,4	-
Фітоцид	93,5	1,7	96,6	2,3
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	94,0	2,3	97,4	3,2
HCP <sub>0,05</sub>	1,9	-	1,3	-

Проведені фенологічні спостереження показали, що використання біопрепаратів не мало негативного впливу на проходження рослинами основних фаз розвитку. Сходи, поява 2-х справжніх листків, початок цвітіння 1-ї кисті та дозрівання плодів 1-ї кисті наступали практично одночасно.

Маса рослин після передпосівного замочування насіння та дворазової обробки розсади в теплиці під дією біопрепарату Фітоцид підвищилася на 93,1%. Ридеміл збільшив масу на 68,9%, а використання *Bacillus amyloliquefaciens* дало збільшення 72,4% по відношенню до контрольного варіанту, де насіння замочувалося у воді. За кількістю листя, діаметру стебла показники оброблених рослин перевищували контрольні показники на 26,3 - 33,0% відповідно (табл.3.4).

Таблиця 3.4

### Вплив передпосівного замочування насіння на ріст розсади томату

Варіант	Біометричні показники рослин					
	кількість листя		діаметр стебла		маса рослини	
	шт.	% до контролю	см	% до контролю	г	% до контролю
Контроль	3,8	100,0	0,3	100,0	2,9	100,0
Фітоцид	4,8	126,3	0,4	133,0	5,6	193,1
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	4,9	128,9	0,4	133,0	5,0	172,4
НІР <sub>0,05</sub>	0,6	-	0,0	-	0,9	-

Вивчення впливу біопрепаратів на ріст, стійкість до кладоспоріозу та врожайність рослин томату.

Спостереження показали, що вже в період цвітіння 1-2 китиці там, де застосовували біопрепарати, біометричні показники рослин були вищими за контрольні. Висота рослин із застосуванням Фітоциду для замочування насіння та обприскування рослин під час вегетації на 10см більше, ніж у рослин оброблених водою. Застосуванням *Bacillus amyloliquefaciens* підвищувало цей показник на 11,9%.

Крім того, спостерігалось зростання маси рослин та загальної довжини пагонів.

У фазу плодоутворення тенденція зростання та розвитку рослин не змінилася. У оброблених рослин значно збільшилася їхня маса, за рахунок

приросту бічних пагонів (табл. 3.5). Загальна довжина бічних пагонів при використанні Фітоциду збільшилася на 32,7%, а при застосуванні *Bacillus amyloliquefaciens* цей показник зріс на 29,5%. Рослини, оброблені біопрепаратами, мали більше листя і маса їх збільшилася на 19,7-29,4%, порівняно з контролем.

Таблиця 3.5  
Вплив біопрепаратів на морфологічні ознаки рослин томату у фазу плодоутворення

Вариант	Высота растения, см	Общая длина побегов, см	Количество, шт. листьев	боковых побегов	плодов
Контроль	72,3	137,0	29,4	3,8	12,8
Фітоцид	79,8	176,2	33,4	4,5	14,1
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	80,4	172,4	34,8	4,5	14,4
НСР <sub>0,05</sub>	5,5	11,4	2,4	0,7	0,8

На цих рослинах відзначалося інтенсивне наростання плодів. У рослин, оброблених водою, кількість плодів найнижча - 12,8 шт./рослину, тоді як на фоні біопрепаратів кількість їх досягала 14,1-14,6 шт./рослину. Використання біопрепаратів посилює ростові процеси і відповідно збільшує площу листя та продуктивність рослин. Замочування насіння у розчинах біопрепаратів та обприскування вегетуючих рослин сприяли збільшенню площі листової поверхні. Вже в період цвітіння 1-2 китиць величина площі листя оброблених рослин перевищувала площу листя контрольних рослин на 2,3-2,1 см<sup>2</sup>/м<sup>2</sup>. На накопичення органічної речовини великий вплив має не тільки величина листової поверхні, а й тривалість її роботи. Показником потужності роботи листового апарату є фотосинтетичний потенціал, який може суттєво змінюватися під впливом різних факторів. У фазу цвітіння 1-



2 китиць виділилися варіанти з передпосівною обробкою насіння та подальшим обприскуванням рослин у період вегетації біопрепаратом на основі *Bacillus amyloliquefaciens* і ця закономірність підтримувалася протягом сезону (табл.3.6).

Таблиця 3.6

Фотосинтетичний потенціал посадок томату залежно від біопрепаратів, млн. м<sup>2</sup> днів/га

Варіант	Фаза розвитку рослин			всього за вегетацію
	цвітіння 1-2 кисти	масового плодооб'єднання	масового плодоношення	
Контроль	0,22	0,56	0,49	1,28
Фітоцид	0,26	0,67	0,59	1,52
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,28	0,72	0,64	1,64
НСР 0,05	0,03	0,07	0,06	0,15

Таким чином застосування біопрепаратів є важливим фактором для утворення листової поверхні томату.

Біопрепарати, що вивчаються, значною мірою стримували розвиток кладоспориозу. Позитивний вплив їх впливає протягом усього періоду вегетації.

У фазу плодоутворення рівень розвитку кладоспориозу на рослинах, оброблених водою, був 23,3%, а на рослинах, оброблених біопрепаратами, розвиток хвороби варіював у межах 16,2-17,5%. Ці дані лише трохи поступалися показникам варіанта, прийнятого за зразок – 15,8.

Позитивний вплив біопрепаратів на зростання та розвиток рослин, значне стримування розвитку та поширення захворювання, надали сприятливий вплив на врожайність та якість плодів томату. Збільшення врожайності при використанні біопрепаратів становило 5,1-5,8 т/га. При

цьому застосування *Bacillus atyloliquefaciens* забезпечило максимальне збільшення врожаю 5,8 т/га або 17,2%.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



## ВИСНОВКИ

НУБІП України

1. Порівняльний аналіз секвенсованих фрагментів за допомогою програми BLAST виявив 99,65% подібності штамів BALS-OSN-0820 і BAXS-OSN-0820 (ізолят BXS) зі штамми *Bacillus amyloliquefaciens*.

НУБІП України

2. Встановлено диференціацію бактеріостатичної та бактеріоцидної дій та селективність ендوفітів щодо штамів фітопатогенних бактерій *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027, *P. fluorescens* 7169, *P. carotovorum* subsp.

НУБІП України

*carotovorum* УКМ В-1075, *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10<sub>2</sub>, *R. vitis* УКМ В-1000.

НУБІП України

3. Рослини сорту гібриду Ефемер F1, інкульовані штамми BXS і BLS, навіть за ураження збудниками хвороб, характеризувалися збільшенням

довжини кореня, пагонів, листової пластинки порівняно з контрольним варіантом.

НУБІП України

4. Встановлено, що використання біопрепаратів стимулює ростові процеси, збільшуючи висоту рослин на 7,4-11,1 см, кількість листя – на 4,0-5,4 шт./рослину та їх асиміляційну поверхню на 6,7-7,1 тис. м<sup>2</sup>/га. Найбільш ефективним було застосування *Bacillus amyloliquefaciens*.

НУБІП України

5. Використання біопрепаратів знижує ураження рослин кладоспориозом у 1,5-2 рази, зменшує кількість хворих плодів у врожаї з 12,1% у контролі до 5,4% - 6,4% при використанні препаратів Фітоциду та *Bacillus amyloliquefaciens*.

НУБІП України

6. Встановлено, що біопрепарати позитивно впливають на врожайність томату, підвищуючи її показник з 33,7 т/га у контрольному варіанті до 39,5 т/га за умови використання *Bacillus amyloliquefaciens*.

7. Застосування біопрепаратів покращує якість плодів томату. Вміст сухих речовин підвищується на 1,01%, суми цукрів – на 0,32%.

НУБІП України

# СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Болезни и вредители овощных культур и картофеля / А.К. Ахатов, Ф.Б. Ганнибал, Ю.И. Мешков и др. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. 463 с.

2. Гарипова С.Р., Федорова А.А. Влияние инокуляции гороха утилизирующими 2,4-Д эндофитными бактериями на рост растений //Агрохимия. 2014. Т. 134. № 1. С. 62-70.

3. Гвоздяк Р.І. та ін. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин; за ред. В.П. Патики. К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. Т.1. 444 с.

4. Егоров И.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. 528 с.

5. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхард и др. М., 1983.

6. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений. Пер. с нем. д-ра биол. наук К.В. Попковой и канд. биол. наук В.А. Шмыгли. Москва: Агропромиздат, 1987. 223 с.

7. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. Справочник / под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1988. 549 с.

8. Ткаленко Г.М., Гораль С.В. Особливості формування фітопатогенного комплексу на томатах у закритому ґрунті. *Захист і карантин рослин*. 2020. Вип. 65. DOI: <https://doi.org/10.36495/1606-9773.2019.65.191-200> с.191-200

9. Фітопатогенні бактерії. Методи досліджень. Монографія. Том 2. /В.П.Патика, Л.А.Пасічник, Р.І.Гвоздяк та ін. Вінниця: ТОВ Віндрук, 2017. 432 с.

10. Защита томатов (помидор) от болезней. [Электронный ресурс]. М.,2013. (Дата обращения: 22.10.2016). URL: <http://sadluna.com>  
<http://ntk.kubstu.ru/file/1743> Научные труды КубГТУ, № 7, 2017.

11. Пати́ка В.П. Біопрепарати в біоорганічному землеробстві / В.П. Пати́ка, М.В. Пати́ка // Сільськогосподарська мікробіологія: Міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів, 2006. – Вип. 4. – С. 7-20.

12. Sahin F., Miller S.A. Characterization of Ohio strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causing agent of bacterial spot of paper – Plant disease, 1996, №80 – pp. 773-778.

13. Sutić D. Bacterioze Crvenog Pačidžana (Tomato bacteriosis) Posebna Izd. Inst. Zasht. Bilja, Beograd (Spec. Edit. Inst. Plant Prot., Beograd), 1957, N6 – pp. 1 – 65.

14. Higgins B.B. The bacterial spot of pepper — *Phytopathology*, 1922, N12 – pp. 501 – 516.

15. Назарько М.Д. Роль микробиологического фактора в токсичности окультуренной почвы //Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2006.- №4.- С.116-118.

16. Методы защиты растений [Электронный ресурс]. М., 2016. (Дата обращения: 15.11.2016). URL: <http://planeta2012.com/>

17. Агрозащита растений [Электронный ресурс]. М., 2016. (Дата обращения: 23.11.2016). URL: <http://www.agro-zahist.com.ua/trihodermin.html>

18. Токарь А., Корецкая Е., Сидорчук О. Экологически безопасная защита овощных культур от вредителей и болезней. // Овощеводство. 2012. №5. С. 6-9.

19. Лапицкая Е.А. Петров В.Б., Никонов И.Н., Кряженских Л.А., Лаптев Г.Ю. Препарат “Биотроф-600” – стимулятор роста томатов // Аграрный вестник Урала. 2008. № 5. С. 42-44.

20. Caulier S., Nannan C., Gillis A., Licciardi F., Bragard C., Mahillon J. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. *Front. Microbial.* 2019;10:302. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00302>

21. Falardeau J., Wise C., Novitsky L., Avis T. J. Ecological and mechanistic insights into the direct and indirect antimicrobial properties of *Bacillus subtilis* lipopeptides on plant pathogens. *J. Chem. Ecol.* 2013;37(7):869-878. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0319-7>

22. Hashem A., Tabassum B., Abd\_Allah E. F. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impact biotic stress. *Saudi journal of biological sciences.* 2019;26(6):1291-1297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>

23. Штерншис М. В., Беляев А. А., Цветкова В. П., Шпатова Т. В., Лемяк А. А., Бахвалов С. А. Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus* для управления здоровьем растений. Новосибирск, 2016. С. 34-35.

24. Боронин А. М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений. Соросовский образовательный журнал. 1998;4(10):25-31. Режим доступа: <https://www.pereplet.ru/obrazovanie/stsoros/641.html>

25. Wang T., Liang Y., Wu M., Chen Z., Lin J., Yang J. Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties. *Chinese J. Chem. Eng.*, 2015, 23(4): 744-754 (doi: 10.1016/j.cjche.2014.05.020).

26. Jacques P. Surfactin and other lipopeptides from *Bacillus* spp. In: *Biosurfactants. Microbiology monographs* / G. Soberon-Chavez (ed). Springer Berlin, Heidelberg, 2011, V. 20 (doi: 10.1007/978-3-642-14490-5\_3)

27. Nagorska K., Bikowski M., Obuchowski M. Multicellular behavior and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochim. Pol.*, 2007, 54(3): 495-508.

28. Lopez D., Fischbach M.A., Chu F., Losick R., Kolter R. Structurally diverse natural products that cause potassium leakage trigger multicellularity in *Bacillus subtilis*. *PNAS USA*, 2009, 106: 280-285 (doi: 10.1073/pnas.0810940106).

29. Fickers P., Guez L.-S., Dambon C., Leclérel V., Béchet M., Jacques P., Joris B. High-level biosynthesis of the anteiso-C17 isoform of the antibiotic

mycosubtilin in *Bacillus subtilis* and characterization of its candidacidal activity.

Appl. Environ. Microb., 2009, 12: 4636-4640 (doi: 10.1128/AEM.00548-09).

30. Farace G., Fernandez O., Jacquens L., Coutte F., Krier F., Jacques Ph., Clément Ch., Barka E.A., Jacquard C., Dorey S. Cyclic lipopeptides from *Bacillus subtilis* activate distinct patterns of defense responses in grapevine. Mol. Plant

Pathol., 2015, 16(2): 177-187 (doi: 10.1111/mpp.12170).

31. Kino K., Kotanaka Y., Arai T., Yagasaki M. A novel L-amino acid ligase from *Bacillus subtilis* NBRC3134, a microorganism producing peptide –

antibiotic rhizoctin. Biosci. Biotech. Bioch., 2009, 73(4): 901-907 (doi: 10.1271/bbb.80842).

32. Sharma A. Rhamnolipid producing PGPR and their role in damping off disease suppression. In: Plant bacteria interactions strategies and techniques to

promote plant growth /I. Ahmad, J. Pichtel, S. Haya (eds.). Wiley VCH Publications, Weinheim, 2008.

33. Jourdan E., Henry G., Duby F., Dommes J., Barthélemy J.P., Thonart P., Ongena M. Insights into the defense-related events occurring in plant cells

following perception of surfactin-type lipopeptide from *Bacillus subtilis*. Mol. Plant Microbe In., 2009, 22: 456-468 (doi: 10.1094/MPMI-22-4-0456).

34. Korenblum E., de Araujo L.V., Guimarães C.R., de Souza L.M., Sasaki G., Abreu F., Nitschke M., Lins U., Guimarães-Freire D.M., Barreto-Bergter E., Seldin L. Purification and characterization of a surfactin-like molecule produced

by *Bacillus* sp. H2O-1 and its antagonistic effect against sulfate reducing bacteria. BMC Microbiol., 2012, 12(252): 1-13 (doi: 10.1186/1471-2180-12-252).

35. McLoon A.L., Guttenplan S.B., Kearns D.B., Kolter R., Losick R. Tracing the domestication of a biofilmforming bacterium. J. Bacteriol., 2011, 193: 2027-2034 (doi: 10.1128/JB.01542-10).

36. Chu F., Kearns D.B., McLoon A., Chai Y., Kolter R., Losick R. A novel regulatory protein governing biofilm formation in *Bacillus subtilis*. Mol. Microbiol., 2008, 68(5): 1117-1127 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06201.x).



37. Chen Y., Yan F., Chai Y., Liu H., Kolter R., Losick R., Gue J. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. *Environ. Microbiol.*, 2013, 15(3): 848-864 (doi: 10.1111/j.1462-2920.2012.02860.x).

38. Earl A.M., Losick R., Kolter R. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.*, 2008, 16: 269-275 (doi: 10.1016/j.tim.2008.03.004).

39. Branda S.S., Chu F., Kearns D.B., Losick R., Kolter R. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. *Mol. Microbiol.*, 2005, 59: 1229-1238 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.05020.x).

40. Epstein A.K., Pokroy B., Seminara A., Aizenberg J. Bacterial biofilm shows persistent resistance to liquid wetting and gas penetration. *PNAS USA*, 2011, 108: 995-1000 (doi: 10.1073/pnas.1011033108).

41. Kovács A.T., van Gestel J., Kuipers O.P. The protective layer of biofilm: a repellent function for a new class of amphiphilic proteins. *Mol. Microbiol.*, 2012, 85(1): 8-11 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2012.08101.x).

42. Abdel-Mawgoud A.M., Aboulwafa M.M., Hassouna N.A.-H. Characterization of surfactin produced by *Bacillus subtilis* isolates BS5. *Appl. Biochem. Biotech.*, 2008, 150(3): 289-303 (doi: 10.1007/s12010-008-8153-z).

43. Leclère V., Béchet M., Adam A., Guez J.-S., Wathelet B., Ongena M., Thonart P., Gancel F., Chollet-Imbert M., Jacques P. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities mycosubtilin. *Appl. Environ. Microb.*, 2005, 71(8): 4577-4584 (doi: 10.1128/AEM.71.8.4577-4584.2005).

44. Fernandes P.A.V., Arruda I.R., Santos A.F.B., Araujo A.A., Major A.M.S., Ximenes E.A. Antimicrobial activity of surfactants produced by *Bacillus subtilis* R14 against multidrug-resistant bacteria. *Braz. J. Microbiol.*, 2007, 38: 704-709 (doi: 10.1590/S1517-83822007000400022).

45. Shoeb E., Akhlag F., Badar U., Akhter J., Imtiaz S. Classification and industrial applications of biosurfactants. *Academic Research International*, 2013, 4(3): 243-252.

46. Debois D., Fernandez O., Franzil L., Jourdan E., de Brogniez A., Willems L., Clément C., Dorey S., De Pauw E., Ongena M. Plant polysaccharides initiate underground crosstalk with bacilli by inducing synthesis of the immunogenic lipopeptide surfactin. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2015, 10: 1758-2229 (doi: 10.1111/1758-2229.12286).

47. Cawoy H., Mariutto M., Henry G., Fisher C., Vasilyeva N., Thonart P., Dommes J., Ongena M. Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production. *Mol. Plant Microbe In.*, 2014, 27: 87-100 (doi: 10.1094/MPMI-09-13-0262-R).

48. Mohammadipour M., Mousivand M., Jouzani G.S., Abbasalizadeh S. Molecular and biochemical characterization of Iranian surfactin-producing *Bacillus subtilis* isolates and evaluation of their biocontrol potential against *Aspergillus flavus* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Can. J. Microbiol.*, 2009, 55: 395-404 (doi: 10.1139/w08-141).

49. Li J., Yang Q., Zhao L., Zhang S., Wang Y., Zhao X. Purification and characterization of a novel antifungal protein from *Bacillus subtilis* strain B29. *J. Zhejiang Univ.-Sci. B*, 2009, 10(4): 264-272 (doi: 10.1631/jzus.B0820341).

50. Lopez D., Vlamakis H., Losick R., Kolter R. Cannibalism enhances biofilm development in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.*, 2009, 74: 609-618 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.06882.x).

51. Zhong J., Zhang X., Ren Y., Yang J., Tan H., Zhou J. Optimization of *Bacillus subtilis* cell growth effecting jian-peptide production in fed batch fermentation using central composite design. *Electron. J. Biotechn.*, 2014, 17: 132-136 (doi: 10.1016/j.ejbt.2014.04.010).

52. Zhang X., Zhou J., Fu W., Li Z., Zhong J., Yang J., Xiao L., Tan H. Response surface methodology used for statistical optimization of jian-peptide

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України